



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 303 478**

② Número de solicitud: 200700264

⑤ Int. Cl.:

A61B 3/10 (2006.01)

G01N 21/63 (2006.01)

G01N 33/483 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑫ Fecha de presentación: **31.01.2007**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.08.2008**

Fecha de la concesión: **17.09.2009**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **07.10.2009**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:
07.10.2009

⑰ Titular/es: **Universidad Complutense de Madrid
Rectorado - Avda. de Séneca, 2
28040 Madrid, ES**

⑱ Inventor/es: **Peral Cerdá, María Asunción y
Pintor Just, Jesús Jerónimo**

⑳ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Método de diagnóstico por imagen y seguimiento de la efectividad del tratamiento de una mucodeficiencia.**

㉑ Resumen:

Método de diagnóstico por imagen y seguimiento de la efectividad del tratamiento de una mucodeficiencia.

La presente invención se refiere a un método para la visualización mediante microscopía confocal, de las proteínas de la superficie ocular conocidas como mucinas, obtenidas mediante citología de impresión. Dicho método permite diagnosticar, en base a las características de la imagen obtenida de estas proteínas, si un individuo presenta o no una mucodeficiencia y de qué grado es ésta. Asimismo, esta técnica permite determinar la efectividad y el seguimiento de un tratamiento aplicado a estos pacientes.

ES 2 303 478 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Método de diagnóstico por imagen y seguimiento de la efectividad del tratamiento de una mucodeficiencia.

5 Objeto de la invención

La presente invención se refiere a un método para la visualización mediante microscopía confocal, de las proteínas de la superficie ocular conocidas como mucinas, obtenidas mediante citología de impresión. Dicho método permite diagnosticar, en base a las características de la imagen obtenida de estas proteínas, si un individuo presenta o no una mucodeficiencia y de qué grado es ésta. Asimismo, esta técnica permite determinar la efectividad y el seguimiento de un tratamiento aplicado a estos pacientes.

Estado de la técnica

Las mucinas oculares son proteínas de cadena molecular larga, que se encuentran en la película lagrimal y son producidas por las células de los epitelios conjuntival y corneal, y en particular por las células caliciformes (goblet) de la conjuntiva (Lemp, 1992, Pepperl, 1996, Forstner, 1995). Estas proteínas están situadas en la capa más interna de la lágrima y en condiciones normales generan la cantidad de mucina necesaria para que el ojo tenga una buena lubricación con un mínimo de fricción durante el proceso del parpadeo, y los movimientos oculares de rotación (Kaura & Tiffany, 1986). Esta mucina protege a la superficie ocular evitando la sequedad, las quemaduras químicas o las infecciones provocadas por agentes patógenos (Lamberts, 1994).

Un desequilibrio en la producción de estas proteínas es crítico para el mantenimiento de la salud ocular (Lemp, 1992), y en particular, una deficiencia de las mismas puede dañar la superficie ocular (Dart, 2004). Esta patología se conoce con el nombre de mucodeficiencia, y dependiendo del grado de disminución y/o alteración de estas proteínas será más o menos severa. Dicha mucodeficiencia puede ser debida a diferentes causas como: ojo seco, procesos inflamatorios de la superficie ocular, procesos infecciosos, epiteliopatías, causticación química, aniridia, la edad, la utilización de lentes de contacto y todo lo empleado en su manejo e higiene, cirugías oculares y en general cualquier alteración de afecte a las glándulas que contribuyen a generar la película lagrimal, terminará dando lugar a una mucodeficiencia (Murube y col., 2003).

Dada la importancia de esta alteración se han desarrollado numerosas técnicas para detectar, medir y cuantificar las mucinas secretadas por las células caliciformes (goblet). Entre las técnicas empleadas se encuentran la citología por impresión, técnica sencilla que consiste en recoger células de la superficie ocular y cuantificar el número de células que secretan estas glicoproteínas (Thatcher y col., 1977). Por otra parte, también se emplean técnicas más sofisticadas como la ELISA y el análisis por inmunoblot que determinan y cuantifican los diferentes tipos de mucinas oculares (Argüeso y col., 2002; Jumblatt y col., 2002).

El método que se describe en la patente, consiste en la visualización mediante microscopía confocal láser de las muestras recogidas en la citología por impresión, combinándose la sencillez y la sofisticación de las dos técnicas. Este método, mediante el análisis de la imagen obtenida, permite determinar la severidad de la mucodeficiencia del paciente. Para dicha estimación, se han descrito dos parámetros referentes a la secreción de la mucina: el espesor basal de la nube de mucina que se extiende sobre el lecho epitelial (E.B.N.M.) medida en micras, y la altura total que alcanza la nube de mucina desde la célula caliciforme medida desde el lecho epitelial (A.T.N.M.) y expresada en micras.

En la actualidad no se conoce ninguna patente en la que se describa algún método similar para la observación de la secreción de mucinas sobre la superficie ocular. Por consiguiente resulta de un interés extraordinario, contar con una nueva técnica que permita determinar el grado de severidad de una mucodeficiencia, la evolución de esta patología tras la aplicación de un tratamiento así como la bondad de dicho tratamiento.

50 Descripción de la invención

Un conjunto de estudios realizados por los inventores demuestran que tras el análisis de las imágenes de microscopía láser confocal tomadas de las citologías por impresión, los parámetros correspondientes al espesor basal de la nube de mucina (EBNM) y a la altura total de la nube de mucina (ATNM) de los individuos mucodeficientes, están disminuidos con respecto a los valores hallados para los individuos normales.

Este hecho es relevante por cuanto que constituye una valoración objetiva de la secreción de mucinas del paciente, siendo posible diagnosticar si un individuo posee o no una mucodeficiencia así como el grado de severidad de la misma.

La presente invención tiene por objeto un método de diagnóstico de mucodeficiencia que comprende medir los parámetros EBNM y ATNM de una muestra para determinar si el individuo es o no mucodeficiente. De este forma, y de un modo objetivo se puede confirmar o descartar la presencia de esta patología.

La presente invención también tiene por objeto proporcionar un método de análisis para estudiar la evolución de los posibles tratamientos que para la mucodeficiencia se pudiesen prescribir a los pacientes con dicha patología, basado en la determinación de los parámetros EBNM y ATNM de las muestras.

Por otro lado, la presente invención tiene también como objetivo adicional proporcionar un método de análisis de compuestos para identificar aquellos que sean terapéuticamente útiles para el tratamiento de la mucodeficiencia basándose en la determinación de los parámetros EBNM y ATNM de las muestras.

5 El empleo de nuevas herramientas para el diagnóstico de mucodeficiencias supone un avance y una alternativa en el análisis de las mucinas oculares. Este método representa una nueva forma de visualización de las mismas que permite por primera vez conocer la existencia o no de una mucodeficiencia así como el grado de esta patología en un paciente.

De acuerdo con el método de diagnóstico de la presente invención, las pautas de análisis para conocer la existencia de mucodeficiencia quedarían de la siguiente forma:

A todo paciente al que se quiera diagnosticar si tiene una mucodeficiencia y el grado de ésta, se le analizarán, mediante la imagen obtenida por el microscopio confocal, los parámetros EBNM y ATNM.

15 La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-.

En el caso en el que se desee hacer un seguimiento de la posible eficacia de un tratamiento para la mucodeficiencia, se procederá del mismo modo y simplemente se estudiará si los parámetros EBNM y ATNM han aumentado hasta llegar a niveles normales durante y después del tratamiento, comparándolo con el valor patológico (valor inicial).

Si lo que se desea es realizar un estudio de la búsqueda de sustancias terapéuticas para el tratamiento de la mucodeficiencia, se tomarán muestras del animal de experimentación que presente la condición de mucodeficiencia y se procederá a aplicar el fármaco, después de lo cual se estudiarán los parámetros EBNM y ATNM. Las variaciones de estos parámetros se contrastarán antes del tratamiento (situación patológica) y tras el tratamiento.

Breve descripción de las figuras

Para facilitar la comprensión de la invención y formando parte de esta memoria descriptiva se acompañan una serie de figuras:

En la Figura 1 (a) aparecen las imágenes de la secreción de mucinas (nubes de mucina) obtenidas por el microscopio confocal de un individuo normal. En la imagen (b) se observan 5 secreciones procedentes de células caliciformes (goblet) de la conjuntiva de un individuo normal. El registro (c) amplía la secreción marcada con el número 5 para mostrar los parámetros que determinan si un individuo es o no mucodeficiente. La parte inferior de este registro muestra (señalado con flechas) las diferentes partes de la mucina y de la conjuntiva que pueden observarse en estas imágenes, y la parte derecha del mismo proporciona los valores normales de los parámetros: (6) espesor basal de la nube de mucina, EBNM, ($8.81 \pm 0.08 \mu\text{m}$), y (7) altura total de la nube de mucina, ATNM ($2.77 \pm 0.20 \mu\text{m}$) para un individuo normal.

La Figura 2 muestra un estudio comparativo entre los valores de un individuo normal (1) y diversos estados patológicos en lo que se refiere al espesor basal de la nube de mucina (EBNM): (2) mucodeficiencia leve, (3) mucodeficiencia severa, (4) ojo seco, (5) inflamación, (6) infección, (7) enfermedad autoinmune, (8) quemadura, (9) cirugía refractiva y/o ocular, (10) lentes de contacto, (11) sistema de mantenimiento de lentes de contacto.

La Figura 3 muestra un estudio comparativo entre los valores de un individuo normal (1) y diversos estados patológicos en lo que se refiere a la altura total de la nube de mucina (ATNM): (2) mucodeficiencia leve, (3) mucodeficiencia severa, (4) ojo seco, (5) inflamación, (6) infección, (7) enfermedad autoinmune, (8) quemadura, (9) cirugía refractiva y/o ocular, (10) lentes de contacto, (11) sistema de mantenimiento de lentes de contacto.

Modo de realización de la invención

El método de la presente invención se ilustra a continuación mediante tres ejemplos, los cuales no son limitativos de su alcance.

Ejemplo 1

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo sano siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular.

ES 2 303 478 B2

La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros en un individuo normal fueron de $2.77 \pm 0.20 \mu\text{m}$ y $8.81 \pm 0.80 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

5 Ejemplo 2

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo mucodeficiente leve siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron 1.62 ± 0.26 y 2.43 ± 0.32 para EBNM y ATNM respectivamente.

15 Ejemplo 3

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo mucodeficiente severo siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $1.43 \pm 0.12 \mu\text{m}$ y $1.38 \pm 0.28 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

Ejemplo 4

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo con ojo seco siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $1.98 \pm 0.22 \mu\text{m}$ y $3.85 \pm 0.18 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

Ejemplo 5

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo diagnosticado de un proceso inflamatorio ocular siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $2.13 \pm 0.18 \mu\text{m}$ y $5.73 \pm 0.26 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

Ejemplo 6

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo diagnosticado de un proceso infeccioso ocular siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas por a través de la informática para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $2.31 \pm 0.28 \mu\text{m}$ y $5.53 \pm 0.20 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

60 Ejemplo 7

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo diagnosticado de una enfermedad autoinmune con afección ocular siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de

ES 2 303 478 B2

mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $1.62 \pm 0.14 \mu\text{m}$ y $1.40 \pm 0.28 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

Ejemplo 8

5

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo diagnosticado de un proceso causticación o quemadura de la superficie ocular siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $2.11 \pm 0.22 \mu\text{m}$ y $5.30 \pm 0.20 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

15

Ejemplo 9

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo operado de cirugía refractiva y/o ocular siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $1.05 \pm 0.08 \mu\text{m}$ y $3.58 \pm 0.16 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

25

Ejemplo 10

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo portador de lentes de contacto siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $1,10 \pm 0.11 \mu\text{m}$ y $2,25 \pm 0.29 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

35

Ejemplo 11

Se realiza un protocolo de citología por impresión en un individuo con problema con el sistema de mantenimiento de sus lentes de contacto, siguiendo el protocolo clásico descrito por Murube y col. (2003). La muestra se analiza en el microscopio confocal excitando con el láser de 543 nm de longitud de onda y registrando la luz emitida a 560 nm por las mucinas de la muestra en forma de una imagen. Esta operación se realiza tomando un conjunto de imágenes a diversos niveles de profundidad (stacking en el eje Z), que después serán reconstruidas informáticamente para poder ver y medir los volúmenes que ocupan las mucinas en la superficie ocular. La reconstrucción se analiza para obtener los parámetros correspondientes al -espesor basal de la nube de mucina EBNM y a la altura total de la nube de mucina ATNM-. Los valores de dichos parámetros fueron de $0.93 \pm 0.28 \mu\text{m}$ y $3.25 \pm 0.63 \mu\text{m}$ para EBNM y ATNM respectivamente.

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, que comprende tomar una muestra por medio de la citología por impresión de la cual se toma una imagen con el microscopio confocal láser para determinar el espesor basal de la nube de mucina (EBNM) secretada así como la altura total de dicha nube (ATNM), que disminuyen su valor en condiciones de mucodeficiencia con respecto a los valores normales.
- 10 2. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a ojo seco.
3. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a un proceso inflamatorio.
- 15 4. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a un proceso infeccioso ocular.
- 20 5. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a una enfermedad autoinmune con afección ocular.
- 25 6. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a una causticación o quemadura de la superficie ocular.
7. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida a una cirugía refractiva y/o ocular.
- 30 8. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida al uso de lentes de contacto.
- 35 9. Método de diagnóstico por imagen de una mucodeficiencia y el grado de severidad en pacientes con dicha patología, según reivindicación 1, donde la mucodeficiencia es debida al uso de los sistemas de mantenimiento de las lentes de contacto.
- 40 10. Uso del método diagnóstico reivindicado para la detección de la efectividad de compuestos con potencial terapéutico para el tratamiento de la mucodeficiencia.
11. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por el ojo seco.
12. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por un proceso inflamatorio ocular.
- 45 13. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por un proceso infeccioso ocular.
14. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por una enfermedad autoinmune con afección ocular.
- 50 15. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por una causticación o quemadura.
16. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por una cirugía ocular y/o refractiva.
- 55 17. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por el uso de lentes de contacto.
- 60 18. Uso del método diagnóstico, según reivindicación 10, donde la mucodeficiencia es generada por el uso de los sistemas de mantenimiento de las lentes de contacto.

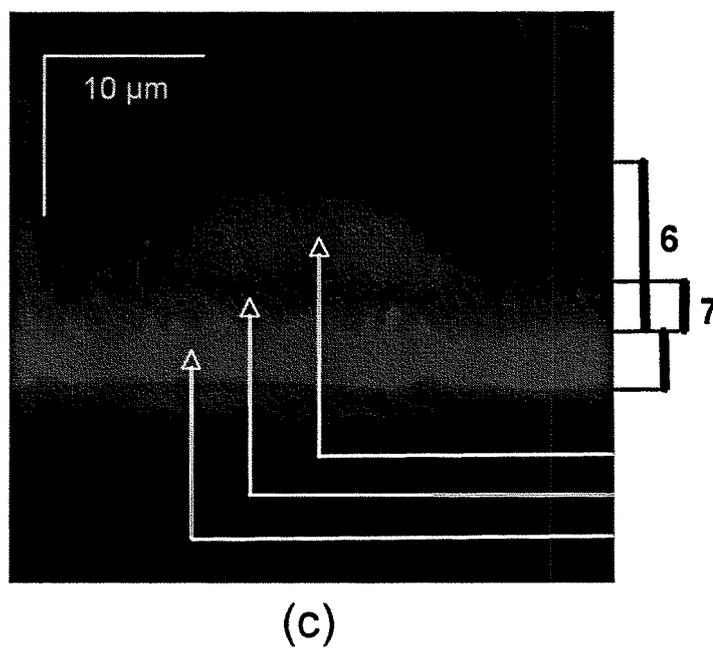
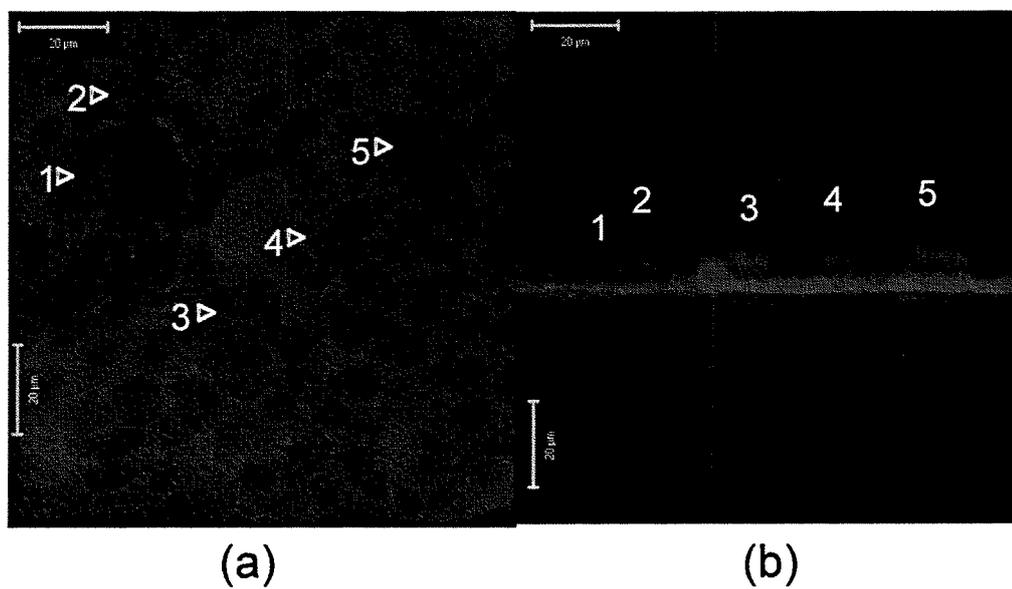


Figura 1

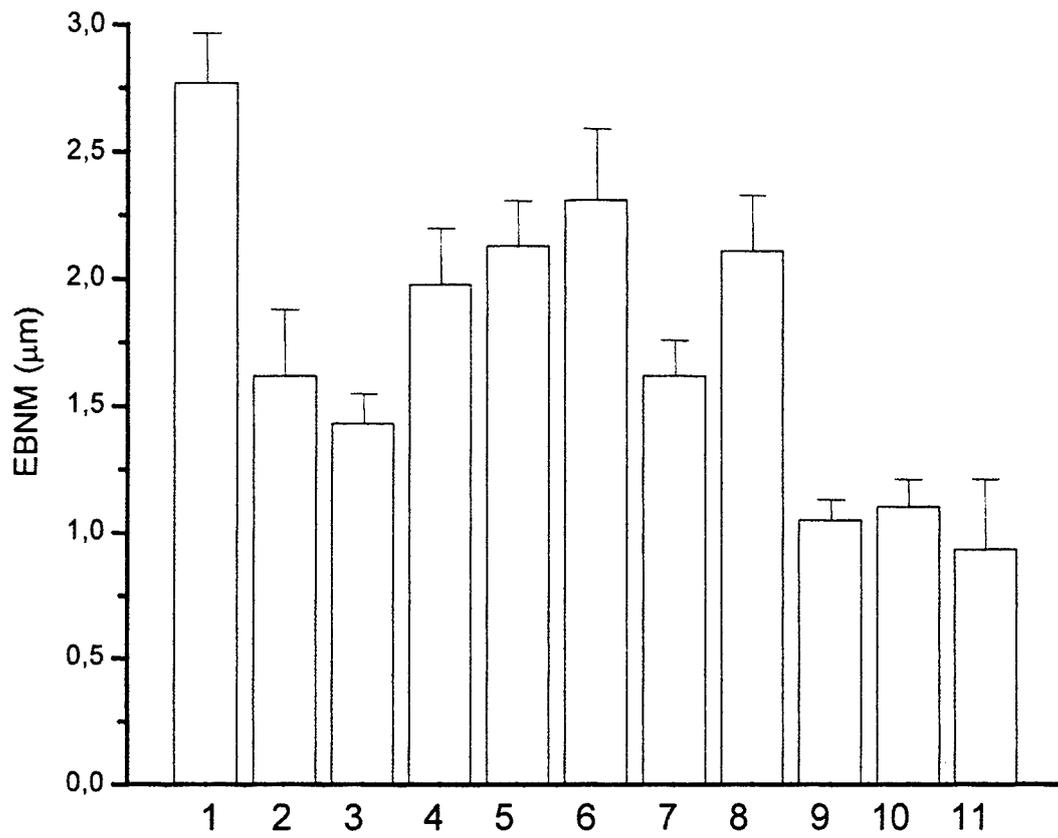


Figura 2

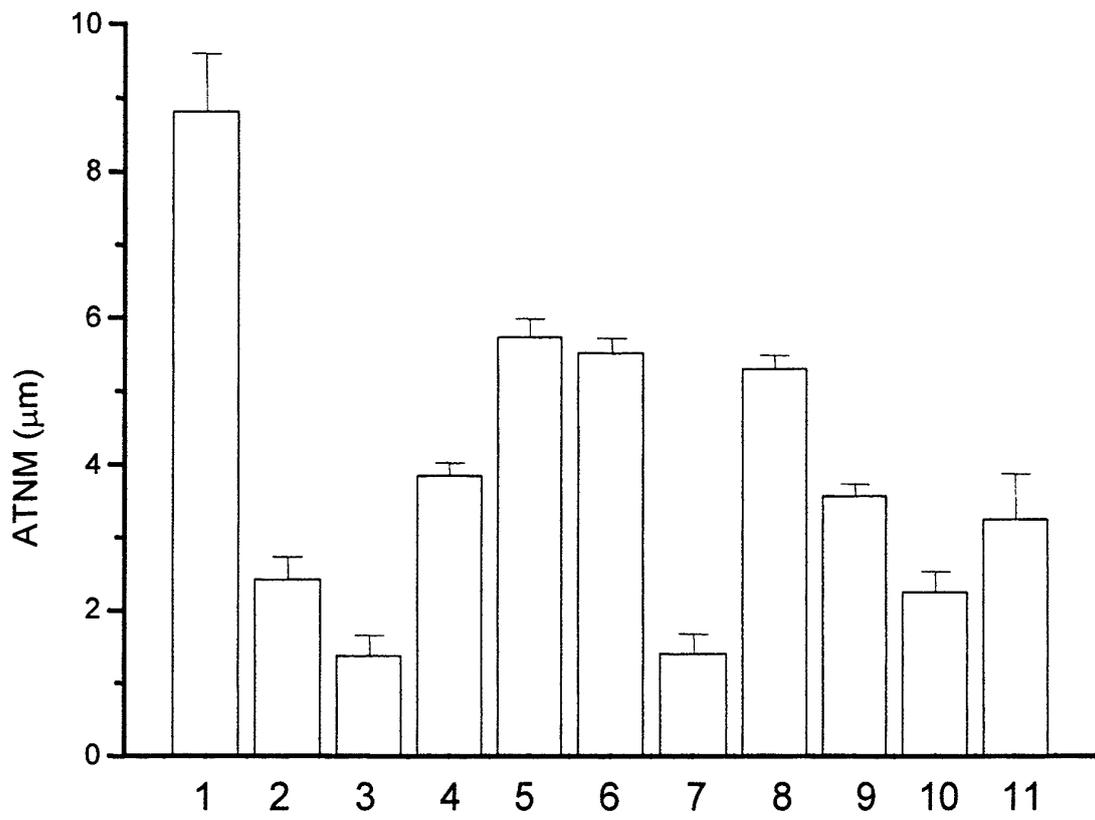


Figura 3



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 303 478

② Nº de solicitud: 200700264

③ Fecha de presentación de la solicitud: 31.01.2007

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	KRENZER, K. L. y col. Cytokeratin expression in normal human bulbar conjunctiva obtained by impression cytology. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 1997, Vol.38, Nº 1, páginas 142-152; ISSN 046-0404. Página 144, párrafo "Immunofluorescence"; página 147, párrafo "Cytokeratin Marker of Glandular Epithelia".	1-18
A	WO 9804204 A1 (ADVANCED SCANNING, LTD.) 05.02.1998, página 10, líneas 2-20.	1-18
A	PRYDAL, J.I. y CAMPBELL F.W. Study of precorneal tear film thickness and structure by interferometry and confocal microscopy. Investigative Ophthalmology & Visual Science. 1992, Vol. 33, Nº 6, páginas 1996-2005, ISSN 046-0404.	1-18

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

24.06.2008

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61B 3/10 (2006.01)

G01N 21/63 (2006.01)

G01N 33/483 (2006.01)