

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 794 448**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/68** (2006.01)

**G01N 33/74** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.04.2013 PCT/US2013/035032**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.10.2013 WO13152047**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.04.2013 E 13772034 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 2834638**

54 Título: **Procedimientos para el diagnóstico y pronóstico de sepsis**

30 Prioridad:

**02.04.2012 US 201261619037 P**

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

**18.11.2020**

73 Titular/es:

**ASTUTE MEDICAL, INC. (100.0%)  
Blg 2 R. 645 3550 General Atomics Court  
San Diego, CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**ANDERBERG, JOSEPH;  
GRAY, JEFF;  
MCPHERSON, PAUL;  
NAKAMURA, KEVIN y  
KAMPF, JAMES, PATRICK**

74 Agente/Representante:

**SALVÀ FERRER, Joan**

ES 2 794 448 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

Procedimientos para el diagnóstico y pronóstico de sepsis

5 **[0001]** Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos 61/619.037 presentada el 2 de de abril del 2012.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 **[0002]** La siguiente descripción de los antecedentes de la invención se proporciona simplemente para ayudar al lector en la comprensión de la invención y no se admite para describir o constituir estado de la técnica a la presente invención.

15 **[0003]** El término "sepsis" se ha usado para describir una variedad de afecciones clínicas relacionadas con manifestaciones sistémicas de inflamación acompañadas de una infección. Debido a las similitudes clínicas con las respuestas inflamatorias secundarias a las etiologías no infecciosas, identificar la sepsis ha sido un problema de diagnóstico particularmente desafiante. Recientemente, el American College of Chest Physicians y la American Society of Critical Care Medicine (Bone et al., Chest 101: 1644-53, 1992) publicaron definiciones para el "Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica" (o "SIRS"), que se refiere, en general, a una respuesta sistémica grave a un agravo infeccioso o no infeccioso, y para los síndromes relacionados "sepsis", "sepsis grave" y "choque séptico", y se extienden al síndrome de disfunción multiorgánica ("MODS"). Estas definiciones, que se describen a continuación, están destinadas a cada una de estas frases a los fines de la presente solicitud.

25 **[0004]** Una respuesta inflamatoria sistémica que conduce a un diagnóstico de SIRS pueden estar relacionada con infección y con numerosas etiologías no infecciosas, incluyendo quemaduras, pancreatitis, traumas, golpe de calor, y neoplasia. Aunque conceptualmente puede ser relativamente simple distinguir entre sepsis y SIRS no séptico, no se han descrito herramientas de diagnóstico para distinguir inequívocamente estas afecciones relacionadas. Ver, por ejemplo, Llewelyn y Cohen, Int. Care Med. 27: S10-S32, 2001. Por ejemplo, dado que más del 90% de los casos de sepsis implican una infección bacteriana, la "norma de oro" para confirmar la infección ha sido el crecimiento microbiano en muestras de sangre, orina, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, líquido peritoneal, líquido sinovial, esputo u otros tejidos. Sin embargo, se ha descrito que dicho cultivo no confirma el 50% o más de los pacientes que muestran una fuerte evidencia clínica de sepsis. Ver, por ejemplo, Jaimes et al., Int. Care Med 29: 1368-71, publicado electrónicamente el 26 de junio de 2003.

35 **[0005]** Por lo tanto, a pesar de las mejoras en la gestión de pacientes en estado crítico, la sepsis sigue siendo la causa principal de muerte en estos pacientes. Esto hace que un diagnóstico de determinación temprana sea vital. Los dos biomarcadores que se han estudiado y utilizado más ampliamente en pacientes con sepsis son la proteína C reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT). Se ha demostrado que los niveles de ambos biomarcadores aumentan en pacientes con sepsis, pero debido a que carecen de especificidad para la sepsis y los niveles pueden elevarse en otras enfermedades inflamatorias, estos biomarcadores son más útiles para descartar la sepsis que para no excluirla, es decir, un valor completamente normal hace que el diagnóstico de sepsis sea menos probable, pero un nivel elevado puede no deberse a una infección.

45 **[0006]** Además, los biomarcadores son relevantes en la práctica clínica, no sólo por su capacidad para diagnosticar una afección patológica, sino también para predecir la morbilidad y el resultado. La capacidad de asignar una gravedad de la enfermedad y la probabilidad de resultado a un paciente con sepsis es igualmente vital para el triaje de pacientes y la guía en las decisiones terapéuticas. A modo de ejemplo, el desarrollo de lesión renal aguda (AKI) durante la sepsis aumenta la morbilidad del paciente, predice una mayor mortalidad, tiene un efecto significativo en las funciones de múltiples órganos, se asocia con una mayor duración de estancia en la unidad de cuidados intensivos y, por lo tanto, consume una cantidad considerable de recursos de cuidados de la salud. Un biomarcador capaz de estratificar el riesgo durante los primeros días de ingreso podría diferir de uno que proporcione una predicción más adelante en el transcurso de la enfermedad. Una determinación secuencial de un biomarcador también puede ser útil para seguir la respuesta aguda al tratamiento en pacientes con sepsis.

55 **[0007]** Por ejemplo, el documento WO 2011/097539, entre otros, describe el uso de uno o más ensayos configurados para detectar un marcador de daño renal seleccionado del grupo que consiste en el factor de coagulación VII, CA 19-9, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7, quimiocina con motivo C-X-C 6 y quimiocina con motivo C-C 13 como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico en lesiones renales.

60 **[0008]** Siguen faltando en la técnica procedimientos y composiciones para la evaluación de sepsis en pacientes con el fin de identificar la aparición de la enfermedad, y aquellos con mayor riesgo para malos resultados.

## BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

65 **[0009]** Un objetivo de la divulgación es proporcionar procedimientos y composiciones para la evaluación de un paciente con sepsis. Tal como se describe en el presente documento, la medición de uno o más biomarcadores

seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteínasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteínasa 2, inhibidor de metaloproteínasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalinsina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointerstitial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3 (cada uno de los cuales se denomina en este documento como "biomarcador de sepsis") puede usarse para el diagnóstico, pronóstico, estratificación de riesgo, estadificación, monitorización, clasificación y determinación de diagnósticos adicionales y regímenes de tratamiento en pacientes con sepsis.

**[0010]** Los biomarcadores de sepsis de la presente invención se pueden usar, individualmente o en paneles que comprenden una pluralidad de biomarcadores de sepsis, para identificar un sujeto que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico y/o MODS, para distinguir entre estas afecciones, para asignar un riesgo de que un sujeto en riesgo de sepsis progresará a sepsis, sepsis grave, choque séptico y/o MODS; o para asignar un pronóstico a un sujeto que padece una o más de estas afecciones, etc.

**[0011]** En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de diagnóstico de SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico, o MODS en un sujeto, o la asignación de un riesgo de pronóstico para uno o más resultados clínicos para un sujeto que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS, comprendiendo el procedimiento:

realizar uno o más ensayos configurados para detectar la proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina, y opcionalmente uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteínasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteínasa 2, inhibidor de metaloproteínasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células

5 neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalisina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointersticial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mielóide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3 en una muestra de fluido corporal obtenida del paciente con sepsis para el procedimiento de diagnóstico o en una muestra de orina para el procedimiento de evaluación del riesgo de pronóstico para proporcionar uno o más resultados del ensayo; y

10 comparar el resultado o resultados del ensayo en forma de una concentración de proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo de la presencia o ausencia de SIRS, la presencia o ausencia de sepsis, la presencia o ausencia de sepsis grave, la presencia o ausencia de choque séptico, la presencia o ausencia de MODS, o

15 comparar el resultado o resultados del ensayo en forma de una concentración de proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo del riesgo de pronóstico de uno o más resultados clínicos, en el que el uno o más resultados clínicos comprenden un riesgo de pronóstico de mortalidad para el sujeto que padece o se cree que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS.

25 **[0012]** También se describen procedimientos para evaluar un paciente con sepsis o un paciente que está siendo evaluado para un posible diagnóstico de sepsis. Estos procedimientos comprenden realizar un procedimiento de ensayo que está configurado para detectar uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteinasas de matriz 9: inhibidor de metaloproteinasas 2, inhibidor de metaloproteinasas 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mielóide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalisina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointersticial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mielóide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3, los resultados de cuyo ensayo o ensayos se correlacionan con el estado del paciente. Esta correlación con el estado puede incluir la correlación del resultado o resultados del ensayo con uno o más de diagnóstico, estratificación de riesgo, pronóstico, estadificación, clasificación y monitorización del paciente con sepsis, tal como se describe en el presente documento. Por lo tanto, los procedimientos utilizan uno o más biomarcadores de sepsis descritos en el presente documento para la evaluación de un paciente.

55 **[0013]** En ciertas realizaciones, los procedimientos para la evaluación de un paciente con sepsis descritos en el presente documento son procedimientos para la estratificación del riesgo del paciente con sepsis; es decir, asignar una probabilidad de uno o más cambios futuros en el estado de salud al paciente con sepsis. En estas realizaciones,

el resultado o resultados del ensayo están correlacionados con uno o más de dichos cambios futuros. Las siguientes son realizaciones preferidas de estratificación de riesgo.

5 **[0014]** En formas de realización preferidas de estratificación del riesgo, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un paciente con sepsis para la futura progresión a una etapa de empeoramiento (o mejora) dentro de la definición de SIRS. A modo de ejemplo, el procedimiento puede comprender asignar una probabilidad de progresión de SIRS a sepsis; de sepsis a sepsis grave; desde sepsis o sepsis grave hasta choque séptico; desde sepsis, sepsis grave o choque séptico hasta MODS. Alternativamente, el procedimiento puede comprender asignar una probabilidad de progresión de la recuperación desde la sepsis; desde sepsis grave; desde choque séptico; desde MODS. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido positivo”, se asigna una mayor probabilidad de progresión a una etapa de empeoramiento al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por encima del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido negativo”, se asigna una mayor probabilidad de progresar a una etapa de empeoramiento al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por debajo del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral.

20 **[0015]** En otras realizaciones preferidas de estratificación del riesgo, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un paciente con sepsis para la futura reducción de la función renal, y el resultado o resultados del ensayo se correlacionan con una probabilidad de dicha función renal reducida. Por ejemplo, las concentraciones medidas pueden compararse cada una con un valor umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido positivo”, se asigna una mayor probabilidad de sufrir una función renal reducida futura al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por encima del umbral, en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido negativo”, se asigna una mayor probabilidad de una función renal reducida futura al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por debajo del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral.

30 **[0016]** En aún otras realizaciones preferidas de estratificación del riesgo, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un paciente con sepsis de progresión a IRA, y el resultado o resultados se correlacionan con una probabilidad de dicha progresión a IRA. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido positivo”, se asigna una mayor probabilidad de progresión a IRA al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por encima del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido negativo”, se asigna una mayor probabilidad de progresión a IRA al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por debajo del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral.

40 **[0017]** Y en otras realizaciones preferidas de estratificación de riesgo, estos procedimientos comprenden la determinación del riesgo de un resultado de un paciente con sepsis, y el resultado o resultados del ensayo se correlacionan con una probabilidad de mortalidad por el paciente con sepsis. Por ejemplo, la concentración o concentraciones medidas se pueden comparar con un valor umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido positivo”, se asigna una mayor probabilidad de mortalidad al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por encima del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral. Para un biomarcador de sepsis “de sentido negativo”, se asigna una mayor probabilidad de mortalidad al paciente con sepsis cuando la concentración medida está por debajo del umbral, en relación con una probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral.

50 **[0018]** En tales realizaciones de estratificación del riesgo, preferiblemente la probabilidad o riesgo asignado es que un evento de interés es más o menos probable que ocurra dentro de los 180 días del momento en el que se obtiene la muestra de fluido corporal del paciente con sepsis. En realizaciones particularmente preferidas, la probabilidad o riesgo asignado se relaciona con un evento de interés que ocurre dentro de un período de tiempo más corto tal como 18 meses, 120 días, 90 días, 60 días, 45 días, 30 días, 21 días, 14 días, 7 días, 5 días, 96 horas, 72 horas, 48 horas, 36 horas, 24 horas, 12 horas o menos. Un riesgo a las 0 horas del momento en que se obtiene la muestra de fluido corporal del paciente con sepsis es equivalente al diagnóstico de una afección actual.

60 **[0019]** En otras realizaciones, los procedimientos para evaluar el estado descrito en el presente documento son procedimientos para el diagnóstico, que se refiere a la identificación de un sujeto que padece sepsis, sepsis grave, choque séptico y/o MODS. En estas realizaciones, el resultado o resultados del ensayo, por ejemplo, la concentración o concentraciones medidas de uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo

C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteínasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteínasa 2, inhibidor de metaloproteínasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mielóide MyD88, netrína-1, netrína-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalína-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointersticial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mielóide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3, se correlacionan con la aparición o no aparición de la enfermedad. Las siguientes son realizaciones de diagnóstico preferidas. En diversas realizaciones, los procedimientos comprenden relacionar el resultado o resultados del ensayo con descartar uno o más de los siguientes diagnósticos: que el sujeto tiene al menos sepsis; que el sujeto tiene al menos sepsis grave; que el sujeto tiene al menos choque séptico; que el sujeto tiene MODS.

**[0020]** En realizaciones preferidas de diagnóstico, estos procedimientos comprenden distinguir entre SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico y/o MODS. Estos procedimientos comprenden relacionar el resultado o resultados del ensayo con descartar o confirmar uno o más de los siguientes diagnósticos: que el sujeto tiene SIRS, pero no sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS; que el sujeto tiene sepsis, pero no sepsis grave, choque séptico o MODS; que el sujeto tiene choque séptico pero no MODS; que el sujeto tiene MODS. Para un marcador de sentido positivo, se asigna una mayor probabilidad de que se realice un diagnóstico al paciente cuando la concentración medida está por encima del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida está por debajo del umbral, se puede asignar al paciente una mayor probabilidad de que no se realice un diagnóstico (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral). Para un marcador de sentido negativo, se asigna una mayor probabilidad de que se realice un diagnóstico al paciente cuando la concentración medida está por debajo del umbral (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por encima del umbral); alternativamente, cuando la concentración medida está por encima del umbral, se puede asignar al paciente una mayor probabilidad de que no se realice un diagnóstico (en relación con la probabilidad asignada cuando la concentración medida está por debajo del umbral).

**[0021]** El experto en la materia puede usar una variedad de procedimientos para llegar a un valor umbral deseado para usar en estos procedimientos. Por ejemplo, para un marcador de sentido positivo el valor umbral puede determinarse a partir de una población de pacientes con SIRS que no tienen sepsis mediante la selección de una concentración que representa el 75°, 85°, 90°, 95° o 99° percentil de un biomarcador de sepsis medido en tales pacientes con SIRS. Alternativamente, el valor umbral puede determinarse a partir de una población "enferma" de pacientes con sepsis mediante la selección de una concentración que representa el 75°, 85°, 90°, 95° o 99° percentil de un biomarcador de sepsis medido en tales pacientes con sepsis.

**[0022]** Alternativamente, el valor umbral se puede determinar a partir de una población "enferma" de pacientes con sepsis que tienen una predisposición a un resultado, tal como la muerte, empeoramiento de la enfermedad, AKI, etc.), mediante la selección de una concentración que representa el 75°, 85°, 90°, 95° o 99° percentil de un biomarcador de sepsis medido en tales pacientes de sepsis. En otra alternativa, el valor umbral puede determinarse a partir de una medición previa de un biomarcador de sepsis en el mismo paciente con sepsis; es decir, un cambio temporal en el nivel de un biomarcador de sepsis en el paciente con sepsis puede usarse para asignar el riesgo al paciente con sepsis.

**[0023]** La discusión anterior no pretende implicar, sin embargo, que los biomarcadores de sepsis descritos en este documento deban ser comparados con los correspondientes umbrales individuales. Los procedimientos para combinar los resultados del ensayo pueden comprender el uso de regresión logística multivariada, modelado lineal logarítmico, análisis de redes neuronales, análisis n-de-m, análisis de árbol de decisión, cálculo de relaciones de

marcadores, etc. Esta lista no pretende ser limitante. En estos procedimientos, un resultado compuesto que se determina combinando marcadores individuales puede tratarse como si fuera un marcador en sí mismo; es decir, se puede determinar un umbral para el resultado compuesto, tal como se describe en este documento, para marcadores individuales, y el resultado compuesto para un paciente individual en comparación con este umbral.

**[0024]** La capacidad de una prueba particular para distinguir dos poblaciones se puede establecer utilizando el análisis ROC. Por ejemplo, las curvas ROC establecidas a partir de una "primera" subpoblación que tiene una enfermedad particular (o que está predispuesta a algún resultado) y una "segunda" subpoblación que no tiene la enfermedad (o no está tan predispuesta) pueden usarse para calcular una curva ROC, y el área debajo de la curva proporciona una medida de la calidad de la prueba. Preferiblemente, las pruebas descritas en el presente documento proporcionan un área de curva ROC mayor que 0,5, preferiblemente al menos 0,6, más preferiblemente 0,7, aún más preferiblemente al menos 0,8, incluso más preferiblemente al menos 0,9, y lo más preferiblemente al menos 0,95.

**[0025]** En ciertos aspectos, la concentración medida de uno o más biomarcadores de sepsis, o un compuesto de dichos marcadores, pueden ser tratados como variables continuas. Por ejemplo, cualquier concentración particular se puede convertir en una probabilidad correspondiente de una enfermedad existente, de un resultado futuro para el paciente con sepsis, o mortalidad, de una clasificación SIRS, etc. En otra alternativa, un umbral puede proporcionar un nivel aceptable de especificidad y sensibilidad en la separación de una población de pacientes con sepsis en "bins", como una "primera" subpoblación y una "segunda" subpoblación. Se selecciona un valor umbral para separar esta primera y segunda población mediante una o más de las siguientes medidas de precisión de la prueba:

una relación de posibilidades mayor que 1, preferiblemente al menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, más preferiblemente al menos aproximadamente 3 o más o aproximadamente 0,33 o menos, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 4 o más o aproximadamente 0,25 o menos, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos;

una especificidad de más de 0,5, preferiblemente al menos aproximadamente 0,6, más preferiblemente al menos aproximadamente 0,7, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 0,8, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 0,9 y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 0,95, con una sensibilidad correspondiente mayor que 0,2, preferiblemente mayor que aproximadamente 0,3, más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,4, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 0,5, incluso más preferiblemente aproximadamente 0,6, aún más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,7, aún más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,8, más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,9, y lo más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,95;

una sensibilidad de más de 0,5, preferiblemente al menos aproximadamente 0,6, más preferiblemente al menos aproximadamente 0,7, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 0,8, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 0,9 y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 0,95, con una especificidad correspondiente mayor que 0,2, preferiblemente mayor que aproximadamente 0,3, más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,4, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 0,5, incluso más preferiblemente aproximadamente 0,6, aún más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,7, aún más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,8, más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,9, y lo más preferiblemente mayor que aproximadamente 0,95;

al menos aproximadamente 75% de sensibilidad, combinada con al menos aproximadamente 75% de especificidad; una relación de probabilidad positiva (calculada como sensibilidad/(1-especificidad)) mayor que 1, al menos aproximadamente 2, más preferiblemente al menos aproximadamente 3, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 5, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 10; o

una relación de probabilidades negativa (calculada como (1-sensibilidad)/especificidad) menor que 1, menor que o igual a aproximadamente 0,5, más preferiblemente menor que o igual a aproximadamente 0,3, y lo más preferiblemente menor que o igual a aproximadamente 0,1.

**[0026]** El término "aproximadamente" en el contexto de cualquiera de las mediciones anteriores se refiere a +/- 5% de una medición determinada.

**[0027]** También se pueden usar múltiples umbrales para evaluar un paciente con sepsis. Por ejemplo, una "primera" subpoblación identificada por una enfermedad existente, la predisposición a un resultado futuro para el paciente con sepsis, la predisposición a la mortalidad, etc., y una "segunda" subpoblación que no está tan predispuesta se pueden combinar en un solo grupo. Este grupo se subdivide entonces en tres o más partes iguales (conocidas como terciles, cuartiles, quintiles, etc., dependiendo del número de subdivisiones). Se asigna una relación de probabilidades a los pacientes con sepsis según la subdivisión en la que caen. Si se considera un tercil, se puede utilizar el tercil más bajo o más alto como referencia para comparar las otras subdivisiones. A esta subdivisión de referencia se le asigna una relación de probabilidades de 1. Al segundo tercil se le asigna una relación de probabilidades que es relativa a ese primer tercil. Es decir, alguien en el segundo tercil podría tener 3 veces más probabilidades de sufrir uno o más cambios futuros en el estado de la enfermedad en comparación con alguien en el primer tercil. Al tercer tercil también se le asigna una relación de probabilidades que es relativa a ese primer tercil.

**[0028]** En ciertas realizaciones, el procedimiento de ensayo es un inmunoensayo. Los anticuerpos para su uso en tales ensayos se unirán específicamente a un biomarcador de sepsis de longitud completa de interés, y también pueden unirse a uno o más polipéptidos que están "relacionados" con los mismos, tal como se define ese término más adelante en el presente documento. Los expertos en la materia conocen numerosos formatos de inmunoensayo. Las muestras preferidas de fluidos corporales se seleccionan del grupo que consiste en orina, sangre, suero, saliva, lágrimas y plasma.

**[0029]** Las etapas del procedimiento anterior no deben interpretarse en el sentido de que el resultado o resultados del ensayo del biomarcador de sepsis son utilizados de forma aislada en los procedimientos descritos en el presente documento. Por el contrario, se pueden incluir variables adicionales u otros indicios clínicos en los procedimientos descritos en este documento. Por ejemplo, un procedimiento de estratificación de riesgo, diagnóstico, clasificación, monitorización, etc. se puede combinar con el resultado o resultados del ensayo con una o más variables medidas para el paciente con sepsis seleccionado del grupo que consiste en información demográfica (por ejemplo, peso, sexo, edad, raza), historial médico (por ejemplo, antecedentes familiares, tipo de cirugía, enfermedad preexistente, tal como aneurisma, insuficiencia cardíaca congestiva, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, enfermedad de las arterias coronarias, proteinuria o insuficiencia renal, variables clínicas (por ejemplo, presión arterial, temperatura, frecuencia respiratoria), puntuaciones de riesgo (puntuación APACHE, puntuación PREDICT, puntuación de riesgo TIMI para UA/NSTEMI, puntuación de riesgo Framingham).

**[0030]** Cuando se mide más de un marcador, los marcadores individuales pueden medirse en muestras obtenidas al mismo tiempo, o pueden determinarse a partir de muestras obtenidas en diferentes momentos (por ejemplo, antes o después). Los marcadores individuales también se pueden medir en las mismas o diferentes muestras de fluidos corporales. Por ejemplo, un biomarcador de sepsis puede medirse en una muestra de suero o plasma y otro biomarcador de sepsis puede medirse en una muestra de orina. Además, la asignación de una probabilidad puede combinar un resultado de ensayo de biomarcador de sepsis individual con cambios temporales en una o más variables adicionales.

**[0031]** En varios aspectos relacionados, se describen dispositivos y kits para realizar los procedimientos descritos en el presente documento. Los kits adecuados comprenden reactivos suficientes para realizar un ensayo para al menos uno de los biomarcadores de sepsis descritos, junto con instrucciones para realizar las comparaciones con umbral descritas.

**[0032]** En ciertas realizaciones, los reactivos para realizar dichos ensayos se proporcionan en un dispositivo de ensayo, y tales dispositivos de ensayo pueden incluirse en dicho kit. Los reactivos preferidos pueden comprender uno o más anticuerpos en fase sólida, comprendiendo el anticuerpo en fase sólida un anticuerpo que detecta la diana o dianas del biomarcador deseado unidas a un soporte sólido. En el caso de los inmunoensayos de tipo sándwich, dichos reactivos también pueden incluir uno o más anticuerpos marcados de forma detectable, comprendiendo el anticuerpo marcado de forma detectable un anticuerpo que detecta la diana o dianas del biomarcador deseado unidas a un marcador detectable. A continuación, se describen elementos opcionales adicionales que pueden proporcionarse como parte de un dispositivo de ensayo.

**[0033]** Los marcadores detectables pueden incluir moléculas que son en sí mismas detectables (por ejemplo, restos fluorescentes, marcadores electroquímicos, marcadores ecl (luminiscencia electroquímica), quelatos metálicos, partículas metálicas coloidales, etc.), así como moléculas que pueden detectarse indirectamente mediante la producción de un producto de reacción detectable (por ejemplo, enzimas, tales como la peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, etc.) o mediante el uso de una molécula de unión específica que puede ser detectable por sí misma (por ejemplo, un anticuerpo marcado que se une al segundo anticuerpo, biotina, digoxigenina, maltosa, oligohistidina, 2,4-dinitrobenzenceno, fenilarseniato, ADN de una cadena, ADN de doble cadena, etc.).

**[0034]** La generación de una señal a partir del elemento de desarrollo de señal puede realizarse usando diversos procedimientos ópticos, acústicos y electroquímicos bien conocidos en la técnica. Los ejemplos de modos de detección incluyen fluorescencia, detección radioquímica, reflectancia, absorbancia, amperometría, conductancia, impedancia, interferometría, elipsometría, etc. En algunos de estos procedimientos, el anticuerpo en fase sólida está acoplado a un transductor (por ejemplo, una rejilla de difracción, sensor electroquímico, etc.) para la generación de una señal, mientras que en otros, una señal es generada por un transductor que está espacialmente separado del anticuerpo en fase sólida (por ejemplo, un fluorómetro que emplea una fuente de luz de excitación y un detector óptico). Esta lista no pretende ser limitante. Los biosensores basados en anticuerpos también se pueden emplear para determinar la presencia o la cantidad de analitos que opcionalmente eliminan la necesidad de una molécula marcada.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

**[0035]** La presente descripción se refiere a procedimientos y composiciones para el diagnóstico, diagnóstico diferencial, estratificación del riesgo, monitorización, clasificación y determinación de regímenes de tratamiento en los pacientes diagnosticados con, o en riesgo de, sepsis. En diversas realizaciones, una concentración medida de uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de

angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogénica ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteínasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteínasa 2, inhibidor de metaloproteínasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalissina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointersticial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogénica ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3 o uno o más marcadores relacionados con los mismos, se correlaciona con el estado del paciente con sepsis. Como se describe en el presente documento, la medición de uno o más biomarcadores de sepsis descritos en el presente documento se puede usar, individualmente o en paneles que comprenden una pluralidad de biomarcadores de sepsis, para identificar a un sujeto que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico y/o MODS, para distinguir entre estas enfermedades, o para asignar un pronóstico a un sujeto que padece una o más de estas enfermedades, etc.

**[0036]** Para los propósitos de este documento, se aplican las siguientes definiciones:

Tal como se utiliza en el presente documento, "SIRS" se refiere a una enfermedad que exhibe dos o más de los siguientes:

una temperatura > 38 °C o <36 °C;

una frecuencia cardíaca de > 90 latidos por minuto (taquicardia);

una frecuencia respiratoria de > 20 respiraciones por minuto (taquipnea) o una  $P_a \text{CO}_2 < 4,3 \text{ kPa}$ ; y

un recuento de glóbulos blancos > 12.000 por  $\text{mm}^3$ , < 4.000 por  $\text{mm}^3$ , o > 10% de formas inmaduras (banda).

**[0037]** Tal como se utiliza en este documento, "sepsis" se refiere a SIRS, acompañada además por una infección clínicamente evidente o microbiológicamente confirmada. Esta infección puede ser bacteriana, fúngica, parasitaria o viral.

**[0038]** Tal como se utiliza en este documento, "sepsis grave" se refiere a un subconjunto de pacientes con sepsis, en el que la sepsis está acompañada además por hipoperfusión de órganos hecha evidente por al menos un signo de disfunción de órganos, tal como hipoxemia, oliguria, acidosis metabólica, o función cerebral alterada.

**[0039]** Tal como se utiliza en este documento, "choque séptico" se refiere a un subconjunto de pacientes con sepsis grave, en la que la sepsis grave está acompañada además por hipotensión hecha evidente por una presión arterial sistólica < 90 mm Hg, o el requisito de intervención farmacéutica para mantener la presión arterial.

**[0040]** Tal como se utiliza en este documento, MODS (síndrome de disfunción multiorgánica) es la presencia de la función de órganos alterada en un paciente que está gravemente enfermo, tal que la homeostasis no puede mantenerse sin intervención. El MODS primario es el resultado directo de un agravio bien definido en el que la disfunción orgánica se produce temprano y puede atribuirse directamente al agravio mismo. El MODS secundario se desarrolla como consecuencia de una respuesta del huésped y se identifica dentro del contexto de SIRS.

**[0041]** Tal como se utiliza en este documento, un "daño a la función renal" es una reducción medible abrupta (dentro de los 14 días, preferiblemente dentro de los 7 días, más preferiblemente dentro de las 72 horas, y aún más preferiblemente dentro de 48 horas) en una medida de la función renal. Dicha lesión puede identificarse, por

ejemplo, por una disminución en la tasa de filtración glomerular o TFG estimada, una reducción en la producción de orina, un aumento en la creatinina sérica, un aumento en la cistatina C en suero, un requisito para la terapia de reemplazo renal, etc. "Mejora en la función renal" es un aumento medible abrupto (dentro de los 14 días, preferiblemente dentro de los 7 días, más preferiblemente dentro de las 72 horas, y aún más preferiblemente dentro de las 48 horas) en una medida de la función renal. Los procedimientos preferidos para medir y/o estimar la TFG se describen a continuación.

**[0042]** Tal como se utiliza en este documento, "función renal reducida" es una reducción abrupta (dentro de los 14 días, preferiblemente dentro de los 7 días, más preferiblemente dentro de las 72 horas, y aún más preferiblemente dentro de 48 horas) de la función renal identificada por un aumento absoluto de la creatinina en suero mayor o igual a 0,1 mg/dl ( $\geq 8,8 \mu\text{mol/l}$ ), un aumento porcentual de la creatinina en suero mayor o igual al 20% (1,2 veces desde la línea base), o una reducción en la producción de orina (oliguria documentada de menos de 0,5 ml/kg por hora).

**[0043]** Tal como se utiliza en este documento, "insuficiencia renal aguda" o "IRA" es una reducción abrupta (dentro de los 14 días, preferiblemente dentro de los 7 días, más preferiblemente dentro de las 72 horas, y aún más preferiblemente dentro de 48 horas) de la función renal identificada por un aumento absoluto de la creatinina en suero mayor o igual a 0,3 mg/dl ( $\geq 26,4 \mu\text{mol/l}$ ), un aumento porcentual en la creatinina en suero mayor o igual al 50% (1,5 veces desde la línea base), o una reducción en la producción de orina (oliguria documentada de menos de 0,5 ml/kg por hora durante al menos 6 horas). Este término es sinónimo de "lesión renal aguda" o "AKI".

**[0044]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "en relación a una señal de presencia o cantidad" de un analito refleja el siguiente entendimiento. Las señales de ensayo se relacionan típicamente con la presencia o cantidad de un analito mediante el uso de una curva estándar calculada usando concentraciones conocidas del analito de interés. Tal como se utiliza el término en el presente documento, un ensayo está "configurado para detectar" un analito si un ensayo puede generar una señal detectable indicativa de la presencia o cantidad de una concentración fisiológicamente relevante del analito. Debido a que el epítipo de un anticuerpo está en el orden de 8 aminoácidos, un inmunoensayo configurado para detectar un marcador de interés también detectará polipéptidos relacionados con la secuencia del marcador, siempre que estos polipéptidos contengan el epítipo o epítopos necesarios para unirse al anticuerpo o anticuerpos utilizados en el ensayo. El término "marcador relacionado", tal como se usa en el presente documento con respecto a un biomarcador, tal como uno de los biomarcadores de sepsis descritos en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos, variantes, etc., de un marcador particular o su compuesto parental biosintético que puede detectarse como un sustituto para el marcador en sí o como biomarcadores independientes. El término también se refiere a uno o más polipéptidos presentes en una muestra biológica que derivan del precursor del biomarcador complejo a especies adicionales, tales como proteínas de unión, receptores, heparina, lípidos, azúcares, etc.

**[0045]** En este sentido, el experto en la materia podrá entender que las señales obtenidas a partir de un inmunoensayo son un resultado directo de los complejos formados entre uno o más anticuerpos y la biomolécula diana (es decir, el analito) y polipéptidos que contienen el epítipo o epítopos necesarios a los que se unen los anticuerpos. Si bien dichos ensayos pueden detectar el biomarcador de longitud completa y el resultado del ensayo se expresa como una concentración de un biomarcador de interés, la señal del ensayo es en realidad el resultado de todos dichos polipéptidos "inmunorreactivos" presentes en la muestra. La expresión de biomarcadores también se puede determinar por otros medios que no son inmunoensayos, incluidas las mediciones de proteínas (tales como las transferencias de puntos, transferencias western, procedimientos cromatográficos, espectrometría de masas, etc.) y mediciones de ácidos nucleicos (cuantificación de ARNm). Esta lista no pretende ser limitante. Con respecto a los biomarcadores que existen en una forma como proteínas de membrana ancladas de tipo I, tipo II o GPI, tales proteínas de membrana típicamente comprenden un dominio extracelular sustancial, algunas de las cuales o todas se pueden detectar como formas solubles presentes en muestras acuosas, tales como sangre, suero, plasma, orina, etc., ya sea como productos de escisión o como variantes de empalme que eliminan un dominio eficaz que abarca la membrana. Los ensayos preferidos detectan formas solubles de estos biomarcadores.

**[0046]** El término marcador "de sentido positivo", tal como el término se utiliza en el presente documento, se refiere a un marcador que se determina que es elevado en pacientes con sepsis que padecen una enfermedad o afección, en relación con los pacientes con sepsis que no padecen esa enfermedad o afección. El término marcador "de sentido negativo", tal como el término se utiliza en el presente documento, se refiere a un marcador que se determina que se reduce en pacientes con sepsis que padecen una enfermedad o afección, en relación con los pacientes con sepsis que no padecen esa enfermedad o afección.

**[0047]** El término "sujeto", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un organismo no humano o humano. Por lo tanto, los procedimientos y composiciones descritos en este documento son aplicables tanto a enfermedades humanas como veterinarias. Además, aunque un sujeto es preferiblemente un organismo vivo, la invención descrita en el presente documento puede usarse también en análisis post mortem. Los sujetos preferidos son humanos, y lo más preferiblemente "pacientes", que, tal como se usa en el presente documento, se refiere a seres humanos vivos que están recibiendo atención médica para una enfermedad o afección. Esto incluye a personas sin enfermedad definida que están siendo investigadas por signos de patología. Un "paciente con sepsis" es un paciente que padece sepsis.

**[0048]** Preferiblemente, un analito, tal como un biomarcador de sepsis, se mide en una muestra. Dicha muestra se puede obtener de un paciente, tal como un paciente con sepsis. Las muestras preferidas son muestras de fluidos corporales.

5 **[0049]** El término "muestra de fluido corporal", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una muestra de fluido corporal obtenida con el propósito de diagnóstico, pronóstico, clasificación o evaluación de un paciente con sepsis de interés, tal como un paciente o donante de trasplante. En ciertas realizaciones, dicha muestra puede obtenerse con el fin de determinar el resultado de una afección en curso o el efecto de un régimen de tratamiento sobre una afección. Las muestras preferidas de fluido corporal incluyen sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, orina, saliva, esputo y derrames pleurales. Además, un experto en la materia se daría cuenta de que ciertas muestras de fluidos corporales se analizarían más fácilmente después de un procedimiento de fraccionamiento o purificación, por ejemplo, separación de sangre completa en componentes de suero o plasma.

15 **[0050]** El término "diagnóstico", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a procedimientos mediante los que el experto en la técnica puede estimar y/o determinar la probabilidad ("una probabilidad") de si un paciente padece o no una enfermedad o afección determinada. En el caso de la presente invención, "diagnóstico" incluye el uso de los resultados de un ensayo, lo más preferiblemente un inmunoensayo, para un biomarcador de sepsis de la presente invención, opcionalmente junto con otras características clínicas, para llegar a un diagnóstico (es decir, la aparición o no aparición) de una enfermedad o afección. Que dicho diagnóstico esté "determinado" no significa que el diagnóstico sea 100% exacto. Muchos biomarcadores son indicativos de múltiples afecciones. El clínico experto no utiliza resultados de biomarcadores en un vacío informativo, sino que los resultados de las pruebas se utilizan junto con otros indicios clínicos para llegar a un diagnóstico. Por lo tanto, un nivel de biomarcador medido en un lado de un umbral de diagnóstico predeterminado indica una mayor probabilidad de aparición de la enfermedad en el paciente con sepsis en relación con un nivel medido en el otro lado del umbral de diagnóstico predeterminado.

20 **[0051]** Del mismo modo, un riesgo de pronóstico indica una probabilidad ("una probabilidad") de que se producirá una determinada evolución o resultado. Un nivel o un cambio en el nivel de un indicador pronóstico, que a su vez se asocia con una mayor probabilidad de morbilidad (por ejemplo, empeoramiento de la sepsis o la muerte) se denomina "indicativo de una mayor probabilidad" de un resultado adverso en un paciente.

Biomarcadores de sepsis

30 **[0052]** La siguiente tabla proporciona una lista de los biomarcadores de sepsis descritos en este documento, junto con el número de entrada de Swiss-Prot para el precursor humano.

Swiss-Prot Num	Nombre preferido
P01023	macroglobulina alfa-2
P03950	angiogenina
Q02763	receptor de angiopoyetina-1
Q9Y5C1	proteína 3 relacionada con la angiopoyetina
Q9BY76	proteína 4 relacionada con la angiopoyetina
Q8NI99	proteína 6 relacionada con la angiopoyetina
P02652	apolipoproteína A-II
P02656	apolipoproteína C-III
P08519	apolipoproteína (a)
P18075	proteína morfogenética ósea 7
O75309	cadherina-16
P22223	cadherina-3
-	antígeno de cáncer 15-3
-	antígeno de cáncer 19-9
Q16790	anhidrasa carbónica 9
P13688	molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1
P06731	molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 5
P42574	caspara-3, activa
P25774	catepsina S
P22362	quimiocina con motivo C-C 1
Q16663	quimiocina con motivo C-C 15
Q92583	quimiocina con motivo C-C 17
P55774	quimiocina con motivo C-C 18
P78556	quimiocina con motivo C-C 20
O00585	quimiocina con motivo C-C 21
000175	quimiocina con motivo C-C 24
P10909	clusterina
P45452	colagenasa 3
P01308	péptido C (insulina)

## ES 2 794 448 T3

014625	quimiocina con motivo C-X-C 11
Q9H2A7	quimiocina con motivo C-X-C 16
P38936	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1
Q96HY6	proteína 1 que contiene el dominio DDRGK
P39060	endostatina
P00533	receptor del factor de crecimiento epidérmico
014944	epiregulina
P16422	molécula de adhesión de células epiteliales
P19235	receptor de eritropoyetina
O95750	factor de crecimiento de fibroblastos 19
Q9GZV9	factor de crecimiento de fibroblastos 23
P17931	galectina-3
P09681	polipéptido inhibidor gástrico
P01275	glucagón
P01275	péptido similar al glucagón 1
P09211	glutación S-transferasa P
P04792	proteína de choque térmico beta-1
P05230	factor de crecimiento de unión a heparina 1
Q96D42	receptor celular del virus de la hepatitis A 1
P08581	receptor del factor de crecimiento de hepatocitos
P01308	insulina
P08069	receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1
P24592	proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6
Q16270	proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7
P01563	interferón alfa-2
Q9NYY1	interleucina-20
Q9HBE4	interleucina-21
Q8IZJ0	interleucina-28A
Q8IU54	interleucina-29
O95760	interleucina-33
P07476	involucrina
P10997	polipéptido amiloide de los islotes
P04264; P13645	queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10)
Q9Y5Y7	receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1
P39900	metaloelastasa de macrófagos
P14780; P16035	complejo de metaloproteinasa de matriz 9:inhibidor de metaloproteinasa 2
P35625	inhibidor de metaloproteinasa 3
Q99836	proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88
095631	netrina-1
Q9HB63	netrina-4
Q92823	molécula de adhesión de células neuronales
P25963	inhibidor alfa de NF-kappa-B
P14543	Nidogen-1
P02818	Osteocalcina
Q13219	Pappalisina-1
P09874	Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida)
P35070	Probetacelulina
P07288	Antígeno prostático específico
P15309	Fosfatasa ácida prostática
P48745	homólogo de la proteína NOV
P01135	factor de crecimiento protransformante alfa
Q14242	ligando de glicoproteína de P-selectina 1
P04278	globulina de unión a hormonas sexuales
P49711	citocina SL
P24821	tenascina
P35442	trombospondina-2
Q969D9	linfopoyetina del estroma tímico
Q14956	glicoproteína transmembrana NMB
Q07654	factor trébol 3
Q9UJW2	antígeno de nefritis tubulointersticial
0142763	miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B
P28908	miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8
P13611	proteína central Versican
P18075	proteína morfogenética ósea 7
Q16790	anhidrasa carbónica 9
P55211	caspara-9

P45452	colagenasa 3
P51124	granzima M
Q99075	factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina
P35568	sustrato receptor de insulina 1
P02538; P04259; P48668	queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C)
Q99836	proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloides MyD88
P49771	citocina SL
O43915	factor de crecimiento endotelial vascular D
P35968	receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2
P35916	receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3

Ensayos de marcadores

5 **[0053]** En general, los inmunoensayos implican poner en contacto una muestra que contiene o se sospecha que contiene un biomarcador de interés con al menos un anticuerpo que se une específicamente al biomarcador. A continuación, se genera una señal indicativa de la presencia o cantidad de complejos formados por la unión de polipéptidos en la muestra al anticuerpo. A continuación, la señal se relaciona con la presencia o cantidad del biomarcador en la muestra. Los expertos en la técnica conocen bien numerosos procedimientos y dispositivos para la detección y análisis de biomarcadores. Véanse, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos 10 6.143.576; 6.113.855; 6.019.944; 5.985.579; 5.947.124; 5.939.272; 5.922.615; 5.885.527; 5.851.776; 5.824.799; 5.679.526; 5.525.524; y 5.480.792, y The Immunoassay Handbook, David Wild, ed. Stockton Press, Nueva York, 1994.

15 **[0054]** Los dispositivos y procedimientos de ensayo conocidos en la técnica pueden utilizar moléculas marcadas en varios formatos de ensayo sandwich, competitivo o no competitivo, para generar una señal que está relacionada con la presencia o cantidad del biomarcador de interés. Los formatos de ensayo adecuados también incluyen procedimientos cromatográficos, espectrográficos de masas y de "transferencia" de proteínas. Además, pueden emplearse ciertos procedimientos y dispositivos, tales como biosensores e inmunoensayos ópticos, para determinar la presencia o la cantidad de analitos sin la necesidad de una molécula marcada. Véanse, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos 5.631.171; y 5.955.377. Un experto en la materia también reconoce que la instrumentación 20 robótica, que incluye, pero no se limita, los sistemas Beckman ACCESS®, Abbott AXSYM®, Roche ELECSYS®, Dade Behring STRATUS®, se encuentran entre los analizadores de inmunoensayos capaces de realizar inmunoensayos. Pero se puede utilizar cualquier inmunoensayo adecuado, por ejemplo, inmunoensayos ligados a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos (RIA), ensayos de unión competitiva y similares.

25 **[0055]** Los anticuerpos u otros polipéptidos se pueden inmovilizar sobre una variedad de soportes sólidos para uso en ensayos. Las fases sólidas que pueden usarse para inmovilizar miembros de unión específica incluyen aquellas desarrolladas y/o usadas como fases sólidas en ensayos de unión a fase sólida. Los ejemplos de fases sólidas adecuadas incluyen filtros de membrana, papeles a base de celulosa, perlas (incluidas partículas poliméricas, de látex y paramagnéticas), vidrio, obleas de silicio, micropartículas, nanopartículas, TentaGels, AgroGels, geles PEGA, 30 geles SPOCC y placas con múltiples pocillos. Se podría preparar una tira de ensayo recubriendo el anticuerpo o una pluralidad de anticuerpos en una matriz sobre soporte sólido. Esta tira podría sumergirse entonces en la muestra de ensayo y, a continuación, se procesa rápidamente a través de etapas de lavados y detección para generar una señal medible, tal como una mancha de color. Los anticuerpos u otros polipéptidos pueden unirse a zonas específicas de dispositivos de ensayo mediante la conjugación directa a la superficie de un dispositivo de ensayo o mediante unión 35 indirecta. En un ejemplo del último caso, los anticuerpos u otros polipéptidos pueden inmovilizarse sobre partículas u otros soportes sólidos, y ese soporte sólido se inmoviliza en la superficie del dispositivo.

40 **[0056]** Los ensayos biológicos requieren procedimientos para la detección, y uno de los procedimientos más comunes para la cuantificación de los resultados es conjugar un marcador detectable a una proteína o ácido nucleico que tiene afinidad por uno de los componentes en el sistema biológico que se está estudiando. Los marcadores detectables pueden incluir moléculas que son detectables por sí mismos (por ejemplo, restos fluorescentes, marcadores electroquímicos, quelatos metálicos, etc.), así como moléculas que pueden detectarse indirectamente mediante la producción de un producto de reacción detectable (por ejemplo, enzimas, tales como la peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, etc.) o mediante una molécula de unión específica que puede ser 45 detectable por sí misma (por ejemplo, biotina, digoxigenina, maltosa, oligohistidina, 2,4-dinitrobenzoceno, fenilarseniato, ADN de una cadena, ADN de doble cadena, etc.).

50 **[0057]** La preparación de fases sólidas y conjugados de marcadores detectables a menudo comprenden el uso de reticuladores químicos. Los reactivos de reticulación contienen al menos dos grupos reactivos y se dividen generalmente en reticuladores homofuncionales (que contienen grupos reactivos idénticos) y reticuladores heterofuncionales (que contienen grupos reactivos no idénticos). Los reticuladores homobifuncionales que se acoplan a través de aminos, sulfhidrilos o reaccionan inespecíficamente están disponibles en muchas fuentes comerciales. Las maleimidias, haluros de alquilo y arilo, alfa-haloacilos y disulfuros de piridilo son grupos reactivos con tiol. Las maleimidias, haluros de alquilo y arilo, y alfa-haloacilos reaccionan con sulfhidrilos para formar enlaces 55 tiol-éter, mientras que los disulfuros de piridilo reaccionan con sulfhidrilos para producir disulfuros mixtos. El producto de disulfuro de piridilo es escindible. Los imidoésteres también son muy útiles para las reticulaciones proteína-

proteína. Una variedad de reticuladores heterobifuncionales, cada uno combinando diferentes atributos para una conjugación exitosa, están disponibles comercialmente.

5 [0058] En ciertos aspectos, se describen kits para el análisis de los biomarcadores de sepsis descritos. El kit comprende reactivos para el análisis de al menos una muestra de ensayo que comprende al menos un anticuerpo que se une a un biomarcador de sepsis. El kit también puede incluir dispositivos e instrucciones para realizar una o más de las correlaciones de diagnóstico y/o pronóstico descritas en el presente documento. Los kits preferidos comprenderán una pareja de anticuerpos para realizar un ensayo sandwich, o una especie marcada para realizar un ensayo competitivo, para el analito. Preferiblemente, una pareja de anticuerpos comprende un primer anticuerpo conjugado con una fase sólida y un segundo anticuerpo conjugado con un marcador detectable, en el que cada uno de los primero y segundo anticuerpos se unen a un biomarcador de sepsis. Lo más preferiblemente, cada uno de los anticuerpos son anticuerpos monoclonales. Las instrucciones para el uso del kit y la realización de las correlaciones pueden ser en forma de etiquetado, que se refiere a cualquier material escrito o registrado que se une o acompaña a un kit en cualquier momento durante su fabricación, transporte, venta o uso. Por ejemplo, el término etiquetado abarca folletos y folletos publicitarios, materiales de embalaje, instrucciones, casetes de audio o video, discos de ordenador, así como también escritos impresos directamente sobre los kits.

#### Anticuerpos

20 [0059] El término "anticuerpo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un péptido o polipéptido derivado de, modelado después o sustancialmente codificado por un gen de inmunoglobulina o genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos, capaces de unirse específicamente a un antígeno o epítipo. Ver, por ejemplo, Fundamental Immunology, 3rd Edition, W.E. Paul, ed., Raven Press, NY (1993); Wilson (1994); J. Immunol. Methods 175: 267-273; Yarmush (1992) J. Biochem. Biophys. Methods 25: 85-97. El término anticuerpo incluye porciones de unión a antígeno, es decir, "sitios de unión a antígeno" (por ejemplo, fragmentos, subsecuencias, regiones determinantes de complementariedad (CDR)) que retienen la capacidad de unirse al antígeno, que incluye (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546), que consiste en un dominio VH y (vi) una región determinante de complementariedad aislada (CDR). Los anticuerpos de cadena sencilla también se incluyen por referencia en el término "anticuerpo".

35 [0060] Los anticuerpos utilizados en los inmunoensayos descritos en el presente documento se unen específicamente a un biomarcador de sepsis descrito en el presente documento. El término "se une específicamente" no pretende indicar que un anticuerpo se une exclusivamente a su diana prevista, ya que, tal como se ha indicado anteriormente, un anticuerpo se une a cualquier polipéptido que muestre el epítipo o epítopos a los que se une el anticuerpo. Más bien, un anticuerpo "se une específicamente" si su afinidad por la diana deseada es aproximadamente 5 veces mayor en comparación con su afinidad por una molécula no diana que no muestra el epítipo o epítopos apropiados. Preferiblemente, la afinidad del anticuerpo será al menos aproximadamente 5 veces, preferiblemente 10 veces, más preferiblemente 25 veces, incluso más preferiblemente 50 veces, y lo más preferiblemente 100 veces o más, mayor para una molécula diana que su afinidad por una molécula no diana. En realizaciones preferidas, los anticuerpos preferidos se unen con afinidades de al menos aproximadamente  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , y preferiblemente entre aproximadamente  $10^8 \text{ M}^{-1}$  y aproximadamente  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , de aproximadamente  $10^9 \text{ M}^{-1}$  a aproximadamente  $10^{10} \text{ M}^{-1}$ , de o aproximadamente  $10^{10} \text{ M}^{-1}$  a aproximadamente  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ .

50 [0061] La afinidad se calcula como  $K_d = k_{on}/k_{off}$  ( $k_{off}$  es la constante de velocidad de disociación,  $k_{on}$  es la constante de velocidad de asociación y  $K_d$  es la constante de equilibrio). La afinidad se puede determinar en equilibrio midiendo la fracción unida ( $r$ ) del ligando marcado a diversas concentraciones ( $c$ ). Los datos se representan utilizando la ecuación de Scatchard:  $r/c = K(n-r)$ : donde  $r$  = moles de ligando unido/mol de receptor en equilibrio;  $c$  = concentración de ligando libre en equilibrio;  $K$  = constante de asociación de equilibrio; y  $n$  = número de sitios de unión a ligando por molécula receptora. Mediante análisis gráfico,  $r/c$  se representa gráficamente en el eje Y versus  $r$  en el eje X, produciendo así una gráfica de Scatchard. La medición de afinidad de anticuerpos mediante análisis de Scatchard es bien conocida en la técnica. Véanse, por ejemplo, van Erp et al., J. Immunoassay 12: 425-43, 1991; Nelson y Griswold, Comput. Methods Programs Biomed. 27: 65-8, 1988.

60 [0062] El término "epítipo" se refiere a un determinante antigénico capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítopos generalmente consisten en agrupaciones de moléculas de superficie químicamente activa, tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y, generalmente, tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítopos conformacionales y no conformacionales se distinguen porque la unión al primero, pero no al segundo, se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes.

65 [0063] Numerosas publicaciones describen el uso de tecnología de expresión en fagos para producir y cribar bibliotecas de polipéptidos para la unión a un analito seleccionado. Ver, por ejemplo, Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 6378-82, 1990; Devlin et al., Science 249, 404-6, 1990, Scott y Smith, Science 249,

386-88, 1990; y Ladner et al., patente de Estados Unidos No. 5,571,698. Un concepto básico de los procedimientos de expresión en fagos es el establecimiento de una asociación física entre el ADN que codifica un polipéptido a cribar y el polipéptido. Esta asociación física es proporcionada por la partícula de fago, que muestra un polipéptido como parte de una cápside que encierra el genoma del fago que codifica el polipéptido. El establecimiento de una asociación física entre polipéptidos y su material genético permite el cribado masivo simultáneo de un gran número de fagos con diferentes polipéptidos. Los fagos que expresan un polipéptido con afinidad a una diana se unen a la diana y estos fagos se enriquecen mediante cribado de afinidad a la diana. La identidad de los polipéptidos expresados a partir de estos fagos se puede determinar a partir de sus respectivos genomas. Usando estos procedimientos, un polipéptido identificado por tener una afinidad de unión por una diana deseada puede sintetizarse en volumen mediante medios convencionales. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 6.057.098.

**[0064]** Los anticuerpos que son generados mediante estos procedimientos pueden entonces seleccionarse mediante un primer cribado de afinidad y especificidad con el polipéptido purificado de interés y, si es necesario, se comparan los resultados con la afinidad y especificidad de los anticuerpos con los polipéptidos que se desean excluir de la unión. El procedimiento de cribado puede implicar la inmovilización de los polipéptidos purificados en pocillos separados de placas de microtitulación. La solución que contiene un posible anticuerpo o grupos de anticuerpos se coloca a continuación en los pocillos de microtitulación respectivos y se incuba durante aproximadamente 30 min hasta 2 h. A continuación, se lavan los pocillos de microtitulación y se agrega un anticuerpo secundario marcado (por ejemplo, un anticuerpo antiratón conjugado con fosfatasa alcalina si los anticuerpos desarrollados son anticuerpos de ratón) a los pocillos y se incuban durante aproximadamente 30 minutos y, a continuación, se lavan. El sustrato se agrega a los pocillos y aparecerá una reacción de color donde están presentes los anticuerpos contra el polipéptido o polipéptidos inmovilizados.

**[0065]** Los anticuerpos identificados de esta manera pueden entonces ser analizados posteriormente por afinidad y especificidad en el diseño de ensayo seleccionado. En el desarrollo de inmunoensayos para una proteína diana, la proteína diana purificada actúa como un patrón con el cual juzgar la sensibilidad y especificidad del inmunoensayo utilizando los anticuerpos que se han seleccionado. Dado que la afinidad de unión de varios anticuerpos puede diferir; ciertas parejas de anticuerpos (por ejemplo, en ensayos sandwich) pueden interferir entre sí estéricamente, etc., el rendimiento del ensayo de un anticuerpo puede ser una medida más importante que la afinidad y especificidad absolutas de un anticuerpo.

**[0066]** Aunque la presente solicitud describe ensayos de unión a base de anticuerpo en detalle, las alternativas a los anticuerpos como la especie de unión en ensayos son bien conocidas en la técnica. Estas incluyen receptores para una diana particular, aptámeros, etc. Los aptámeros son moléculas de ácido oligonucleico o péptido que se unen a una molécula diana específica. Los aptámeros generalmente se crean seleccionándolos de un gran grupo de secuencias aleatorias, pero también existen aptámeros naturales. Los aptámeros de alta afinidad que contienen nucleótidos modificados pueden conferir características mejoradas en el ligando, tales como estabilidad in vivo mejorada o características de liberación mejoradas. Los ejemplos de tales modificaciones incluyen sustituciones químicas en las posiciones de ribosa y/o fosfato y/o bases, y pueden incluir funcionalidades de cadena lateral de aminoácidos.

#### Correlaciones de ensayo

**[0067]** El término "correlación", tal como se usa en este documento en referencia a la utilización de biomarcadores, se refiere a la comparación de la presencia o la cantidad del biomarcador o biomarcadores en un paciente con su presencia o cantidad en personas que se sabe que padecen, o se sabe que están en riesgo de, una afección determinada; o en personas que se sabe que están libres de una afección determinada. A menudo, esto se realiza comparando un resultado de ensayo en forma de una concentración de biomarcador con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo de la aparición o no de una enfermedad o la probabilidad de algún resultado futuro.

**[0068]** La selección de un umbral de diagnóstico implica, entre otras cosas, la consideración de la probabilidad de la enfermedad, la distribución de diagnósticos verdaderos y falsos en diferentes umbrales de prueba, y las estimaciones de las consecuencias del tratamiento (o falta de tratamiento) en función del diagnóstico. Por ejemplo, cuando se considera administrar una terapia específica que es altamente eficaz y tiene un bajo nivel de riesgo, se necesitan pocas pruebas porque los médicos pueden aceptar una incertidumbre diagnóstica sustancial. Por otro lado, en situaciones donde las opciones de tratamiento son menos efectivas y más arriesgadas, los médicos, a menudo, necesitan un mayor grado de certeza diagnóstica. Por lo tanto, el análisis de coste/beneficio está implicado en la selección de un umbral de diagnóstico.

**[0069]** Los umbrales adecuados se pueden determinar de varias maneras. Por ejemplo, un umbral de diagnóstico recomendado para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio con troponina cardíaca es el percentil 97,5° de la concentración observada en una población normal. Otro procedimiento puede ser observar muestras en serie del mismo paciente, donde se utiliza un resultado "basal" previo para controlar los cambios temporales en un nivel de biomarcador.

**[0070]** Los estudios de población también se pueden utilizar para seleccionar un umbral de decisión. La característica operativa del receptor ("ROC") surgió del campo de la teoría de detección de señales desarrollada durante la Segunda Guerra Mundial para el análisis de imágenes de radar, y el análisis ROC se usa a menudo para seleccionar un umbral capaz de distinguir mejor una subpoblación "enferma" de una subpoblación "no enferma". Un falso positivo en este caso tiene lugar cuando la persona da positivo, pero en realidad no tiene la enfermedad. Un falso negativo, por otro lado, tiene lugar cuando la persona da negativo, lo que sugiere que está sana, cuando realmente tiene la enfermedad. Para dibujar una curva ROC, se determinan la tasa de positivos verdaderos (TPR) y la tasa de falsos positivos (FPR), ya que el umbral de decisión varía continuamente. Dado que la TPR es equivalente a la sensibilidad y la FPR es igual a 1 - especificidad, el gráfico ROC a veces se llama gráfico de sensibilidad vs (1 - especificidad). Una prueba perfecta tendrá un área bajo la curva ROC de 1,0; una prueba aleatoria tendrá un área de 0,5. Se selecciona un umbral para proporcionar un nivel aceptable de especificidad y sensibilidad.

**[0071]** En este contexto, "enferma" se entiende que hace referencia a una población que tiene una característica (la presencia de una enfermedad o afección o la aparición de algún resultado) y "no enferma" significa que se refiere a una población que carece de la característica. Si bien un único umbral de decisión es la aplicación más simple de dicho procedimiento, se pueden usar múltiples umbrales de decisión. Por ejemplo, por debajo de un primer umbral, la ausencia de enfermedad puede asignarse con una confianza relativamente alta, y por encima de un segundo umbral, la presencia de enfermedad también puede asignarse con una confianza relativamente alta. Entre los dos umbrales puede considerarse indeterminado. Esto pretende ser de naturaleza ejemplar solamente.

**[0072]** Además de las comparaciones de umbrales, otros procedimientos para correlacionar los resultados del ensayo con una clasificación de pacientes (aparición o no aparición de la enfermedad, la probabilidad de un resultado, etc.) incluyen árboles de decisión, conjuntos de reglas, procedimientos bayesianos, y procedimientos de redes neuronales. Estos procedimientos pueden producir valores de probabilidad que representan el grado en que un paciente con sepsis pertenece a una clasificación fuera de una pluralidad de clasificaciones.

**[0073]** Las medidas de precisión de la prueba se pueden obtener tal como se describe en Fischer et al., Intensive Care Med. 29: 1043-51, 2003, y se utilizan para determinar la efectividad de un biomarcador determinado. Estas medidas incluyen sensibilidad y especificidad, valores predictivos, razones de probabilidad, razones de probabilidades de diagnóstico y áreas de curva ROC. El área bajo la curva ("AUC") de un gráfico ROC es igual a la probabilidad de que un clasificador clasifique un caso positivo elegido aleatoriamente sobre un caso negativo elegido aleatoriamente. El área bajo la curva ROC puede considerarse equivalente a la prueba U de Mann-Whitney, que evalúa la diferencia media entre las puntuaciones obtenidas en los dos grupos considerados si los grupos son de datos continuos, o a la prueba de rangos de Wilcoxon.

**[0074]** Tal como se describió anteriormente, las pruebas adecuadas pueden presentar uno o más de los siguientes resultados en estas diversas medidas: una especificidad mayor que 0,5, preferiblemente al menos 0,6, más preferiblemente al menos 0,7, aún más preferiblemente al menos 0,8, incluso más preferiblemente al menos 0,9 y lo más preferiblemente al menos 0,95, con una sensibilidad correspondiente mayor que 0,2, preferiblemente mayor que 0,3, más preferiblemente mayor que 0,4, aún más preferiblemente al menos 0,5, incluso más preferiblemente 0,6, aún más preferiblemente mayor que 0,7, aún más preferiblemente mayor que 0,8, más preferiblemente mayor que 0,9 y, lo más preferiblemente, mayor que 0,95; una sensibilidad mayor que 0,5, preferiblemente al menos 0,6, más preferiblemente al menos 0,7, aún más preferiblemente al menos 0,8, incluso más preferiblemente al menos 0,9 y lo más preferiblemente al menos 0,95, con una especificidad correspondiente mayor que 0,2, preferiblemente mayor que 0,3, más preferiblemente mayor que 0,4, aún más preferiblemente al menos 0,5, incluso más preferiblemente 0,6, aún más preferiblemente mayor que 0,7, aún más preferiblemente mayor que 0,8, más preferiblemente mayor que 0,9 y, lo más preferiblemente mayor que 0,95; al menos 75% de sensibilidad, combinada con al menos 75% de especificidad; un área de curva ROC mayor que 0,5, preferiblemente al menos 0,6, más preferiblemente 0,7, aún más preferiblemente al menos 0,8, incluso más preferiblemente al menos 0,9, y, lo más preferiblemente al menos 0,95; una relación de probabilidades diferente de 1, preferiblemente al menos aproximadamente 2 o más o aproximadamente 0,5 o menos, más preferiblemente al menos aproximadamente 3 o más o aproximadamente 0,33 o menos, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 4 o más o aproximadamente 0,25 o menos, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 5 o más o aproximadamente 0,2 o menos, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 10 o más o aproximadamente 0,1 o menos; una relación de probabilidades positiva (calculada como sensibilidad/(1-especificidad)) mayor que 1, al menos 2, más preferiblemente al menos 3, aún más preferiblemente al menos 5, y lo más preferiblemente al menos 10; y/o una relación de probabilidades negativa (calculada como (1-sensibilidad)/especificidad) de menos de 1, menos de o igual a 0,5, más preferiblemente menos de o igual a 0,3, y lo más preferiblemente menos de o igual a 0,1.

**[0075]** Indicios clínicos adicionales pueden combinarse con el resultado o resultados del ensayo de biomarcadores de sepsis. Otros indicios clínicos que pueden combinarse con el resultado o resultados del ensayo de biomarcadores de sepsis incluyen información demográfica (por ejemplo, peso, sexo, edad, raza), historial médico (por ejemplo, antecedentes familiares, tipo de cirugía, enfermedad preexistente, tal como aneurisma, insuficiencia cardíaca congestiva, preeclampsia, eclampsia, diabetes mellitus, hipertensión, enfermedad arterial coronaria, proteinuria o insuficiencia renal), puntuaciones de riesgo (puntuación APACHE, puntuación PREDICT, puntuación de riesgo TIMI para UA/NSTEMI, puntuación de riesgo Framingham), una medición de proteínas totales en orina, una tasa de

filtración glomerular, una tasa de filtración glomerular estimada, una tasa de producción de orina, una concentración de creatinina sérica o plasmática, una medición de antígeno papilar renal 1 (RPA1); una medición del antígeno papilar renal 2 (RPA2); una concentración de creatinina en orina, una excreción fraccional de sodio, una concentración de sodio en orina, una proporción de creatinina en orina con respecto a creatinina en suero o plasma, gravedad específica de orina, osmolalidad de orina, una proporción de nitrógeno de urea en orina con respecto a nitrógeno de urea en plasma, una proporción de BUN en plasma con respecto a creatinina y/o un índice de insuficiencia renal calculado como sodio en orina/(creatinina en orina/creatinina en plasma).

**[0076]** La combinación de resultados de ensayo/indicios clínicos de esta manera puede comprender el uso de regresión logística multivariada, modelado loglineal, análisis de redes neuronales, análisis n-de-m, análisis de árbol de decisiones, etc. Esta lista no pretende ser limitante.

#### Selección de un régimen de tratamiento

**[0077]** Una vez se obtiene un diagnóstico, el médico puede seleccionar fácilmente un régimen de tratamiento que sea compatible con el diagnóstico. El experto en la materia conoce los tratamientos apropiados para numerosas enfermedades descritas en relación con los procedimientos de diagnóstico descritos en el presente documento. Véase, por ejemplo, Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17th Ed. Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, NJ, 1999. Además, dado que los procedimientos y composiciones descritos en este documento proporcionan información de pronóstico, los marcadores descritos en este documento pueden usarse para controlar la evolución del tratamiento. Por ejemplo, un estado de pronóstico mejorado o empeorado puede indicar que un tratamiento particular es o no eficaz.

**[0078]** Un experto en la técnica entiende fácilmente que la presente invención está bien adaptada para llevar a cabo los objetivos y obtener los fines y ventajas mencionados, así como aquellos inherentes a la misma. Los ejemplos proporcionados en el presente documento son representativos de realizaciones preferidas y son ejemplares.

#### Ejemplo 1: Recogida de muestras de pacientes con sepsis

**[0079]** El objetivo de este estudio es recoger muestras de pacientes gravemente enfermos. Se inscribirán aproximadamente 1900 adultos que se espera que estén en la UCI durante al menos 48 horas. Para inscribirse en el estudio, cada paciente debe cumplir con todos los siguientes criterios de inclusión y ninguno de los siguientes criterios de exclusión:

##### Criterios de inclusión

hombres y mujeres de 18 años de edad o más;

Población de estudio 1: aproximadamente 300 pacientes que tienen al menos uno de: choque (PAS < 90 mmHg y/o necesidad de apoyo de vasopresores para mantener PAM > 60 mmHg y/o caída documentada en PAS de al menos 40 mmHg); y sepsis;

Población de estudio 2: aproximadamente 300 pacientes que tienen al menos uno de: antibióticos por vía intravenosa ordenados en la entrada de orden médica computarizada (CPOE) dentro de las 24 horas posteriores a la inscripción;

exposición a medio de contraste dentro de las 24 horas posteriores a la inscripción; aumento de la presión intraabdominal con insuficiencia cardíaca aguda descompensada; y trauma severo como la razón principal para la admisión en la UCI y que probablemente sea hospitalizado en la UCI durante 48 horas después de la inscripción;

Población de estudio 3: aproximadamente 300 pacientes que se espera que sean hospitalizados a través de un entorno de atención aguda (UCI o DE) con un factor de riesgo conocido de lesión renal aguda (por ejemplo, sepsis, hipotensión/choque (Choque = PA sistólica <90 mmHg y/o la necesidad de soporte vasopresor para mantener un PAM > 60 mmHg y/o una caída documentada en PAS > 40 mmHg), trauma mayor, hemorragia o cirugía mayor); y/o se espera que sean hospitalizados en la UCI durante al menos 24 horas después de la inscripción;

Población de estudio 4: aproximadamente 1000 pacientes que tienen 21 años de edad o más, dentro de las 24 horas posteriores a su ingreso en la UCI, se espera que tengan un catéter urinario permanente durante al menos 48 horas después de la inscripción, y que tengan al menos uno de las siguientes afecciones agudas dentro de las 24 horas previas a la inscripción:

- (i) puntuación SOFA respiratorio de  $\geq 2$  ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ ),
- (ii) puntuación SOFA cardiovascular de  $\geq 1$  ( $\text{PAM} < 70 \text{ mm Hg}$  y/o cualquier vasopresor requerido).

##### Criterios de exclusión

embarazo conocido; individuos institucionalizados; trasplante renal previo;

empeoramiento de la función renal de forma aguda conocido antes de la inscripción (por ejemplo, cualquier categoría de criterios RIFLE);

diálisis recibida (ya sea aguda o crónica) dentro de los 5 días previos a la inscripción o en una necesidad inminente de diálisis en el momento de la inscripción;

5 infección conocida con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o un virus de hepatitis;

cumple con cualquiera de los siguientes:

(i) sangrado activo con una necesidad anticipada de > 4 unidades de PRBC en un día;

(ii) hemoglobina < 7 g/dL;

10 (iii) cualquier otra afección que, en opinión del médico, contraindique la extracción de muestras de sangre en serie para fines de estudios clínicos;

cumple solo con el criterio de inclusión PAS < 90 mmHg establecida anteriormente, y no tiene choque en opinión del médico tratante o del investigador principal;

15 Después de obtener el consentimiento informado, se toman una muestra de sangre anticoagulada con EDTA (10 ml) y una muestra de orina (25-50 ml) de cada paciente. Se recogen, a continuación, muestras de sangre y orina a las 4 ( $\pm 0,5$ ) y 8 ( $\pm 1$ ) horas después de la administración de contraste (si corresponde); a las 12 ( $\pm 1$ ), 24 ( $\pm 2$ ), 36 ( $\pm 2$ ), 48 ( $\pm 2$ ), 60 ( $\pm 2$ ), 72 ( $\pm 2$ ) y 84 ( $\pm 2$ ) horas después de la inscripción y, a continuación, diariamente hasta del día 7 al día 14 mientras el sujeto está hospitalizado. La sangre se recoge mediante venopunción directa o mediante otro acceso venoso disponible, como una vaina femoral existente, una línea venosa central, una línea intravenosa periférica o un bloqueo hepático. Estas muestras de sangre del estudio se procesan en plasma en el sitio clínico, se congelan y se envían a Astute Medical, Inc., San Diego, CA. Las muestras de orina del estudio se congelan y se envían a Astute Medical, Inc.

#### 25 Ejemplo 2. Formato de inmunoensayo

25 **[0080]** Los analitos se miden utilizando técnicas de inmunoensayo de enzimas en sándwich estándar. Un primer anticuerpo que se une al analito se inmoviliza en pocillos de una microplaca de poliestireno de 96 pocillos. Los patrones de analito y las muestras de prueba se pipetea en los pocillos apropiados y cualquier analito presente es unido por el anticuerpo inmovilizado. Después de eliminar cualquier sustancia no unida, se agrega a los pocillos un segundo anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano picante que se une al analito, formando así complejos de sándwich con el analito (si está presente) y el primer anticuerpo. Después de un lavado para eliminar cualquier reactivo de anticuerpo-enzima no unido, se agrega a los pocillos una solución de sustrato que comprende tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno. El color se revela en proporción a la cantidad de analito presente en la muestra. El revelado del color se detiene y la intensidad del color se mide a 540 nm o 570 nm. Se asigna una concentración de analito a la muestra de prueba mediante comparación con una curva de patrón determinada a partir de los patrones del analito.

#### 35 Ejemplo 3. Uso de analito como marcador de sepsis

40 **[0081]** Los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) se clasificaron como positivos o negativos para la sepsis de acuerdo con el diagnóstico clínico en cada día de la inscripción hasta 6 días después.

45 **[0082]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis, y (cohorte 2) pacientes que no tuvieron sepsis en ningún día desde la inscripción hasta 6 días después (7 días en total). Se recogieron muestras de orina y plasma de cada paciente en las cohortes 1 y 2 el día de la inscripción. Las concentraciones del analito en estas muestras se midieron mediante procedimientos de inmunoensayo estándar utilizando reactivos de ensayo disponibles comercialmente. Se generó una curva de característica operativa del receptor (ROC) utilizando las concentraciones, y el rendimiento del analito se evaluó mediante el área bajo la curva ROC (AUC). Se calculó el valor p de dos colas del AUC para el analito, y si el valor p era inferior a 0,1, el AUC se consideraba estadísticamente significativo.

#### 50 Ejemplo 4. Uso de analito como marcador de la progresión a sepsis

55 **[0083]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que no tuvieron sepsis durante los 5 días antes de la inscripción, pero tuvieron sepsis en alguno de los siguientes 7 días (inscripción hasta 6 días después), y (cohorte 2) pacientes que no tuvieron sepsis en ninguno de los 5 días anteriores a la inscripción y en ninguno de los 7 días posteriores. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

#### 60 Ejemplo 5. Uso de analito como marcador de choque séptico.

65 **[0084]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis e hipotensión en el mismo día (choque séptico), y (Cohorte 2) pacientes que no tuvieron choque séptico en ningún día desde la inscripción hasta 6 días posteriores. Se clasificó a un paciente con hipotensión si su presión arterial sistólica era inferior a 90 mm Hg. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

Ejemplo 6. Uso del analito como marcador de progresión a choque séptico.

5 [0085] Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que no tuvieron choque séptico (véase el Ejemplo 5 para la definición) en ninguno de los 5 días antes de la inscripción pero tuvieron choque séptico en alguno de los 7 días posteriores (inscripción hasta 6 días después) y (Cohorte 2) pacientes que no tuvieron choque séptico en ninguno de los 5 días previos a la inscripción y en ninguno de los 7 días posteriores. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

10 Ejemplo 7. Uso del analito como marcador de muerte con sepsis.

15 [0086] Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis en algún día desde la inscripción hasta 6 días después y murieron dentro de los 30 días después de la inscripción, y (cohorte 2) pacientes que no murieron y los pacientes que murieron dentro de los 30 días después de la inscripción pero no tuvieron sepsis en ningún día desde la inscripción hasta 6 días después. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

20 Ejemplo 8. Uso del analito como marcador de muerte con choque séptico.

25 [0087] Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron choque séptico (véase el Ejemplo 5 para la definición) en cualquier día desde la inscripción hasta 6 días después y murieron dentro de los 30 días después de la inscripción, y (cohorte 2) pacientes que no murieron y pacientes que murieron dentro de los 30 días posteriores a la inscripción pero que no tuvieron choque séptico en ningún día desde la inscripción hasta los 6 días posteriores. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

Tabla 1 Utilización de biomarcadores en sépsis

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Macroglobulina alfa-2	S										S	
Angiogenina		S				S						
Receptor de angiopoyetina-1							S					
Proteína 3 relacionada con la angiopoyetina												S
Proteína 4 relacionada con la angiopoyetina								S			S	
Proteína 6 relacionada con la angiopoyetina							S	S	S	S		
Apolipoproteína A-II	S	S	S	S			S		S			
Apolipoproteína C-III	S	S	S	S	S	S	S				S	
Apolipoproteína (a)							S					
Cadherina-16		S			S	S						
Cadherina-3				S			S	S	S	S	S	
Antígeno de cáncer 19-9				S								
Molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1	S		S		S				S	S		
Molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 5					S		S		S		S	S
Caspasa-3, activa					S	S			S			

ES 2 794 448 T3

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Catepsina S	S		S	S				S	S	S	S	S
Quimiocina con motivo C-C 1	S		S	S	S							
Quimiocina con motivo C-C 15	S	S	S		S				S		S	S
Quimiocina con motivo C-C 17							S			S		
Quimiocina con motivo C-C 18	S	S	S	S	S	S	S		S		S	S
Quimiocina con motivo C-C 20	S	S	S				S	S		S		
Quimiocina con motivo C-C 21	S		S	S			S		S			
Quimiocina con motivo C-C 24					S							
Clusterina Péptido (insulina)	S			S	S	S	S				S	
Quimiocina con motivo C-X-C 11	S	S			S		S		S	S		
Quimiocina con motivo C-X-C 16	S	S		S			S		S			
Inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1	S	S	S	S	S	S					S	S
Proteína 1 que contiene el dominio DDRGK	S											
Receptor del factor de crecimiento epidérmico	S	S		S	S			S	S	S		
Epiregulina				S								
Molécula de adhesión de células epiteliales	S											
Receptor de eritropoyetina	S								S	S		
Factor de crecimiento de fibroblastos 19							S	S		S		
Factor de crecimiento de fibroblastos 23		S									S	
Galectina-3	S	S		S								
Polipéptido inhibidor gástrico	S	S	S	S								
Péptido similar al glucagón 1 (GLP-1: aa 98-127; aa 98-128)			S				S					
Glutación S-transferasa P								S				
Proteína de choque térmico beta-1								S				
Factor de crecimiento de unión a heparina 1					S							
Receptor del factor de crecimiento de hepatocitos						S		S		S		S
Receptor del factor de crecimiento similar a la insulina						S						

ES 2 794 448 T3

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6	S			S	S	S		S	S			
Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7	S	S			S	S	S					
Interferón alfa-2	S											
Interleucina-20	S	S	S	S	S							
Interleucina-21							S					
Interleucina-28A	S		S									
Interleucina-29	S		S				S		S	S		
Interleucina-33									S			
Involucrina							S				S	
Polipéptido amiloide de los islotes		S										
Queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10)	S		S									
Receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1	S			S			S		S			
Metaloelastasa de macrófagos	S				S	S						
Complejo de metaloproteinasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteinasa 2					S	S						
Inhibidor de metaloproteinasa 3	S				S	S	S		S			
Netrina-1		S			S	S		S	S	S	S	S
Netrina-4							S	S	S	S		
Molécula de adhesión de células neuronales							S	S		S		
Inhibidor alfa de NF-kappa-B		S			S						S	S
Nidogen-1	S						S		S	S		
Osteocalcina	S						S		S	S		S
Pappalisina-1	S		S	S	S		S		S	S	S	S
Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida)	S											
Probetacelulina	S											
Antígeno prostático específico		S										
Fosfatasa ácida prostática					S			S				
Homólogo de la proteína NOV											S	
Factor de crecimiento protransformante alfa	S	S		S			S				S	S
Ligando de glicoproteína de P-selectina 1		S		S			S	S	S	S		S
Globulina de unión				S								

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a hormonas sexuales												
Tenascina								S				
Trombospondina-2				S				S				
Linfopoyetina del estroma tímico	S	S			S		S		S			
Glicoproteína transmembrana NMB	S			S					S	S		
Factor trébol 3	S		S	S				S				
Antígeno de nefritis tubulointersticial	S											
Miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B	S		S	S			S				S	S
Miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8	S							S				
Proteína central Versican							S	S	S	S	S	

Claves para los 12 usos diferentes de los biomarcadores de la Tabla 1:

- 1 = uso de analito en orina como marcador de sepsis
  - 2 = uso de analito en orina como marcador de progresión a sepsis
  - 3 = uso de analito en orina como marcador de choque séptico
  - 4 = uso de analito en orina como marcador de progresión a choque séptico
  - 5 = uso de analito en orina como marcador de muerte con sepsis
  - 6 = uso de analito en orina como marcador de muerte con choque séptico
  - 7 = uso de analito en plasma como marcador de sepsis
  - 8 = uso de analito en plasma como marcador de progresión a sepsis
  - 9 = uso de analito en plasma como marcador de choque séptico
  - 10 = uso de analito en plasma como marcador de progresión a choque séptico
  - 11 = uso de analito en plasma como marcador de muerte con sepsis
  - 12 = uso de analito en plasma como marcador para muerte con choque séptico
- S = valor p de dos colas  $\leq 0,10$  para AUC

Ejemplo 9: recogida de muestras de pacientes con sepsis (2)

- 5 **[0088]** El objetivo de este estudio es recoger muestras de pacientes gravemente enfermos. Se inscribirán aproximadamente 800 adultos que se espera que estén en la UCI durante al menos 48 horas. Para inscribirse en el estudio, cada paciente debe cumplir con todos los siguientes criterios de inclusión y ninguno de los siguientes criterios de exclusión:
- 10 Criterios de inclusión  
hombres y mujeres de 21 años de edad o mayores, que se esperar que, dentro de las 24 horas posteriores a su ingreso en la UCI, tengan un catéter urinario permanente durante al menos 48 horas después de la inscripción y que tengan al menos una de las siguientes afecciones agudas dentro de las 24 horas antes de la inscripción:  
(i) puntuación SOFA respiratoria de  $\geq 2$  ( $PaO_2/FiO_2 < 300$ ),  
(ii) puntuación SOFA cardiovascular de  $\geq 1$  ( $PAM < 70$  mm Hg y/o cualquier vasopresor requerido).
- 15 Criterios de exclusión  
embarazo conocido;  
individuos institucionalizados;  
trasplante renal previo;  
empeoramiento de la función renal de forma aguda conocido antes de la inscripción (por ejemplo, cualquier categoría de criterios RIFLE);
- 20 diálisis recibida (ya sea aguda o crónica) dentro de los 5 días previos a la inscripción o en una necesidad inminente de diálisis en el momento de la inscripción;  
infección conocida con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o un virus de hepatitis;  
cumple con cualquiera de los siguientes:
- 25 (i) sangrado activo con una necesidad anticipada de  $> 4$  unidades de PRBC en un día;  
(ii) hemoglobina  $< 7$  g/dL;  
(iii) cualquier otra afección que, en opinión del médico, contraindique la extracción de muestras de sangre en serie

para fines de estudios clínicos;

cumple solo con el criterio de inclusión PAS < 90 mmHg establecida anteriormente, y no tiene choque en opinión del médico tratante o del investigador principal.

5 **[0089]** Después de obtener el consentimiento informado, se toman una muestra de sangre anticoagulada con EDTA (10 ml) y una muestra de orina (25-50 ml) de cada paciente. Se recogen, a continuación, muestras de sangre y orina a las 12 ( $\pm$  1), 24 ( $\pm$  2), 36 ( $\pm$  2), 48 ( $\pm$  2), 60 ( $\pm$  2), 72 ( $\pm$  2) y 84 ( $\pm$  2) horas después de la inscripción y, a continuación, diariamente hasta del día 7 al día 14 mientras el sujeto está hospitalizado. La sangre se recoge mediante venopunción directa o mediante otro acceso venoso disponible, tal como una vaina femoral existente, una  
10 línea venosa central, una línea intravenosa periférica o un bloqueo hepático. Estas muestras de sangre del estudio se procesan en plasma en el sitio clínico, se congelan y se envían a Astute Medical, Inc., San Diego, CA. Las muestras de orina del estudio se congelan y se envían a Astute Medical, Inc.

15 Ejemplo 10. Uso de analito como marcador de sepsis

**[0090]** Los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) se clasificaron como positivos o negativos para la sepsis de acuerdo con el diagnóstico clínico en cada día de la inscripción hasta 6 días después.

20 **[0091]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis, y (cohorte 2) pacientes que no tuvieron sepsis en ningún día desde la inscripción hasta 6 días después (7 días en total). Se recogieron muestras de orina y plasma de cada paciente en las cohortes 1 y 2 el día de la inscripción. Las concentraciones del analito en estas muestras se midieron mediante procedimientos de inmunoensayo estándar utilizando reactivos de ensayo disponibles comercialmente. Se generó una curva de característica operativa del receptor (ROC) utilizando las concentraciones, y el rendimiento del analito se evaluó mediante el área bajo la curva ROC (AUC). Se calculó el  
25 valor p de dos colas del AUC para el analito, y si el valor p era inferior a 0,1, el AUC se consideraba estadísticamente significativo.

30 Ejemplo 11. Uso de analito como marcador de la progresión a sepsis

**[0092]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que no tuvieron sepsis durante los 5 días antes de la inscripción, pero tuvieron sepsis en alguno de los siguientes 7 días (inscripción hasta 6 días después), y (cohorte 2) pacientes que no tuvieron sepsis en ninguno de los 5 días anteriores a la inscripción y en ninguno de los 7 días posteriores. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

35 Ejemplo 12. Uso de analito como marcador de choque séptico.

40 **[0093]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis e hipotensión en el mismo día (choque séptico), y (Cohorte 2) pacientes que no tuvieron choque séptico en ningún día desde la inscripción hasta 6 días posteriores. Se clasificó a un paciente con hipotensión si su presión arterial sistólica era inferior a 70 mm Hg. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

45 Ejemplo 13. Uso del analito como marcador de progresión a choque séptico.

**[0094]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que no tuvieron choque séptico (véase el Ejemplo 5 para la definición) en ninguno de los 5 días antes de la inscripción pero tuvieron choque séptico en alguno de los 7 días posteriores (inscripción hasta 6 días después) y (Cohorte 2) pacientes que no tuvieron choque séptico en ninguno de los 5 días previos a la inscripción y en ninguno de los 7 días posteriores. Las recogidas y análisis de  
50 muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

55 Ejemplo 14. Uso del analito como marcador de muerte con sepsis.

**[0095]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron sepsis en algún día desde la inscripción hasta 6 días después y murieron dentro de los 30 días después de la inscripción, y (cohorte 2) pacientes que no murieron y los pacientes que murieron dentro de los 30 días después de la inscripción pero no tuvieron sepsis en ningún día desde la inscripción hasta 6 días después. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

60 Ejemplo 15. Uso del analito como marcador de muerte con choque séptico.

65 **[0096]** Se definieron dos cohortes como (cohorte 1) pacientes que tuvieron choque séptico (véase el Ejemplo 5 para la definición) en cualquier día desde la inscripción hasta 6 días después y murieron dentro de los 30 días después de la inscripción, y (cohorte 2) pacientes que no murieron y pacientes que murieron dentro de los 30 días posteriores a la inscripción pero que no tuvieron choque séptico en ningún día desde la inscripción hasta los 6 días

posteriores. Las recogidas y análisis de muestras de orina y plasma usando las concentraciones de analito medidas fueron las mismas que en el Ejemplo 3 anterior.

5

Tabal 2. Uso de biomarcadores en sepsis

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6	S	S	S	S					S	S		
Clusterina	S	S	S	S					S	S	S	S
Miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B	S	S	S	S							S	
factor trébol 3	S	S	S	S								
Trombospondina-2	S	S	S	S								
Catepsina S	S	S	S	S								
Receptor celular del virus de la hepatitis A 1	S	S	S	S							S	S
Anhidrasa carbónica 9	S	S	S	S								
Homólogo de la proteína NOV	S	S	S	S								
Interleucina-29	S	S	S	S							S	S
Quimiocina con motivo C-X-C 11	S	S	S	S								
Proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7	S	S	S	S							S	
Quimiocina con motivo C-X-C 16	S	S	S	S					S		S	S
Quimiocina con motivo C-C 15	S	S	S	S								
Galectina-3	S	S	S	S								
Glicoproteína transmembrana NMB	S	S	S	S							S	
Quimiocina con motivo C-C 18	S	S	S	S							S	
Proteína 4 relacionada con la angiopoyetina	S	S	S	S							S	
Glucagón	S	S	S									
Antígeno de cáncer 15-3	S	S	S	S								
Endostatina	S		S	S								
Proteína 6 relacionada con la angiopoyetina	S	S	S	S				S				
Receptor del factor de crecimiento epidérmico	S	S	S	S								
Nidogen-1	S	S	S	S					S			
Apolipoproteína(a)	S	S	S	S					S	S	S	S
Molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1	S		S	S							S	S
Receptor de angiopoyetina 1	S		S	S							S	S

ES 2 794 448 T3

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida)	S		S									
Receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1	S	S	S	S							S	
Miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8	S		S	S								
Colagenasa 3	S		S	S								
Quimiocina con motivo C-C 20	S		S						S		S	S
Molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 5	S		S	S								
Péptido similar a glucagón 1	S	S	S									
Quimiocina con motivo C-C 17	S	S	S	S								
Inhibidor alfa de NF-kappa-B	S		S	S								
Factor de crecimiento endotelial vascular D			S	S					S			
Inhibidor de metaloproteinasa 3	S		S	S								
Osteocalcina		S						S	S			S
Linfopoyetina del estroma tímico	S	S	S	S					S			
Receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular	S		S	S								
Involucrina	S		S	S					S		S	
Factor de crecimiento protransformante alfa	S	S	S	S								
Ligando de glicoproteína de P-selectina 1	S		S	S								
Insulina	S										S	
Molécula de adhesión de células neuronales				S			S					S
Apolipoproteína C-III	S		S	S							S	
Citocina SL	S	S										
Factor de crecimiento de unión a heparina I							S				S	S
Angiogenina							S				S	S
Epirregulina	S		S	S								
Proteína morfogenética ósea 7	S	S	S	S								
Glutación transferasa P	S-						S				S	

Nombre preferido	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Antígeno de cáncer 19-9							S					
Apolipoproteína A-II							S				S	
Molécula de adhesión de células epiteliales	S											S
Cadherina-3		S		S			S				S	S
Tenascina							S				S	
Péptido C			S	S								
Quimiocina con motivo C-C 21			S	S								
Proteína 3 relacionada con la angiopoyetina			S	S								
Interleucina-21											S	
Proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88												S
Receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular				S								
Polipéptido amiloide de islotes				S								
Receptor de factor de crecimiento similar a insulina 1					S	S						
Metaloestasa de macrófagos					S							
Factor de crecimiento de fibroblastos 19					S							

---

Claves para los 12 usos diferentes de los biomarcadores de la Tabla 1:  
 1 = uso de analito en orina como marcador de sepsis  
 2 = uso de analito en orina como marcador de progresión a sepsis  
 3 = uso de analito en orina como marcador de choque séptico  
 4 = uso de analito en orina como marcador de progresión a choque séptico  
 5 = uso de analito en orina como marcador de muerte con sepsis  
 6 = uso de analito en orina como marcador de muerte con choque séptico  
 7 = uso de analito en plasma como marcador de sepsis  
 8 = uso de analito en plasma como marcador de progresión a sepsis  
 9 = uso de analito en plasma como marcador de choque séptico  
 10 = uso de analito en plasma como marcador de progresión a choque séptico  
 11 = uso de analito en plasma como marcador de muerte con sepsis  
 12 = uso de analito en plasma como marcador para muerte con choque séptico  
 S = valor p de dos colas  $\leq 0,10$  para AUC

---

**[0097]** Los ejemplos proporcionados en el presente documento son representativos de realizaciones preferidas y son ejemplares.

- 5 **[0098]** De este modo, por ejemplo, en cada caso en el presente documento, cualquiera de los términos "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" pueden ser reemplazados por cualquiera de los otros dos términos.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento in vitro de diagnóstico de SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico o síndrome de disfunción multiorgánica (MODS) en un sujeto, o la asignación de un riesgo de pronóstico para uno o más resultados clínicos para un sujeto que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS, comprendiendo el procedimiento: realizar uno o más ensayos configurados para detectar la proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina, y opcionalmente además uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteínasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteínasa 2, inhibidor de metaloproteínasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappaliscina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointersticial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3 en una muestra de fluido corporal obtenida del sujeto para el procedimiento de diagnóstico o en una muestra de orina para el procedimiento de evaluación del riesgo de pronóstico para proporcionar uno o más resultados del ensayo; y
- comparar el resultado o resultados del ensayo en forma de una concentración de proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo de la presencia o ausencia de SIRS, la presencia o ausencia de sepsis, la presencia o ausencia de sepsis grave, la presencia o ausencia de choque séptico, la presencia o ausencia de MODS, o
- comparar el resultado o resultados del ensayo en forma de una concentración de proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo del riesgo de pronóstico de uno o más resultados clínicos, en el que el uno o más resultados clínicos comprenden un riesgo de pronóstico de mortalidad para el sujeto que padece o se cree que padece SIRS, sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS.
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de relación comprende comparar cada uno de los resultados del inmunoensayo con un nivel umbral predeterminado correspondiente seleccionado para proporcionar una sensibilidad o especificidad de al menos 0,7 para el diagnóstico de sepsis, en comparación con SIRS no progresado a sepsis.
3. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de relación comprende comparar cada uno de los resultados del inmunoensayo con un nivel umbral predeterminado correspondiente seleccionado para proporcionar una sensibilidad o especificidad de al menos 0,7 para el diagnóstico de sepsis grave, en comparación con SIRS no progresado a sepsis grave.
4. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de relación comprende comparar cada uno de los resultados del inmunoensayo con un nivel umbral predeterminado correspondiente seleccionado para proporcionar una sensibilidad o especificidad de al menos 0,7 para el diagnóstico de choque séptico, en comparación con SIRS no progresado a choque séptico.

5. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de relación comprende comparar cada uno de los resultados del inmunoensayo con un nivel umbral predeterminado correspondiente seleccionado para proporcionar una relación de probabilidades de al menos 2 para el riesgo de pronóstico de mortalidad.
- 5 6. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicha etapa de relación comprende comparar cada uno de los resultados del inmunoensayo con un nivel umbral predeterminado correspondiente seleccionado para proporcionar una relación de probabilidades de al menos 2 para el riesgo de pronóstico de un empeoramiento de sepsis a sepsis grave; de sepsis o sepsis grave a choque séptico; de sepsis, sepsis grave o choque séptico a MODS.
- 10 7. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que la muestra de fluido corporal se selecciona del grupo que consiste en sangre, suero y plasma, o en el que el procedimiento es un procedimiento de pronóstico, y el procedimiento diferencia entre un riesgo de futura sepsis y un riesgo de futura sepsis grave o choque séptico.
- 15 8. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el procedimiento es un procedimiento de pronóstico, y el procedimiento diferencia entre un riesgo de futura sepsis o sepsis grave y un riesgo de futuro choque séptico, o en el que el procedimiento es un procedimiento de diagnóstico, y el procedimiento diferencia entre un diagnóstico de sepsis y un diagnóstico de sepsis grave o choque séptico, o en el que el procedimiento es un procedimiento de diagnóstico, y el procedimiento diferencia entre un diagnóstico de sepsis o sepsis grave y un diagnóstico de choque séptico.
- 20 9. Procedimiento in vitro para evaluar niveles de biomarcadores en una muestra de fluido corporal, que comprende: realizar, sobre una muestra de fluido corporal obtenida de un sujeto seleccionado para la evaluación basado en la determinación de que el sujeto está en riesgo de un diagnóstico futuro o actual de sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS, uno o más ensayos de unión a analito configurados para detectar la proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina, y opcionalmente además uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en macroglobulina alfa-2, angiogenina, receptor de angiopoyetina-1, proteína 3 relacionada con la angiopoyetina, proteína 4 relacionada con la angiopoyetina, proteína 6 relacionada con la angiopoyetina, apolipoproteína A-II, apolipoproteína C-III, apolipoproteína (a), proteína morfogenética ósea 7, cadherina-16, cadherina-3, antígeno de cáncer 15-3, antígeno de cáncer 19-9, anhidrasa carbónica 9, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 1, molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, caspasa-3, activa, catepsina S, quimiocina con motivo C-C 1, quimiocina con motivo C-C 15, quimiocina con motivo C-C 17, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 20, quimiocina con motivo C-C 21, quimiocina con motivo C-C 24, clusterina, colagenasa 3, péptido C (insulina), quimiocina con motivo C-X-C 11, quimiocina con motivo C-X-C 16, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1, proteína 1 que contiene el dominio DDRGK, endostatina, receptor del factor de crecimiento epidérmico, Epiregulina, molécula de adhesión de células epiteliales, receptor de eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos 19, factor de crecimiento de fibroblastos 23, galectina-3, polipéptido inhibidor gástrico, glucagón, péptido similar al glucagón 1, glutatión S-transferasa P, proteína de choque térmico beta-1, factor de crecimiento de unión a heparina 1, receptor celular del virus de la hepatitis A 1, receptor del factor de crecimiento de hepatocitos, insulina, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 6, interferón alfa-2, interleucina-20, interleucina-21, interleucina-28A, interleucina-29, interleucina-33, involucrina, polipéptido amiloide de los islotes, queratina, citoesqueleto 1 de tipo II (mezcla de queratina-1, -10), receptor de ácido hialurónico endotelial de vasos linfáticos 1, metaloelastasa de macrófagos, complejo de metaloproteinasa de matriz 9: inhibidor de metaloproteinasa 2, inhibidor de metaloproteinasa 3, proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, netrina-1, netrina-4, molécula de adhesión de células neuronales, inhibidor alfa de NF-kappa-B, Nidogen-1, Osteocalcina, Pappalisina-1, Poli[ADP-ribosa] polimerasa 1 (escindida), Probetacelulina, Antígeno prostático específico, Fosfatasa ácida prostática, homólogo de la proteína NOV, factor de crecimiento protransformante alfa, ligando de glicoproteína de P-selectina 1, globulina de unión a hormonas sexuales, citocina SL, tenascina, trombospondina-2, linfopoyetina del estroma tímico, glicoproteína transmembrana NMB, factor trébol 3, antígeno de nefritis tubulointerstitial, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 10B, miembro de la superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral 8, proteína central Versican, proteína morfogenética ósea 7, anhidrasa carbónica 9, caspasa-9, colagenasa 3, granzima M, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina, sustrato receptor de insulina 1, queratina, citoesqueleto 6 de tipo II (mezcla 6A, -6B, -6C), proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88, citocina SL, factor de crecimiento endotelial vascular D, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 y receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3, mediante la introducción de la muestra de fluido corporal obtenida del sujeto en un instrumento de ensayo que (i) pone en contacto una pluralidad de reactivos que se unen específicamente para la detección de la pluralidad de biomarcadores con la muestra de orina, y (ii) genera uno o más resultados de ensayo indicativos de la unión de cada biomarcador que se analiza con un reactivo de unión específico respectivo en la pluralidad de reactivos;
- 55 60 65 comparar el resultado o resultados del ensayo en forma de una concentración de proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con un umbral predeterminado seleccionado para ser indicativo de un riesgo de diagnóstico futuro o actual de sepsis, sepsis grave, choque séptico o MODS, y mostrar el uno o más resultados del ensayo a partir del instrumento de ensayo como un resultado cuantitativo en una forma legible para el ser humano.

10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que el sujeto se selecciona para la evaluación en base a una determinación de que el sujeto tiene sepsis y está en riesgo de un diagnóstico futuro de sepsis grave, choque séptico o MODS, o
- 5 en el que el sujeto se selecciona para la evaluación en base a una determinación de que el sujeto tiene sepsis o sepsis grave y está en riesgo de un diagnóstico futuro de choque séptico o MODS, o en el que se combinan una pluralidad de resultados de ensayo usando una función que convierte dichos resultados de ensayo en un único resultado compuesto, o
- 10 en el que el sujeto se selecciona para la evaluación en base a una determinación de que el sujeto está en riesgo de un diagnóstico futuro de sepsis grave, choque séptico o MODS dentro de un período seleccionado del grupo que consiste en 21 días, 14 días, 7 días, 5 días, 96 horas, 72 horas, 48 horas, 36 horas, 24 horas y 12 horas, o
- en el que el sujeto se selecciona para la evaluación en base a una determinación de que el sujeto está en riesgo de un diagnóstico futuro de una o más de una lesión en la función renal, función renal reducida, mejora en la función renal e IRA futura, o
- 15 en el que la pluralidad de ensayos son inmunoensayos realizados mediante (i) introducción de la muestra de orina en un dispositivo de ensayo que comprende una pluralidad de anticuerpos, al menos uno de los cuales se une a cada biomarcador que se analiza, y (ii) generación de un resultado de ensayo indicativo de la unión de cada biomarcador a su anticuerpo respectivo.