

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. Mai 2008 (22.05.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/058517 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 33/50 (2006.01)

(74) Anwalt: **SIMANDI, Claus**; Höhenstrasse 26, 53773 Hen-
nef (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2007/002037

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG,
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL,
PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. November 2007 (11.11.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2006 053 442.5
12. November 2006 (12.11.2006) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **BRAHMS AKTIENGESellschaft** [DE/DE];
Neuendorferstr. 25, 16761 Henningsdorf (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BERGMANN, An-
dreas** [DE/DE]; Baumläuferweg 47, 12351 Berlin (DE).
MORGENTHALER, Nils [DE/DE]; Heiligenseestr.
121 F, 13503 Berlin (DE). **PAPASSOTIRIOU, Jana**
[DE/DE]; Sven-Hedin-Str. 45, 14163 Berlin (DE).
STRUCK, Joachim [DE/DE]; Zerndorfer Weg 52A,
13465 Berlin (DE). **MÜLLER, Beat** [CH/CH]; Bruder-
holzallee 196, CH-4059 Basel (CH).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: DIAGNOSIS AND RISK STRATIFICATION OF INFECTIONS AND CHRONIC DISEASES OF THE RESPIRA-
TORY TRACT AND LUNGS BY MEANS OF PROVASOPRESSIN, PARTICULARLY COPEPTIN OR NEUROPHYSIN II

(54) Bezeichnung: DIAGNOSE UND RISIKOSTRATIFIZIERUNG VON INFEKTIONEN UND CHRONISCHEN ERKRAN-
KUNGEN DER ATEMWEGE UND LUNGE MITTELS PROVASOPRESSIN, INSBESONDERE COPEPTIN ODER NEURO-
PHYSIN II

(57) Abstract: The invention relates to a method for diagnosing and/or stratifying the risk of infections or chronic diseases of the
respiratory tract and lungs, particularly lower respiratory tract infections and chronic obstructive pulmonary disease. In said method,
provasopressin (proAVP) or fragments or partial peptides thereof, especially copeptin or neurophysin II, is/are determined. The
invention further relates to suitable biomarker combinations for in-vitro diagnosis.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder
chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge, insbesondere der tiefen Atemwegsinfektion (LRTI: Lower Respiratory Tract
Infections) und COPD ("chronic obstructive pulmonary disease"), wobei eine Bestimmung des ProVasopressins (proAVP) oder Frag-
menten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II erfolgt. Ferner betrifft die Erfindung hierzu geeignete
Kombinationen von Biomarkern zur in-vitro Diagnostik.



WO 2008/058517 A2

**Diagnose und Risikostratifizierung von Infektionen und
chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge mittels
proVasopressin, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II**

5

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose und / oder
Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen
.0 Erkrankungen der Atemwege und Lunge, insbesondere der tiefen
Atemwegsinfektion (LRTI: Lower Respiratory Tract Infections)
und COPD ("chronic obstructive pulmonary disease"), wobei eine
Bestimmung des Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und
Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II
.5 erfolgt. Ferner betrifft die Erfindung hierzu geeignete
Kombinationen von Biomarkern zur in-vitro Diagnostik.

Zwecks einer geeigneten Therapie, bedarf es einer frühen
Diagnose und Differenzierung der Infektionen oder chronischen
20 Erkrankungen der Atemwege und Lunge bereits in der Notaufnahme
in Verbindung mit der Notwendigkeit klinische Entscheidungen
zu treffen. Aufgrund unspezifischer Symptome (Atemnot) bei
Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und
Lunge ist sowohl die Differenzierung und Abgrenzung von
25 anderen Erkrankungen als auch die Erkennung der konkreten
Infektion oder chronischen Erkrankung der Atemwege und Lunge
wesentlich.

Copeptin (auch: C-terminales proAVP) ist in WO 2006/018315

(BRAHMS AG) als Biomarker zur in-vitro Diagnose von Herzerkrankungen und zugehörigen pulmonaren Fehlfunktionen („pulmonary disorders“) beschrieben. Ein hierzu gehöriger Copeptin-Assay wird in Morgenthaler et al. (Nils G. Morgenthaler, Joachim Struck, Christine Alonso and Andreas Bergmann, Assay for the Measurement of Copeptin, a Stable Peptide Derived from the Precursor of Vasopressin Clinical Chemistry 52: 112-119, 2006) offenbart.

Im Stand der Technik ist die Procalcitonin (PCT)-Bestimmung beschrieben zwecks Untersuchung zur Abgrenzung einer bakteriellen Sepsis (Schwellenwert $>0,5$ ng/mL) von anderen Krankheitsursachen (EP0656121). PCT ist ebenfalls in Zusammenhang mit Pneumonien in der Literatur beschrieben, wobei sich die Untersuchungen hinsichtlich der Diagnose vor allem auf die Diskriminierung von unterschiedlichen Erregertypen bei bereits diagnostizierter Pneumonie beziehen (Prat C, Dominguez J, Andreo F, Blanco S, Pallares A, Cuchillo F, Ramil C, Ruiz-Manzano J, Ausina V, Procalcitonin and neopterin correlation with aetiology and severity of pneumonia, J Infect. 52(3) (2006): pp169-177 und Masia M, Gutierrez F, Shum C, Padilla S, Navarro JC, Flores E, Hernandez I, Masia M, Gutierrez F, Shum C, Padilla S, Navarro JC, Flores E, Hernandez I, Chest 128(4) (2005): pp 2223-2239, Boussekey N, Leroy O, Georges H, Devos P, d'Esquivan T, Guery B, Diagnostic and prognostic values of admission procalcitonin levels in community-acquired pneumonia in an intensive care unit. Infection 33(4) (2005): pp 257-63). In einer Arbeit von

Zhou et al (Zhou CD et al Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi
Xue. 2006 Jun,18(6),370-2) wird PCT als diagnostischer Marker
für die frühe Diagnose einer Ventilator-assoziierten Pneumonie
auf einer Intensivstation vorgestellt. Ebenfalls als
5 prognostischer Marker ist das PCT bei Pneumonien beschrieben
(Prat et al. 2006 (supra) und Masia M et al. 2005 (supra),
Boussekey N et al. 2005 (supra), Christ-Crain M, Morgenthaler
NG, Stolz D, Muller C, Bingisser R, Harbarth S, Tamm M, Struck
J, Bergmann A, Muller B, Pro-adrenomedullin to predict
10 severity and outcome in community-acquired pneumonia, Crit
Care 10(3) (2006): pp R96). Es liegen zudem Untersuchungen
vor, bei denen gezeigt wurde, dass mit Hilfe von PCT bei
Patienten mit Verdacht auf Infektionen der unteren Atemwege
(einschließlich Pneumonien) bei einer
15 Schwellenwertkonzentration von $>0,1$ ng/mL bzw. $>0,25$ ng/mL
klinisch relevante Infektionen (darunter ebenfalls bakterielle
Pneumonien), die einer Antibiotikatherapie bedürfen,
detektiert werden (Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R,
Muller C, Miedinger D, Huber PR, Zimmerli W, Harbarth S, Tamm
20 M, Muller B, Procalcitonin Guidance of Antibiotic Therapy in
Community-acquired Pneumonia: A Randomized Trial, Am J Respir
Crit Care Med 174(1) (2006), pp. 84-93 und Christ-Crain M,
Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M,
Muller B, Effect of procalcitonin-guided treatment on
25 antibiotic use and outcome in lower respiratory tract
infections: cluster-randomised, single-blinded intervention
trial, Lancet 363(9409) (2004): pp 600-607, Stolz D,
Christ-Crain M, Gencay MM, Bingisser R, Huber PR, Muller B,

Tamm M, Diagnostic value of signs, symptoms and laboratory values in lower respiratory tract infection, Swiss Med Wkly 8;136(27-28) (2006): pp 434-440).

- 5 Eine Markerkombination von Copeptin und Procalcitonin ist jedoch nicht beschrieben.

Zu COPD sind bestimmte klinische Studien bekannt (Soler-Cataluna JJ, Martinez-Garcia MA, Roman Sanchez P, et al.

- 10 Severe acute exacerbations and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Thorax 2005; 60:925-931; Antonelli Incalzi R, Fuso L, De Rosa M, et al. Co-morbidity contributes to predict mortality of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 1997; 10:2794-2800; Yohannes AM, Baldwin RC, Connolly MJ. Predictors of 1-year mortality in patients discharged from hospital following acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. Age Ageing 2005; 34:491-496; Almagro P, Barreiro B, Ochoa de Echaguen A, et al. Risk factors for hospital
15 readmission in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respiration 2006; 73:311-317).
- 20

- Nachteilig an bekannten Diagnoseverfahren unter Verwendung der bisher bekannten Markern ist jedoch, dass eine frühzeitige und
25 vollständige Erfassung von Risikopatienten nicht gelingt und daher eine Risikostratifizierung nur ungenügend erfolgt. Eine der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe besteht daher darin, ein Verfahren zur Risikostratifizierung zur Diagnose und /

oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge zu entwickeln, das eine verbesserte Erfassung von Risikopatienten ermöglicht.

Ferner ist nachteilig, dass im Stand der Technik zumeist keine
5 hinreichende Sensitivität und/oder Spezifität der Marker erreicht wird.

Eine weitere Aufgabe besteht daher darin, ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge
0 bereitzustellen, wobei mindestens ein Marker oder eine Kombination von Marker eine hinreichende Sensitivität und Spezifität aufweist.

Daher ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Verfahren
5 zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge bereitzustellen.

Die Aufgabe wird durch ein Verfahren zur Diagnose und / oder
10 Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge gelöst, wobei eine Bestimmung des Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II erfolgt (nachstehend erfindungsgemäßes Verfahren).

15

Überraschender Weise weisen Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, vorzugsweise Copeptin oder Neurophysin II eine hohe Sensitivität und Spezifität für die

Diagnose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge auf.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „Infektionen der Lunge und Atemwege“ insbesondere solche Infektionen verstanden, die durch Bakterien, Viren, Pilze oder Parasiten verursacht werden, z.B. solche Indikationen wie tiefe Atemwegsinfektion (LRTI: Lower respiratory tract infections), Bronchitis, Pneumonie, Sarkoidose, Bronchiektasen, Nicht-kardiales Lungenödem.

Erfindungsgemäß bevorzugt sind zudem tiefe Atemwegsinfektion (LRTI: Lower respiratory tract infections), Bronchitis, putride Bronchitis, Pneumonie. Ganz besonders bevorzugt ist Pneumonie, insbesondere die ambulant erworbene Pneumonie (CAP: community associated pneumonie), tiefe Atemwegsinfektion (LRTI: Lower respiratory tract infections).

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter Pneumonie eine akute oder chronische Erkrankung des Lungengewebes verstanden und dessen Infektion ist verursacht durch Bakterien, Viren oder Pilze, Parasiten, selten auch toxisch durch Inhalation giftiger Stoffe oder immunologisch. Für den Kliniker ist die Pneumonie eine Konstellation verschiedener Symptome (Fieber oder Hypothermie, Schüttelfrost, Husten, pleuritischer Thoraxschmerz, gesteigerte Sputumproduktion, erhöhte Atemfrequenz, Klopfeschalldämpfung, Bronchialatmen, ohrnahe Rasselgeräusche, Pleurareiben) in Kombination mit mindestens einem auf dem Thorax-Röntgenbild erkennbaren Infiltrat

(Harrisons Innere Medizin, herausgegeben von Manfred Dietel, Norbert Suttorp und Martin Zeitz, ABW Wissenschaftsverlag 2005

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „chronische Erkrankungen
5 der Lunge und Atemwege“ solche Indikationen verstanden, wie Interstitielle Lungenerkrankungen und Lungenfibrosen, Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD) insbesondere COPD Infekt-Exazerbationen, Asthma bronchiale, insbesondere Infekt-Exazerbationen bei Asthma bronchiale,
.0 Bronchialkarzinom. Ganz besonders bevorzugt ist COPD, insbesondere COPD Infekt-Exazerbationen.

COPD bezeichnet erfindungsgemäß eine Gruppe von chronischen Krankheiten, die durch Husten, vermehrten Auswurf und Atemnot
15 bei Belastung gekennzeichnet sind. In erster Linie sind die chronisch-obstruktive Bronchitis und das Lungenemphysem zu nennen. Beide Krankheitsbilder sind dadurch gekennzeichnet, dass vor allem die Ausatmung (Expiration) behindert ist. Eine umgangssprachliche Bezeichnung für das Hauptsymptom der COPD
20 ist zudem „Raucherhusten“. Die Erfindung ist besonders vorteilhaft bei akuten Exazerbationen.

Der Begriff „Risikostratifizierung“ umfasst erfindungsgemäß das Auffinden von Patienten, insbesondere Notfallpatienten und
25 Risikopatienten, mit der schlechteren Prognose, zwecks intensiverer Diagnostik und Therapie/Behandlung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge mit dem Ziel eines möglichst günstigen Verlaufs zu

ermöglichen. Eine erfindungsgemäße Risikostratifizierung erlaubt in Folge ein effektives Behandlungsverfahren, die bei Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge mit Arzneimitteln, insbesondere Antibiotika gegeben
5 sind.

Daher betrifft die Erfindung ebenfalls die Identifizierung von Patienten mit erhöhtem Risiko oder / und einer ungünstigen Prognose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der
10 Atemwege und Lunge, und zwar bei symptomatischen und / oder asymptomatischen Patienten, insbesondere Notfallpatienten.

Besonders vorteilhaft kann insbesondere in Fällen der Notfall- und /oder Intensivmedizin mittels des erfindungsgemäßen
15 Verfahren eine sichere Stratifizierung erfolgen. Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht daher klinische Entscheidungen, die zu einem schnellen Therapieerfolg und zur Vermeidung von Todesfällen führen. Eine solche klinische Entscheidung umfasst erfindungsgemäß ebenfalls die
20 Hospitalisierung der Patienten.

Daher betrifft die Erfindung ebenfalls ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge zur
25 Durchführung von klinischen Entscheidungen, wie weiterführende Behandlung und Therapie mittels Arzneimitteln, insbesondere Antibiotika, vorzugsweise in der zeitlich kritischen Intensivmedizin oder Notfallmedizin.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft das
erfindungsgemäße Verfahren daher die Therapiesteuerung von
Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und
5 Lunge.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des
erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt die Diagnose und / oder
Risikostratifizierung zur Prognose, zur
10 differentialdiagnostischen Früherkennung und Erkennung, zur
Beurteilung des Schweregrades und zur therapiebegleitenden
Verlaufsbeurteilung.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die
Erfindung ein Verfahren zur in-vitro Diagnose und / oder
15 Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen
Erkrankungen der Atemwege und Lunge, wobei eine Bestimmung des
Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und
Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II,
an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird.
20 Besonders bevorzugt ist jedoch Copeptin oder ein Fragment oder
eine Teilsequenz davon. Insbesondere zeigt Copeptin zu Zwecken
der in-vitro Diagnostik eine vorteilhafte hohe Stabilität im
Serum und Plasma (Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, et al.
Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide
25 derived from the precursor of vasopressin. Clin Chem 2006;
52:112-119).

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Diagnose und /

oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge oder ein Verfahren zur in-vitro Diagnostik zur Früh- oder Differentialdiagnose oder Prognose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach einem der obigen Ausführungsformen, wobei nach Eintreten der Symptome ein cut-off (Schwellenwert) Bereich von 6-20 pmol/L der Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II signifikant (spezifisch) für die Diagnose und / oder Risikostratifizierung ist. Weiterhin bevorzugt ist ein cut-off (Schwellenwert) von 6-10 pmol/L, insbesondere 9 pmol/L, vorzugsweise bis 2 Stunden nach Eintreten der Symptome.

15 Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge oder ein Verfahren zur in-vitro Diagnostik zur Früh- oder Differentialdiagnose oder Prognose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach einem der obigen Ausführungsformen, wobei nach Eintreten der Symptome ein cut-off (Schwellenwert) Bereich von 10-50 pmol/L der Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II signifikant (spezifisch) für die Prognose und / oder Risikostratifizierung ist. Weiterhin bevorzugt ist ein cut-off (Schwellenwert) von 10-40 pmol/L.

Aus dieser Basis sind diese erfindungsgemäßen Verfahren

vorteilhaft sensitiv.

In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird dem zu untersuchenden Patienten Körperflüssigkeit, insbesondere Blut entnommen, wahlweise Vollblut oder Serum oder erhältliches Plasma und die Diagnose erfolgt *in vitro/ex vivo*, d.h. außerhalb des menschlichen oder tierischen Körpers. Aufgrund der Bestimmung des Markers Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II wird eine hohe Sensitivität und Spezifität für Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge erzielt und anhand der vorhandenen Menge in mindestens einer Patientenprobe kann die Diagnose oder Risikostratifizierung erfolgen. Ganz besonders bevorzugt ist jedoch der Marker Copeptin (stabiles Fragment aus proAVP bzw. Preprovasopressin) oder ein Fragment oder eine Teilsequenz davon.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „Provasopressin“ ein humanes Protein oder Polypeptid verstanden, dass aus dem Preprovasopressin erhalten werden kann und im Rahmen des Preprovasopressins die Aminosäuren 29 - 164 umfasst (Siehe ebenfalls WO2006/018315 und Figur 1) und daraus erhältliche Fragmente oder Teilpeptide, insbesondere Copeptin (Fragment: AS 126-164 (39AS: SEQ: ASDRSNATQL DGPAGALLLR LVQLAGAPEP FEPAQPDAY) oder Neurophysin II (Fragment: AS 32-124 des Preprovasopressins (93AS: SEQ: AMSDLELRQC LPCGPGGKGR CFGPSICCAD ELGCFVGTAE ALRCQEENYL PSPCQSGQKA CGSGGRCAAF

GVCCNDESCV TEPECREGFH RRA). Ferner können diese erfindungsgemäße Polypeptide posttranslationale Modifikationen aufweisen, wie Glykolisierung, Lip(o)idisierung oder Derivatisierungen.

5

In einer weiteren Ausführungsform kann die Bestimmung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II zusätzlich mit weiteren Markern erfolgen und zwar vorzugsweise solche,
10 die bereits auf Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge hinweisen.

Daher betrifft die Erfindung eine solche Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, wobei die Bestimmung zusätzlich
15 mit mindestens einem weiteren Marker ausgewählt aus der Gruppe inflammatorischer Marker an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird.

Erfindungsgemäß kann der inflammatorische Marker aus
20 mindestens einem Marker aus der Gruppe C-reaktivem Protein (CRP), Cytokinen, wie etwa TNF-alpha, Interleukinen, wie etwa IL-6, Procalcitonin (1-116, 3-116) und Adhäsionsmolekülen, wie VCAM oder ICAM ausgewählt sein.

25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung eine besonders vorteilhafte Kombination von Biomarker und zwar Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin

II mit Procalcitonin (1-116, 3-116) und / oder der Gruppe C-reaktivem Protein (CRP).

Daher betrifft die Erfindung ein Verfahren zur in-vitro
5 Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge, wobei eine Bestimmung des Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II in Kombination mit Procalcitonin (1-116, 3-116) oder
10 jeweils eine Teilsequenz davon, an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird. Besonders bevorzugt ist wiederum eine Kombination aus Neurophysin II, Copeptin und Procalcitonin, insbesondere Copeptin und Procalcitonin. Besonders vorteilhaft weisen diese genannten
15 Biomarkerkombinationen Synergien auf, die zu einer verbesserten Spezifität und Sensitivität zur Diagnose des führen.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter „Procalcitonin“ ein
20 humanes Protein oder Polypeptid verstanden mit einer Aminosäuresequenz von 1-116 AS oder 2-116 AS (PCT 2-116) oder 3-116 AS (PCT 3-116), wie in der EP0656121, EP1121600 der Anmelderin sowie DE10027954A1 beschrieben. Ferner kann das erfindungsgemäße Procalcitonin postranslationale
25 Modifikationen aufweisen, wie Glykolisierung, Lip(o)idisierung oder Derivatisierungen. Ferner umfasst sind ebenfalls Teilsequenzen oder Fragmente von Procalcitonin.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung kann das erfindungsgemäße Verfahren im Rahmen einer in-vitro Diagnose mittels parallelen oder simultanen Bestimmungen der Marker durchgeführt werden (z.B. Multititerplatten mit 96 und mehr
5 Kavitäten), wobei die Bestimmungen an mindestens einer Patientenprobe durchgeführt werden.

Ferner kann das erfindungsgemäße Verfahren und dessen Bestimmungen in einer diagnostischen Vorrichtung anhand eines
10 Analyseautomaten, insbesondere mittels einem Kryptor (<http://www.kryptor.net/>) durchgeführt werden.

In einer weiteren Ausführungsform kann das erfindungsgemäße Verfahren und dessen Bestimmungen mittels einem Schnelltest
15 durchgeführt werden (z.B. lateral-flow Test), sei es in Einzel- oder Multiparameterbestimmung. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform handelt es sich um einen Selbsttest oder um eine Vorrichtung, die in der Notfalldiagnostik geeignet ist.

20 Ferner betrifft die Erfindung die Verwendung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II zur Verfahren zur in-vitro Diagnose und / oder Risikostratifizierung von
25 Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge und/oder zur in-vitro Diagnostik zur Früh- oder Differentialdiagnose oder Prognose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge.

In einer besonderen Ausführungsform betrifft die Erfindung die Verwendung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II
5 in Kombination mit Procalcitonin (1-116, 3-116) oder jeweils eine Teilsequenz davon, zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge.

10 Die erfindungsgemäße Verwendung kann ggfs. mit mindestens einem weiteren geeigneten Marker erfolgen (so genannte „Panel“ oder „Cluster“).

Eine weitere Aufgabe ist die Bereitstellung einer
15 entsprechenden diagnostischen Vorrichtung zur Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren.

Im Rahmen dieser Erfindung wird unter einer solchen diagnostischen Vorrichtung, insbesondere ein Array oder Assay
20 verstanden (z.B. Immunoassay, ELISA etc.), im weitesten Sinne eine Vorrichtung zur Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren.

Die Erfindung betrifft zudem ein Kit zur Diagnose und / oder
25 Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge, enthaltend Nachweisreagenzien zur Bestimmung des Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin

oder Neurophysin II ggfs. oben genannten weiteren Marker.
Solche Nachweisreagenzien umfassen z.B. Antikörper etc.

Nachfolgende Beispiele und Figuren dienen zur näheren

- 5 Erläuterung der Erfindung, jedoch ohne die Erfindung auf diese
Beispiele und Figuren zu beschränken.

Beispiele und Figuren:

Beispiel 1

- 10 Patienten, die sich mit dem Leitsymptom der Atemnot in der
Notaufnahme eines Krankenhauses vorgestellt haben, wurde
während der Eingangsuntersuchung eine Blutprobe entnommen.
Zahl der Probanden: 167
- 15 Probengewinnung, Biomarker-Analytik:
Blutabnahmen erfolgten mittels Standard-Serum-Monovetten. Nach
einer Gerinnungszeit von 20-40 min erfolgte eine
Zentrifugation für 15 min bei 2000 g die anschließende
Serumtrennung erfolgte durch Dekantieren. Bis zur weiteren
20 Verwendung wurden die Serumproben bei -20 Grad C gelagert.

- Copeptin-Assay gemäß Morgenthaler et al (Morgenthaler NG,
Struck J, Alonso C, et al. Assay for the measurement of
copeptin, a stable peptide derived from the precursor of
25 vasopressin. Clin Chem 2006; 52:112-119)
Nachweisgrenze; 1,7 pmol/L,

COPD bei akuter Verschlimmerung (Ereignis):

Es konnte festgestellt werden, dass Copeptin, CRP und Procalcitonin nach 14 Tagen oder 6 Monaten signifikant erhöht sind.

Copeptin Werte von 167 Patienten (Alter (mittel) 70 Jahre) wurden untersucht. Die Patienten kamen auf die Notfallaufnahme mit akuter Exazerbation einer bestehenden COPD. Die Patienten wurden klinisch hinsichtlich ihrer Lungenfunktion bei Aufnahme, nach 14 Tagen und nach 6 Monaten untersucht. Tabelle 1 ergibt einen Überblick über die klinischen Parameter der Patienten bei Aufnahme auf die Notfallstation.

Tabelle 1: Klinische Parameter bei Aufnahme von 167 Patienten mit akuter Exazerbation einer COPD	
Parameter	n = 167
Geschlecht (M/F) (%)	75/92 (44.9/55.1)
Alter in Jahren (von bis)	70 (42-91)
Rauchen Packungen/Jahr	45 (30-60)
Durchschnittl. Dauer COPD Monate (SD)	127 (86)
Dauer der Exazerbation in Tage	4 (3-7)
Husten (%)	142 (85)
Vermehrte Sputum Produktion (%)	113 (67.7)
Verfärbtes Sputum (%)	95 (56.9)
Atemnot (%)	155 (92.8)
Fieber (%)	68 (40.7)
Co-Morbidität (%)	
Kardiopathie	76 (45.5)
Tumor	24 (14.4)
Diabetes Mellitus	19 (11.4)
Schwere der COPD - GOLD Stage (%)	

I	
II	10 (6.0)
III	35 (21.0)
IV	74 (44.3)
	48 (28.7)
FEV1 in Liter (SD)	0.892 (0.397)
FEV1% erwartet (%)	39.9 (16.9)
PaO ₂ mmHg	62.9 (15.7)
PaCO ₂ mmHg	43.8 (11.0)
Leukocyten x 10 ⁹ /l (SD)	11.27 (4.7)

In einer Multi-Varianten Analyse (p=0.006, Cox-Regressions Analyse) war der gemessene Copeptin Wert ein Prediktor für einen schlechten klinischen Verlauf, unabhängig vom Alter, bestehender Co-Morbidität, einer Hypoxämie und einer eingeschränkten Lungenfunktion. Eine erfolgreiche Langzeittherapie konnte nur bei 44 Prozent der Patienten mit Copeptin Werten ≥ 40 pmol/l bei Aufnahme erreicht werden. Im Gegensatz dazu war dies bei 82 Prozent der Patienten mit Copeptin Werten < 40 pmol/l erreichbar (p<0.0001).

Daraus ergibt sich, dass Copeptin bei Patienten mit COPD (und anderen Lungenerkrankungen) ein Prognosemarker für einen ungünstigen klinischen Verlauf darstellt. Copeptin könnte die Patienten früh identifizieren, die eine besonders intensive Therapie ihrer bestehenden Lungenerkrankung benötigen.

Tabelle 2 sowie Figuren 2 und 3 erläutern den Sachverhalt im Detail.

Tabelle 2: Vergleich des klinischen Ergebnis von Patienten mit Copeptin levels < 40 pmol/l und ≥ 40 pmol/l bei Aufnahme			
	Copeptin < 40 pmol/l n = 140	Copeptin ≥ 40 pmol/l n = 27	p-Wert
Hospitalisierungsdauer <24 hours % (n)	26.4% (37)	3.7% (1)	0.010
Dauer der Hospitalisierung Tage (IQR)	8.5 (1-15)	14 (8-18)	0.002
Notwendigkeit für Intensivstation % (n)	6.4% (9)	25.9% (7)	0.002
Dauer Intensivstation Tage (IQR)	2 (1.5-4.5)	5 (3-5)	0.097
Hospitalisierungsrate innerhalb von 6 Monaten	0.17 ± 0.4	0.55 ± 0.74	0.005
Durchschnittliche Zeit bis zum klinischen Versagen	163 ± 45	111 ± 73	<<0.001
Langfristiges klinisches Versagen % (n)	17.9% (25)	55.6% (15)	<<0.001
Tod während Hospitalisierung % (n)	1.4% (2)	11.1% (3)	0.007
Tod innerhalb von 6 Monaten % (n)	5% (7)	25.9% (7)	<<0.001

Figuren:

Figur 1 zeigt die Aminosäuresequenz von preproVasopressin.

5

Figur 2 zeigt den Zusammenhang zwischen Liegezeiten im Krankenhaus von Patienten mit CAP/Pneumonie und dem gemessenen Copeptin Plasmawert bei Aufnahme. Dies ist gezeigt als Entlassungswahrscheinlichkeit über die Zeit („probability of hospital discharge“). Patienten mit Copeptin Werten < 40

10

pmol/l bei Aufnahme hatten einen signifikant kürzeren stationären Aufenthalt im Vergleich zu Patienten mit Copeptin Werten > 40 pmol/l.

Anzahl Patienten an den Angegebenen Tagen (d):

5 Copeptin < 40 pmol/l:

n = 140 (0 d) 88 (5 d) 54 (10 d) 28 (15 d) 12 (20 d) 1 (25 d) 1
(30 d) 0 (35 d)

Copeptin ≥ 40 pmol/l:

10 n = 27 (0 d) 23 (5 d) 18 (10 d) 12 (15 d) 5 (20 d) 4 (25 d) 1
(30 d) 0 (35 d)

Figur 3 zeigt den Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von Komplikationen (Tod, erneute stationäre Aufnahme nach Entlassung) und dem Copeptin Plasmawert bei Aufnahme. Dies ist
15 gezeigt als Ereignis freie Zeit (freedom of event). Ereignis (event) ist definiert als Tod oder erneute stationäre Aufnahme nach initialer Entlassung. Patienten mit Copeptin Werten < 40 pmol/l bei Aufnahme hatten signifikant seltener dieses Ereignis als Patienten mit Copeptin Werten > 40 pmol/l.

20 Anzahl Patienten an den Angegebenen Tagen (d):

Copeptin < 40 pmol/l:

n = 140 (0 d) 133 (30 d) 129 (60 d) 126 (90 d) 123 (120 d) 120
(150 d) 115 (180 d)

Copeptin > 40 pmol/l:

25 n = 27 (0 d) 21 (30 d) 16 (60 d) 16 (90 d) 15 (120 d) 13 (150
d) 12 (180 d)

Patentansprüche

1. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge, wobei eine Bestimmung des Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II erfolgt.
5
2. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach Anspruch 1, zur Identifizierung von Patienten mit erhöhtem Risiko oder/und einer ungünstigen Prognose von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge.
10
3. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Patient ein symptomatischer und / oder asymptomatischer Patient, insbesondere ein Notfallpatient ist.
15
4. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Durchführung von klinischen Entscheidungen, insbesondere weiterführende Behandlung und Therapie mittels Arzneimitteln, insbesondere Antibiotika, insbesondere in der Intensivmedizin oder Notfallmedizin und zur Hospitalisierung des Patienten.
20
25

5. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei eine Bestimmung des Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II in Kombination mit Procalcitonin und / oder der Gruppe C-reaktivem Protein (CRP) oder jeweils eine Teilsequenz davon, an einem zu untersuchenden Patienten durchgeführt wird.
6. Verfahren zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Diagnose zur Prophylaxe, zur Prognose, zur differentialdiagnostischen Früherkennung und Erkennung, zur Beurteilung des Schweregrades und zur therapiebegleitenden Verlaufsbeurteilung erfolgt.
7. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der cut-off (Schwellenwert) zur Diagnose 6-20 pmol/L, insbesondere 6-10 pmol/L oder der cut-off (Schwellenwert) zur Prognose 10-50 pmol/L, insbesondere 10-40 pmol/L der Marker Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II signifikant (spezifisch) ist.

8. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass zusätzlich eine Bestimmung mindestens eines weiteren
Marker ausgewählt aus der Gruppe inflammatorischer Marker
5 durchgeführt wird.
9. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch
gekennzeichnet, dass der inflammatorische Marker aus
mindestens einem Marker aus der Cytokinen, wie etwa TNF-
alpha, Interleukinen, wie etwa IL-6 und
10 Adhäsionsmolekülen, wie VCAM oder ICAM ausgewählt ist.
10. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass parallele oder simultane Bestimmungen der Marker
durchgeführt werden.
- 15 11. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Bestimmungen an mindestens einer Patientenprobe
durchgeführt werden.
12. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
20 dadurch gekennzeichnet,
dass die Bestimmungen an einem Analyseautomaten,
insbesondere mittels einem Kryptor, durchgeführt werden.
13. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, dass die Bestimmungen mittels

einem Schnelltest, insbesondere in Einzel- oder Multiparameterbestimmungen durchgeführt werden.

14. Verfahren nach einem der vorherigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Risikostratifizierung zur Prognose, zur differentialdiagnostischen Früherkennung und Erkennung, zur Beurteilung des Schweregrades und zur therapiebegleitenden Verlaufsbeurteilung des akuten Koronarsyndroms erfolgt.
15. Verwendung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II und ggfs. mindestens ein weiterer Marker zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge.
16. Verwendung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder Neurophysin II in Kombination mit Procalcitonin (1-116, 3-116) und / oder der Gruppe C-reaktivem Protein (CRP) und ggfs. mindestens ein weiterer Marker zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge.
17. Kit zur Diagnose und / oder Risikostratifizierung von Infektionen oder chronischen Erkrankungen der Atemwege und Lunge enthaltend Nachweisreagenzien zur Bestimmung von Provasopressins (proAVP) oder Fragmenten und Teilpeptiden davon, insbesondere Copeptin oder

Neurophysin II und ggfs. weitere Marker nach einem der Ansprüche 8 bis 9 und Hilfsmittel.

18. Diagnostische Vorrichtung zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 14.

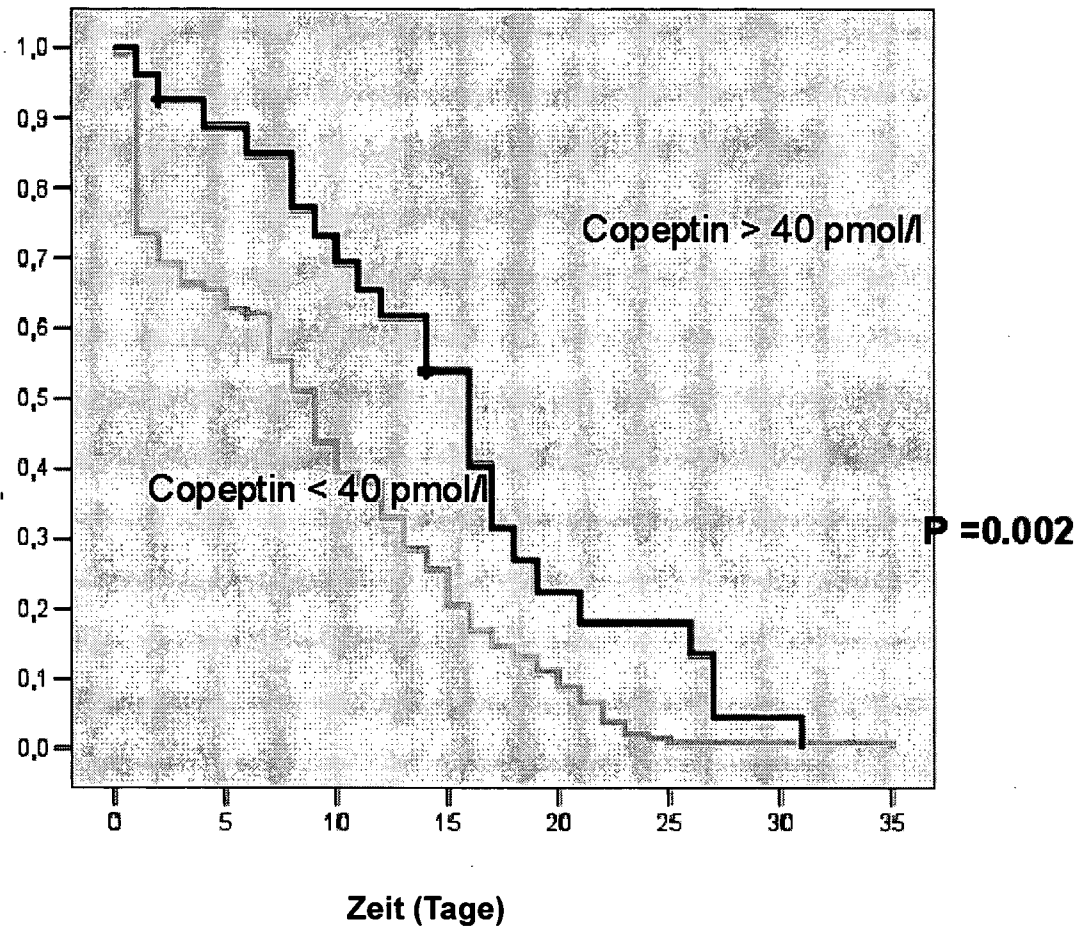
Figur 1/3:

AS-Seq.-PreProvasopressin:

MPDTMLPACF	LGLLAFSSAC	YFQNCPRGGK	PAMSDLELRQ	CLPCGPGGKG	RCFGPSICCA	60
DELGCFVGTA	EALRCQEENY	LPSPCQSGQK	ACGSGGRCAA	FGVCCNDESC	VTEPECREGF	120
HRRARASDRS	NATQLDGPAG	ALLLRLVQLA	GAPEPFEPAQ	PDAY		164

1-19	Signal Sequenz
20-28	ARG-VASOPRESSIN
32-124	NEUROPHYSIN II
126-164	COPEPTIN

Figur 2/3:

**Entlassungs-
wahrscheinlichkeit
(Krankenhaus)**

Figur 3/3:

Wahrscheinlichkeit
keiner Ereignisse

Copeptin < 40 pmol/l

