

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 920 881**

21 Número de solicitud: 202130104

51 Int. Cl.:

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 21/33 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

10.02.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.08.2022

71 Solicitantes:

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (65.0%)
Avda. Blasco Ibañez, 13
46010 Valencia (Valencia) ES;
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN DEL
HOSPITAL UNIVERSITARIO LA FE DE LA
COMUNIDAD VALENCIANA (30.0%) y
FUNDACIÓN PARA EL FOMENTO DE LA
INVESTIGACIÓN SANITARIA Y BIOMÉDICA DE
LA COMUNIDAD VALENCIANA (FISABIO) (5.0%)

72 Inventor/es:

PÉREZ PRIETO, Julia;
CAMPÍNS FALCÓ, Pilar;
GONZÁLEZ BÉJAR, María;
MOLINER MARTÍNEZ, Yolanda;
ESTEBANEZ BLOEM, Néstor;
JORNET MARTÍNEZ, Neus;
MEDINA BADENES, Pilar;
ESPAÑA FURIÓ, Francisco;
VERA DONOSO, César D. y
SÁEZ TORMO, Guillermo

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

54 Título: **Método para determinar la presencia y/o estadio de tumores malignos mediante una muestra de orina**

57 Resumen:

Método para determinar la presencia y/o estadio de tumores malignos mediante una muestra de orina.

La presente invención se refiere a un método in vitro para el diagnóstico de tumores malignos y/o la determinación del estado, que se basa en el uso de un extracto de la orina del paciente que se adiciona sobre una dispersión de nanopartículas de oro (AuNPS) y posteriormente se mide la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda a diferentes concentraciones del extracto. Los datos obtenidos se correlacionan con datos de muestras de orina de individuos sanos y/o pacientes diagnosticados por otros medios, lo que permite determinar la presencia de tumores. Este método supone una herramienta de diagnóstico eficiente, sencilla y no invasiva que podría incluso implementarse como test a nivel de point-of-care.

ES 2 920 881 A1

DESCRIPCIÓN**Método para determinar la presencia y/o estadio de tumores malignos mediante una muestra de orina****5 SECTOR DE LA TÉCNICA**

La presente invención se refiere a un método de detección de tumores malignos en una muestra de orina del paciente de la que se obtiene un extracto de ácido acético que posteriormente se añade a una dispersión de nanopartículas de oro. El nivel de dispersión de estas partículas inducido por el extracto de acético se compara con los niveles de dispersión en muestras de pacientes sanos o de pacientes con tumores, lo que permite determinar la presencia de tumores y su posible estadio. Por tanto, la presente invención pertenece al campo técnico de los dispositivos y procedimientos de diagnóstico de patologías, y en particular cáncer.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer renal (CR) representa el 2%-3% de todos los cánceres los países occidentales. En Europa, la mortalidad global por CR ha aumentado hasta principios de los años noventa, con una estabilización o disminución de las tasas, en general, a partir de entonces.

20 Actualmente no existen biomarcadores que permitan un cribado o una diferenciación entre tumores benignos y malignos. Entre los numerosos marcadores moleculares que se han investigado figuran: anhidrasa carbónica IX (CaIX), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor inducible por la hipoxia (HIF), Ki67 (proliferación), p53, PTEN (homólogo de la fosfatasa y tensina) (ciclo celular), cadherina E y CD44 (adherencia celular).

25 Hasta la fecha, no se ha demostrado que ninguno de estos marcadores mejore la exactitud predictiva de los sistemas pronósticos actuales, por lo que no se recomienda su uso en la práctica habitual. Por último¹²³³, aunque parece que la determinación de perfiles de expresión génica es un método prometedor, hasta ahora no ha ayudado a identificar nuevos factores pronósticos relevantes. Asimismo, para el cáncer vesical hay pocos ensayos

30 comerciales y están basados en citología urinaria, fluorescencia de hibridación in situ (FISH), determinación de proteínas específicas (NMP22 BladderChek®), antígenos de tumor de vejiga (BTA stat y BTA TRAK), ImmunoCyt/uCyt+, CertNDx y CxBladder). Sin embargo, estos ensayos tienen elevadas tasas de falsos positivos y falsos negativos. Por otra parte, el papel del análisis rutinario mediante la utilización de los marcadores clásicamente establecidos para

35 esta patología tumoral como los factores proteicos Antígeno carcinoembrionario (CEA) y

antígeno carbohidratado (CA-19.9) adolecen de la especificidad y sensibilidad necesarias y, por lo general, se elevan en estadios avanzados de la enfermedad por lo que su utilización como sistema diagnóstico rutinario no está recomendado. Estos datos, apoyan la necesidad de nuevos y más eficaces métodos para su diagnóstico precoz y el seguimiento apropiado de los pacientes afectados, que resulten asequibles y aplicables a muestras biológicas de fácil obtención.

La orina es un sistema menos complejo y un medio más manejable para poder determinar la presencia de biomarcadores. Presenta la ventaja de poder obtenerse sin métodos invasivos, sus componentes son relativamente estables y la fragmentación de estos componentes es más fácil que en otros fluidos corporales como el suero, en el que pueden ocurrir procesos de degradación endógena durante su manejo. En el documento *Anal. Chem.* 2014, 86, 1351 se describe un método para cuantificar poliaminas biogénicas (biomarcadores cuyos niveles se usan para monitorizar la evolución de tumores de pacientes en tratamiento) en orina, basado en el nivel de agregación de nanopartículas de oro y los cambios colorimétricos que este proceso induce. Sin embargo, la medida de un biomarcador puntual puede proporcionar resultados con escasa capacidad predictiva, llevando a falsos positivos y negativos. La evaluación de la huella bioquímica tal y como se indica en esta invención, mejora dicha predicción al tener en cuenta una respuesta global, que modifica la respuesta analítica de forma diferente si se trata de orinas patológicas u orinas de dentro de los niveles normales.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método *in vitro* para detectar la presencia y/o el estadio de tumores malignos en un paciente, que se basa en la estimación del volumen del extracto acético de orina de pacientes obtenido a partir de su extracción en fase sólida, y que es capaz de inducir la agregación de nanopartículas de oro (AuNPs) desnudas. Este método no requiere de la identificación y procesamiento de biomarcadores o estándares, tan sólo se compara con el resultado obtenido con pacientes sanos o con pacientes con tumores diagnosticados por otros métodos. Se han obtenido resultados positivos para pacientes con cáncer renal, de vejiga, de próstata y colorrectal, tanto para el diagnóstico como seguimiento de pacientes, que se expondrán a continuación.

En este método, se van adicionando sucesivas alícuotas del mismo volumen del extracto acético de la orina del paciente sobre una dispersión de AuNPs desnudas y se va registrando el espectro UV-VIS para cada adición. A partir de los espectros se representa la señal o la

primera derivada de la señal a la longitud de onda de agregación frente al volumen añadido de extracto acético de orina. El punto de máxima pendiente en el primer caso (A) o el máximo (primera derivada de la A) se corresponde con el valor de la huella bioquímica. En la presente invención se entiende como “huella bioquímica” la respuesta de una orina dada que proporciona un extracto acético particular cuyo volumen necesario para producir la agregación de nanopartículas de AuNPs desnudas. La correlación de esta huella bioquímica en orina con otras huellas bioquímicas de individuos sanos o de pacientes con tumores diagnosticados por otros medios, es capaz de pronosticar la presencia de un cáncer y/o el estadio del mismo. Las representaciones muestran una marcada diferencia entre la huella de pacientes con cáncer y sujetos sanos.

Por tanto, en un primer aspecto la invención se refiere a un método *in vitro* para detectar la presencia y/o el estadio de tumores malignos en un paciente que comprende las siguientes etapas:

- a) tratamiento de una muestra de orina del paciente mediante extracción en fase sólida,
- b) adición del extracto obtenido en la etapa anterior en adiciones sucesivas de un mismo volumen sobre una dispersión de nanopartículas de oro (AuNPs),
- c) medida de la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda a diferentes concentraciones del extracto aportadas por las adiciones sucesivas de un mismo volumen que se han ido añadiendo en la anterior etapa, y
- d) determinación de la presencia y/o del estadio del tumor mediante la comparación de los valores de absorbancia vs. longitud de onda obtenidos en la anterior etapa con valores de absorbancia vs. longitud de onda de referencia obtenidos a partir de muestras de orinas de pacientes sanos y/o pacientes diagnosticados con tumores, tanto benignos como malignos.

El eluyente en la etapa (a) puede ser cualquiera con el pH y la polaridad adecuada para muestras de orina, preferiblemente ácido acético.

Preferiblemente, las AuNPs tienen un diámetro de entre 5 y 20 nm.

Preferiblemente, las AuNPs son de naturaleza hidrofóbica, presentando recubrimientos conocidos en el estado del arte que confieran esa característica a las AuNPs.

El método preferido para la medida de la absorbancia vs. longitud de onda en la etapa (c) es la espectrofotometría UV-VIS.

Preferiblemente, el tumor maligno a detectar se selecciona de entre renal, vesical, prostático o colorrectal.

Otro aspecto de la invención se refiere a un kit de diagnóstico *in vitro* para detectar la presencia y/o el estadio de tumores malignos a partir de una muestra de orina del paciente que comprende:

- medios para realizar una extracción en fase sólida de dicha muestra que comprende al menos una columna de extracción y un eluyente,
- una dispersión de AuNPs y
- medios para determinar la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda producida cuando se añade el extracto de orina del paciente a diferentes concentraciones sobre la dispersión de AuNPs.

Los resultados de variación de absorbancia vs. longitud de onda así obtenidos por el kit de la invención se comparan con valores de absorbancia vs. longitud de onda de referencia obtenidos a partir de muestras de orinas de pacientes sanos y/o pacientes diagnosticados con tumores, tanto benignos como malignos. Esta comparativa puede realizarse con un software adaptado al manejo de estos datos. En función de la comparativa de valores obtenidos con el kit con los valores de referencia, se puede determinar si hay presencia de tumor benigno o maligno, y en este último caso su estadio.

Preferiblemente, el eluyente del kit es ácido acético.

Preferiblemente, las AuNPs de la dispersión del kit tienen un diámetro de entre 5 y 20 nm.

Preferiblemente, las AuNPs de la dispersión del kit son de naturaleza hidrofóbica.

Preferiblemente, el medio para determinar la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda para el kit es espectrofotometría UV-VIS.

Preferiblemente, el tumor maligno a detectar por el kit se selecciona de entre renal, vesical, prostático o colorrectal.

Los resultados de los ensayos que se describen a continuación en la parte ejemplos indican que la presente invención ofrece un método no invasivo de cribado, diferenciación diagnóstica y seguimiento a partir de la huella bioquímica en una muestra de orina. El ahorro en irradiación y en costes puede ser muy aprovechable para el paciente y el Sistema Nacional de Salud. Por las características del método, podría implementarse además como POCT (*point-of-care-test*). En los últimos años, el desarrollo de test médicos a nivel de usuario (POCT) se ha considerado una prioridad. Los POCTs son dispositivos simples que pueden ser empleados por el propio médico de cabecera y mediante los cuales se obtienen resultados rápidos. Este tipo de kits pretende facilitar el trabajo de los médicos y técnicos de laboratorio hospitalario para dar una solución ágil y eficaz a los pacientes, sin necesidad de hacer cola en hospitales y evitando también el uso de aparatos complejos y costosos. Además, este tipo de dispositivos intenta facilitar un diagnóstico primario que enfoque a continuación el trabajo del médico en la dirección correcta evitando ciertos análisis más lentos y económicamente insostenibles.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1.- Obtención de la huella bioquímica para tres orinas de sujetos con cáncer (46, 51, 70). (A-C) Representación de la absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. la longitud de onda a diferentes concentraciones del extracto de ácido acético de orina. (D) Representación de la absorbancia vs μL del extracto acético de orina de la respuesta media de 10 muestras de orinas normales.

Figura 2. Muestra la primera derivada de la absorbancia de agregación vs, μL del extracto acético adicionado a la disolución coloidal de AuNPs desnudas de orinas de pacientes con cáncer (trazo continuo) y sujetos sanos (trazo discontinuo).

Figura 3.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas: VAL 5, orinas normales; VAL 1, cáncer renal operable-antes de la operación: 6, 9, 12, 16, 17, 18, 19, 30,39, 68 y cáncer renal operable-3 meses después de la operación: 58, 73,74; VAL 3, Cáncer renal-tumor pequeño en vigilancia: 14, 21; VAL 4, Cáncer renal metastásico.

Figura 4.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas: VAL 7, Cáncer de vejiga no-músculo invasivo; VAL 5, orinas normales.

Figura 5.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AgNPs desnudas para las orinas: VAL 2, cáncer renal operado; VAL 5, orinas normales

5 Figura 6.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas: VAL 5, orinas normales; VAL 1, cáncer renal operable-antes de la operación: 77, 78, 86, 89, 99 y cáncer renal operable-3 meses después de la operación: 76, 79, 80.

10 Figura 7.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas: VAL6 cáncer de próstata en vigilancia activa, VAL 5 sanos.

Figura 8.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas: obtenidos para pacientes con cáncer colorrectal a nivel basal;
15 media(x) $\pm$ s y media(x) $\pm$ 2s con los trazos gruesos azul y verde, corresponden a sujetos sanos.

Figura 9.- Huella bioquímica en μL del extracto acético que provoca la agregación de AuNPs desnudas para las orinas de pacientes con cáncer colorrectal; media(x) $\pm$ s y media(x) $\pm$ 2s con los trazos gruesos azul y verdes corresponden a sujetos sanos.

20

EJEMPLOS DE LA INVENCION

Ejemplo 1. Determinación de la absorbancia vs. longitud de onda en dispersiones de AuNPs.

En primer lugar, cartuchos de EFS (100 mg) se acondicionan con metanol (1 mL) y una
25 disolución de hidrogeno carbonato de sodio (1 mL, 0,5 M) a pH 12. A continuación, se hace pasar 1 mL de muestras (orina) y a continuación 2 mL de hidrogenocarbonato de sodio, 1 mL de acetonitrilo y 2 mL de agua ultrapura. Finalmente, se eluye con ácido acético 5% en dos fracciones de 0,25 mL, disponiendo de 0,50 mL.

30 La Figura 1(A-C) describe cómo se establece la huella para tres orinas patológicas: se realizan adiciones sucesivas, cada una de ellas de 5 μL del extracto acético de la orina sobre una dispersión de AuNPs desnudas (2 mL) y se registra el espectro UV-VIS. A partir de los espectros se representa la intensidad de la señal (Figura 1D) o la primera derivada de la señal (Figura 2) a la longitud de onda de agregación frente al volumen añadido del extracto acético
35 de orina. El punto de máxima pendiente en la representación de la Figura 1D o el máximo en

la Figura 2 se corresponde con el valor de la huella bioquímica. En ambos casos las representaciones muestran una marcada diferencia entre la huella de pacientes con cáncer y sujetos normales.

VAL	Descripción	Nº pacientes reclutados
1	Cáncer de riñón operable	26
2	Cáncer de riñón operado	46
3	Cáncer de riñón-tumor pequeño en vigilancia	4
4	Cáncer de riñón metastásico	3
5	Individuos sanos-control	8
6	Cáncer de próstata en vigilancia activa	25
7	Cáncer de vejiga	47
8	Cáncer de próstata resistente a la castración química	9
9	Cáncer de próstata metastásico	1
10	Cáncer de próstata localmente avanzado (prostatectomía y/o ganglio centinela)	10
11	Tumor renal benigno	1
12	Cáncer de próstata en radioterapia	28
Total muestras		227

5 **Tabla 1.** Muestras procesadas de pacientes del Hospital de Valencia, identificado como Hospital 1. VAL se refiere a la agrupación de pacientes según el tipo de tumor

Ejemplo 2. Obtención de datos estadísticos

10 Se analizaron muestras de sangre y orina de pacientes oncológicos diagnosticados de cáncer colorrectal pertenecientes al Hospital de Valencia, identificado como Hospital 2 (Tabla 2). En el suero de estos pacientes se realizó el estudio bioquímico-clínico de parámetros metabólicos y marcadores tumorales (CEA y CA19.9). A partir de la base de datos de los pacientes se elaboraron las tablas de resultados antropométricos y bioquímicos especialmente

15 relacionados con el proceso tumoral, así como la clasificación TNM de estadificación del cáncer para cada uno de los pacientes afectados. Los resultados se procesaron estadísticamente para su correlación bioquímica y antropométrica.

Nº MUESTRA	FECHA BASAL	FECHA DE LA INTERVENCIÓN	FECHA 1 MES
1	18/02/15	01/04/15	05/05/2015
2	18/02/15	25/03/15	04/05/2015
3	24/02/15	04/03/15	04/05/2015
4	18/02/15	08/04/15	11/05/2015
5	24/02/15	23/03/15	04/05/2015
6(no hay)	03/03/15	01/04/15	05/05/2015
7	03/03/15	04/05/15	05/06/2015
8	17/03/15	01/04/15	05/05/2015
9	17/03/15	27/04/15	26/05/2015
10	17/03/15	01/07/15	07/08/2015
11	24/03/15	17/06/15	17/07/2015
12 (no hay)	24/03/15	20/04/15	26/05/2015
13	24/03/15	04/06/15	08/07/2015
14	07/04/15	05/05/15	05/06/2015
15	07/04/15	14/05/15	08/07/2015
16	07/04/15	29/06/15	29/07/2015
17	15/04/15	08/06/15	NO VIENE
18	20/04/15	INOPERABLE	METASTASIS
19	20/04/15	15/06/15	17/07/2015
20	22/04/15	22/06/15	24/07/2015
21	22/04/15	11/05/15	08/07/2015
22	29/04/15	SE OPERA en otro hospital	
23	29/04/15	25/05/15	08/07/2015
24	11/05/15	27/05/15	08/07/2015

Tabla 2. Muestras de pacientes del Hospital 2

Los resultados obtenidos para 15 muestras señalan una disminución en el volumen del extracto acético en la orina de los pacientes con cáncer colorrectal (ver Figura 8) en referencia a sujetos sanos (n=15).

También se estudiaron los perfiles urinarios de algunos pacientes a nivel basal y después de un mes de evolución. La Figura 9 permite establecer que para algunos pacientes se había modificado el perfil urinario, si bien sería necesaria prolongar el tiempo de recogida de muestra para dilucidar la evolución del paciente.

La evolución con el tiempo (cinética) de las distintas adiciones de orina a las nanopartículas de las muestras de los pacientes número 2 y 13 analizadas antes de la operación (basales), determinaron que los pacientes debían estar en un estado bastante avanzado o agresivo del cáncer de colon, ya que se desvían mucho de los rangos considerados como

"normales/sanos" (una cinética prácticamente vertical). Al comprobarlo con su historia clínica, en efecto, los pacientes mostraban un tumor en estadio IIIB bastante severo con complicación de ganglios linfáticos regionales (N1), pero sin metástasis distante aparente. Un mes tras la resección del tumor, su cinética ha mostrado tendencia hacia el rango de normalidad, aunque la variación es mínima por el momento.

Las cinéticas de las muestras de los pacientes 3, 4, 5, 11 y 14 también se desvían del rango de normalidad. En este caso las cinéticas son menos pronunciadas que en el paciente nº2, lo que revisando sus historias clínicas se explica porque estos pacientes se encuentran en una fase menos avanzada del tumor y sin presencia del tumor en los ganglios linfáticos regionales (N0)

Los pacientes 7, 8 y 9 según su historia clínica presentaban un tumor bastante avanzado (estadio IIIC), con penetración T3 y un mayor número de ganglios linfáticos afectados que en los casos anteriores descritos (N2). De todas las muestras analizadas, la cinética del paciente 17 entra dentro del rango de normalidad. Revisando su historia clínica se observa que es el paciente con el tumor menos avanzado de todos los analizados en su estado basal, no muestra metástasis, ni afectación de ganglios; se encuentra en estadio I. A esto puede deberse que su cinética aún esté dentro del rango de normalidad, no sería suficiente agresivo como para ser detectado cinéticamente.

Los pacientes 15 y 21 son los que muestran las cinéticas más pronunciadas y alejadas de los rangos de normalidad, indicando una mayor penetración del tumor. Revisando sus historias efectivamente es así. Ambos pacientes muestran una penetración T3, un tumor en estadio IIB con afectación de ganglios linfáticos, pero aun así sin metástasis.

Los resultados de los marcadores tradicionales del cáncer colorrectal (CEA, CA-19.9) demuestran una vez más su poca especificidad y sensibilidad dada la poca correlación encontrada entre estos marcadores y el grado de gravedad de la enfermedad.

REIVINDICACIONES

1. Método *in vitro* para detectar la presencia y/o el estadio de tumores malignos en un paciente que comprende las siguientes etapas:
 - 5 a) tratamiento de una muestra de orina del paciente mediante extracción en fase sólida,
 - b) adición del extracto obtenido en la etapa anterior en adiciones sucesivas de un mismo volumen sobre una dispersión de nanopartículas de oro (AuNPs),
 - 10 c) medida de la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda a las diferentes concentraciones del extracto, aportadas por las adiciones sucesivas de un mismo volumen que se han ido añadiendo en la anterior etapa, y
 - d) determinación de la presencia y/o el estadio del tumor mediante la comparación de los valores de absorbancia vs. longitud de onda obtenidos en la anterior etapa con
15 valores de absorbancia vs. longitud de onda de referencia obtenidos a partir de muestras de orinas de pacientes sanos y/o de pacientes diagnosticados con tumores.
2. Método según la reivindicación 1 donde el eluyente en la etapa (a) es ácido acético.
- 20 3. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde las AuNPs tienen un diámetro de entre 5 y 20 nm.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde las AuNPs son de naturaleza hidrofóbica.
25
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la medida de la absorbancia vs. longitud de onda en la etapa (c) se realiza mediante espectrofotometría UV-VIS.
- 30 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el tumor maligno a detectar se selecciona de entre renal, vesical, prostático o colorrectal.
7. Kit de diagnóstico *in vitro* para detectar la presencia y/o el estadio de tumores malignos a partir de una muestra de orina del paciente que comprende:
35 - medios para realizar una extracción en fase sólida de dicha muestra que comprende

al menos una columna de extracción y un eluyente,

- una dispersión de AuNPs y

- medios para determinar la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda producida cuando se añade el extracto de orina del paciente a diferentes concentraciones sobre la dispersión de AuNPs.

5

8. Kit de diagnóstico según la reivindicación anterior donde el eluyente es ácido acético.

9. Kit de diagnóstico según cualquiera de las reivindicaciones 7 u 8 donde las AuNPs tienen un diámetro de entre 5 y 20 nm.

10

10. Kit de diagnóstico según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 donde las AuNPs son de naturaleza hidrofóbica.

11. Kit de diagnóstico según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 donde el medio para determinar la variación de absorbancia de la dispersión acuosa de AuNPs vs. longitud de onda es espectrofotometría UV-VIS.

15

12. Kit de diagnóstico según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 donde el tumor maligno a detectar se selecciona de entre renal, vesical, prostático o colorrectal.

20

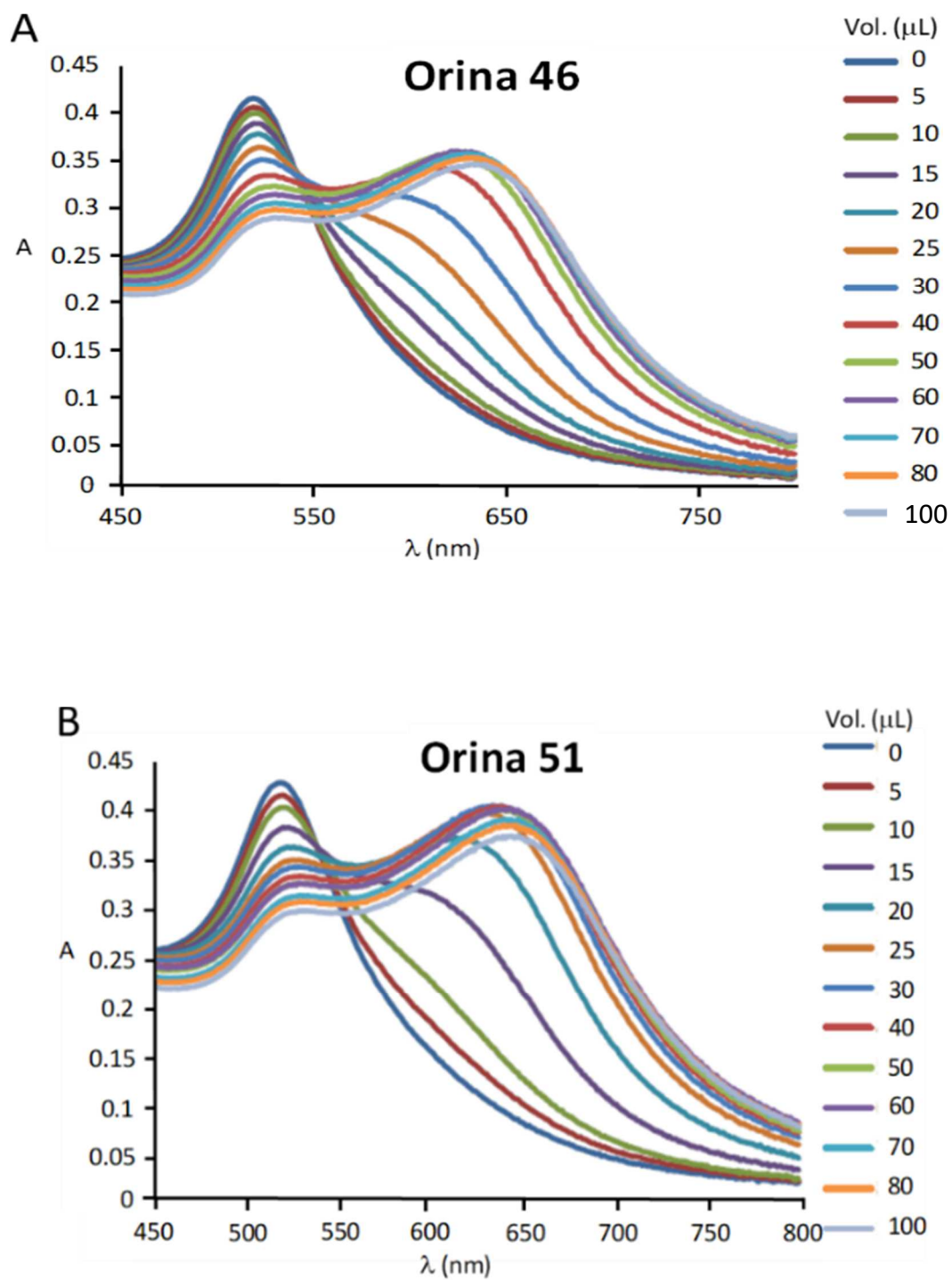


FIG. 1

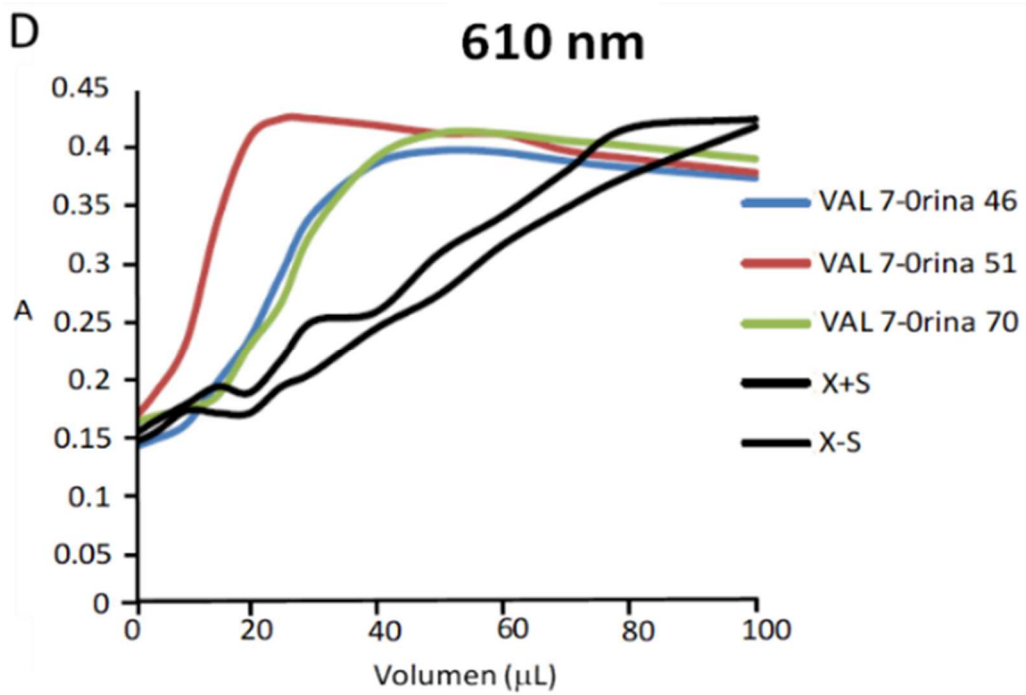
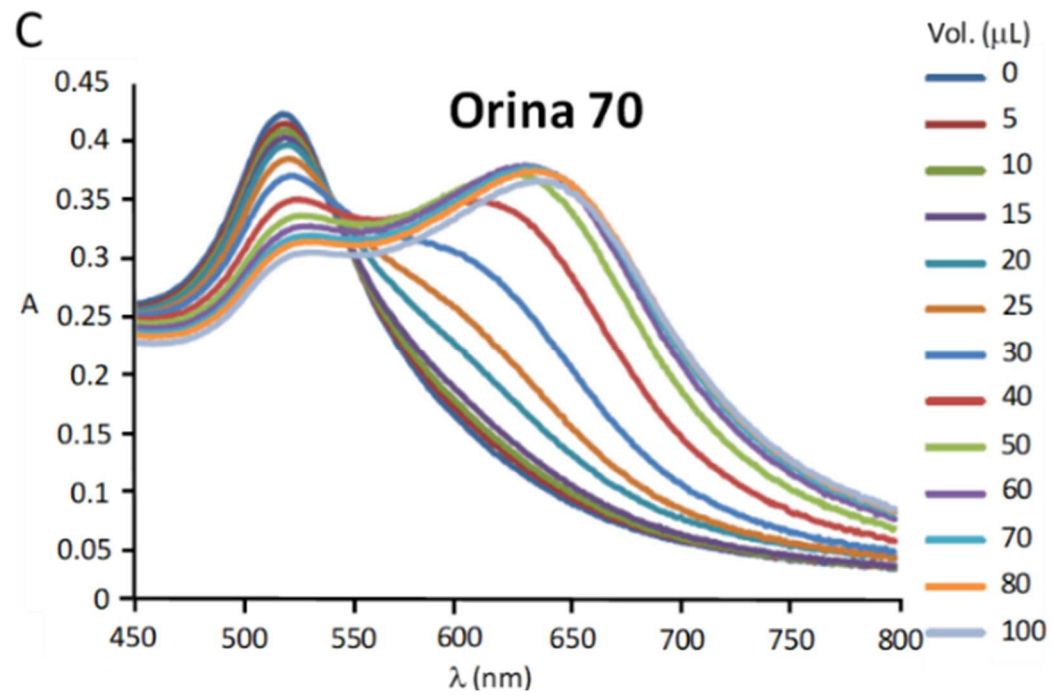


FIG. 1 cont.

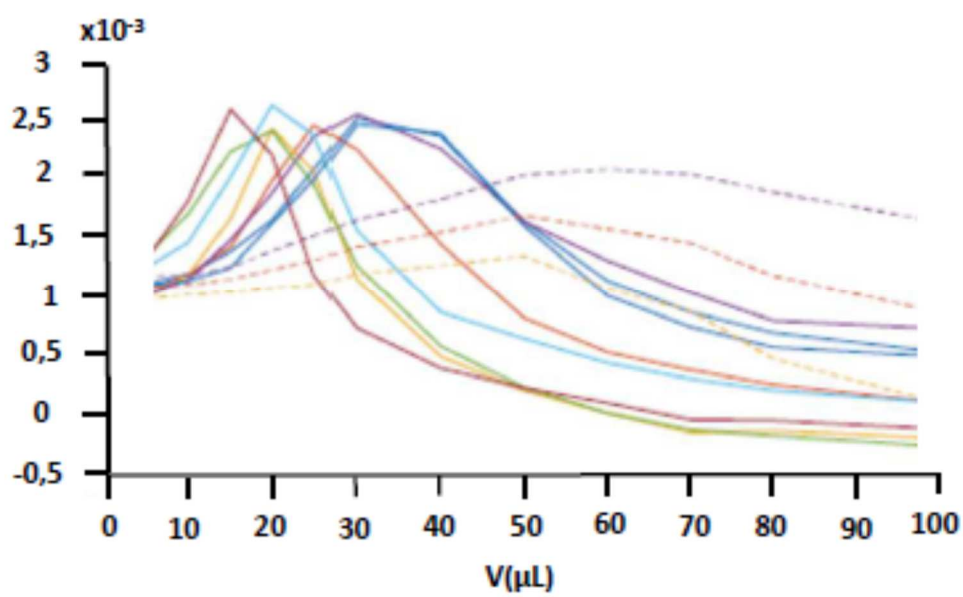


FIG. 2

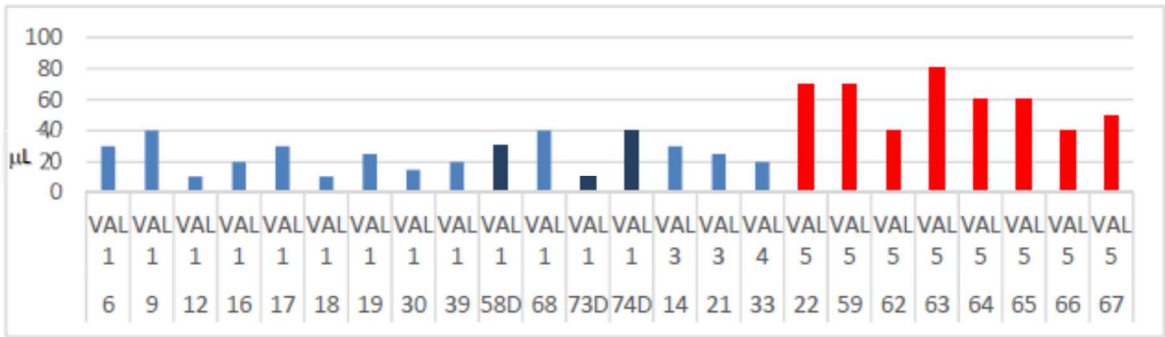


FIG. 3

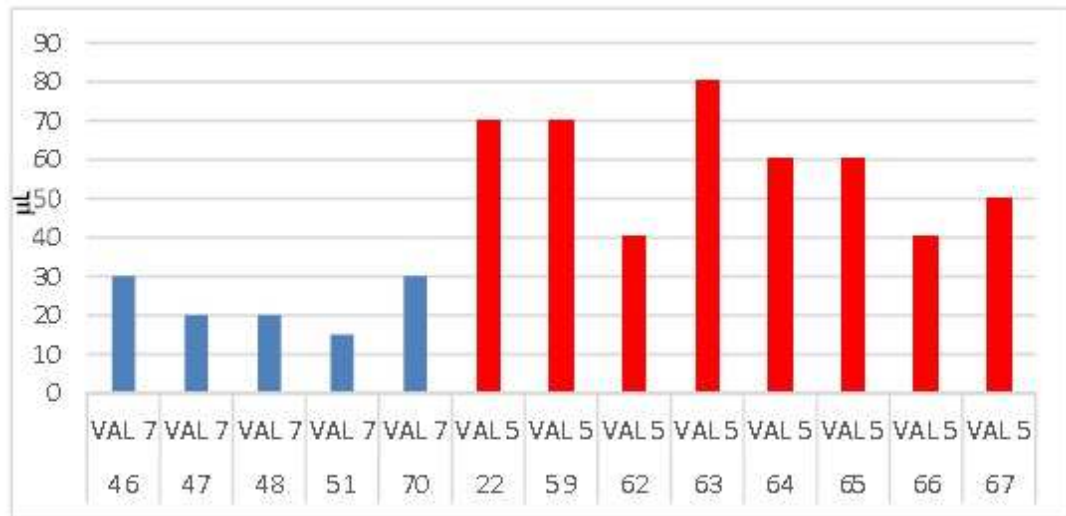


FIG. 4

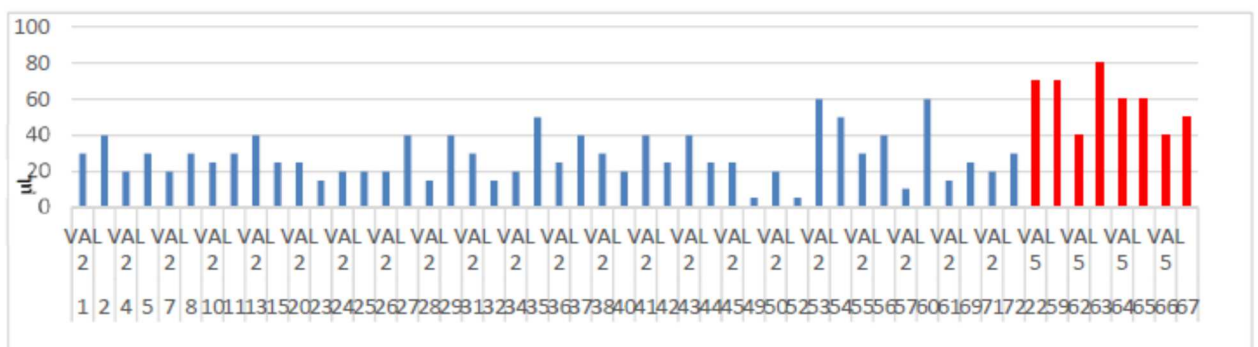


FIG. 5

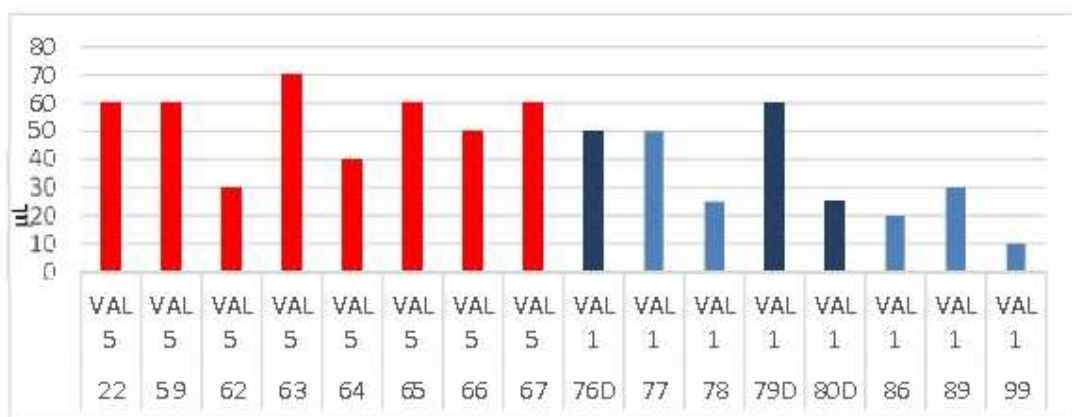


FIG. 6

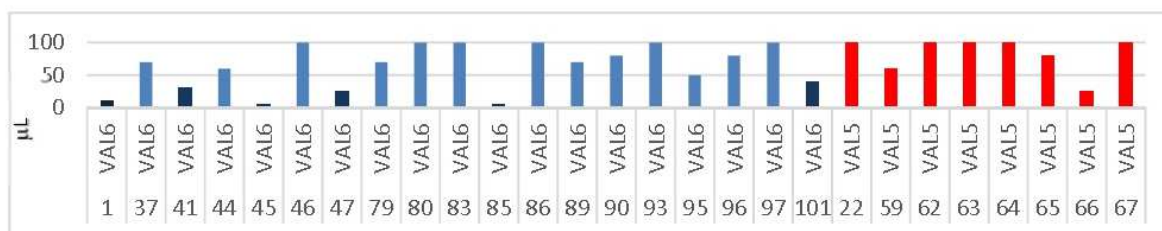


FIG. 7

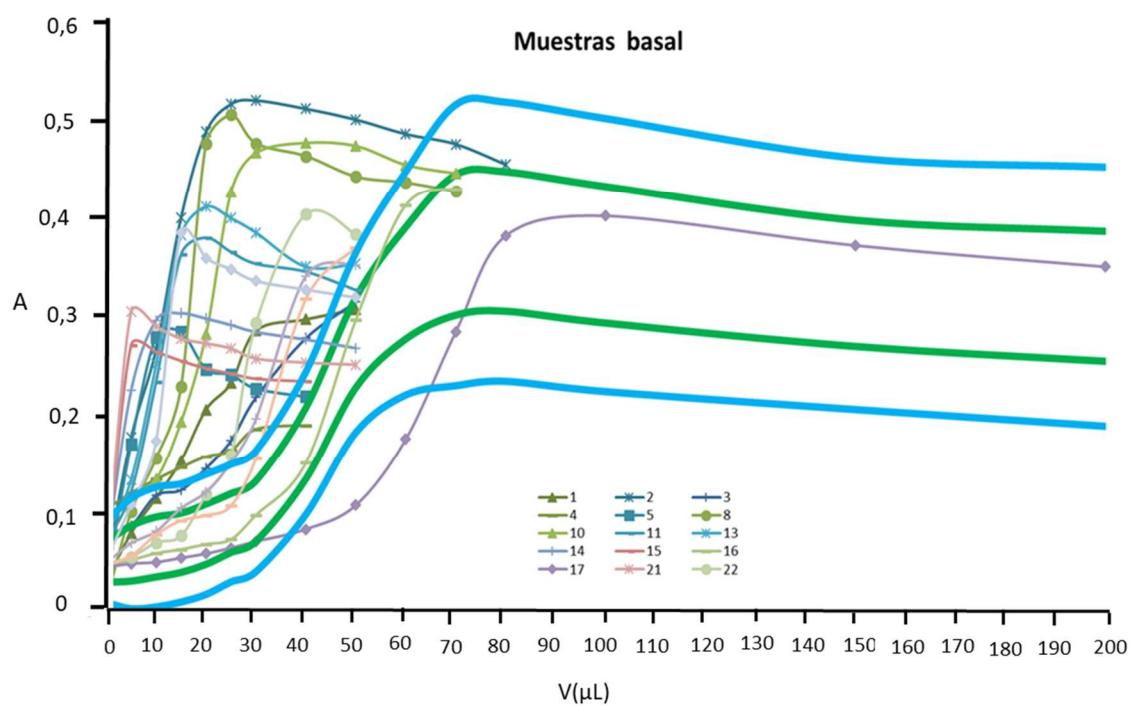


FIG. 8

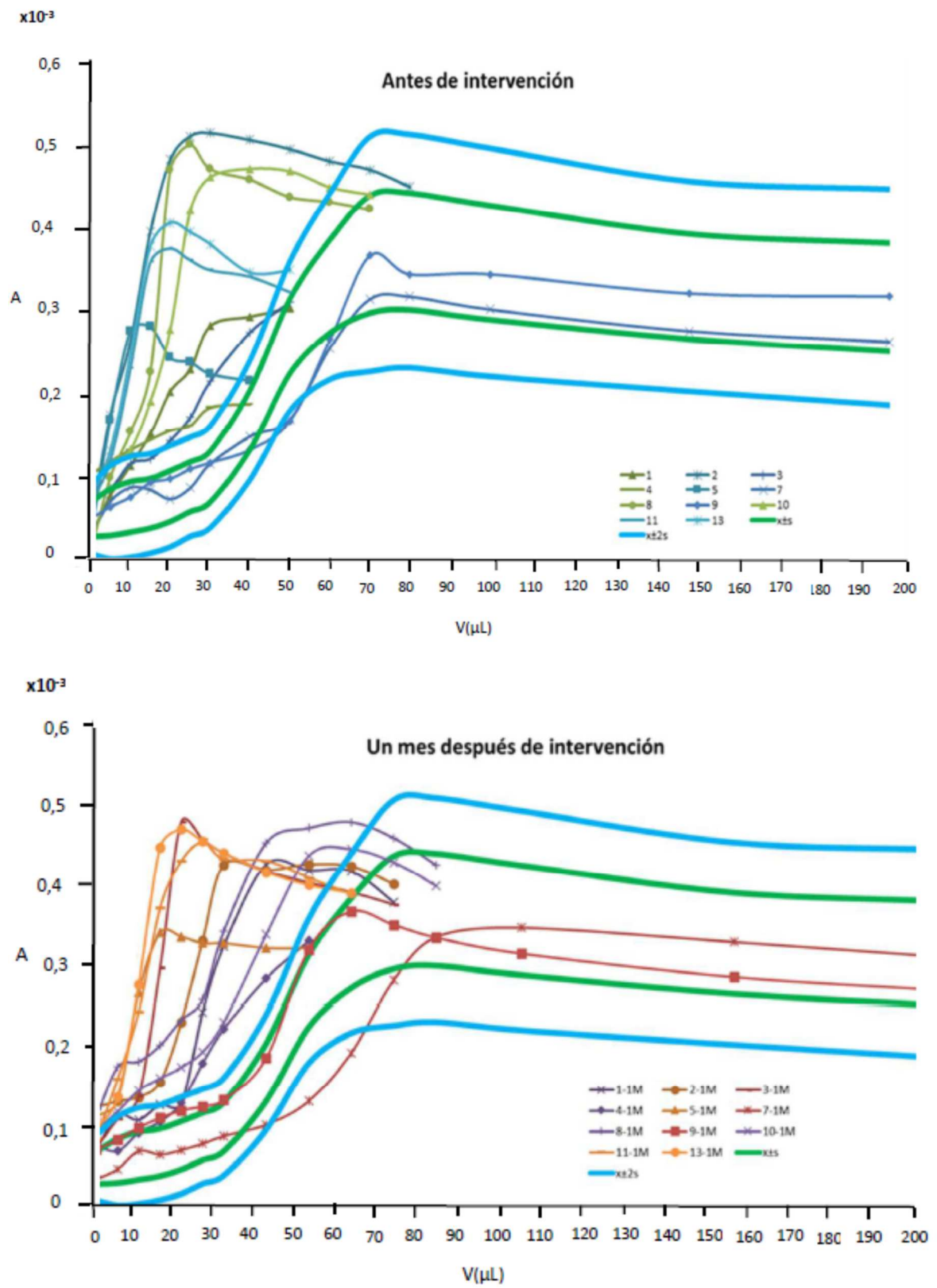


FIG. 9



- ②① N.º solicitud: 202130104
②② Fecha de presentación de la solicitud: 10.02.2021
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N33/50** (2006.01)
G01N21/33 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	JORNET-MARTINEZ. N, et al. Sensitive and Selective Plasmonic Assay for spermine as Biomarker in Human Urine. ANALYTICAL CHEMISTRY, 2014, Vol. 86, Páginas 1347-1351 [en línea][recuperado el 13/05/2021]. Recuperado de Internet <URL: http://dx.doi.org/10.1021/ac404165/Anal.Chem.2014,86,1347-1351 >. página 1348 " Quantitative Detection of Spermine in Normal Urine Using AuNPs ", " Quantitative Detection of Spermine in AbNormal Urine Using AuNPs "; figura S7	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
21.05.2021

Examinador
J. López Nieto

Página
1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, PUBMED, BIOSIS, INTERNET