



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 330 131**

51 Int. Cl.:  
**A61K 51/12** (2006.01)  
**C12Q 1/04** (2006.01)  
**G01N 33/62** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06101055 .9**  
96 Fecha de presentación : **31.01.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1685851**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.08.2006**

54 Título: **Procedimiento para el diagnóstico de una infección por *Helicobacter pylori* y kit de diagnóstico para llevar a cabo dicho procedimiento.**

30 Prioridad: **01.02.2005 EP 05001997**  
**19.10.2005 US 252886**

73 Titular/es: **Sitke Aygen**  
**Gottfried-Hagen-Strasse 60-62**  
**51105 Köln, DE**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**04.12.2009**

72 Inventor/es: **Aygen, Sitke**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**04.12.2009**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 330 131 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para el diagnóstico de una infección por *Helicobacter pylori* y kit de diagnóstico para llevar a cabo dicho procedimiento.

### 5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico de una infección por *Helicobacter pylori* y un kit de diagnóstico para llevar a cabo dicho procedimiento.

10 Existen varios procedimientos conocidos para el diagnóstico de una infección por *Helicobacter pylori*, por ejemplo, la endoscopia del tracto digestivo superior, la prueba de detección de antígenos en heces (HpSA/Meridian, Milán, Italia), procedimiento serológico (Pylortest EIA-G III/Orion Diagnostics, Espoo, Finlandia), detección de anticuerpos en orina (Otsuka Diagnostic, Frankfurt, Alemania). La prueba de aliento para la detección de *Helicobacter INFAI* (INFAI GmbH, Colonia, Alemania) se ha convertido en el principal procedimiento. El mismo se comercializa con 75 mg de urea marcada con <sup>13</sup>C junto con hasta 1 g de ácido cítrico para adultos y con 45 mg de urea marcada con <sup>13</sup>C junto con 100 ml de jugo de naranja para niños a partir de 3 años de edad.

20 El documento US-A-6 113 875 describe un comprimido que comprende 50 mg de urea marcada con <sup>13</sup>C junto con 63 mg de ácido cítrico y el documento EP-A-O 881 491 describe un kit con una solución de 200 ml que comprende 4,2 g de ácido cítrico y una solución de 50 ml que comprende 75 mg de urea marcada con <sup>13</sup>C.

25 Sin embargo, una gran desventaja de casi todas estas pruebas es que los inhibidores de la bomba de protones (IBP) y la terapia con antiácidos ocasiona trastornos y arrojan falsos negativos; ver L. Gatta *et al*, en American Journal of Gastroenterology, 2004, p. 823-828.

30 Por lo tanto, es necesario que los IBP y la terapia con antiácidos se interrumpan por lo menos 12 a 14 días antes de que pueda llevarse a cabo la prueba de aliento con urea <sup>13</sup>C (PAU) con resultados confiables. Esto aumenta los costos y genera inconvenientes ya que el paciente debe volver, por lo menos, después de 12 días. Además, el paciente sufre por la interrupción durante este tiempo.

### Sumario de la invención

35 Uno de los objetivos de esta invención es proporcionar un procedimiento para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* para pacientes que toman IBP u otros fármacos antiácidos.

40 Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que este problema puede resolverse si a los pacientes que toman los inhibidores de la bomba de protones (IBP) se les administran cantidades mayores de ácidos que sobrecompensen por un período de 10 minutos a una hora la actividad del IBP.

No podía preverse que una sobrecompensación tan corta de la actividad del IBP fuera capaz de superar la conocida influencia negativa de estos fármacos en la confiabilidad de las pruebas PAU.

45 Existen fuertes indicios de que esto es también útil con pacientes a los que se les está administrando fármacos antiácidos.

No solamente es más conveniente que los pacientes se evalúen inmediatamente sin discontinuar la ingesta de IBP o fármacos antiácidos, sino que es mejor aceptado sufrir como máximo durante una hora en lugar de dos semanas sin la terapia.

### 50 Descripción detallada de la invención

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para diagnosticar una infección por *Helicobacter pylori* en un paciente tratado con inhibidores de la bomba de protones (IBP) que comprende las etapas de

- 55
- a) administrar al paciente una cantidad de un ácido en el intervalo de 5 a 7 g,
  - b) recoger una primera muestra de aliento o una primera muestra de sangre o ambas del paciente,
  - 60 c) administrar al paciente urea marcada con <sup>13</sup>C,
  - d) esperar durante un tiempo de 10 a 60 minutos,
  - e) recoger una segunda muestra de aliento o una segunda muestra de sangre o ambas del paciente,
  - 65 f) medir el contenido de <sup>13</sup>C en el CO<sub>2</sub> de la primera y la segunda muestra.

## ES 2 330 131 T3

La cantidad de ácido se encuentra preferiblemente en el intervalo de 5,5 a 6,5 g. Ácidos adecuados son ácidos farmacológicamente aceptables, por ejemplo, aquellos que se seleccionan del grupo de ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico y mezclas de los mismos.

5 Una mezcla especialmente útil es una combinación de 5 g de ácido cítrico, 0,3 g de ácido málico y 0,2 g de ácido tartárico.

Preferiblemente el ácido se administra en una solución con agua, por ejemplo, 150 a 300 ml. Preferiblemente se agregan edulcorantes para que la solución tenga un sabor aceptable. También pueden agregarse otros componentes  
10 tales como saborizantes o colorantes.

En una realización de la invención, la prueba es una prueba de aliento. En esta prueba, se toman las muestras de aliento antes de la administración de la urea marcada con  $^{13}\text{C}$  y aproximadamente 30 minutos después de la administración de la urea. Posteriormente se mide el contenido  $^{13}\text{C}$  de  $\text{CO}_2$  de estas muestras de aliento. Una diferencia entre  
15 el valor a los 00 min y el valor a los 30 min de más de 3,2, preferiblemente más de 4 ppm, indica una infección por *Helicobacter pylori*.

En una realización diferente se seleccionan muestras de sangre del paciente antes de la administración de la urea marcada con  $^{13}\text{C}$  y aproximadamente 15 minutos más tarde se selecciona una segunda muestra de sangre. Al agregar un ácido fuerte, se libera  $^{13}\text{CO}_2$  de las muestras de sangre y, de esta forma, puede medirse la concentración de  $^{13}\text{CO}_2$ .  
20 El valor de corte para la prueba de sangre es 2 ppm, es decir que una diferencia entre el valor a los 00 min y el valor a los 15 min de más de 2 ppm indica infección por *Helicobacter pylori*.

La medición de  $^{13}\text{CO}_2$  tiene que ver con el contenido de  $^{12}\text{CO}_2$  y  $^{13}\text{CO}_2$  juntos. Un procedimiento adecuado es, por  
25 ejemplo, la espectrometría de masas de relaciones isotópicas (IRMS).

Las cantidades adecuadas de urea  $^{13}\text{C}$  dependen de la pureza de la urea  $^{13}\text{C}$  y del tipo de muestras.

La urea  $^{13}\text{C}$  se encuentra comercialmente disponible en una pureza del 99%. Cantidades de 10 a 100 mg son suficientes si se utiliza esta urea  $^{13}\text{C}$ . Si se utiliza urea  $^{13}\text{C}$  menos pura, las cantidades de urea deben ser proporcionalmente  
30 mayores. Si, por ejemplo, el contenido de  $^{13}\text{C}$  es 50%, se necesita aproximadamente el doble de cantidad.

Para la prueba de sangre, una cantidad suficiente se encuentra en el intervalo de 5 a 50 mg, preferiblemente aproximadamente 10 mg. Para la prueba de aliento, típicamente la cantidad es aproximadamente 75 mg, mientras que  
35 para niños la cantidad es aproximadamente 45 mg.

En una realización de la invención el tratamiento con IBP se interrumpe durante 1, 2 o 3 días, preferiblemente un día, antes del diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. Esto aumenta la fiabilidad del procedimiento y pueden utilizarse cantidades menores de ácidos. Una mezcla conveniente es, por ejemplo, 4,5 g de ácido cítrico, 0,3 g  
40 de ácido málico y 0,2 g de ácido tartárico.

En una realización adicional, el ácido se administra junto con urea marcada con  $^{13}\text{C}$ . El procedimiento comprende las etapas de

- 45 a) recoger una primera muestra de aliento o una primera muestra de sangre o ambas del paciente,
- b) administrar al paciente una cantidad de un ácido en el intervalo de 5 a 7 g y urea marcada con  $^{13}\text{C}$ ,
- c) esperar durante un tiempo de 10 a 60 minutos,
- 50 d) recoger una segunda muestra de aliento o una segunda muestra de sangre o ambas del paciente,
- e) medir el contenido de  $^{13}\text{C}$  en el  $\text{CO}_2$  de la primera y la segunda muestra.

55 Los ácidos se administran preferiblemente en forma de soluciones acuosas.

Dichas soluciones pueden prepararse a partir de ácidos sólidos o líquidos inmediatamente antes de la prueba. También pueden prepararse en cantidades mayores y pueden almacenarse.

60 La prueba de aliento se lleva a cabo según el procedimiento usual y bien establecido descrito en la bibliografía y las hojas de instrucciones del paciente, que también se encuentran a disposición del médico. Las muestras se analizan, por ejemplo, mediante espectrometría de masas de relaciones isotópicas de gases o mediante un espectrómetro infrarrojo.

65 Los siguientes ejemplos comparan los resultados de la prueba de acuerdo con la presente invención con 5 g de ácido cítrico, 0,3 g de ácido málico y 0,2 de ácido tartárico (nuevo PAU  $^{13}\text{C}$ ) con las pruebas de acuerdo con la técnica anterior (PAU  $^{13}\text{C}$  estándar con 1 g de ácido cítrico).

## ES 2 330 131 T3

Se estudiaron 152 pacientes con *Helicobacter pylori* positivo consecutivos.

5 Se realizó una endoscopia superior en cada paciente. Durante la endoscopia se tomaron múltiples biopsias de antro y cuerpo. Para evaluar el estado del *Helicobacter pylori* se utilizaron histología, PRU (prueba rápida de ureasa) y cultivo. La histología se llevó a cabo mediante el uso de H&E y la tinción de Giemsa modificada.

La histología se puntuó mediante la utilización del Sistema Sydney Actualizado. Se consideró que los pacientes estaban infectados si 2 de 3 pruebas fueron positivas o si el cultivo dio positivo solo.

10 Los pacientes positivos se escogieron aleatoriamente mediante la utilización de una lista aleatoria para realizar una PAU <sup>13</sup>C estándar o la nueva formulación de la PAU <sup>13</sup>C.

Después de la PAU recibieron una dosis estándar de esomeprazol (40 mg/día) para tomarla en la mañana, 30 min antes del desayuno.

15 Se les solicitó a los pacientes que volvieran el día 14 y 28 del tratamiento con esomeprazol para llevar a cabo las PAU y verificar el cumplimiento con la medicación.

20 También se les solicitó a los pacientes que volvieran el día 7 y 14 después de la interrupción del tratamiento con esomeprazol para llevar a cabo las PAU.

La sensibilidad, la diferencia entre proporciones para muestras independientes y sus IC (intervalos de confianza) se calcularon de acuerdo con el método de Wilson y Newcombe.

25 La sensibilidad se evaluó de acuerdo con el Análisis ITT (intención de tratar), es decir, los pacientes que abandonaron se consideraron resultados falsos negativos.

El valor p se calculó mediante la utilización de la prueba exacta de Fischer. También se calculó el NNT (número necesario para tratar).

30 La regresión logística múltiple para los determinantes independientes de la sensibilidad se llevó a cabo utilizando las siguientes variables:

- 35 Tipo de PAU
- Sexo
- Edad
- 40 Índice de Masa Corporal
- Puntuación para *Helicobacter pylori* en antro (densidad)
- 45 Puntuación para *Helicobacter pylori* en cuerpo (densidad)

La regresión logística múltiple se llevó a cabo de acuerdo con el Análisis ITT, es decir, los pacientes que abandonaron se consideraron resultados falsos negativos.

50 De 152 pacientes con *Helicobacter pylori* positivo se evaluaron de forma aleatoria 76 pacientes con el procedimiento de la invención y 76 pacientes con la formulación de la técnica anterior.

### *Resultados después del día 14 de IBP*

55 La prueba de acuerdo con la invención arrojó 71 verdaderos positivos, 3 falsos negativos y 2 abandonos.

La prueba estándar arrojó 59 verdaderos positivos, 14 falsos negativos y 3 abandonos.

60 La sensibilidad aumentó de 75,7% a 95,8% con un valor p de 0,0005.

### *Resultados después del día 28 de IBP*

65 Procedimiento de la invención: 67 verdaderos positivos, 7 falsos negativos, 2 abandonos.

Procedimiento de la técnica anterior: 43 verdaderos positivos, 30 falsos negativos, 3 abandonos.

## ES 2 330 131 T3

### *Resultados después del día 7 del lavado*

Prueba nueva: 74 verdaderos positivos, 2 abandonos.

5 Prueba estándar: 73 verdaderos positivos, 3 abandonos

### *Resultados después del día 14 del lavado*

10 Prueba nueva: 74 verdaderos positivos, 2 abandonos.

Prueba estándar: 73 verdaderos positivos, 3 abandonos.

15 Estos resultados muestran claramente la mejora altamente significativa con la nueva formulación y confirman la necesidad conocida de al menos 12 días de interrupción del tratamiento con IBP en la prueba convencional. Esto ahora puede evitarse con el procedimiento de acuerdo con la presente invención.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un procedimiento para diagnosticar una infección por *Helicobacter pylori* en un paciente tratado con inhibidores de la bomba de protones (IBP) que comprende las etapas de
- I. a) administrar al paciente una cantidad de un ácido en el intervalo de 5 a 7 g,
  - I. b) recoger una primera muestra de aliento o una primera muestra de sangre o ambas del paciente,
  - 10 I. c) administrar al paciente urea marcada con  $^{13}\text{C}$ ,
  - I. d) esperar durante un tiempo de 10 a 60 minutos,
  - 15 I. e) recoger una segunda muestra de aliento o una segunda muestra de sangre o ambas del paciente,
  - I. f) medir el contenido de  $^{13}\text{C}$  en el  $\text{CO}_2$  de la primera y la segunda muestra
- o
- 20 II. a) recoger una primera muestra de aliento o una primera muestra de sangre o ambas del paciente,
  - II. b) administrar al paciente una cantidad de un ácido en el intervalo de 5 a 7 g y urea marcada con  $^{13}\text{C}$ ,
  - 25 II. c) esperar durante un tiempo de 10 a 60 minutos,
  - II. d) recoger una segunda muestra de aliento o una segunda muestra de sangre o ambas del paciente,
  - II. e) medir el contenido de  $^{13}\text{C}$  en el  $\text{CO}_2$  de la primera y la segunda muestra.
- 30 2. El procedimiento de la reivindicación 1 en el que la cantidad de ácido se encuentra en el intervalo de 5,5 a 6,5 g.
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2 en el que el ácido se selecciona del grupo de ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico y mezclas de los mismos.
- 35 4. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2 en el que el ácido es ácido cítrico, solo o una mezcla de ácido cítrico, ácido málico y ácido tartárico.
5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el ácido se administra como una solución con agua, opcionalmente con compuestos que se seleccionan del grupo de edulcorantes, saborizantes y colorantes.
- 40 6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que el tiempo de la etapa I. d) o II. c) se encuentra en el intervalo de 10 a 15 minutos y la primera y la segunda muestra son muestras de sangre.
- 45 7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que el tiempo de la etapa I. d) o II. c) se encuentra en el intervalo de 20 a 40 minutos y la primera y la segunda muestra son muestras de aliento.
8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el que el paciente interrumpe el tratamiento con IBP durante 1 a 3 días antes de un diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*.
- 50 9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en el que la cantidad de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  corresponde a 10 a 100 mg de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  al 99%.
- 55 10. Un kit para diagnosticar *Helicobacter pylori* que comprende
- a) una solución acuosa ácida que contiene 5 a 7 g de un ácido y una cantidad de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  correspondiente a 10 a 100 mg de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  al 99%, o
  - 60 b) un envase de ácido sólido en polvo que comprende 5 a 7 g de un ácido y un envase de urea por separado que comprende una cantidad de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  correspondiente a 10 a 100 mg de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  al 99%
  - c) recipiente de muestras para recolección de sangre o aliento
  - 65 d) una hoja de instrucciones para el paciente.
11. El kit de la reivindicación 10 en el que la cantidad de ácido se encuentra en el intervalo de 5,5 a 6,5 g.