(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 807 960**

(51) Int. CI.:

G01N 33/68 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.04.2017 PCT/EP2017/058387**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2017 WO17174786**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2017 E 17716849 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3440467**

(54) Título: **Método para diagnosticar infecciones pulmonares postoperatorias en pacientes que se sometieron a cirugía**

(30) Prioridad:

08.04.2016 EP 16305408

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.02.2021

(73) Titular/es:

LUNGINNOV (20.0%)
1 rue du Professeur Calmette
59000 Lille, FR;
INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE) (20.0%);
UNIVERSITÉ DE LILLE (20.0%);
INSTITUT PASTEUR DE LILLE (20.0%) y
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE -CNRS- (20.0%)

(72) Inventor/es:

LASSALLE, PHILIPPE;
CHOCRON, SIDNEY y
DE FREITAS CAIRES, NATHALIE

(74) Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

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

Método para diagnosticar infecciones pulmonares postoperatorias en pacientes que se sometieron a cirugía

Sector de la técnica

La presente invención se refiere a métodos y kits para el diagnóstico temprano de una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía.

Estado de la técnica

Las infecciones pulmonares postoperatorias después de una cirugía cardiaca tienen una incidencia entre el 5,7 % y el 21,6 % [1] y provocan la muerte del 8,1 % al 31,9 % de los casos [2-4]. A menudo, se llega tarde a su diagnóstico a causa de varios elementos confundidores debidos a la inflamación preoperatoria y a la falta de pruebas de diagnóstico de los marcadores de infección actuales en el periodo postoperatorio inmediato.

El endocan (molécula 1 específica de células endoteliales o ESM-1) es un proteoglicano que puede detectarse en la sangre humana y se produce y secreta por células endoteliales, principalmente de pulmón y de forma más accesoria, de riñón [5, 6]. La expresión selectiva por el endotelio pulmonar se rige por una región proximal de su promotor (Tsai et al, 2001). El endocan puede tomar parte en las interacciones moleculares con un amplio intervalo de fracciones activas biológicamente, que son esenciales para la regulación de procesos biológicos tales como la adhesión celular, la migración, la proliferación y la neovascularización [7]. El endocan se une al Antígeno-1 asociado a la función leucocitaria (LFA-1), inhibe las interacciones de LFA-1 con la Molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM-1) endotelial y por tanto es capaz de modular la migración de leucocitos desde el flujo sanguíneo hacia los tejidos [8,9]. La síntesis y secreción de endocan están regulada positivamente mediante citocinas proinflamatorias como el TNFα o la Interleucina-1b y lipopolisacáridos [5].

Se ha observado que el endocan proporciona buenos resultados en la detección temprana de la lesión pulmonar aguda después de un traumatismo de gran importancia o en pacientes de choque séptico [10, 11]. En un estudio reciente Kao *et al.* informaron de que el endocan es fiable para evaluar la gravedad de una neumonía adquirida de la comunidad [12]. Guzel *et al.* también encontraron una correlación entre los niveles de endocan plasmáticos y la tromboembolia [13]. Se ha mostrado que otros biomarcadores son de interés en la detección de infección. Por una parte, la procalcitonina (PCT) se ha probado ya en la cirugía cardiaca, pero su papel todavía sigue siendo controvertido. Algunos autores describen claramente su correlación con el comienzo de infecciones postoperatorias [14] y también con la neumonía asociada con ventiladores [15]. Otros autores, como Chakravarthy *et al.*, no encontraron diferencias significativas de niveles de PCT de suero entre pacientes con o sin infecciones bacterianas después de una cirugía cardiaca [16]. Por otra parte, la proteína reactiva con C (PRC; en inglés, C-reactive protein, CRP), otro marcador utilizado ampliamente, parece ser menos específico y alcanza su pico más tarde que la PCT para detectar infecciones [17, 18].

Por tanto, existe la necesidad de un diagnóstico temprano para las infecciones pulmonares postoperatorias. Dicho diagnóstico ha de ser fácil de realizar, con resultados fiables. Además, dicho diagnóstico se debe realizar de forma temprana después de una cirugía, de modo que se traten rápidamente a los pacientes afectados. Esto evita esperar demasiado tiempo, incluso unos pocos días, para obtener el diagnóstico.

El documento WO2010/064223 se refiere a un método de estimación del riesgo de un paciente para desarrollar una infección del tracto respiratorio tras una cirugía de gran importancia.

Aouifi a *et al*.: "usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients", CRITICAL CARE MEDICINE, LIPPINCOTT WILLIAMS y WILKINS, EE.UU., Vol. 28, nº. 9, 1 de septiembre de 2000 (01-09-2000), páginas 3171-3176 se refiere a la determinación del valor de la procalcitonina (PCT) como un marcador de infección postoperatoria después de una cirugía cardiaca.

Objeto de la invención

Los inventores ahora han identificado que el nivel de endocan en sangre, particularmente en plasma, en las horas siguientes a una cirugía, está altamente correlacionado con la presencia de una infección pulmonar postoperatoria. De hecho, la medida de la concentración de endocan a las 6 h después de una cirugía es altamente predictiva de una infección pulmonar postoperatoria.

Por tanto, la presente invención se refiere a un método para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, que comprende una etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía.

Descripción detallada de la invención

Los inventores muestran que el nivel de endocan sanguíneo representa una herramienta para el diagnóstico temprano de una infección pulmonar postoperatoria en pacientes que se sometieron a cirugía.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un método para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, que comprende una etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 25 h después de una cirugía. Dicho método es fiable y muestra una sensibilidad muy buena y una especificidad muy buena, como se explica en el ejemplo.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "paciente que se sometió a cirugía" se refiere a un paciente que se sometió a cualquier tipo de cirugía. En particular, puede ser cirugía cardiaca, cirugía cerebral, cirugía abdominal o cirugía ortopédica.

Como se utiliza en el presente documento la expresión "infección pulmonar postoperatoria" quiere decir una infección que sucede después de una cirugía. Las infecciones pulmonares postoperatorias se asocian con la neumonía asociada a la asistencia sanitaria (HCAP; del inglés, health-care associated pneumonia) (o neumonía intrahospitalaria) y presentan un elevado riesgo de patógenos resistentes a múltiples fármacos. Las comorbilidades también son un problema con tales infecciones. Las infecciones pulmonares postoperatorias son una clase diferente de una neumonía adquirida en la comunidad (CAP), que se produce fuera de las instalaciones sanitarias.

Las infecciones pulmonares postoperatorias se producen por una infección bacteriana, más que por un virus. Se asocian con tos, flema, dificultad para respirar, dolor en el pecho, temperatura por encima de los 38 °C y el pulso por encima de 100 por minuto. Hasta la mitad de la gente puede tener signos de pecho asintomáticos después de una cirugía y hasta un cuarto desarrollan una enfermedad asintomática. El principal factor de riesgo es el tipo de cirugía, con mayores riesgos asociados con cirugía del pecho, abdomen y cabeza y cuello, en comparación con otras operaciones. Otros factores de riesgo incluyen la edad por encima de 50 años, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC; en inglés, COPD), el hábito de fumar, hipoalbuminemia y ser dependiente funcionalmente.

Preferentemente, la infección pulmonar postoperatoria diagnosticada de acuerdo con la invención es una neumonía intrahospitalaria. Preferentemente, es una neumonía bacteriana, preferentemente debida a una bacteria elegida de varios bacilos Gram negativos y *Staphylococcus aureus*. Entre los diversos bacilos Gram negativos, se pueden citar *Haemophilus spp.,* tales como *H. influenzae, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumonia* y *Enterobacter spp.* Preferentemente, la neumonía intrahospitalaria es una neumonía vírica, que puede deberse a la gripe y al virus sincitial respiratorio o al citomegalovirus.

Como se utiliza en el presente documento el término "endocan" o "ESM-1" tiene su significado general en la técnica y se refiere a la molécula-1 específica de células endoteliales que es un proteoglicano de sulfato de dermatán de 50 kDa expresado por las células endoteliales en pulmón y riñón (Lassalle P, Molet S, Janin A, *et al.*: ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. J Biol Chem 1996; 271:20458-20464) y se puede detectar en sangre humana (Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, *et al.*: Characterization of the secreted form of endothelial-cell-specific molecule 1 by specific monoclonal antibodies. J Vasc Res 2000; 37:417-425; Bechard D, Gentina T, Delehedde M, *et al*.: Endocan is a novel chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycan that promotes hepatocyte growth factor/scatter factor mitogenic activity. J Biol Chem 2001; 276:48341-48349).

Como se usa en el presente documento, la expresión "muestra de sangre" se refiere a sangre completa, una muestra de suero o de plasma.

Una vez que se prepara la muestra de sangre del sujeto, se puede medir la concentración de ESM-1 mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la concentración de ESM-1 se puede medir utilizando técnicas estándar electroforéticas y de inmunodiagnóstico, incluyendo inmunoensayos tales como la competición, reacción directa o ensayos de tipo sándwich. Dichos ensayos incluyen, pero no se limitan a, transferencias de Western; pruebas de aglutinación; inmunoensayos marcados con enzimas y mediados, tales como ELISA; ensayos de tipo biotina/avidina; radioinmunoensayos; inmunoelectroforesis; inmunoprecipitación, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía de exclusión por tamaño, afinidad en fase sólida, etc.

En una realización particular, tales métodos comprenden poner en contacto la muestra de sangre con un ligando capaz de interactuar selectivamente con ESM-1 presente en la muestra de sangre.

El ligando puede ser generalmente un anticuerpo que puede ser policlonal o monoclonal, preferentemente monoclonal. Los anticuerpos policlonales dirigidos contra ESM-1 se pueden sensibilizar de acuerdo con métodos conocidos administrando el antígeno o epítopo adecuado a un animal hospedador seleccionado, por ejemplo, de cerdos, vacas, caballos, conejos, cabras, ovejas y ratones, entre otros. Se pueden utilizar diversos adyuvantes conocidos en la técnica para potenciar la producción de anticuerpos. Aunque los anticuerpos de utilidad en la práctica de la invención pueden ser policlonales, se prefieren los anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales contra ESM-1 se pueden preparar y aislar utilizando cualquier técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpos mediante

líneas celulares continuas en cultivo. Las técnicas para la producción y el aislamiento incluyen, aunque no se limitan a, la técnica de los hibridomas originalmente descrita por Kohler y Milstein (1975); la técnica del hibridoma de linfocitos B humanos (Cote *et al.*, 1983); y la técnica del hibridoma EBV (Cole *et al.* 1985). Como alternativa, las técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º 4.946.778) se pueden adaptar para producir anticuerpos monocatenarios anti-ESM-1. Los anticuerpos útiles en la práctica de la presente invención también incluyen los fragmentos anti-ESM-1, que incluyen pero no se limitan a fragmentos F(ab')2, que se pueden generar mediante digestión con pepsina de una molécula de anticuerpo intacta y fragmentos Fab, que se pueden generar reduciendo los puentes disulfuro de los fragmentos F(ab')2. Como alternativa, se pueden construir bibliotecas de expresión de Fab y/o scFv para permitir una rápida identificación de fragmentos que tienen la especificidad deseada para ESM-1. Por ejemplo, se puede utilizar una presentación en fagos de anticuerpos. En tal método, se expresan fragmentos Fab monocatenarios (scFv) o fragmentos Fab sobre la superficie de un bacteriófago adecuado, por ejemplo, M13. En resumen, se extirpan las células de bazo de un hospedador adecuado, por ejemplo, ratón, que se ha inmunizado con una proteína. Las regiones codificantes de las cadenas VL y VH se obtienen de dichas células que producen el anticuerpo deseado contra la proteína. A continuación, estas regiones codificantes se fusionan con un extremo de una secuencia del fago. Una vez que el fago se inserta en un vehículo adecuado, por ejemplo, bacterias, el fago presenta el fragmento de anticuerpo. Se puede facilitar también una presentación en fagos de anticuerpos mediante métodos combinatorios conocidos por los expertos en la materia. Los fragmentos de anticuerpos presentados mediante un fago, a continuación se pueden utilizar como parte de un inmunoensayo.

Los anticuerpos monoclonales anti-ESM-1 están comercialmente disponibles por Lunginnov (Lille, Francia). Por ejemplo, el anticuerpo MEP08 antiendocan/ESM-1 humano detecta el extremo N del endocan humano (Bechard *et al.* (2000) J. Vasc. Res. 37:417-425; Grigoriu *et al.* (2006) Clin. Cancer Res. 12:4575-4582; Maurage *et al.* (2009) Exp. Neurol. 68:836-844; Leroy *et al.* (2010) Histopathology 56:180-187; Sarrazin *et al.* (2010) J. Canc. Sci. Ther. 2:47-52). El clon del anticuerpo MEP19 antiendocan / ESM-1 humano detecta el extremo C del endocan humano (Bechard *et al.* (2000) J. Vasc. Res. 37:417-425; Grigoriu *et al.* (2006) Clin. Cancer Res. 12:4575-4582; Maurage *et al.* (2009) Exp. Neurol. 68:836-844; Leroy *et al.* (2010) Histopathology 56:180-187; Sarrazin *et al.* (2010a) J. Canc. Sci. Ther. 2:47-52; y Sarrazin *et al.* (2010b) Glycobiology 20:1380-1388).

En otra realización, el ligando puede ser un aptámero. Los aptámeros son una clase de molécula que representa una alternativa a los anticuerpos en términos de reconocimiento molecular. Los aptámeros son secuencias de oligonucleótidos u oligopéptidos con la capacidad de reconocer prácticamente cualquier clase de moléculas diana con elevada afinidad y especificidad. Dichos ligandos se pueden aislar a través de evolución sistemática de ligandos mediante enriquecimiento exponencial (SELEX; del inglés, Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) de una biblioteca de secuencias aleatorias, como se describe en Tuerk C. y Gold L., 1990. La biblioteca de secuencias aleatorias puede obtenerse mediante síntesis química combinatoria de ADN. En esta biblioteca, cada miembro es un oligómero lineal, modificado químicamente con el tiempo, de una secuencia única. Las posibles modificaciones, usos y ventajas de esta clase de moléculas se han revisado en Jayasena S.D., 1999. Los aptámeros peptídicos consisten en regiones variables de anticuerpos conformacionalmente restringidas presentadas mediante una plataforma proteica, como tioxirredoxina A de E. coli, que se selecciona a partir de bibliotecas combinatorias mediante dos métodos híbridos (Colas *et al.,*1996).

Los ligandos de la invención, tales como anticuerpos o aptámeros, se pueden marcar con una molécula o sustancia detectable, tal como una molécula fluorescente, una molécula radioactiva u otros marcadores conocidos en la técnica. En la técnica se conocen marcadores que habitualmente proporcionan una señal (directa o indirectamente).

Como se usa en el presente documento, el término "marcado", respecto al anticuerpo, pretende abarcar el marcaje directo del anticuerpo o aptámero mediante el acoplamiento (es decir, el enlace físico) de una sustancia detectable, tal como un agente radioactivo o un fluoróforo (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC) o ficoeritrina (PE) o indocianina (Cy5)) al anticuerpo o aptámero, así como un marcaje de la sonda o el anticuerpo por reactividad con una sustancia detectable. Un anticuerpo o aptámero de la invención puede estar marcado con una molécula radioactiva por cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, las moléculas radioactivas incluyen, pero no se limitan a, átomos radiactivos para estudios de gammagrafía, tales como 1123, 1124, In111, Re186, Re188.

Los ensayos mencionados anteriormente habitualmente implican la unión del ligando (es decir, anticuerpo o aptámero) en un soporte sólido. Los soportes sólidos que pueden utilizarse en la práctica de la invención incluyen sustratos tales como nitrocelulosa (por ejemplo, en forma de membrana o de pocillo de microvaloración); cloruro de polivinilo (por ejemplo, hojas o pocillos de microvaloración); látex de poliestireno (por ejemplo, perlas o placas de microvaloración); fluoruro de polivinilidina; papel diazotado; membranas de nailon; perlas activadas, perlas magnéticamente sensibles y similares.

Más particularmente, puede utilizarse un método ELISA, en donde los pocillos de una placa de microvaloración se revisten con un conjunto de anticuerpos contra ESM-1. A continuación, se añade a los pocillos revestidos una muestra de sangre que contiene o se sospecha que contiene ESM-1. Después de un periodo de incubación suficiente para permitir la formación de complejos anticuerpo-antígeno, la(s) placa(s) se puede(n) lavar para eliminar las fracciones no unidas y se añade una molécula de unión secundaria marcada de forma detectable. Se deja que la molécula de

unión secundara reaccione con cualquier proteína marcadora capturada en la muestra, se lava la placa y se detecta la presencia de la molécula de unión secundaria utilizando métodos bien conocidos en la técnica.

Normalmente, está disponible en el mercado un kit ELISA de Lunginnov (Lille, Francia): EndoMark HI ® (Kit ELISA para detectar endocan humano). Se describen otros métodos ELISA en: Bechard *et al.* (2000) J. Vasc. Res. 37:417-425; Grigoriu *et al.* (2006) Clin. Cancer Res. 12:4575-4582; Leroy *et al.* (2010) Histopathology 56:180-187; Sarrazin *et al.* (2006) BBA Reviews 1765:25-37; Sarrazin *et al.* (2010a) J. Canc. Sci. Ther. 2:47-52; Scherpereel *et al.* (2003) Cancer Res. 63:6084-6089; Scherpereel *et al.* (2006) Crit. Care Med. 34(2):532-537.

La medición de la concentración de ESM-1 (con o sin métodos basados en inmunoensayos) puede incluir también la separación de las proteínas: centrifugación basada en el peso molecular de la proteína; electroforesis basada en la masa y en la carga; HPLC basada en la hidrofobicidad; cromatografía de exclusión por tamaño basada en el tamaño; y afinidad en fase sólida basada en la afinidad de la proteína por la fase sólida particular que se utilice. Una vez separada, la ESM-1 se puede identificar basándose en un "perfil de separación" conocido, por ejemplo, tiempo de retención, para dicha proteína que se mide usando técnicas estándar. Como alternativa, las proteínas separadas se pueden detectar y medir mediante, por ejemplo, un espectrómetro de masas.

El método de la invención es para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, mediante la medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía. Preferentemente, el punto temporal está comprendido entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente una cirugía cardiaca.

El método adicionalmente muestra una sensibilidad muy buena y una especificidad muy buena, como se muestra en el ejemplo.

El método de la invención puede comprender una etapa de comparación de la concentración de endocan (ESM-1) con un valor umbral predeterminado. Dicha comparación es indicativa si dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria. Por ejemplo, el valor umbral predeterminado representa la concentración medida en promedio en pacientes sanos, en concreto, pacientes que no desarrollarán una infección pulmonar postoperatoria. Normalmente, una concentración más elevada que el valor umbral predeterminado determinado en pacientes sanos predice una infección pulmonar postoperatoria, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente 6 h después de una cirugía.

Preferentemente, la etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 8 ng/ml, preferentemente mayor de 10 ng/ml, preferentemente mayor de 12 ng/ml, preferentemente mayor de 14 ng/ml, preferentemente mayor de 15, preferentemente mayor de 15,9 ng/ml, preferentemente mayor de 16 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

Preferentemente, dicho valor umbral se correlaciona con al menos el 80 % de sensibilidad y al menos el 80 % de especificidad.

Preferentemente, la etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal comprendido 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 15,9 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

Preferentemente, la etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal comprendido 6 h después de una cirugía cardiaca y dicha concentración es mayor de 15,9 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria. De hecho, dicho valor umbral se correlaciona con al menos el 80 % de sensibilidad y al menos un 100 % de especificidad.

Preferentemente, el método de la invención comprende adicionalmente una etapa de medición de la concentración de procalcitonina, en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente 6 h después de una cirugía. Preferentemente, dicha etapa de medición de la concentración de procalcitonina en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía, preferentemente una cirugía cardiaca y si dicha concentración es mayor de 0,6 µg/l, preferentemente mayor de 0,65 µg/l y la concentración de endocan es mayor de 8 ng/ml, preferentemente mayor de 8,28 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

El método de la invención también puede comprender adicionalmente una etapa de medición de la concentración de la proteína reactiva con C, en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido

entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente 6 h después de una cirugía. Preferentemente, dicha etapa de medición de la concentración de proteína reactiva con C en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía, preferentemente una cirugía cardiaca y si dicha concentración es mayor de 18 mg/l, preferentemente mayor de 18,08 mg/l y la concentración de endocan es mayor de 12 ng/ml, preferentemente mayor de 12,24 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

El método de la invención también puede comprender adicionalmente una etapa preliminar de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre de dicho paciente, antes de una cirugía. Preferentemente, dicha medida se realiza en un punto temporal como máximo 12 h antes de una cirugía, preferentemente en la inducción de la anestesia general de dicha cirugía.
En tal caso, dicha etapa preliminar puede comprender la comparación de la concentración de ESM-1 con un valor umbral predeterminado. Dicha comparación es indicativa si dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria. Por ejemplo, el valor umbral predeterminado representa la concentración medida en promedio en pacientes sanos, en concreto, pacientes que no desarrollarán una infección pulmonar postoperatoria. Normalmente, una concentración más baja que el valor umbral predeterminado definido en pacientes sanos predice una infección pulmonar postoperatoria.
Preferentemente, dicha etapa preliminar se realiza en un punto temporal como máximo 12 h antes de una cirugía, preferentemente en la inducción de la anestesia general de dicha cirugía y si dicha concentración es menor de 3 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.
Preferentemente, el método para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía de acuerdo con la invención, comprende las siguientes etapas:

- una etapa preliminar que comprende una etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, antes de una cirugía, preferentemente en la inducción de la anestesia general de dicha cirugía,
- una etapa posterior de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía y

si la concentración obtenida en la etapa preliminar es más baja que un valor umbral, preferentemente 3 ng/ml y si la concentración obtenida en la etapa posterior es mayor de 8 ng/ml, preferentemente mayor de 15, preferentemente mayor de 15,9 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

Por tanto, el método de la divulgación puede ser útil para la clasificación temprana de pacientes afectados por una infección pulmonar postoperatoria y a continuación puede utilizarse para elegir rápidamente el tratamiento preciso. Por ejemplo, los pacientes en riesgo de desarrollar una infección pulmonar postoperatoria pueden recibir un tratamiento y una atención más intensivos, en comparación con un paciente con un riesgo escaso. Por tanto, tal método puede ayudar al médico a tomar una elección sobre un tratamiento terapéutico que puede consistir, por consiguiente, en administrar fármacos precisos a los pacientes. Los costes de los tratamientos pueden adaptarse, por tanto, a los pacientes después de una cirugía.

Un objeto adicional de la divulgación se refiere a al uso de ESM-1 como un marcador de una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía.

Todavía otro objeto de la divulgación se refiere a un kit para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria, que comprende los medios para medir la concentración de ESM-1. El kit puede incluir un anticuerpo o un conjunto de anticuerpos, como se ha descrito anteriormente. En una realización particular, el anticuerpo o el conjunto de anticuerpos están marcados como se ha descrito anteriormente. El kit puede contener también otros agentes y materiales empaquetados adecuadamente, necesarios para el protocolo de detección particular, incluyendo las matrices en fase sólida, cuando sea aplicable y estándares. El kit puede contener también medios para la detección de otros marcadores de infección pulmonar postoperatoria, tales como la proteína reactiva con C (PRC) o la procalcitonina (PCT).

Por último, la presente divulgación también se refiere a un método para tratar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, que comprende las etapas de:

a) diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, que comprende una etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía, preferentemente las 5 h y las 25 h después de una cirugía, preferentemente entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía, preferentemente 6 h después de una cirugía; y
b) si dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria, a continuación tratar a dicho paciente con un antibiótico o un antivírico.

El tratamiento con antibióticos es altamente preferido, porque la infección bacteriana es la causa más común de infección pulmonar postoperatoria. Por tanto, entre los antibióticos posibles, se pueden citar las penicilinas, tales como la penicilina y la amoxicilina; cefalosporinas, tales como cefalexina, cefoxitina, cefotaxima, cefepima y ceftobiprol; macrólidos, tales como eritromicina, claritromicina y azitromicina; fluoroquinolonas, tales como ciprofloxacina, levofloxacina y ofloxacina; sulfonamidas, tales como cotrimazol y trimetoprima; tetraciclinas, tales como tetraciclina y doxiciclina; y aminoglucósidos, tales como gentamicina y tobramicina.

Entre los tratamientos antivíricos posibles, se pueden citar aciclovir y ganciclovir.

La invención se ilustrará adicionalmente mediante las siguientes figuras y ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos y figuras no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes del alcance de la presente invención.

Descripción de las figuras

Figura 1. Curvas de eficacia diagnóstica (ROC; del inglés, Receiver Operating Characteristic) de los niveles plasmáticos de biomarcadores 6 horas después de finalizar la cirugía.

A: solo endocan,
B: asociación endocan-PCT y
C: asociación endocan-PRC.

EJEMPLO 1: Interés del nivel de endocan en plasma en la predicción de la infección pulmonar después de una cirugía cardiaca

Ese estudio piloto se dirigió a evaluar el interés del nivel plasmático de endocan en la predicción de una infección pulmonar después de una cirugía cardiaca.

Pacientes y métodos

En un estudio cohorte previo prospectivo (estudio NGAL [19]), se reclutaron 166 pacientes adultos con fallo renal crónico preoperatorio que se sometieron a cirugía cardiaca con o sin el uso de derivación cardiopulmonar. El fallo renal crónico se definió como un aclaramiento de la creatinina de Crockroft < 60 ml/min. Se excluyeron los pacientes sometidos a operaciones de emergencia, pacientes con patologías inflamatorias, infecciosas u oncológicas en curso, mujeres embarazadas, adultos bajo protección legal y gente que denegó su consentimiento. Las muestras de sangre se tomaron en envases EDTA en 5 puntos temporales: en la inducción de la anestesia general (valor inicial) y 6, 12 y 24 horas después del final de la cirugía. Las muestras de sangre se centrifugaron a 2250±250 rpm durante 13±2 minutos a temperatura ambiente (18-25 °Celsius) y el plasma se dividió en alícuotas en tubos de 0,5 ml (Eppendorf, Le Pecq, Francia) y se congelaron a -20 °Celsius para análisis posteriores.

El estudio NGAL se aprobó por el comité de Ética local (CPP EST II, registrado con el número 10/544) y se registró en la base de datos de ClinicalTrials.gov con el número NCT01227122. Todos los participantes proporcionaron un consentimiento informado por escrito, en donde dieron autorización para conservar y usar su suero para otros propósitos de investigación. La neumonía intrahospitalaria se diagnosticó sobre la presencia de todos los criterios siguientes: fiebre >38,8 °C, crepitaciones, leucocitosis (>11.000/cm^3), detección de infiltrado(s) pulmonar(es) nuevo(s) o progresivo(s) que no se explica(n) de otra manera y secreción respiratoria purulenta que produce el crecimiento del patógeno relevante. Como prueba adicional de neumonía intrahospitalaria se observó un cultivo positivo de sangre, fluido pleural o lavado broncoalveolar.

En el estudio NGAL, cinco pacientes presentaron una infección pulmonar postoperatoria. Se emparejó a los pacientes aleatoriamente (1/3) con 15 pacientes del mismo estudio quienes tuvieron un desenlace sin complicaciones. No hubo diferencia estadística entre edad, sexo o función renal entre los 2 grupos.

Se midieron endocan, PCT y PRC en la colección de plasma. El endocan se midió usando el kit ELISA de Lunginnov llamado EndoMark® HI, que se basa en un ensayo inmunoenzimático (Lunginnov SAS, Lille, Francia). El intervalo de medición es de 0,625 a 5 ng/ml. Durante el periodo de estudio, la imprecisión entre ensayos fue del 12 %, según una muestra de control de calidad dirigida a 3,5 ng/ml. La PCT y la PRC se midieron utilizando analizadores cobas®8000 de Roche (Roche Diagnostics, Meylan, Francia), utilizando un kit de inmunoensayo de PCT (BRAHMS ThermoFisher Scientific, Asnières-sur-Seine, Francia) y un kit inmunoturbidimétrico CRP Gen3 (Roche Diagnostics, Meylan, Francia), respectivamente. El laboratorio HUPC observó todos los controles de calidad recomendados (controles de calidad internos y externos) para todos los biomarcadores habituales probados durante el periodo de estudio.

Los inventores analizaron la capacidad para detectar complicaciones infecciosas postoperatorias tempranas de cada biomarcador y sus asociaciones.

Análisis estadístico

Las variables continuas se presentan como medias ± desviación típica, las variables categóricas como números (porcentaje). Las variables cuantitativas se compararon mediante pruebas t de Student y pruebas de Whitney, según su distribución. Las asociaciones de diferentes biomarcadores se compararon mediante la realización de curvas ROC. La fiabilidad del análisis se examinó mediante el cálculo del área bajo la curva, el valor del punto de corte, la especificidad, la sensibilidad y el valor predictivo. La validez de nuestros biomarcadores únicos o sus asociaciones como predictores de diagnóstico adecuados se calculó mediante el índice Youden. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando SAS versión 9.2 (SAS Institute Inc. Cary. Carolina del Norte, EE.UU.).

RESULTADOS

Cinética de endocan

El promedio fue de 78+/-10 años entre los 5 pacientes con infección pulmonar y de 77+/-7 entre aquellos con desenlace sin complicaciones (p=0,49). No hubo diferencia significativa en el BMI entre los pacientes que presentaron infección postoperatoria y aquellos con desenlace sin complicaciones (respectivamente: 31+/-10 frente a 24+/-3, p=0,12), Diabetes mellitus (respectivamente: 2 pacientes (40 %) frente a 1 paciente (7 %), p=0,14), fracción de eyección ventricular izquierda (respectivamente: 60+/-12 frente a 57+/-14, p=0,55), aclaramiento de la creatinina preoperatoria (respectivamente: 44+/-13 frente a 47+/-9 ml/min/1,73m^2, p=0,67). Por el contrario, todos los pacientes (100 %) con infección pulmonar y 6 pacientes (40 %) con desenlace sin complicaciones fueron hombres (p=0,04).

La cinética de los niveles sanguíneos de endocan muestra un incremento progresivo a lo largo del tiempo en pacientes con infecciones pulmonares, pero también en pacientes con desenlace sin complicaciones (Tabla 1).

Tabla 1: Niveles en plasma de endocan, PCT y PRC preoperatorios, 6 h, 12 h y 24 h de acuerdo con la infección pulmonar posterior

Biomarcador	Cronología	Infección pulmonar	Media ± DT	P valor
Endocan	Preoperatorio	No	3,07 ± 2,37	0,69
		Sí	2,21 ± 1,47	
	6 h	No	6,44 ± 3,16	0,03
		Sí	24,16 ± 15,64	
	12 h	No	9,79 ± 7,18	0,07
		Sí	25,27 ± 14,35	
	24 h	No	13,17 ± 6,68	0,63
		Sí	15,14 ± 15,29	
PCT	Preoperatorio	No	0,05 ± 0,03	0,26
		Sí	0,11 ± 0,12	
	6 h	No	0,90 ± 1,70	0,11
		Sí	4,32 ± 7,03	
	12 h	No	1,32 ± 2,43	0,22
		Sí	6,13 ± 9,65	
	24 h	No	2,04 ± 3,15	0,6
		Sí	6,49 ± 11,08	
PRC	Preoperatorio	No	3,38 ± 4,91	0,19
		Sí	16,81 ± 29,41	
	6 h	No	15,18 ± 9,39	0,01
		Sí	48,54 ± 41,29	
	12 h	No	51,83 ± 18,09	0,03
		Sí	102,8 ± 65,21	
	24 h	No	137,91 + 51,03	0,1
		Sí	197,76 ± 89,29	
PCT: Procalcitonina; PRC: Proteína reactiva con C				

Pruebas de diagnóstico de biomarcadores:

Los pacientes con infecciones pulmonares tuvieron niveles significativamente más elevados de endocan a las 6 h postoperatoriamente que los pacientes con desenlace sin complicaciones (p=0,03) (Tabla 1). Para estos pacientes, cuando el diagnóstico de neumonía se estableció 53 +/- 20 horas después de la operación y el tratamiento de

antibióticos comenzó únicamente tras un promedio de 62 +/- 27 horas. La curva ROC para endocan a las 6 horas mostró la mejor prueba de diagnóstico para la detección de infecciones pulmonares, con un AUC (área bajo la curva; del inglés, area under the curve) de 0,84 y una sensibilidad del 80 % y una especificidad del 100 % para un valor de punto de corte de 15,9 ng/ml (Fig. 1A). Los niveles de PCT no mostraron diferencias relevantes entre los pacientes infectados y no infectados. Los niveles de PRC a las 6 y 12 horas se correlacionaron con infecciones pulmonares postoperatorias con un p valor de 0,01 y 0,03 respectivamente.

Pruebas de diagnóstico de biomarcadores combinados:

La asociación de biomarcadores mostró que endocan y PCT tomados juntos presentan una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 87 % a las 6 horas, con valores de punto de corte de 8,28 ng/ml para endocan y 0,65 ng/ml para PCT (Fig. 1B). La asociación de endocan y PRC tuvieron una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 93 % a las 6 horas, con valores de punto de corte de 12,24 ng/ml para endocan y 18,08 mg/l para PRC (Fig. 1C).

REFERENCIAS:

A lo largo de la presente solicitud, describen el estado de la técnica diversas referencias a la que pertenece esta invención.

1. Michalopoulos A, Geroulanos S, Rosmarakis ES, Falagas ME. Frequency, characteristics, and predictors of microbiologically documented nosocomial infections after cardiac surgery. Eur J Cardiothorac Surg 2006;29:456-60.

2. Melsen WG, Rovers MM, Groenwold RH, Bergmans DC, Camus C, Bauer TT, Hanisch EW, Klarin B, Koeman M, Krueger WA, Lacherade JC, Lorente L, Memish ZA, Morrow LE, Nardi G, van Nieuwenhoven CA, O'Keefe GE, Nakos G, Scannapieco FA, Seguin P, Staudiger T, Topeli A, Ferrer M, Bonten MJ: Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomized prevention studies. Lancet Infect Dis 2013, 13:665-671.

3. Nguile-Makao M, Zahar JR, Francais A, Tabah A, Garrouste-Orgeas M, Allaouchiche B, Goldgran-Toledano D'Azoulay E, Adrie C, Jamali S, Souweine B, Timsit JF: Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: respective impact of main characteristics at ICU admission and VAP onset using conditional logistic regression and multi-state models. Intensive Care Med 2010, 36:781-789.

4. Cunnion KM, Weber DJ, Broadhead WE, Hanson LC, Pieper CF, Rutala WA: Risk factors for nosocomial pneumonia: comparing adult critical-care populations. Am J Resp Crit Care Med 1996, 153:158-162.

5. Lassalle P, Molet S, Janin A, Heyden JV, Tavernier J, Fiers W, *et al.* ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. J Biol Chem 1996;271(34):20458-64.

6. Sarrazin S, Adam E, Lyon M, Depontieu F, Motte V, Landolfi C, *et al.* Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): a potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. Biochim Biophys Acta 2006; 1765(1):25-37.

7. Kali A, Shetty KS: Endocan: Anovel circulating proteoglycan. Indian J Pharmacol 2014; 46(6):579-583.

8. Béchard D, Scherpereel A, Hammad H, Gentina T, Tsicopoulos A, Aumercier M, *et al.* Human endothelial-cell specific molecule-1 binds directly to the integrin CD11a/CD18(LFA-1) and blocks binding to intercellular adhesion molecule-1. J Immunol 2001;167(6):3099-106.

9. Tissier S, Lancel S, Marechal X, Mordon S, Depontieu F, Scherpereel A, *et al.* Calpain inhibitors improve myocardial dysfunction and inflammation induced by endotoxin in rats. Shock 2004;21(4):352-7.

10. Palud A, Parmentier-Decrucq E, Pastre J, De Freitas Caires N, Lassalle P, Mathieu D: Evaluation of endothelial biomarkers as predictors of organ failures in septic shock patients. Cytokine 2015;73(2):213-218.

11. Mikkelsen ME, Shah CV, Scherpereel A, Lanken PN, Lassalle P, Bellamy SL, Localio AR, Albelda SM, Meyer NJ, Christie JD. Lower serum endocan levels are associated with the development of acute lung injury after major trauma. J Crit Care 2012;27(5): 522.e11-7

12. Kao SJ, Chuang CY, Tang CH, Lin CH, Bien MY, Yu MC, Bai KJ, Yang SF, Chien MH. Plasma endothelial cell-specific molecule-1 (ESM-1) in management of community-acquired pneumonia. Clin Chem Lab Med 2014;52(3):445-51.

13. Güzel A, Duran L, Koksal N, Torun AC, Alaçam H, Ekiz BC, Murat N. Evaluation of serum endothelial cell specific molecule-1 (endocan) levels as a biomarker in patients with pulmonary thromboembolism. Blood Coagul Fibrinolysis 2014;25(3):272-6

14. Jebali MA, Hausfater P, Abbes Z, Aouni Z, Riou B, Ferjani M. Assessment of the accuracy of procalcitonin to diagnose postoperative infection after cardiac surgery. Anesthesiology 2007; 107(2):232-8.

15. Jiao J, Wang M., Zhang J, Shen K, Liao X, Zhou X. Procalcitonin as a diagnostic marker of ventilator-associated pneumonia in cardiac surgery patients. Exp Ther Med 2015;9(3):1051-1057.

16. Chakravarthy M, Kavaraganahalli D, Pargaonkar S, Hosur R, Harivelam C, Bharadwaj A, Raghunathan A. Elevated postoperative serum procalcitonin is not indicative of bacterial infection in cardiac surgical patients. Ann Card Anaesth 2015;18(2):210-4.

17. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis. 2004;39(2):206-17.

18. Dong Z, Jianxin Z, Haraguchi G, Arai H, Mitaka C. Procalcitonin for the differential diagnosis of infectious and non-infectious systemic inflammatory response syndrome after cardiac operation. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu

Yi Xue 2014;26(7):478-9.
19. Perrotti A, Miltgen G, Chevet-Noel A, Durst C, Vernerey D, Bardonnet K, Davani S, Chocron S: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as early predictor of acute kidney injury after cardiac surgery in adults with chronic kidney failure. Ann Thorac Surg 2015;99(3):864-9.
20. Meisner M, Rauschmayer C, Schmidt J, Feyrer R, Cesnjevar R, Bredle D, Tschaikowsky K. Early increase of procalcitonin after cardiovascular surgery in patients with postoperative complications. Intensive Care Med 2002;28(8): 1094-102.
21. Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. Intensive Care Med 1998;24(7):680-4.
22. Rothenburger M, Markewitz A, Lenz T, Kaulbach HG, Marohl K, Kuhlmann WD, Weinhold C. Detection of acute phase response and infection. The role of procalcitonin and C-reactive protein. Clin Chem Lab Med 1999;37(3):275-9.
23. Shehabi Y, Seppelt I. Pro/Con debate: Is procalcitonin useful for guiding antibiotic decision making in critically ill patients? Crit Care 2008;12(3):211.

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar una infección pulmonar postoperatoria en un paciente que se sometió a cirugía, que comprende una etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía.

2. El método según la reivindicación 1, en donde el punto temporal está comprendido entre las 5 h y las 12 h después de una cirugía.

3. El método según las reivindicaciones 1 o 2, en donde el paciente se sometió a cirugía cardiaca, cirugía cerebral, cirugía abdominal o cirugía ortopédica.

4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la muestra de sangre es una muestra de sangre completa, suero o plasma.

5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la infección pulmonar postoperatoria es una neumonía intrahospitalaria.

6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde comprende adicionalmente una etapa de comparación de la concentración de endocan con un valor umbral predeterminado, que es indicativo de si dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal entre 3 h y 30 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 8 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la etapa de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 15,9 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde comprende adicionalmente una etapa de medición de la concentración de procalcitonina, en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía.

10. El método según la reivindicación 9, en donde la etapa de medición de la concentración de procalcitonina en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor que 0,6 µg/l y la concentración de endocan es mayor de 8 ng/ml entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

11. El método según la reivindicación 9, en donde la etapa de medición de la concentración de procalcitonina en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 0,65 µg/l y la concentración de endocan es mayor de 8,28 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

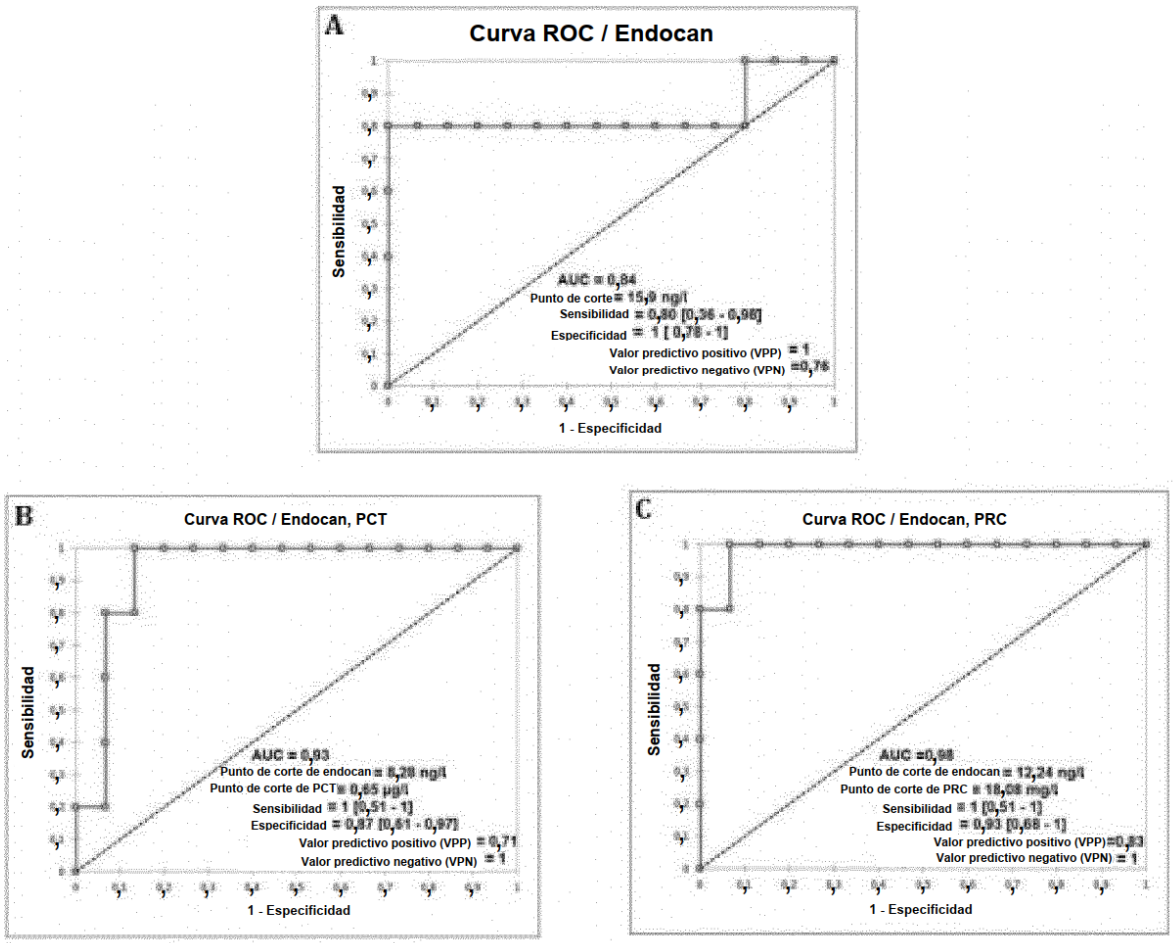
12. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde comprende adicionalmente una etapa de medición de la concentración de proteína reactiva con C, en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, en el punto temporal comprendido entre las 3 h y las 30 h después de una cirugía.

13. El método según la reivindicación 12, en donde la etapa de medición de la concentración de proteína reactiva con C en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor que 18/l y la concentración de endocan es mayor de 12 ng/ml entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

14. El método según la reivindicación 12, en donde la etapa de medición de la concentración de proteína reactiva con C en una muestra de sangre se realiza en un punto temporal de 6 h después de una cirugía y si dicha concentración es mayor de 18,08 mg/l y la concentración de endocan es mayor de 12,24 ng/ml, entonces dicho paciente está en riesgo de verse afectado por una infección pulmonar postoperatoria.

15. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde comprende una etapa preliminar de medición de la concentración de endocan en una muestra de sangre obtenida de dicho paciente, antes de una cirugía, en la inducción de la anestesia general de dicha cirugía.

Figura 1


A
Curva ROC / Endocan
Sensibilidad
1 - Especificidad
AUC = 0,84
Punto de corte = 15,9 ng/l
Sensibilidad = 0,80 [0,36 - 0,98]
Especificidad = 1 [0,78 - 1]
Valor predictivo positivo (VPP) = 1
Valor predictivo negativo (VPN) =0,76
B
Curva ROC / Endocan, PCT
Sensibilidad
1 - Especificidad
AUC = 0,93
Punto de corte de endocan = 5,28 ng/l
Punto de corte de PCT = 0,65 µg/l
Sensibilidad = 1 [0,51 - 1]
Especificidad = 0,87 [0,61 - 0,97]
Valor predictivo positivo (VPP) = 0,71
Valor predictivo negativo (VPN) = 1
C
Curva ROC / Endocan, PRC
Sensibilidad
1 - Especificidad
AUC =0,98
Punto de corte de endocan = 12,24 ng/l
Punto de corte de PRC = 18,08 mg/l
Sensibilidad = 1 [0,51 - 1]
Especificidad = 0,93 [0,68 - 1]
Valor predictivo positivo (VPP)=0,83
Valor predictivo negativo (VPN) = 1