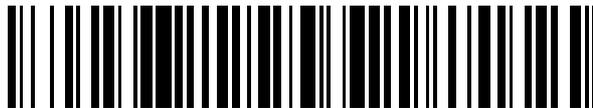


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 976**

21 Número de solicitud: 201830378

51 Int. Cl.:

G01N 30/00 (2006.01)

G01N 33/497 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

18.04.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

21.10.2019

71 Solicitantes:

**UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI (100.0%)
C/ Escorxador s/n
43003 TARRAGONA ES**

72 Inventor/es:

**IONESCU, Septimiu Radu y
WELEAREGAY, Tesfalem Geremariam**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **MÉTODO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR HELMINTOS**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto que comprenden la detección de al menos un compuesto orgánico volátil en una muestra de exhalado de un sujeto. La presente invención también se refiere al uso de muestras de exhalado para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto; al uso de al menos un compuesto orgánico volátil para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto; y a test y kits para llevar a cabo los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto mencionados anteriormente.

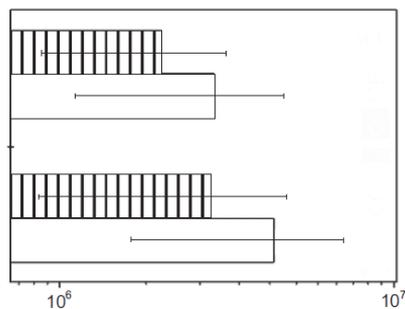


Fig. 1

DESCRIPCIÓN

**MÉTODO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR
HELMINTOS**

5

El proyecto que ha llevado a esta solicitud de Patente ha recibido financiación del programa de investigación e innovación de la Unión Europea Horizonte 2020 bajo el acuerdo de beca Marie Skłodowska-Curie Num. 645758.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere al sector de la biomedicina, más preferentemente al sector del diagnóstico biomédico. Más concretamente, la presente invención se refiere a métodos y procedimientos *in vitro* para el diagnóstico rápido y fiable de enfermedades
15 causadas por helmintos, más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar, y a test y kits para llevar a cabo dichos métodos y procedimientos.

Antecedentes de la invención

20

La equinococosis humana es una de las enfermedades parasíticas causadas por larvas de Cestodos del género *Echinococcus* más desatendida. Las formas clínicas más frecuentes de la equinococosis humana son la equinococosis quística y la equinococosis alveolar, causadas por dos especies zoonóticas, *Echinococcus granulosus* y
25 *Echinococcus multilocularis*, respectivamente. La infección en humanos ocurre por la ingestión de huevos del parásito correspondiente en agua, comida o tierra contaminadas o por contacto directo con animales huésped, tales como perros u ovejas. Estas enfermedades zoonóticas en humanos son infecciones crónicas con una fase o periodo inicial asintomático que puede durar varios años, antes del desarrollo de los síntomas
30 clínicos, asociados con el efecto de presión o necrosis tisular que causan los parásitos sobre el área afectada. Las infecciones con equinococosis humana suponen una importante preocupación para la salud pública, dado que se encuentran distribuidas por todo el mundo, sobretudo en regiones en desarrollo con recursos económicos limitados, y en algunas zonas se están convirtiendo en enfermedades emergentes o
35 reemergentes. En las zonas endémicas, la incidencia, por ejemplo, de la equinococosis

quistica puede oscilar entre menos de 1 y 200 infecciones por cada 100000 personas y año; y de la equinococosis alveolar puede oscilar entre 0,03 y 1,2 infecciones por cada 100000 personas y año.

5 El diagnóstico de la equinococosis humana se lleva a cabo, normalmente, mediante imagen por ultrasonidos, que a su vez, normalmente, se complementa o valida mediante imagen por tomografía computerizada y/o resonancia magnética y por diferentes análisis serológicos. Por tanto, a día de hoy, el diagnóstico de las equinococosis humanas (incluidas la equinococosis quística y la equinococosis alveolar) es costoso y
10 complicado.

Adicionalmente, estas enfermedades (las equinococosis humanas, incluidas la equinococosis quística y la equinococosis alveolar) son complicadas de tratar y, en algunos casos, requieren de una intervención quirúrgica importante y/o tratamiento
15 prolongado con fármacos. Muchas de las personas afectadas por la enfermedad experimentarían síntomas clínicos graves que pueden poner en riesgo su vida si no se tratan, y, aún con tratamiento, frecuentemente los pacientes presentan una bajada de su calidad de vida.

20 Por tanto, los métodos de diagnóstico disponibles actualmente son costosos y complicados y, por tanto, la detección y el control de la enfermedad resultan difíciles. Adicionalmente, se trata de métodos complicados, largos, laboriosos y que requieren de personal especializado para su realización (es decir, no los puede llevar a cabo el propio paciente). Adicionalmente, en algunas ocasiones, los métodos de diagnóstico
25 disponibles en el estado de la técnica, pueden llegar a ser molestos para el paciente.

Por tanto, en el estado de la técnica sigue existiendo la necesidad, y resultaría deseable, disponer de métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (más preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o
30 equinococosis alveolar) rápidos y fiables; y que permitieran un diagnóstico temprano de la enfermedad. Adicionalmente, también existe la necesidad de disponer de métodos de diagnóstico de dichas enfermedades que no supongan una molestia para el paciente (por ejemplo, durante la toma de la muestra). De esta manera, se podría obtener un diagnóstico más temprano o precoz y fiable de la enfermedad permitiendo iniciar antes
35 el seguimiento y/o tratamiento de los enfermos, evaluar la eficacia del tratamiento clínico

y, reduciendo, por tanto, los riesgos de complicaciones y la mortalidad asociada a la enfermedad así como los riesgos de transmisión o contagio. En el estado de la técnica, también existe la necesidad de disponer de métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos que sean fáciles de llevar a cabo y de interpretar
5 y que, por tanto, se puedan llevar a cabo en el domicilio del propio paciente, en centros de atención primaria y/o en farmacias. Todo lo anterior resulta especialmente deseable en entornos con bajos recursos económicos.

Los inventores de la presente invención, tras extensos y exhaustivos experimentos, han
10 descubierto métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, de equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) basados en la utilización de muestras de exhalado. Los métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, de equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística
15 y/o equinococosis alveolar) desarrollados por los presentes inventores han demostrado permitir un diagnóstico rápido, fiable, sensible y precoz de la enfermedad. Adicionalmente, la muestra utilizada permite no causar molestias al paciente durante su obtención. En algunas realizaciones, además, los métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, de equinococosis, aún más
20 preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) descubiertos por los presentes inventores son fáciles de realizar y de interpretar, permitiendo su realización en el domicilio del propio individuo que sospecha que padece dicha enfermedad, en centros de atención primaria y/o en farmacias. Adicionalmente, los inventores de la presente invención también han desarrollado test y kits para la
25 implementación y la realización de los métodos para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, de equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) de la presente invención. Por tanto, los inventores, con la presente invención logran resolver los problemas presentes en el estado de la técnica mencionados anteriormente.

30

Descripción de la invención

Por tanto, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto caracterizado porque comprende
35 la detección de al menos un compuesto orgánico volátil en una muestra de exhalado o

aliento de un sujeto.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere al uso de una muestra de exhalado o aliento de un sujeto para el diagnóstico de una enfermedad causada por
5 helminto.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al uso de al menos un compuesto orgánico volátil para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto.

10 En un aspecto final, la presente invención se refiere a test o kits para llevar a cabo los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

En el presente documento, “exhalado”, “aliento” y sus plurales se utilizan de forma
15 intercambiable y se refieren al aire que se expulsa al respirar o exhalar.

En el presente documento, “helminto” y su plural se refiere a verme o gusano, y son especies animales de cuerpo largo o blando que infestan el organismo de otras especies y viven de las mismas. Se incluyen, entre otros, los cestodos (que son una clase del filo
20 platelmintos que agrupa unas 4.000 especies, como *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Echinococcus granulosus* o *Dyphillobothrium latum*), los trematodos (que son una clase del filo de gusanos platelmintos que comprende especies como *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum*, *Fasciola hepática*, *Clonorchis sinensis*, *Fasciolopsis buski* o *Paragonimus westermani*) y los nematodos
25 (que son un filo de vermes pseudocelomados, con más de 25.000 especies registradas y un número estimado mucho mayor, de unas 500.000, como por ejemplo *Adenophorea* y *Secernentea*; entre los ejemplos de nematodos intestinales pudiéndose mencionar *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis*, *Anisakis* y *Enterobius*; entre los ejemplos de los nematodos
30 tisulares pudiéndose mencionar *Trichinella spiralis*, *Ancylostoma* y *Toxocarasiendo*).

Tal y como se utiliza en el presente documento “nanomaterial” y su plural tienen el significado común que adquieren en el estado de la técnica, es decir, se refieren a materiales con propiedades morfológicas más pequeñas que 1 µm en al menos una
35 dimensión.

En el presente documento, "nanopartícula" y su plural se refieren a un nanomaterial en forma de partícula.

5 Por tanto, tal y como se ha mencionado anteriormente, en un primer aspecto la presente invención se refiere a un método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto caracterizado porque comprende la detección de al menos un compuesto orgánico volátil en una muestra de exhalado.

10 El presente método de diagnóstico es un método *in vitro*.

En el método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención la muestra de exhalado es de un sujeto, preferentemente, de un mamífero, más preferentemente, de un humano.

15

Preferentemente, la enfermedad causada por helminto a diagnosticar está provocada o causada por *Echinococcus*, preferentemente por *Echinococcus granulosus* o *Echinococcus multilocularis*.

20 Preferentemente, la enfermedad causada por helminto es equinococosis, más preferentemente equinococosis quística y/o equinococosis alveolar. Tal y como se ha indicado anteriormente, el sujeto es preferentemte un humano y, por tanto, la enfermedad causada por helminto es, preferentemente equinococosis humana, más preferentemente equinococosis quística humana (o hidatidosis) o equinococosis
25 alveolar humana.

Se contempla que la detección del al menos un compuesto orgánico volátil sea la detección directa cualitativa o cuantitativa (preferentemente, cuantitativa) de un compuesto orgánico volátil o una combinación de los mismos (primera realización del
30 método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención); o mediante detección indirecta de al menos un compuesto orgánico volátil (preferentemente, combinaciones de compuestos orgánicos volátiles) (segunda realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención).

35

La muestra de exhalado se contempla que sea recogida u obtenida por cualquiera de los procedimientos o métodos conocidos en el estado de la técnica ahora o en el futuro y, por tanto, utilizando, en los casos en los que sea necesario, cualquiera de los dispositivos conocidos en el estado de la técnica ahora o en el futuro para recoger
5 muestras de exhalado. En una realización preferente, la muestra de exhalado se recoge u obtiene con un dispositivo de recogida de muestras de exhalado conocido en el estado de la técnica, tales como, Bio-VOC (Markes International Ltd, Reino Unido); la bolsa Tedlar (SKC Inc., PA, Estados Unidos) y/o la bolsa Mylar (Quintron, Milwaukee, WI, Estados Unidos), aún más preferentemente la muestra de exhalado se recoge u obtiene
10 con un dispositivo Bio-VOC (Markes International Ltd, Reino Unido).

Se contempla que la muestra de exhalado recogida u obtenida de acuerdo a lo indicado anteriormente, sea utilizada tal cual se ha recogido, es decir, sin aplicarle ningún tratamiento previo (sin aplicar ninguna etapa de pretratamiento). Alternativamente,
15 también se contempla que la muestra de exhalado recogida u obtenida de acuerdo a lo indicado anteriormente, sea pretratada por medio de una o varias de: una etapa de filtrado, una etapa de preconcentración, una etapa de condensación y/o una etapa de deshumidificación, más preferentemente, a la muestra de exhalado se le aplica una etapa de preconcentración. En dicha etapa de preconcentración, la muestra de exhalado
20 preferentemente es transferida a un tubo preconcentrador de compuestos orgánicos volátiles. Dicho tubo preconcentrador de compuestos orgánicos volátiles puede ser cualquiera de los conocidos en el estado de la técnica, ahora o en el futuro. Dicho tubo preconcentrador de compuestos orgánicos volátiles generalmente comprende un material absorbente. Preferentemente, el tubo preconcentrador comprende como
25 material absorbente Tenax TA (Sigma-Aldrich, San Luis, Misuri, Estados Unidos).

Se contempla que la muestra de exhalado sea analizada justo después de ser recogida (por ejemplo, por conexión directa de los medios o dispositivo utilizado para la recolección de la muestra y los medios o dispositivo utilizado para el análisis de la
30 misma) o que dicha muestra de exhalado se almacene en condiciones adecuadas para ser analizada con posterioridad (separación temporal entre la recolección de la muestra de exhalado y su análisis). Un ejemplo de condiciones adecuadas para almacenar la muestra de exhalado es a 4°C o inferior (se contempla que dichas condiciones adecuadas sean entre -80°C y 4°C, más preferentemente entre -20°C y 4°C, aún más
35 preferentemente 4°C). En las condiciones indicadas, se puede conservar la muestra de

exhalado sin pérdidas apreciables durante al menos un año y medio.

En una primera realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención, el al menos un compuesto orgánico volátil (en adelante, COV) a detectar en la muestra de exhalado es COV 01, COV 02, COV 03, COV 04, COV 05, COV 06, COV 07, COV 08, COV 09 o combinaciones de los mismos, donde dichos compuestos orgánicos volátiles presentan las características indicadas en la tabla 1 en cromatografía de gases acoplada a cuadrupolo de tiempo de vuelo (en adelante, GC/Q-TOF, por sus siglas en inglés):

10

Tabla 1. Características de los compuestos orgánicos volátiles en GC/Q-TOF.

| Compuesto orgánico volátil | Masa/carga (m/z) | Tiempo de retención (min) |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| COV 01 | 70,07 | 6,117 |
| COV 02 | 67,05 | 10,861 |
| COV 03 | 85,08 | 15,24 |
| COV 04 | 71,06 | 15,715 |
| COV 05 | 85,08 | 16,160 |
| COV 06 | 71,06 | 16,602 |
| COV 07 | 139,11 | 18,14 |
| COV 08 | 99,09 | 19,768 |
| COV 09 | 169,16 | 22,55 |

Los compuestos específicos asignados a los compuestos orgánicos volátiles mencionados anteriormente (tabla 1) son los indicados en la tabla 2:

15

Tabla 2. Compuestos específicos asignados a cada uno de los compuestos orgánicos volátiles en función de sus características en GC/Q-TOF de acuerdo a la tabla 1.

| Compuesto orgánico volátil | Compuesto |
|-----------------------------------|---------------------------|
| COV 01 | 1-trideceno |
| COV 02 | Ácido (E)-13-docosenoico |
| COV 03 | Hexadecano |
| COV 04 | Heptadecano |
| COV 05 | Eicosano |
| COV 06 | 11-(pentan-3-il)hencosano |
| COV 07 | tetratriacontano |
| COV 08 | 2-metiloctacosano |
| COV 09 | Hentriacontano |

Se contempla que los compuestos orgánicos volátiles puedan ser otros diferentes que presenten una estructura parecida o equivalente a los indicados en la tabla 2; o que tengan una masa/carga (m/z) y un tiempo de retención igual o similar a lo indicado en la tabla 1.

Por tanto, preferentemente, el al menos un compuesto orgánico volátil a medir en el método para el diagnóstico de la presente invención es 1-trideceno, ácido (E)-13-docosenoico, hexadecano, heptadecano, eicosano, 11-(pentan-3-il)hencosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano, hentriacontano o combinaciones de los mismos. Tal como se ha indicado anteriormente, también se contempla que los compuestos orgánicos volátiles a detectar puedan ser otros diferentes que presenten una estructura parecida o equivalente a los indicados anteriormente; o que tengan una masa/carga (m/z) y un tiempo de retención similares a los indicados anteriormente.

Se contempla que en el método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención el al menos un compuesto orgánico volátil a detectar o medir en la muestra de exhalado sea un compuesto orgánico volátil o una combinación de compuestos orgánicos volátiles (es decir, al menos dos compuestos orgánicos volátiles).

Tal y como se ha indicado anteriormente, preferentemente, la enfermedad causada por helminto es equinococosis quística (preferentemente, equinococosis quística humana). En este caso, el al menos un compuesto orgánico volátil a medir en el método para el diagnóstico de la presente invención es COV 01, COV 02 o combinaciones de los mismos, más preferentemente, el al menos un compuesto orgánico volátil a medir en el método para el diagnóstico de la presente invención es 1-trideceno, ácido (E)-13-docosenoico o combinaciones de los mismos, aún más preferentemente, 1-trideceno o ácido (E)-13-docosenoico.

Tal y como se ha indicado anteriormente, también preferentemente, la enfermedad causada por helminto es equinococosis alveolar (preferentemente, equinococosis alveolar humana). En este caso, el al menos un compuesto orgánico volátil a medir en el método de diagnóstico de la presente invención es COV 03, COV 04, COV 05, COV 06, COV 07, COV 08, COV 09 o combinaciones de los mismos, más preferentemente,

el al menos un compuesto orgánico volátil a medir en el método para el diagnóstico de la presente invención es hexadecano, heptadecano, eicosano, 11-(pentan-3-il)hénicosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano, hentriacontano o combinaciones de los mismas, aún más preferentemente, hexadecano, heptadecano, eicosano, 11-
5 (pentan-3-il)hénicosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano o hentriacontano.

Preferentemente, en esta primera realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención, la detección del al menos un compuesto orgánico volátil, comprende la cuantificación de dicho al menos un
10 compuesto orgánico volátil. Dicha cuantificación puede ser exacta o aproximada. Dicha cuantificación se hace por medio de la medida de una o más variables o características del al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado.

En esta primera realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) de la presente invención, se contempla que la detección (preferentemente, cuantificación) del al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado (obtenida y procesada de acuerdo a lo indicado anteriormente), sea realizada de acuerdo a cualquiera de los procedimientos y/o
15 métodos disponibles en el estado de la técnica ahora o en el futuro para la detección de compuestos orgánicos volátiles. Preferentemente, la detección (preferentemente, cuantificación) del al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado se lleva a cabo por medio de cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas (en adelante GC-MS, por sus siglas en inglés), GC/Q-TOF, cromatografía de
20 gases bidimensional acoplada a espectroscopia de masas (en adelante GCxGC/MS, por sus siglas en inglés) y/o espectrometría de masas de reacción de transferencia de protones (en adelante PTR-MS, por sus siglas en inglés), más preferentemente, mediante GC/Q-TOF.

En la detección (preferentemente, cuantificación) del al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado mencionado anteriormente, se contempla medir cualquier variable o característica conocida en el estado de la técnica. Resulta evidente que la variable o característica medida dependerá de la técnica utilizada para el análisis de la muestra de exhalado. En caso de utilizar un método cromatográfico,
35 preferentemente se mide el área bajo el pico cromatográfico para el al menos un

compuesto orgánico volátil. Tal y como se ha indicado anteriormente, de forma preferente se utiliza GC/Q-TOF y, preferentemente, con dicha técnica se mide el área bajo el pico cromatográfico para el al menos un compuesto orgánico volátil.

5 Por otro lado, en esta realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) de la presente invención se contempla que tras las etapas mencionadas anteriormente, el método comprenda una etapa de análisis de los resultados obtenidos (en la detección, preferentemente, cuantificación
10 del al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado). En dicha etapa se puede utilizar cualquier método de análisis de datos conocido (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica, por ejemplo, en dicha etapa de análisis de datos en la que se utiliza un algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones (para llevar a cabo dicho análisis de datos) seleccionado de entre: algoritmos de red neuronal artificial (en
15 adelante ANN, por sus siglas en inglés), análisis de componentes principales (en adelante PCA, por sus siglas en inglés), perceptrón multicapa (en adelante MLP, por sus siglas en inglés), red neuronal de regresión generalizada (en adelante GRNN por sus siglas en inglés), sistemas de inferencia difuso (en adelante FIS, por sus siglas en inglés), mapa auto-organizado (en adelante SOM, por sus siglas en inglés), función de
20 base radial (en adelante RBF, por sus siglas en inglés), algoritmos genéticos (en adelante GAs, por sus siglas en inglés), sistemas neurodifusos (en adelante NFS, por sus siglas en inglés), teoría de resonancia adaptativa (en adelante ART, por sus siglas en inglés), regresión de mínimos cuadrados parciales (en adelante PLS, por sus siglas en inglés), regresión lineal múltiple (en adelante MLR, por sus siglas en inglés),
25 regresión de componentes principales (en adelante PCR, por sus siglas en inglés) o análisis de función discriminante (en adelante DFA, por sus siglas en inglés).

Alternativamente, de forma preferente, esta primera realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto, no comprende una etapa de
30 análisis de los datos de acuerdo a lo indicado anteriormente y los datos obtenidos o medidos son directamente utilizados en la etapa de comparación mencionada o explicada a continuación.

Directamente tras la detección (preferentemente, cuantificación) del al menos un
35 compuesto orgánico volátil o tras la etapa de análisis mencionada anteriormente o

conjuntamente con dicha etapa de análisis mencionada anteriormente se lleva a cabo una etapa de comparación de los resultados obtenidos con los obtenidos para un sujeto control o un grupo de sujetos control (individuos o sujetos que no presentan la enfermedad causada por helminto, preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) con el fin de determinar la presencia o ausencia de la enfermedad causada por helminto de interés (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) en la muestra analizada. La presencia de diferencias significativas en la muestra exhalada analizada en relación con el sujeto control o un grupo de sujetos control determina la presencia de la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) y, por tanto, el diagnóstico del paciente como infectado con la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar). En una realización preferente, la comparación de los resultados obtenidos se lleva a cabo frente a un valor umbral obtenido para un grupo de sujetos control. La presencia de diferencias significativas respecto a este valor umbral determina la presencia de la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) y, por tanto, el diagnóstico del paciente como infectado con la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar). Se contempla que el algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones mencionado anteriormente se entrene con los resultados obtenidos para muestras de un grupo de pacientes con la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) y de un grupo de control, y será dicho algoritmo entrenado el utilizado para determinar si una muestra debe ser diagnosticada como con la enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) o no (es decir, el algoritmo entrenado incorporaría el valor umbral mencionado anteriormente).

Finalmente, en esta realización se contempla que haya una etapa final de transmisión de los resultados al usuario. En caso de que el método para el diagnóstico de la presente invención comprenda una o más etapas de análisis y/o comparación de datos o resultados, también se contempla la presencia de una o más etapas intermedias de

transmisión de los resultados al usuario. Dicha una o más etapas intermedias de transmisión de los resultados al usuario, mostrarían los resultados crudos (es decir, sin analizar y/o comparar) y/o parcialmente analizados y/o comparados. Se entiende que el usuario es la persona que está llevando a cabo el método para el diagnóstico de la enfermedad causada por helminto de la presente invención. Dicha etapa final de transmisión de los resultados y/o dichas una o más etapas intermedias de transmisión de los resultados al usuario contemplan que los resultados sean transmitidos al usuario por cualquier medio conocido o contemplado (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica, más preferentemente, los resultados se transmiten al usuario por medio de una pantalla o por medio de uno o varios sonidos o señales acústicas o por medio de una o varias señales visuales.

En esta primera realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención se contempla que los resultados sean obtenidos utilizando una unidad de procesamiento de datos debidamente configurada. Particularmente, se contempla que la una o más etapas de análisis y/o comparación de datos y/o la etapa de transmisión de los resultados al usuario sean llevadas a cabo mediante una unidad de procesamiento.

En una segunda realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente equinococosis quística o equinococosis alveolar) de la presente invención, dicho método de diagnóstico se caracteriza porque la muestra de exhalado (obtenida y procesada de acuerdo a lo indicado anteriormente) se analiza para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil mediante un dispositivo que comprende al menos un sensor que, a su vez, comprende al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles, más preferentemente dicho al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles comprende o consiste en al menos un nanomaterial funcionalizado y/o recubierto por al menos un compuesto orgánico (que sería el que reaccionaría química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles).

Preferentemente, en esta realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención, la detección de al menos un compuesto orgánico volátil comprende las etapas de: exposición de los al menos un sensor a la

muestra de exhalado; y detección del cambio en al menos una de las propiedades del al menos un sensor, más preferentemente del cambio en al menos una de las propiedades del al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles (dicho material es de acuerdo a lo explicado anteriormente y a lo que se explicará a continuación).

De forma preferente, en la etapa de detección del cambio en al menos una de las propiedades del sensor mencionada anteriormente, se contempla que la al menos una propiedad del sensor sea resistencia, conductancia, capacitancia, impedancia, inductancia, corriente continua, corriente alterna, frecuencia, masa, voltaje, fluorescencia, propiedades ópticas, quimioluminiscencia, fosforescencia, piezoelectricidad, ondas acústicas o combinaciones de las mismas, más preferentemente, la al menos una propiedad es corriente continua.

Por tanto, en este caso, la utilización de los sensores mencionados anteriormente determina que no se detecta en la muestra de exhalado la cantidad o presencia de un único compuesto orgánico volátil o de un grupo de compuestos orgánicos volátiles específico directamente sino que se detectan y analizan patrones o conjuntos de compuestos orgánicos volátiles en la muestra, por medio del efecto que tienen dichos compuestos orgánicos volátiles sobre el sensor o la combinación de sensores. Es decir, en este caso, el al menos un compuesto orgánico volátil se detecta de forma indirecta, detectando uno o más cambios en propiedades de al menos un sensor (más preferentemente del al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles, aún más preferentemente, del al menos un nanomaterial funcionalizado y/o recubierto con al menos un compuesto orgánico) que produce dicho al menos un compuesto orgánico volátil.

Preferentemente, el al menos un nanomaterial mencionado anteriormente son nanopartículas de metal, más preferentemente son nanopartículas de cobre (en adelante, Cu), oro (en adelante, Au), platino (en adelante, Pt), paladio (en adelante, Pd), plata (en adelante, Ag), níquel (en adelante, Ni), cobalto (en adelante, Co), aluminio (en adelante, Al) o combinaciones de las mismas, más preferentemente, nanopartículas de cobre (en adelante, Cu), oro (en adelante, Au), platino (en adelante, Pt) o combinaciones de las mismas, aún más preferentemente nanopartículas de cobre (en adelante, Cu), oro (en adelante, Au) o platino (en adelante, Pt).

De forma preferente, dichas nanopartículas de metal presentan un diámetro de entre 1 y 100 nm, más preferentemente, presentan un diámetro de entre 1 y 20 nm.

- 5 De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de oro, dichas nanopartículas de oro presentan un diámetro de entre 1 y 20 nm, más preferentemente, un diámetro aproximado de 10 nm, aún más preferentemente un diámetro de 10 nm.
- 10 De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de cobre, dichas nanopartículas de cobre presentan un diámetro de entre 1 y 10 nm, más preferentemente, presentan un diámetro aproximado de 4 nm, aún más preferentemente un diámetro de 4 nm.
- 15 De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de platino, dichas nanopartículas de platino presentan un diámetro de entre 1 y 10 nm, más preferentemente, presentan un diámetro aproximado de 3 nm, aún más preferentemente un diámetro de 3 nm.
- 20 De forma preferente, dicho nanomaterial (preferentemente, nanopartículas de metal) funcionalizado y/o recubierto con al menos un compuesto orgánico presenta una resistencia de base de entre 500Ω y 100 MΩ.

De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de oro, dichas nanopartículas de oro funcionalizadas y/o recubiertas con al menos un compuesto orgánico presentan una resistencia de entre 500Ω y 100 MΩ, más preferentemente entre 0,1 MΩ y 25 MΩ, aún más preferentemente entre 0,7 MΩ y 5,8 MΩ.

30 De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de cobre, dichas nanopartículas de cobre funcionalizadas y/o recubiertas con al menos un compuesto orgánico presentan una resistencia de entre 500Ω y 100 MΩ, más preferentemente de entre 0,1 MΩ y 25 MΩ, aún más preferentemente de entre 0,6 y 4,5 MΩ.

35

De forma preferente, cuando las nanopartículas de metal son nanopartículas de platino, dichas nanopartículas de platino funcionalizadas y/o recubiertas con al menos un compuesto orgánico presentan una resistencia de entre 500Ω y 100 MΩ, más preferentemente de entre 0,1 MΩ y 25 MΩ, aún más preferentemente de entre 0,4 MΩ y 7,8 MΩ.

Se contempla que las nanopartículas de metal mencionadas anteriormente se fabriquen u obtengan mediante cualquier procedimiento conocido en el estado de la técnica. De forma preferente, dichas nanopartículas de metal se fabrican u obtienen mediante el procedimiento indicado en el documento de publicación de la solicitud de patente española ES2566067A1.

El nanomaterial (preferentemente, nanopartículas de metal, más preferentemente, nanopartículas de Au, Cu, Pt o combinaciones de las mismas, aún más preferentemente nanopartículas de Au, Cu o Pt) está en el sensor en cualquier forma conocida en el estado de la técnica, más preferentemente, se encuentran en forma de monocapa (depositada en el soporte elegido). De forma preferente, dicha monocapa se obtiene mediante el procedimiento indicado en el documento de publicación de la solicitud de patente española ES2566067A1.

Se contempla que el al menos un compuesto orgánico que funcionaliza y/o recubre el al menos un nanomaterial (preferentemente, nanopartículas de metal, más preferentemente nanopartículas de Cu, Au, Pt, Pd, Ag, Ni, Co, Al o combinaciones de las mismas, más preferentemente, nanopartículas de Cu, Au, Pt o combinaciones de las mismas, aún más preferentemente, nanopartículas de Cu, Au o Pt), sea cualquier compuesto orgánico o combinación de compuestos orgánicos que reaccione química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles, permitiendo, por tanto, su detección. Más preferentemente, el al menos un compuesto orgánico se selecciona de alquiltiols, ariltiols, alquilariltiols, alquiltiolatos, arenotiolatos o combinaciones de los mismos; aún más preferentemente, el al menos un compuesto orgánico se selecciona de 1-dodecanotiol, 11-mercaptoundecanol, 4-metoxi- α -toluentiol, 2-mercaptobenzoxazol, ácido 11-mercaptoundecanoico o combinaciones de los mismos.

La funcionalización y/o recubrimiento del al menos un nanomaterial (preferentemente, nanopartículas de metal, más preferentemente nanopartículas de Au, Cu, Pt o

combinaciones de las mismas, aún más preferentemente nanopartículas de Au, Cu o Pt) se lleva a cabo por cualquier procedimiento conocido en el estado de la técnica. Preferentemente, dicha funcionalización y/o recubrimiento se lleva a cabo por recubrimiento por inmersión, por recubrimiento por centrifugación o por recubrimiento por pulverización, más preferentemente por recubrimiento por inmersión.

5

De forma preferente, por tanto, el al menos un nanomaterial funcionalizado y/o recubierto con al menos un compuesto orgánico es:

- 10 - nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
- nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol;
- nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico;
- nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- 15 - nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol;
- nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
- o combinaciones de las mismas.

Por tanto, preferentemente, el al menos un sensor comprende:

20

- nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,7 M Ω y 4,1 M Ω , aún más preferentemente de 0,7 M Ω o 4,1 M Ω ;
- nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 M Ω , aún más preferentemente de 5,8 M Ω ;
- 25 - nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 M Ω , aún más preferentemente de 2,3 M Ω ;
- 30 - nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 M Ω , aún más preferentemente de 4,5 M Ω ;
- nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 M Ω , aún más preferentemente de 0,6 M Ω ;
- 35

- nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 M Ω , aún más preferentemente de 0,4 M Ω ;
- 5 - nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 M Ω , aún más preferentemente de 7,8 M Ω ;
- o combinaciones de las mismas

Más preferentemente, el al menos un sensor son al menos seis sensores, seleccionados
10 de entre:

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,7 y 1 M Ω , aún más preferentemente de 0,7 M Ω ;
- 15 - un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 M Ω , aún más preferentemente de 4,1 M Ω ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de
20 entre 5,8 y 6,6 M Ω , aún más preferentemente de 5,8 M Ω ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 M Ω , aún más preferentemente de 2,3 M Ω ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-
25 mercaptoundecanoico, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 M Ω , aún más preferentemente de 4,5 M Ω ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 M Ω , aún más preferentemente de 0,6 M Ω ;
- 30 - un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 M Ω , aún más preferentemente de 0,4 M Ω ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre
35 7,8 y 8,2 M Ω , aún más preferentemente de 7,8 M Ω .

Resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinocosis quística, los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean siete sensores.

En este caso, preferentemente los sensores son como sigue:

5

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,7 y 1 MΩ, aún más preferentemente de 0,7 MΩ;

10

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ;

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ;

15

- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 MΩ, aún más preferentemente de 2,3 MΩ;

20

- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 MΩ, aún más preferentemente de 0,6 MΩ;

- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ;

25

- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ.

En este caso, de forma preferente, la muestra de exhalado, se pretrata de acuerdo a lo indicado anteriormente antes de analizarla para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil.

30

También resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinocosis quística, los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean seis sensores. En este caso, preferentemente los sensores son como sigue:

35

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ;
 - 5 - un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 MΩ, aún más preferentemente de 4,5 MΩ;
 - 10 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 MΩ, aún más preferentemente de 0,6 MΩ;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y
 - 15 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ.
- 20 En este caso, de forma preferente, la muestra de exhalado, se analiza justo después de ser recogida (por ejemplo, por conexión directa de los medios o dispositivo utilizado para la recolección de la muestra y los medios o dispositivo utilizado para el análisis de la misma).
- 25 Adicionalmente, también resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinococosis alveolar, los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean seis sensores. En este caso, preferentemente los sensores son como sigue:
- 30 - un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de
 - 35 entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ;

- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 MΩ, aún más preferentemente de 2,3 MΩ;
- 5 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 MΩ, aún más preferentemente de 4,5 MΩ;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ;
- 10 - un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ.

En este caso, de forma preferente, la muestra de exhalado, se pretrata de acuerdo a lo
15 indicado anteriormente antes de analizarla para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil.

De forma preferente, el al menos un sensor (preferentemente, al menos seis sensores) está hecho de silicio, alúmina, cerámica o vidrio, más preferentemente, está hecho de
20 silicio. Adicionalmente, también de forma preferente, los sensores tienen dos electrodos de platino u oro, preferentemente de oro, que presentan una zona de separación entre ellos (preferentemente, de 15 μm) y en la que se deposita o coloca el al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles (de acuerdo a lo explicado anteriormente). Dichos electrodos mencionados anteriormente
25 pueden presentar cualquier configuración o disposición conocida en el estado de la técnica, preferentemente, dichos electrodos son paralelos o interdigitados, más preferentemente, dichos electrodos son paralelos.

Tal y como se ha indicado anteriormente, en esta segunda realización del método de
30 diagnóstico de la presente invención, preferentemente se utiliza una combinación de sensores (preferentemente, de al menos seis sensores). En este caso, de forma preferente, los sensores actúan o funcionan de forma independiente de manera que se recogen los resultados para cada uno de dichos sensores y, posteriormente, dichos resultados se combinan con el fin de obtener el diagnóstico.

35

En una realización preferente, el dispositivo comprende una cámara de medidas cerrada herméticamente, en la que se colocan el al menos un sensor (preferentemente, al menos seis sensores) de acuerdo a lo indicado anteriormente. Dicha cámara de medidas presenta un volumen y unas dimensiones adecuadas en función del caso. De forma preferente, dicha cámara de medidas está hecha de acero inoxidable, presenta un volumen de 73,5 mL y unas dimensiones de 70x35x30 mm³. También de forma preferente, dicha cámara de medidas está hecha de teflón, presenta un volumen de 31,2 mL y unas dimensiones de 120x26x10 mm³. Además, de forma preferente, dicha cámara de medidas presenta al menos dos orificios, más preferentemente dos orificios de los que uno estaría destinado a la introducción de la muestra de exhalado, y el otro para evacuar la muestra de exhalado. Opcionalmente, uno de los orificios se podría destinar a la realización del vacío en la cámara de medidas mediante medios adecuados (por ejemplo, mediante bomba eléctrica externa o generador de vacío).

Con anterioridad a la introducción de las muestras en el dispositivo, más preferentemente en la cámara de medidas (para proceder a su análisis con el al menos un sensor de acuerdo a lo indicado anteriormente) se realiza el acondicionamiento del dispositivo (preferentemente, de la cámara de medidas). Preferentemente, se realiza en dicho dispositivo (preferentemente, en la cámara de medidas) un vacío, preferentemente un vacío de 600 mbar, durante un tiempo adecuado, por ejemplo, entre 2 y 10 minutos, preferentemente durante 5 minutos, utilizando medios adecuados (por ejemplo, mediante bomba eléctrica externa o generador de vacío). También preferentemente, el dispositivo (preferentemente, la cámara de medidas) se acondiciona con flujo de nitrógeno (N₂) o aire sintético, preferentemente con aire sintético (aplicado a un caudal suficiente, preferentemente de entre 0,1 y 2 L/min, más preferentemente de 0,5 L/min) durante un tiempo suficiente, preferentemente durante entre 2 y 30 minutos, más preferentemente durante 5 minutos.

Con el fin de llevar a cabo la detección del al menos un compuesto orgánico volátil, cuando la al menos una propiedad a detectar del al menos un sensor es corriente continua, dicho al menos un sensor se hace funcionar de la siguiente manera o de acuerdo a las siguientes etapas:

- Realización del acondicionamiento del dispositivo (más preferentemente, de la cámara de medidas) antes de la medida de una muestra de exhalado. Preferentemente, se

realiza el vacío durante entre 2 y 10 minutos en la cámara de medidas, más preferentemente durante 5 minutos. También preferentemente, en lugar de realizar el vacío mencionado anteriormente, se limpia la cámara de medidas con aire sintético aplicado a un caudal de entre 0,1 y 2 L/min, preferentemente, de 0,5 L/min, durante
5 entre 2 y 30 minutos, preferentemente, durante 5 minutos. Opcionalmente, en esta etapa, el al menos un sensor utilizado se alimenta a una tensión continua de entre 0,5 y 15 V durante al menos 5 segundos, más preferentemente a 5 V o a 8 V durante 10 segundos; y posteriormente se deja inactivo (sin alimentación de tensión) durante al menos 20 segundos, preferentemente durante 70 segundos. Este ciclo de activo
10 (alimentación con tensión)-inactivo mencionado anteriormente se lleva a cabo para cada sensor entre 1 y 10 veces, preferentemente 4.

- Exposición del al menos un sensor a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado durante entre 2 y 10 minutos, más preferentemente, durante 5 minutos.
15 Durante dicha exposición a la muestra de exhalado, el al menos un sensor utilizado se alimenta a una tensión continua de entre 0,5 y 15 V durante al menos 5 segundos, más preferentemente a 5V o a 8 V durante 10 segundos; y posteriormente se deja inactivo (sin alimentación de tensión) durante al menos 20 segundos, preferentemente durante
20 70 segundos. Este ciclo de activo (alimentación con tensión)-inactivo mencionado anteriormente se lleva a cabo para cada sensor entre 1 y 10 veces (es decir, entre 1 y 10 ciclos de activación), preferentemente 1 vez. Durante estos ciclos, cuando el sensor está activo (alimentado con tensión), preferentemente, se mide la corriente continua que pasa a través del al menos un sensor (para cada uno de los sensores utilizados).

25 - Limpieza y purga del dispositivo, más preferentemente de la cámara de medidas, después de la medida de una muestra de exhalado. De forma preferente dicha cámara de medidas se limpia con nitrógeno (N₂), aire sintético o vacío, preferentemente, con aire sintético (aplicado a un caudal suficiente, preferentemente de entre 0,1 y 2 L/min, durante un tiempo suficiente, preferentemente durante entre 5 y 30 minutos), más
30 preferentemente con aire sintético aplicado a un caudal de 0,5 o 2 L/min durante 30 minutos. Adicionalmente, de forma preferente, durante esta etapa de limpieza y purga los sensores se alimentan con una tensión adecuada para acelerar su limpieza y purga, más preferentemente, con una tensión de entre 0,5 y 15 V durante al menos 5 segundos, aún más preferentemente con una tensión de 5V o 10 V durante 10 segundos y
35 posteriormente se dejan inactivos (sin alimentación de tensión) durante al menos 20

segundos, preferentemente durante 70 segundos. Este ciclo de activo (alimentación con tensión)-inactivo se repite, para cada sensor preferentemente durante toda la etapa de limpieza y purga.

5 En esta segunda realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) de la presente invención, se contempla la medición o extracción de cualquier señal o parámetro de la al menos una de las propiedades del al menos un sensor. De forma preferente cuando la al menos una propiedad es corriente
10 continua, del al menos un sensor se extrae durante la etapa de exposición del al menos un sensor a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado, durante cada ciclo de alimentación con tensión (de acuerdo a lo explicado anteriormente), al menos uno se los siguientes parámetros:

15 - Parámetro 1 (P1): Promedio de la corriente continua obtenida durante entre 1,1 y 1,4 segundos en la mitad del periodo de exposición del sensor a la muestra de exhalado, más preferentemente, promedio de la corriente continua obtenida durante 1,22 segundos en mitad del periodo de exposición del sensor a la muestra de exhalado.

20 - Parámetro 2 (P2): Promedio de la corriente continua obtenida durante los últimos entre 1,1 y 1,4 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado, más preferentemente, promedio de la corriente continua obtenida durante los últimos 1,22 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado.

25 - Parámetro 3 (P3): Área bajo la curva de respuesta durante los últimos entre 1,5 y 3 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado, más preferentemente, área bajo la curva de respuesta durante los 1,78 últimos segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado.;

- o combinaciones de los mismos.

30 Resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinococosis quística, y los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean siete sensores de acuerdo a lo indicado anteriormente, los parámetros medidos o extraídos sean:

35 - P1 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,7 y 1 MΩ, aún más preferentemente

de 0,7 MΩ);

- P2 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ);
- P3 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ);
- P1 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 MΩ, aún más preferentemente de 2,3 MΩ);
- P1 y P2 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 MΩ, aún más preferentemente de 0,6 MΩ);
- P1 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluolol, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ);
- P1 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ).

25

En este caso, tal y como se ha indicado anteriormente, de forma preferente, la muestra de exhalado, se pretrata de acuerdo a lo indicado anteriormente antes de analizarla para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil.

30

También resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinocosis quística, y los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean seis sensores de acuerdo a lo indicado anteriormente, los parámetros medidos o extraídos sean:

35

- P1 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-

dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ);

5 - P1 y P3 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ);

10 - P2 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 MΩ, aún más preferentemente de 4,5 MΩ);

15 - P2 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol (tal como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,6 y 0,7 MΩ, aún más preferentemente de 0,6 MΩ);

- P1 y P2 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ);

20 - P3 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ).

25 En este caso, de forma preferente, la muestra de exhalado, se analiza justo después de ser recogida (por ejemplo, por conexión directa de los medios o dispositivo utilizado para la recolección de la muestra y los medios o dispositivo utilizado para el análisis de la misma).

30 Adicionalmente, también resulta preferente que, cuando la enfermedad producida por helminto es equinococosis alveolar, los al menos seis sensores mencionados anteriormente sean seis sensores. En este caso, preferentemente los sensores son como sigue:

35 - P3 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-

dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 3,9 y 4,1 MΩ, aún más preferentemente de 4,1 MΩ);

5 - P2 del sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 5,8 y 6,6 MΩ, aún más preferentemente de 5,8 MΩ);

10 - P2 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 2,1 y 2,3 MΩ, aún más preferentemente de 2,3 MΩ);

15 - P2 del sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 4,2 y 4,5 MΩ, aún más preferentemente de 4,5 MΩ);

- P1 y P3 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 0,4 y 0,5 MΩ, aún más preferentemente de 0,4 MΩ);

20 - P1 y P3 del sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol (tal y como se ha indicado anteriormente, más preferentemente este sensor tiene una resistencia de entre 7,8 y 8,2 MΩ, aún más preferentemente de 7,8 MΩ).

25 En este caso, tal y como se ha indicado anteriormente, de forma preferente, la muestra de exhalado, se pretrata de acuerdo a lo indicado anteriormente antes de analizarla para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil.

30 Se contempla que el dispositivo mencionado anteriormente comprenda o esté conectado (de forma física o inalámbrica, preferentemente de forma física) a al menos un instrumento conocido (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica y que permita medir el cambio de al menos una de las propiedades del al menos un sensor mencionado anteriormente. Dicho cambio, tal y como se ha mencionado anteriormente está provocado por la interacción con uno o más compuestos orgánicos volátiles de la
35 muestra de exhalado. El dispositivo comprende o está conectado, por ejemplo, a uno o

más de los siguientes instrumentos: instrumentos que miden resistencia, instrumentos que miden conductancia, instrumentos que miden capacitancia, instrumentos que miden impedancia, instrumentos que miden inductancia, instrumentos que miden corriente continua, instrumentos que miden corriente alterna, instrumentos que miden frecuencia, instrumentos que miden masa, instrumentos que miden voltaje, instrumentos que miden fluorescencia, instrumentos que miden propiedades ópticas, instrumentos que miden quimioluminiscencia, instrumentos que miden fosforescencia, instrumentos que miden piezoelectricidad, instrumentos que miden ondas acústicas, instrumentos que miden dos o más de las propiedades o variables indicadas anteriormente o combinaciones de las mismas, más preferentemente el dispositivo comprende o está conectado a uno o más instrumentos que miden corriente continua. En consecuencia, en la etapa de detección del cambio en al menos una de las propiedades del sensor mencionada anteriormente, se contempla que la al menos una propiedad del sensor sea resistencia, conductancia, capacitancia, impedancia, inductancia, corriente continua, corriente alterna, frecuencia, masa, voltaje, fluorescencia, propiedades ópticas, quimioluminiscencia, fosforescencia, piezoelectricidad, ondas acústicas o combinaciones de las mismas, más preferentemente, la al menos una propiedad es corriente continua.

Por otro lado, la segunda realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención, tras las etapas mencionadas anteriormente, comprende preferentemente una etapa de análisis de los datos o resultados obtenidos (en la detección del al menos un compuesto orgánico volátil de la muestra de exhalado con el al menos un sensor). En dicha etapa se puede utilizar cualquier método de análisis de datos conocido (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica. Preferentemente, el método para el diagnóstico de la presente invención comprende una etapa de análisis de datos en la que se utiliza un algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones seleccionado de entre: algoritmos de red neuronal artificial (en adelante ANN, por sus siglas en inglés), análisis de componentes principales (en adelante PCA, por sus siglas en inglés), perceptrón multicapa (en adelante MLP, por sus siglas en inglés), red neuronal de regresión generalizada (en adelante GRNN por sus siglas en inglés), sistemas de inferencia difuso (en adelante FIS, por sus siglas en inglés), mapa auto-organizado (en adelante SOM, por sus siglas en inglés), función de base radial (en adelante RBF, por sus siglas en inglés), algoritmos genéticos (en adelante GAs, por sus siglas en inglés), sistemas neurodifusos (en adelante NFS, por sus siglas en inglés), teoría de resonancia adaptativa (en adelante

ART, por sus siglas en inglés), regresión de mínimos cuadrados parciales (en adelante PLS, por sus siglas en inglés), regresión lineal múltiple (en adelante MLR, por sus siglas en inglés), regresión de componentes principales (en adelante PCR, por sus siglas en inglés) o análisis de función discriminante (en adelante DFA, por sus siglas en inglés),
5 aún más preferentemente DFA.

Tras la etapa de análisis mencionada anteriormente o conjuntamente con dicha etapa de análisis se lleva a cabo una etapa de comparación de los resultados obtenidos con los obtenidos para un sujeto control o un grupo de sujetos control (individuos o sujetos
10 que no presentan la enfermedad causada por helminto analizada o a analizar) con el fin de determinar la presencia o ausencia de una enfermedad causada por helminto en la muestra analizada. La presencia de diferencias significativas en la muestra exhalada analizada en relación con el sujeto control o un grupo de sujetos control determina la presencia de una enfermedad causada por helminto y, por tanto, el diagnóstico del
15 paciente como infectado o portador de una enfermedad causada por helminto. En una realización preferente, la comparación de los resultados obtenidos se lleva a cabo frente a un valor umbral obtenido para un grupo de sujetos control. La presencia de diferencias significativas respecto a este valor umbral determina la presencia de una enfermedad causada por helminto y, por tanto, el diagnóstico del paciente como infectado con una
20 enfermedad causada por helminto. En la realización más preferente, el algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones mencionado anteriormente se entrena con los resultados obtenidos para muestras de un grupo de pacientes con una enfermedad causada por helminto y de un grupo de control, y será dicho algoritmo entrenado el utilizado para determinar si una muestra debe ser diagnosticada como de un sujeto
25 infectado o portador de una enfermedad causada por helminto o no (es decir, el algoritmo entrenado incorporaría el valor umbral mencionado anteriormente).

Finalmente, se contempla que en esta segunda realización del método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención haya
30 una etapa final de transmisión de los resultados al usuario. En caso de que el método para el diagnóstico de la presente invención comprenda una o más etapas de análisis y/o comparación de datos o resultados, también se contempla la presencia de una o más etapas intermedias de transmisión de los resultados al usuario. Dicha una o más etapas intermedias de transmisión de los resultados al usuario, mostrarían los
35 resultados crudos (es decir, sin analizar y/o comparar) y/o parcialmente analizados y/o

comparados. Se entiende que el usuario es la persona que está llevando a cabo el método para el diagnóstico de la enfermedad causada por helminto de la presente invención. Dicha etapa final de transmisión de los resultados y/o dichas una o más etapas intermedias de transmisión de los resultados al usuario contemplan que los resultados sean transmitidos al usuario por cualquier medio conocido o contemplado (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica, más preferentemente, los resultados se transmiten al usuario por medio de una pantalla (mostrando el correspondiente resultado), por medio de uno o varios sonidos o señales acústicas o por medio de una o varias señales visuales.

10

En la segunda realización del método para el diagnóstico de la enfermedad causada por helminto de la presente invención se contempla que los resultados sean obtenidos utilizando una unidad de procesamiento de datos debidamente configurada. Particularmente, se contempla que la una o más etapas de análisis y/o comparación de datos y/o la etapa de transmisión de los resultados al usuario sean llevadas a cabo mediante una unidad de procesamiento.

15

El método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención permite solucionar los problemas presentes en el estado de la técnica mencionados anteriormente, es decir, permite proporcionar métodos rápidos y fiables para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar), basados en el análisis de muestras cuya obtención no supone una molestia o malestar para el paciente. Los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención también son útiles para monitorizar la eficacia de los tratamientos aplicados o suministrados a los pacientes de dicha enfermedad (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar). Adicionalmente, la segunda de las realizaciones del método para el diagnóstico de enfermedades causadas por helmintos (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) de la presente invención permite, además, proporcionar métodos diagnósticos fáciles de llevar a cabo y de interpretar y que, por tanto, se pueden llevar a cabo en el domicilio del propio paciente, en centros de atención primaria y/o en farmacias, resolviendo otro de los problemas presentes en el estado de la técnica y mencionados anteriormente.

35

Por tanto, en una realización preferente, el método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística o equinococosis alveolar) de la presente invención comprende las siguientes etapas:

- a) recogida de la muestra de exhalado de un sujeto;
- b) análisis de la muestra de exhalado recogida en la etapa a) para la detección de al menos un compuesto orgánico volátil;
- 10 c) análisis y/o comparación de los resultados obtenidos en la etapa b) para determinar si el sujeto padece una enfermedad causada por helminto, preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar; y
- d) transmisión de los resultados.

15

La muestra de exhalado de un sujeto, tal y como se ha mencionado anteriormente, es, preferentemente, de un mamífero, más preferentemente, de un humano.

20

La muestra de exhalado del sujeto se recoge u obtiene de acuerdo a lo indicado anteriormente.

De forma opcional, tras la recogida de la muestra del sujeto y antes de la etapa b), se puede llevar a cabo el pretratamiento de la muestra de exhalado recogida.

25

Tal y como se ha indicado anteriormente, la etapa b) se puede llevar a cabo o realizar justo a continuación de la etapa a); o la muestra se puede almacenar en condiciones adecuadas para hacer la etapa b) con posterioridad. Es decir, las etapas a) y b) pueden estar concatenadas temporalmente o pueden estar separadas temporalmente. En caso de no estar concatenadas temporalmente las etapas a) y b), sino separadas

30

temporalmente, la muestra de exhalado se almacena de acuerdo a lo indicado anteriormente.

La detección de al menos un compuesto orgánico volátil en la etapa b) se lleva a cabo de acuerdo a lo indicado anteriormente.

35

En la etapa c), se lleva a cabo un análisis y/o comparación de los datos obtenidos en la etapa b) con el fin de detectar o medir la presencia de diferencias o no respecto a sujetos (preferentemente un humano) control (sin la enfermedad causada por helminto que se pretende diagnosticar, preferentemente equinococosis quística y/o equinococosis alveolar) con el fin de determinar si el sujeto (preferentemente un humano) padece o no dicha enfermedad causada por helminto que se pretende diagnosticar (preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar).

Tal como se ha indicado anteriormente, el método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención es un método de diagnóstico in vitro.

Todas las etapas son de acuerdo a lo explicado anteriormente.

En un segundo aspecto, tal y como se ha mencionado anteriormente, la presente invención se refiere al uso de una muestra de exhalado de un sujeto para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto (preferentemente, equinococosis, aún más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar).

La muestra de exhalado de un sujeto, tal y como se ha mencionado anteriormente, es, preferentemente, de un mamífero, más preferentemente, de un humano.

Por tanto, tal y como se ha mencionado anteriormente, la enfermedad causada por helminto es, preferentemente equinococosis humana, aún más preferentemente, equinococosis quística humana y/o equinococosis alveolar humana.

Adicionalmente, se contempla que la muestra de exhalado sea recogida y procesada o pretratada de acuerdo a lo indicado anteriormente para los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto.

El uso de la presente invención, implica la detección y/o análisis de al menos un compuesto orgánico volátil en la muestra de exhalado. Dicha detección y/o análisis es de acuerdo a lo indicado anteriormente para los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

En un tercer aspecto, la presente invención se refiere al uso de al menos un compuesto

orgánico volátil para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto.

En una realización preferente, la enfermedad causada por helminto es equinococosis, más preferentemente, equinococosis quística y/o equinococosis alveolar.

5

En una realización preferente, el al menos un compuesto orgánico volátil se encuentra o analiza en una muestra de exhalado de un sujeto.

La muestra de exhalado de un sujeto, tal y como se ha mencionado anteriormente, es, 10 preferentemente, de un mamífero, más preferentemente, de un humano.

Por tanto, tal y como se ha mencionado anteriormente, la enfermedad causada por helminto es, preferentemente equinococosis humana, aún más preferentemente, equinococosis quística humana y/o equinococosis alveolar humana.

15

Tanto el al menos un compuesto orgánico volátil como su detección es de acuerdo a lo explicado anteriormente para el método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

20 En un cuarto y último aspecto, la presente invención se refiere a test o kits adecuados para llevar a cabo los métodos diagnósticos de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

Tal como resultará evidente, dichos test o kits comprenderán los reactivos y/o 25 dispositivos necesarios para llevar a cabo los métodos para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

Adicionalmente, se contempla que dichos test y kits comprendan instrucciones para llevar a cabo los métodos de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de 30 la presente invención.

Finalmente, se contempla que los medios de transmisión del resultado del test o kit (es decir, del resultado del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención) estén comprendidos en el propio test o kit o sean ajenos al 35 mismo (por ejemplo, pantalla de ordenador). En una realización preferente los medios

de transmisión están comprendidos en el propio test o kit y pueden ser cualquiera de los conocidos (ahora o en el futuro) en el estado de la técnica, más preferentemente son una o más pantallas o uno o más sonidos o señales acústicas o una o más señales visuales.

5

Para una mejor comprensión, la presente invención se describe en más detalle a continuación en referencia a las figuras adjuntas y a los siguientes ejemplos no limitativos.

10 Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra las áreas bajo el pico cromatográfico de los compuestos orgánicos volátiles COV 01 y COV 02 obtenidas en el ejemplo 1.

15 La figura 2 muestra las áreas bajo el pico cromatográfico de los compuestos orgánicos volátiles COV 03 a COV 09 obtenidas en el ejemplo 2.

La figura 3 muestra los resultados obtenidos con los sensores S1, S2, S3, S4, S5, S6 y S7 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo
20 3.

La figura 4 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida con los sensores S1, S2, S3, S4, S5, S6 y S7 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 3.
25

La figura 5 muestra los resultados obtenidos con los sensores S2, S4, S5, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 4.

La figura 6 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida con los sensores S2, S4, S5, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 4.
30

La figura 7 muestra los resultados obtenidos con los sensores S2, S3, S4, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis alveolar, de acuerdo al ejemplo 5.
35

La figura 8 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida con los sensores S2, S3, S4, S6, S7 y S8 indicados en (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinocosis quística, de acuerdo al ejemplo 5.

- 5 La figura 9 muestra una vista en perspectiva de un ejemplo de dispositivo a utilizar en la segunda realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención.

La figura 10 muestra una vista en planta del dispositivo mostrado en la figura 9. Por otro lado, en la figura 10 también se muestran las secciones A-A y A-B correspondientes a las vistas en perspectiva de las figuras 11 y 12, respectivamente.

La figura 11 muestra una vista en perspectiva del dispositivo mostrado en la figura 9.

- 15 La figura 12 muestra una vista en perspectiva del dispositivo mostrado en la figura 9.

Descripción detallada de las figuras

La figura 1 muestra las áreas bajo el pico cromatográfico de los compuestos orgánicos volátiles COV 01 y COV 02 obtenidas en el ejemplo 1 incluido más adelante (de acuerdo a la primera realización del método de diagnóstico de equinocosis quística de la presente invención), tanto para el grupo control como para el grupo de pacientes con equinocosis quística. El eje de las x muestra la media muestral y el error estándar de la media de dicha área bajo el pico cromatográfico para cada uno de los COVs analizados. Por su parte, el eje de las y hace referencia a los COV analizados, de arriba a abajo, cada grupo de dos barras se refiere a: COV 02 y COV 01. Las barras con rayas verticales hacen referencia o corresponden al grupo control y las barras blancas o vacías hacen referencia o corresponden al grupo de pacientes con equinocosis quística.

La figura 2 muestra las áreas bajo el pico cromatográfico de los compuestos orgánicos volátiles COV 03 a COV 09 obtenidas en el ejemplo 2 incluido más adelante (de acuerdo a la primera realización del método de diagnóstico de equinocosis alveolar de la presente invención), tanto para el grupo control como para el grupo de pacientes con equinocosis alveolar. El eje de las x muestra la media muestral y el error estándar de la media de dicha área bajo el pico cromatográfico para cada uno de los COVs

analizados. Por su parte, el eje de las y hace referencia a los COV analizados, de arriba a abajo, cada grupo de dos barras se refiere a: COV 09, COV 08, COV 07, COV 06, COV 05, COV 04 y COV 03. Las barras con rayas verticales hacen referencia o corresponden al grupo control y las barras blancas o vacías hacen referencia o corresponden al grupo de pacientes con equinococosis alveolar.

La figura 3 muestra los resultados obtenidos con los sensores S1, S2, S3, S4, S5, S6 y S7 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 3. El eje de las x muestra los grupos siendo, el de la izquierda el grupo de pacientes con equinococosis quística (esferas) y el de la derecha el grupo control (rombos). Por su parte, el eje de las y hace referencia a la primera variable canónica calculada por DFA, para cada uno de los sujetos.

La figura 4 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida para la primera variable canónica calculada por DFA con los sensores S1, S2, S3, S4, S5, S6 y S7 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 3. El eje de las x muestra la variable (1 - especificidad) y el eje de las y muestra la sensibilidad.

La figura 5 muestra los resultados obtenidos con los sensores S2, S4, S5, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 4. El eje de las x muestra los grupos siendo, el de la izquierda el grupo de pacientes con equinococosis quística (esferas) y el de la derecha el grupo control (rombos). Por su parte, el eje de las y hace referencia a la primera variable canónica calculada por DFA, para cada uno de los sujetos.

La figura 6 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida para la primera variable canónica calculada por DFA con los sensores S2, S4, S5, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis quística, de acuerdo al ejemplo 4. El eje de las x muestra la variable (1 - especificidad) y el eje de las y muestra la sensibilidad.

La figura 7 muestra los resultados obtenidos con los sensores S2, S3, S4, S6, S7 y S8 indicados en (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis alveolar, de acuerdo al ejemplo 5. El eje de las x muestra los grupos siendo, el de la izquierda el grupo de

pacientes con equinococosis alveolar (esferas) y el de la derecha el grupo control (rombos). Por su parte, el eje de las y hace referencia a la primera variable canónica calculada por DFA, para cada uno de los sujetos.

5 La figura 8 muestra la curva ROC (curva de teoría de detección de señales) obtenida para la primera variable canónica calculada por DFA con los sensores S2, S3, S4, S6, S7 y S8 (ver la tabla 5) en el diagnóstico de la equinococosis alveolar, de acuerdo al ejemplo 5. El eje de las x muestra la variable (1 - especificidad) y el eje de las y muestra la sensibilidad.

10

La figura 9 muestra una vista en perspectiva de un ejemplo de dispositivo (1) a utilizar en la segunda realización del método de diagnóstico de una enfermedad causada por helminto de la presente invención. En la cara frontal, aproximadamente en el centro se observa un orificio de control (2) que conecta con la cámara de medidas (3) y que se utiliza para el control de las condiciones de vacío dentro de la cámara de medidas (3) de acuerdo a medios conocidos en el estado de la técnica (por ejemplo, para la conexión de un manómetro) (en caso de que no sea necesario realizar el vacío en la cámara de medidas, este orificio de control (2) puede estar ausente). A través de dicho orificio de control (2) resulta visible uno de los sensores (4) alojado en el interior de la cámara de medidas (3). En la cara superior del dispositivo (1), también aproximadamente en el centro de la misma, está dispuesto un acceso (5) para conexión que conecta o comunica con la cámara de medidas (3) y que, preferentemente, se utiliza para la conexión eléctrica de los sensores. Esta estructura de acceso para conexión alternativamente o adicionalmente podría encontrarse en la cara inferior del dispositivo (1). En el caso de que el dispositivo (1) comprenda un acceso (5) para conexión en la cara superior y un acceso para conexión en la cara inferior del dispositivo (1), ambas estructuras, se podrían utilizar de forma intercambiable para la conexión eléctrica de los sensores. Finalmente, en la cara lateral del dispositivo (1) que resulta visible en esta vista (cara lateral derecha), también aproximadamente en el centro de la misma, encontramos un primer racor de conexión (6) que conecta o comunica con la cámara de medidas (3). En la cara lateral que no resulta visible en esta vista se encuentra la misma estructura (un segundo racor de conexión (7), figura 10). Ambos, el primer racor de conexión (6) y el segundo racor de conexión (7), se pueden utilizar de forma intercambiable para la introducción de la muestra de exhalado y para realizar el vacío en la cámara de medidas (3) antes de cada medida; o para evacuar la muestra de exhalado de la cámara de

15

20

25

30

35

medidas (3).

La figura 10 muestra una vista en planta del dispositivo (1) mostrado en la figura 9. En esta figura resultan visibles el acceso para conexión (5) localizado en la cara superior del dispositivo (1); el primer racor de conexión (6), localizado en la cara lateral derecha del dispositivo (1) y el segundo racor de conexión (7) localizado en la cara lateral izquierda del dispositivo (1).

La figura 11 muestra una vista en perspectiva del dispositivo (1) mostrado en la figura 9, de acuerdo a la sección A-A indicada en la figura 10. En esta figura resultan visibles el acceso (5) para conexión localizado en la cara superior del dispositivo (1); y el primer racor de conexión (6) (el presente en la cara lateral del dispositivo (1) visible en esta vista). Por otro lado, en el interior del dispositivo (1) observamos la cámara de medidas (3), en la cual encontramos los sensores (4), ocho en este caso y de los que resultan visibles 4 en la base y 2 en la parte superior de la cámara de medidas (3). Adicionalmente, cada uno de los sensores comprende dos electrodos (8). Finalmente, en la cara lateral izquierda de la cámara de medidas (3), aproximadamente en el centro de la misma, encontramos un segundo orificio (9) que se conecta o comunica con el segundo racor de conexión (7) para, tal y como se ha indicado anteriormente, la introducción de la muestra de exhalado y realización del vacío en la cámara de medidas (3) antes de cada medida; o evacuar la muestra de exhalado de la cámara de medidas (3).

La figura 12 muestra una vista en perspectiva del dispositivo (1) mostrado en la figura 9, de acuerdo a la sección A-B indicada en la figura 10. En esta figura resulta visible el acceso para conexión (5) localizado en la cara superior del dispositivo (1). Por otro lado, en el interior del dispositivo (1) observamos la cámara de medidas (3), en la cual encontramos los sensores (4), ocho en este caso, y de los que resultan visibles 4 en la base y 4 en la parte superior de la cámara de medidas (3). Adicionalmente, cada uno de los sensores (4) comprende dos electrodos (8). En la cara lateral izquierda de la cámara de medidas (3), aproximadamente en el centro de la misma, encontramos el segundo orificio (9) que se conecta o comunica con el segundo racor de conexión (7) para, tal y como se ha indicado anteriormente, la introducción de la muestra de exhalado y realización del vacío en la cámara de medidas (3) antes de cada medida; o evacuar la muestra de exhalado de la cámara de medidas (3). Finalmente, en esta figura también

resultan visibles el primer racor de conexión (6) y en la cara lateral derecha de la cámara de medidas (3), aproximadamente en el centro de la misma, encontramos un primer orificio (10) que se conecta o comunica con el primer racor de conexión (6) para, tal y como se ha indicado anteriormente, la introducción de la muestra de exhalado y
5 realización del vacío en la cámara de medidas (3) antes de cada medida; o evacuar la muestra de exhalado de la cámara de medidas (3).

Pese a que el dispositivo (1) mostrado en las figuras 9 a 12 comprende 8 sensores, ello únicamente resulta ilustrativo o ejemplificativo. Un experto en la materia adaptará al
10 número de sensores presentes o utilizados en función de las diferentes realizaciones explicadas anteriormente y de los ejemplos incluidos a continuación.

Ejemplos

15 Ejemplo 1. Diagnóstico de la equinococosis quística de acuerdo a una primera realización del método de la presente invención.

Se recogieron muestras de aliento o exhalado de un grupo de pacientes diagnosticados con equinococosis quística (n=23) y de un grupo de personas sin equinococosis
20 quística, que formaron el grupo de control (n=32). Las muestras fueron recogidas en los Hospitales Charles Nicole y Ariana de Túnez. Los dos grupos (Equinococosis quística y Control) fueron, en la medida de lo posible, pareados por edad y género.

Las muestras de exhalado fueron recogidas con un dispositivo inerte homologado Bio-
25 VOC (Markes International Ltd., Reino Unido). Este dispositivo retiene la parte alveolar del exhalado.

A continuación, el exhalado fue transferido a unos tubos preconcentradores de compuestos orgánicos volátiles con material absorbente Tenax TA (Sigma-Aldrich, San
30 Luis, Misuri, Estados Unidos). Los tubos fueron, entonces, guardados en una nevera a 4°C hasta su análisis.

Las muestras, en este caso, fueron analizadas por GC/Q-TOF, estando dicho GC/Q-TOF configurado para funcionar de acuerdo a los siguientes parámetros: se utilizó una
35 columna cromatográfica HP-5MSI (Agilent Technologies Spain S.L., Madrid, España)

Las condiciones del cromatógrafo fueron las siguientes: tiempo de desorción: 1 minuto; temperatura de desorción: 250°C. Los parámetros del horno fueron los siguientes: temperatura inicial: 50°C; rampa de 10°C/minuto hasta llegar a 155°C; rampa de 20°C/minuto hasta llegar a 270°C; 10 minutos a 270°C. La ionización se llevó a cabo por medio de impacto electrónico (IE), con una energía de los electrones de 70 eV y una temperatura de 230°C. El cromatograma se adquirió para compuestos con masa/carga que van desde 35 hasta 400, a una tasa de muestreo de 5 espectros/segundo. La deconvolución del cromatograma se llevó a cabo utilizando el software Unknown Analysis, ejecutado en modo automático, con el factor de similitud mínimo fijado en 70. La identificación de los compuestos se llevó a cabo en base a la librería de espectros de masas NIST14.

Para ello, los tubos preconcentradores con las muestras de exhalado mencionados anteriormente fueron cortados y el material absorbente fue transferido a viales de vidrio de 20 mL con tapón con septum. Dichos viales fueron calentados introduciéndolos 20 minutos en un baño de aceite sobre una placa calefactora calentada a 100°C. Esto permitió la desorción térmica de los compuestos orgánicos volátiles de las muestras de exhalado atrapados en el material absorbente. Al desorberse, dichos compuestos orgánicos volátiles formaron un espacio de cabeza encima del material absorbente, dentro de los diferentes tubos de vidrio.

Se utilizó la técnica de Microextracción en Fase Sólida (SPME, por sus siglas en inglés) con fibra DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano) para capturar y concentrar los compuestos orgánicos volátiles del exhalado liberados del material absorbente e introducirlos en el GC/Q-TOF para proceder a su análisis químico de acuerdo a lo indicado anteriormente. Para ello la fibra de SPME se introdujo en el espacio de cabeza formado dentro del vial pinchando a través del septum de la tapa del vial, donde se dejó durante 30 minutos, estando en todo este momento el vial calentado a 100°C en el baño de aceite encima de la placa calefactora calentada a 100°C.

En el presente caso se analizaron una serie de compuestos orgánicos volátiles útiles para el diagnóstico de la equinococosis quística (ver tabla 3). Dichos compuestos se hallaron en concentraciones estadísticamente diferentes entre los dos grupos (equinococosis quística y control) aplicando el t-test con el valor de $\alpha = 0,05$ (correspondiente al nivel de confianza de 95%).

Tabla 3. Listado de compuestos orgánicos volátiles analizados y sus características en GC/Q-TOF.

| Compuesto orgánicos volátil | Compuesto | Número CAS | m/z | Tiempo de retención (min) | Valor p |
|-----------------------------|--------------------------|------------|-------|---------------------------|---------|
| COV 01 | 1-Trideceno | 2437-561 | 70,07 | 6,117 | 0,027 |
| COV 02 | Ácido (E)-13-docosenoico | 19780-11-1 | 67,05 | 10,861 | 0,045 |

5 En la figura 1 se observa representado el área bajo el pico cromatográfico obtenida para cada uno de los COVs o marcadores mencionados en la tabla 3 tanto para el grupo de control como para el grupo de pacientes diagnosticados con Equinococosis quística. Para todos los marcadores se observa un incremento del área bajo el pico cromatográfico en el grupo de pacientes diagnosticados con Equinococosis quística en
10 comparación con el grupo de control.

Por tanto, el método de diagnóstico de acuerdo a una primera realización de la presente invención es útil para el diagnóstico de la Equinococosis quística proporcionando un método rápido y eficaz que permite resolver los problemas presentes en el estado de la
15 técnica y mencionados anteriormente y que utiliza una muestra que se obtiene por métodos no invasivos.

Ejemplo 2. Diagnóstico de la equinococosis alveolar de acuerdo a una primera realización del método de la presente invención.
20

Se recogieron muestras de aliento o exhalado de un grupo de pacientes diagnosticados con equinococosis alveolar (n=13) y de un grupo de personas sin equinococosis alveolar, que formaron el grupo de control (n=8). Las muestras fueron recogidas en el Centro Universitario de Medicina Tropical y Parasítica (Gdynia, Polonia). Los dos grupos
25 (Equinococosis alveolar y Control) fueron, en la medida de lo posible, pareados por género.

Las muestras de exhalado fueron recogidas con un dispositivo inerte homologado Bio-VOC (Markes International Ltd., Reino Unido). Este dispositivo retiene la parte alveolar del exhalado.

- 5 A continuación, el exhalado fue transferido a unos tubos preconcentradores de compuestos orgánicos volátiles con material absorbente Tenax TA (Sigma-Aldrich, San Luis, Misuri, Estados Unidos). Los tubos fueron, entonces, guardados en una nevera a 4°C hasta su análisis.
- 10 Las muestras, en este caso, fueron analizadas por GC/Q-TOF, estando dicho GC/Q-TOF configurado para funcionar de acuerdo a los siguientes parámetros: se utilizó una columna cromatográfica HP-5MSI (Agilent Technologies Spain S.L., Madrid, España) Las condiciones del cromatógrafo fueron las siguientes: tiempo de desorción: 1 minuto; temperatura de desorción: 250°C. Los parámetros del horno fueron los siguientes:
- 15 temperatura inicial: 50°C; rampa de 10°C/minuto hasta llegar a 155°C; rampa de 20°C/minuto hasta llegar a 270°C; 10 minutos a 270°C. La ionización se llevó a cabo por medio de impacto electrónico (IE), con una energía de los electrones de 70 eV y una temperatura de 230°C. El cromatograma se adquirió para compuestos con masa/carga que van desde 35 hasta 400, a una tasa de muestreo de 5 espectros/segundo. La
- 20 deconvolución del cromatograma se llevó a cabo utilizando el software Unknown Analysis, ejecutado en modo automático, con el factor similitud mínimo fijado en 70. La identificación de los compuestos se llevó a cabo en base a la librería de espectros de masas NIST14.
- 25 Para ello, los tubos preconcentradores con las muestras de exhalado mencionados anteriormente fueron cortados y el material absorbente fue transferido a viales de cristal de 20 mL con tapón con septum. Dichos viales fueron calentados introduciéndolos 20 minutos en un baño de aceite sobre una placa calefactora calentada a 100°C. Esto permitió la desorción térmica de los compuestos orgánicos volátiles de las muestras de
- 30 exhalado atrapados en el material absorbente. Al desorberse, dichos compuestos orgánicos volátiles formaron un espacio de cabeza encima del material absorbente, dentro de los diferentes tubos de vidrio.

Se utilizó la técnica de Microextracción en Fase Sólida (SPME, por sus siglas en inglés)

35 con fibra DVB/CAR/PDMS para capturar y concentrar los compuestos orgánicos

volátiles del exhalado liberados del material absorbente e introducirlos en el GC/Q-TOF para proceder a su análisis químico de acuerdo a lo indicado anteriormente. Para ello la fibra de SPME se introdujo en el espacio de cabeza formado dentro del vial pinchando a través del septum de la tapa del vial, donde se dejó durante 30 minutos, estando en
 5 todo este momento el vial calentado a 100°C en el baño de aceite encima de la placa calefactora calentada a 100°C.

En el presente caso se analizaron una serie de compuestos orgánicos volátiles útiles para el diagnóstico de Equinococosis alveolar (ver tabla 4). Dichos compuestos se
 10 hallaron en concentraciones estadísticamente diferentes entre los dos grupos (equinococosis alveolar y control) aplicando el t-test con el valor de $\alpha = 0,05$ (correspondiente al nivel de confianza de 95%).

15 Tabla 4. Listado de compuestos orgánicos volátiles analizados y sus características en GC/Q-TOF.

| Compuesto orgánicos volátil | Compuesto | Número CAS | m/z | Tiempo de retención (min) | Valor p |
|-----------------------------|---------------------------|--------------|--------|---------------------------|---------|
| COV 03 | Hexadecano | 544-76-3 | 85,08 | 15,24 | 0,027 |
| COV 04 | Heptadecano | 629-78-7 | 71,06 | 15,715 | 0,033 |
| COV 05 | Eicosano | 112-95-7 | 85,08 | 16,160 | 0,044 |
| COV 06 | 11-(pentan-3-il)hencosano | 55282-11-6 | 71,06 | 16,602 | 0,044 |
| COV 07 | tetratriacontano | 14167-59-0 | 139,11 | 18,14 | 0,047 |
| COV 08 | 2-metiloctacosano | 1000376-72-8 | 99,09 | 19,768 | 0,041 |
| COV 09 | Hentriacontano | 630-04-6 | 169,16 | 22,55 | 0,049 |

En la figura 2 se observa representado el área bajo el pico cromatográfico obtenida para cada uno de los COVs o marcadores mencionados en la tabla 4 tanto para el grupo de control como para el grupo de pacientes diagnosticados con Equinococosis alveolar.
 20 Para todos los marcadores se observa una diferencia entre el grupo de pacientes con Equinococosis alveolar y el grupo control.

Por tanto, el método de diagnóstico de acuerdo a una primera realización de la presente invención es útil para el diagnóstico de la Equinococosis alveolar proporcionando un

método rápido y eficaz que permite resolver los problemas presentes en el estado de la técnica y mencionados anteriormente y que utiliza una muestra que se obtiene por métodos no invasivos.

- 5 Ejemplo 3. Diagnóstico de la Equinocosis quística de acuerdo a una segunda realización del método de la presente invención.

Se recogieron muestras de aliento de un grupo de pacientes diagnosticados con Equinocosis quística (n=24) y de un grupo de personas sin Equinocosis quística,
10 que formaron el grupo de control (n=28). Las muestras fueron recogidas en los Hospitales Charles Nicole y Ariana de Túnez. Los dos grupos (Equinocosis quística y Control) fueron, en la medida de lo posible, pareados por edad y género.

Las muestras de exhalado fueron recogidas con un dispositivo inerte homologado Bio-
15 VOC (Markes International Ltd., Reino Unido). Este dispositivo retiene la parte alveolar del exhalado.

A continuación, el exhalado fue transferido a unos tubos preconcentradores de compuestos orgánicos volátiles con material absorbente Tenax TA (Sigma-Aldrich, San
20 Luis, Misuri, Estados Unidos). Los tubos fueron, entonces, guardados en una nevera a 4°C hasta su análisis.

En este caso las muestras recogidas fueron analizadas por medio de un sistema o matriz de ocho sensores químicos de gases.
25

Dichos sensores fueron fabricados sobre silicio mediante técnicas de microprocesado. En este sentido, se definieron dos electrodos de oro paralelos, con una separación de 15 µm en la región del área activa del sensor. En esta región se depositó el material activo del sensor. Como material activo se depositaron nanopartículas de cobre (en
30 adelante, CuNP), nanopartículas de oro (en adelante, AuNP) y/o nanopartículas de platino (en adelante, PtNP), que fueron funcionalizadas con diversos compuestos orgánicos (ver tabla 5). Dicha fabricación, funcionalización y/o deposición se llevó a cabo de acuerdo con lo indicado en la patente española ES2566067A1.

35

Tabla 5. Características de los diferentes sensores utilizados en la matriz o sistema de sensores utilizado.

| Sensores | Nanomaterial | Compuesto orgánico de funcionalización | Resistencia base (MΩ) |
|-----------------|---------------------|---|------------------------------|
| S1 | AuNP | 1-dodecanotiol | 0,7 |
| S2 | AuNP | 1-dodecanotiol | 4,1 |
| S3 | CuNP | 11-mercaptoundecanol | 2,3 |
| S4 | PtNP | 4-metoxi- α -toluentiol | 0,4 |
| S5 | CuNP | 2-mercaptobenzoxazol | 0,6 |
| S6 | AuNP | 2-mercaptobenzoxazol | 5,8 |
| S7 | PtNP | 1-dodecanotiol | 7,8 |
| S8 | CuNP | ácido 11-mercaptoundecanoico | 4,5 |

Los sensores fueron, entonces, colocados en una cámara de medidas cerrada herméticamente (73,5 mL de volumen), hecha de acero inoxidable (en el presente caso, con unas dimensiones de: 70x35x30 mm³) fabricada para este propósito, provista de dos orificios: uno para la introducción de la muestra de exhalado y para realizar el vacío en la cámara de medidas antes de cada medida (con una bomba eléctrica conectada), y el otro para evacuar la muestra de exhalado.

10

Para analizar el exhalado, los tubos preconcentradores con las muestras de exhalado mencionados anteriormente fueron cortados y el material absorbente fue transferido a viales de vidrio de 20 mL con tapón con septum que fueron sellados. Dichos viales fueron calentados introduciéndolos 10 minutos en un horno calentado a 270°C. Esto permitió la desorción térmica de los compuestos orgánicos volátiles de las muestras de exhalado atrapados en el material absorbente. Dichos compuestos orgánicos volátiles se quedaron en el espacio de cabeza de los diferentes tubos y por medio de una jeringa para gases de 10 mL, 10 mL de dicho espacio de cabeza fue extraído de los viales e inyectado en la cámara de medidas que alberga los sensores químicos de gases. Con anterioridad a la introducción de las muestras, se realizó un vacío de 600 mbar durante 5 minutos en la cámara de medidas mediante bomba eléctrica externa.

20

Los sensores fueron operados de forma secuencial. Cada uno fue alimentado o tratado de la siguiente manera:

25

- 5 minutos de acondicionamiento con vacío. Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma sucesiva a una tensión continua de 8 V durante 10 segundos, y posteriormente se dejó inactivo (sin alimentación con tensión)

durante 70 segundos. Este ciclo de activo (alimentación con tensión)-inactivo mencionado anteriormente se llevó a cabo 4 veces para cada sensor.

- 5 - Realización de las medidas: 5 minutos de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado inyectados mediante la jeringa mencionada anteriormente. Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma sucesiva a una tensión continua de 8 V durante 10 segundos, seguido de 70 segundos de inactividad. Durante el tiempo indicado de 5 minutos de exposición se efectuaron 4 de los mencionados ciclos de actividad (alimentación con tensión) – inactividad para cada sensor.
- 10 - Tras la medida de cada muestra, la cámara de medidas fue limpiada con aire sintético (a un caudal de 2 L/min) durante 30 minutos. Durante el procedimiento de limpiado, los sensores fueron alimentados, de forma sucesiva y de manera secuencial durante 10 segundos a 10 V de tensión continua, seguido de 70 segundos de inactividad. Durante todo el tiempo indicado anteriormente de 30 minutos de limpieza se repitieron los mencionados ciclos de actividad (alimentación con tensión) – inactividad para cada sensor. Esta forma de proceder, aseguró el limpiado de las superficies de los sensores y la purga de la cámara de medidas.

20 Se extrajeron los siguientes tres parámetros de la respuesta de cada sensor a cada muestra analizada, durante el primer ciclo de actividad del sensor en la etapa de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado (la respuesta de los sensores fue similar durante los 4 ciclos de actividad, con lo que se seleccionó el primer ciclo con el fin de disminuir la carga computacional):

25

- Parámetro 1 (P1): Promedio de la corriente continua obtenida durante 1,22 segundos en la mitad del periodo de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
- Parámetro 2 (P2): Promedio de la corriente continua obtenida durante los últimos 1,22 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
- 30 - Parámetro 3 (P3): Área bajo la curva de respuesta durante los 1,78 últimos segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;

35 Se construyó un modelo de reconocimiento de patrones con ocho parámetros extraídos de las respuestas de siete sensores: parámetro P1 del sensor S1; parámetro P2 del

sensor S2; parámetro P1 del sensor S3; parámetro P1 del sensor S4; parámetros P1 y P2 del sensor S5; parámetro P3 del sensor S6; y parámetro P1 del sensor S7;, y se aplicó el algoritmo DFA para entrenar el modelo. La tasa de acierto, así como los valores de sensibilidad y especificidad, fueron estimados mediante validación cruzada dejando uno fuera (o “leave-one-out”).

El resultado obtenido por el modelo construido con la combinación de los diferentes sensores estudiados aparece resumido en las figuras 3 y 4, en las que se puede observar que la matriz o sistema de sensores utilizados en este ejemplo permitió una buena distinción entre los grupos de estudio (grupo de pacientes con Equinococosis quística y grupo Control). En este caso la tasa de acierto, sensibilidad y especificidad fueron 100%.

Ejemplo 4. Diagnóstico de la Equinococosis quística de acuerdo a una segunda realización del método de la presente invención.

Se recogieron muestras de aliento de un grupo de pacientes diagnosticados con Equinococosis quística (n=8) y de un grupo de personas sin Equinococosis quística, que formaron el grupo de control (n=15). Las muestras fueron recogidas en el Hospital Charles Nicole de Túnez. Los dos grupos (Equinococosis quística y Control) fueron, en la medida de lo posible, pareados por edad y género.

Las muestras de exhalado fueron recogidas con un dispositivo inerte homologado BioVOC (Markes International Ltd., Reino Unido). Este dispositivo retiene la parte alveolar del exhalado. En este caso, los compuestos orgánicos volátiles del exhalado retenidos en el dispositivo BioVOC se midieron justo después de la toma de la muestra de exhalado. Para ello, se conectó el extremo abierto del dispositivo BioVOC mencionado anteriormente, mediante un tubo de teflón de 6 cm de longitud y 3,7 mm de diámetro interno, a la cámara de medidas en la que están los sensores utilizados para la medida de los compuestos orgánicos volátiles, que son los indicados en la tabla 5 incluida anteriormente; y la muestra de exhalado retenida en el dispositivo BioVOC se introdujo en la cámara de medidas empujando el émbolo durante 10 segundos a lo largo de todo el recorrido interior del dispositivo BioVOC.

Brevemente, dichos sensores indicados en la tabla 5 fueron fabricados sobre silicio mediante técnicas de microprocesado. En este sentido, se definieron dos electrodos de oro paralelos, con una separación de 15 μm en la región del área activa del sensor. En esta región se depositó el material activo del sensor. Como material activo se depositaron nanopartículas de cobre (en adelante, CuNP), nanopartículas de oro (en adelante, AuNP) y/o nanopartículas de platino (en adelante, PtNP), que fueron funcionalizadas con diversos compuestos orgánicos (ver tabla 5). Dicha fabricación, funcionalización y/o deposición se llevó a cabo de acuerdo con lo indicado en la patente española ES2566067A1.

10

Los sensores fueron, entonces, colocados en una cámara de medidas cerrada herméticamente (31,2 mL de volumen), hecha de teflón (en el presente caso, con unas dimensiones de: 120x26x10 mm^3) fabricada para este propósito, provista de dos orificios: uno para la introducción de la muestra de exhalado en la cámara de medidas, y el otro para evacuar la muestra de exhalado.

15

Los sensores fueron operados de forma secuencial. Cada uno fue alimentado o tratado de la siguiente manera:

20

- 5 minutos de acondicionamiento con aire sintético (a un caudal de 0,5 L/min). Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma sucesiva a una tensión continua de 5 V durante 10 segundos, y posteriormente se dejó inactivo (sin alimentación con tensión) durante 70 segundos. Este ciclo de activo (alimentación con tensión)-inactivo mencionado anteriormente se llevó a cabo 4 veces para cada sensor.

25

- Realización de las medidas: 5 minutos de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado inyectados mediante la jeringa mencionada anteriormente. Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma sucesiva a una tensión continua de 5 V durante 10 segundos, seguido de 70 segundos de inactividad. Durante todo el tiempo indicado de 5 minutos de exposición se efectuaron 4 de los mencionados ciclos de actividad (alimentación de tensión) – inactividad para cada sensor.

30

- Tras la medida de cada muestra, la cámara de medidas fue limpiada con aire sintético (a un caudal de 0,5 L/min) durante 30 minutos. Durante el procedimiento de limpiado, los sensores fueron alimentados, de forma sucesiva y de manera

35

5 secuencial durante 10 segundos a 5 V de tensión continua, seguido de 70 segundos de inactividad. Durante el tiempo indicado anteriormente de 30 minutos de limpieza se repitieron los mencionados ciclos de actividad (alimentación con tensión) – inactividad para cada sensor. Esta forma de proceder, aseguró el limpiado de las superficies de los sensores y la purga de la cámara de medidas.

10 Se extrajeron las siguientes tres parámetros de la respuesta de cada sensor a cada muestra analizada, durante el primer ciclo de actividad del sensor en la etapa de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado (la respuesta de los sensores fue similar durante los 4 ciclos, con lo que se seleccionó el primer ciclo con el fin de disminuir la carga computacional):

- 15 - Parámetro 1 (P1): Promedio de la corriente continua obtenida durante 1,22 segundos en la mitad del periodo de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
- Parámetro 2 (P2): Promedio de la corriente continua obtenida durante los últimos 1,22 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
- Parámetro 3 (P3): Área bajo la curva de respuesta durante los 1,78 últimos segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;

20 Se construyó un modelo de reconocimiento de patrones con ocho parámetros extraídos de las respuestas de seis sensores: parámetro P1 del sensor S2; parámetros P1 y P2 del sensor S4; parámetro P2 del sensor S5; parámetros P1 y P3 del sensor S6; parámetro P3 del sensor S7; y parámetro P2 del sensor S8; y se aplicó el algoritmo DFA para entrenar el modelo. La tasa de acierto, así como los valores de sensibilidad y especificidad, fueron estimados mediante validación cruzada dejando uno fuera (o "leave-one-out").

30 El resultado obtenido por el modelo construido con la combinación de los diferentes sensores estudiados aparece resumido en las figuras 5 y 6, en las que se puede observar que la matriz o sistema de sensores utilizados en este ejemplo permitió una buena distinción entre los grupos de estudio (grupo de pacientes con Equinococosis quística y grupo Control). En este caso la tasa de acierto fue 82,6%, la sensibilidad fue de 75% y la especificidad fue 86,7%.

35

Por tanto, en base a los resultados obtenidos en los ejemplos 3 y 4 se deduce que el método diagnóstico de acuerdo a una segunda realización de la presente invención es útil para el diagnóstico de la Equinococosis quística proporcionando un método sencillo, rápido y eficaz que permite resolver los problemas presentes en el estado de la técnica y mencionados anteriormente. Adicionalmente, resulta destacable que se trata de un método de diagnóstico de la Equinococosis quística muy sencillo de realizar, pudiendo ser realizado sin necesidad de conocimiento especializado (ni asistencia médica), en casa del paciente, en farmacias o en centros de asistencia primaria.

10 Ejemplo 5. Diagnóstico de la Equinococosis alveolar de acuerdo a una segunda realización del método de la presente invención.

Se recogieron muestras de aliento de un grupo de pacientes diagnosticados con Equinococosis alveolar (n=14) y de un grupo de personas sin Equinococosis alveolar, que formaron el grupo de control (n=8). Las muestras fueron recogidas en el Centro Universitario de Medicina Tropical y Parasítica (Gdynia, Polonia). Los dos grupos (Equinococosis alveolar y Control) fueron, en la medida de lo posible, pareados por género.

20 Las muestras de exhalado fueron recogidas con un dispositivo inerte homologado Bio-VOC (Markes International Ltd., Reino Unido). Este dispositivo retiene la parte alveolar del exhalado.

A continuación, el exhalado fue transferido a unos tubos preconcentradores de compuestos orgánicos volátiles con material absorbente Tenax TA (Sigma-Aldrich, San Luis, Misuri, Estados Unidos). Los tubos fueron, entonces, guardados en una nevera a 4°C hasta su análisis.

En este caso las muestras recogidas fueron analizadas por medio de un sistema o matriz de ocho sensores químicos de gases (ver tabla 5).

Dichos sensores fueron fabricados sobre silicio mediante técnicas de microprocesado. En este sentido, se definieron dos electrodos de oro paralelos, con una separación de 15 µm en la región del área activa del sensor. En esta región se depositó el material activo del sensor. Como material activo se depositaron nanopartículas de cobre (en

adelante, CuNP), nanopartículas de oro (en adelante, AuNP) y/o nanopartículas de platino (en adelante, PtNP), que fueron funcionalizadas con diversos compuestos orgánicos (ver tabla 5). Dicha fabricación, funcionalización y/o deposición se llevó a cabo de acuerdo con lo indicado en la patente española ES2566067A1.

5

Los sensores fueron, entonces, colocados en una cámara de medidas cerrada herméticamente (73,5 mL de volumen), hecha de acero inoxidable (en el presente caso, con unas dimensiones de: 70x35x30 mm³) fabricada para este propósito, provista de dos orificios: uno para la introducción de la muestra de exhalado y para realizar el vacío en la cámara de medidas antes de cada medida (con una bomba eléctrica conectada), y el otro para evacuar la muestra de exhalado.

Para analizar el exhalado, los tubos preconcentradores con las muestras de exhalado mencionados anteriormente fueron cortados y el material absorbente fue transferido a viales de vidrio de 20 mL con tapón con septum que fueron sellados. Dichos viales fueron calentados introduciéndolos 10 minutos en un horno calentado a 270°C. Esto permitió la desorción térmica de los compuestos orgánicos volátiles de las muestras de exhalado atrapados en el material absorbente. Dichos compuestos orgánicos volátiles se quedaron en el espacio de cabeza de los diferentes tubos y por medio de una jeringa para gases de 10 mL, 10 mL de dicho espacio de cabeza fue extraído de los viales e inyectado en la cámara de medidas que alberga los sensores químicos de gases. Con anterioridad a la introducción de las muestras, se realizó un vacío de 600 mbar durante 5 minutos en la cámara de medidas mediante bomba eléctrica externa.

Los sensores fueron operados de forma secuencial. Cada uno fue alimentado o tratado de la siguiente manera:

- 5 minutos de acondicionamiento con vacío. Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma sucesiva a una tensión continua de 8 V durante 10 segundos, y posteriormente se dejó inactivo (sin alimentación con tensión) durante 70 segundos. Este ciclo de activo (alimentación con tensión)-inactivo mencionado anteriormente se llevó a cabo 4 veces para cada sensor.
- Realización de las medidas: 5 minutos de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado inyectados mediante la jeringa mencionada anteriormente. Durante esta etapa cada sensor fue alimentado de forma

sucesiva a una tensión continua de 8 V durante 10 segundos, seguido de 70 segundos de inactividad. Durante el tiempo indicado de 5 minutos de exposición se efectuaron 4 de los mencionados ciclos de actividad (alimentación con tensión) – inactividad para cada sensor.

5 - Tras la medida de cada muestra, la cámara de medida fue limpiada con aire sintético (a un caudal de 2 L/min) durante 30 minutos. Durante el procedimiento de limpiado, los sensores fueron alimentados, de forma sucesiva y de manera secuencial durante 10 segundos a 10 V de tensión continua, seguido de 70
10 minutos de limpieza se repitieron los mencionados ciclos de actividad (alimentación con tensión) – inactividad para cada sensor. Esta forma de proceder, aseguró el limpiado de las superficies de los sensores y la purga de la cámara de medidas.

15 Se extrajeron los siguientes tres parámetros de la respuesta de cada sensor a cada muestra analizada, durante el primer ciclo de actividad del sensor en la etapa de exposición a los compuestos orgánicos volátiles de la muestra de exhalado (la respuesta de los sensores fue similar durante los 4 ciclos, con lo que se seleccionó el primer ciclo con el fin de disminuir la carga computacional):

- 20
- Parámetro 1 (P1): Promedio de la corriente continua obtenida durante 1,22 segundos en la mitad del periodo de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
 - Parámetro 2 (P2): Promedio de la corriente continua obtenida durante los últimos 1,22 segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;
 - 25 - Parámetro 3 (P3): Área bajo la curva de respuesta durante los 1,78 últimos segundos de exposición del sensor a la muestra de exhalado;

30 Se construyó un modelo de reconocimiento de patrones con ocho parámetros extraídos de las respuestas de seis sensores: parámetro P3 del sensor S2; parámetro P2 del sensor S3; parámetros P1 y P2 del sensor S4; parámetro P2 del sensor S6; parámetro P1 y P3 del sensor S7; y parámetro P2 del sensor S8; y se aplicó el algoritmo DFA para entrenar el modelo. La tasa de acierto, así como los valores de sensibilidad y especificidad, fueron estimados mediante validación cruzada dejando uno fuera (o “leave-one-out”).

35

El resultado obtenido por el modelo construido con la combinación de los diferentes sensores estudiados aparecen resumidos en las figuras 7 y 8, en las que se puede observar que la matriz o sistema de sensores utilizados en este ejemplo permitió una buena distinción entre los grupos de estudio (grupo de pacientes con Equinocosis alveolar y grupo Control). En este caso la tasa de acierto fue 92,9%, la sensibilidad fue 92,9% y la especificidad fue 88,9%.

Por tanto, el método diagnóstico de acuerdo a una segunda realización de la presente invención es útil para el diagnóstico de la Equinocosis alveolar proporcionando un método sencillo, rápido y eficaz que permite resolver los problemas presentes en el estado de la técnica y mencionados anteriormente. Adicionalmente, resulta destacable que se trata de un método de diagnóstico de la Equinocosis alveolar que es muy sencillo de realizar, pudiendo ser realizado sin necesidad de conocimiento especializado (ni asistencia médica), en casa del paciente, en farmacias o en centros de asistencia primaria.

REIVINDICACIONES

1. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto caracterizado porque comprende la detección de al menos un compuesto orgánico volátil en una muestra de exhalado de un sujeto.
5
2. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 1, caracterizado porque el sujeto es un humano.
- 10 3. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque el método es un método in vitro.
- 15 4. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el al menos un compuesto orgánico volátil es 1-trideceno, ácido (E)-13-docosenoico, Hexadecano, Heptadecano, Eicosano, 11-(pentan-3-il)henicosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano, Hentriacontano o combinaciones de los
20 mismos.
5. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 4, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis.
25
6. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 5, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis quística.
- 30 7. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 5 caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis alveolar.
- 35 8. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 6, caracterizado porque el al menos un compuesto orgánico volátil es 1-trideceno, ácido (E)-13-docosenoico o combinaciones de los mismos.

- 5 9. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 7, caracterizado porque el al menos un compuesto orgánico volátil es Hexadecano, Heptadecano, Eicosano, 11-(pentan-3-il)henicosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano, Hentriacontano o combinaciones de los mismos.
- 10 10. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque la muestra de exhalado se analiza por medio de cromatografía de GC-MS, GC/Q-TOF, GCxGC/MS y/o PTR-MS.
- 15 11. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque la muestra de exhalado se analiza por medio de GC/Q-TOF.
- 20 12. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 11, caracterizado porque mediante GC/Q-TOF se mide el área bajo el pico cromatográfico del al menos un compuesto orgánico volátil.
- 25 13. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la muestra de exhalado se analiza mediante un dispositivo que comprende al menos un sensor que, a su vez, comprende al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles.
- 30 14. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 13, caracterizado porque la detección de al menos un compuesto orgánico volátil comprende las etapas de:
- exposición del al menos un sensor a la muestra de exhalado;
 - y detección del cambio en al menos una de las propiedades del al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles.
- 35

- 5 15. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 13 ó 14, caracterizado porque el al menos un material que reacciona química y/o físicamente con compuestos orgánicos volátiles comprende al menos un nanomaterial funcionalizado y/o recubierto por al menos un compuesto orgánico.
- 10 16. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 15, caracterizado porque el nanomaterial funcionalizado y/o recubierto por al menos un compuesto orgánico está dispuesto en forma de monocapa en el al menos un sensor.
- 15 17. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, caracterizado porque el al menos un sensor comprende:
- nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
 - nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
 - nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol;

20 - nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico;

 - nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
 - nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol; y
 - nanopartículas de Pt funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
 - o combinaciones de las mismas.
- 25
18. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, caracterizado porque el al menos un sensor son al menos seis sensores, seleccionados de entre:
- 30 - al menos un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol;

35 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-

mercaptoundecanoico;

- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluolentol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 21-dodecanotiol.

5

19. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis.

10

20. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 19, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis quística.

15

21. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 19, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis alveolar.

20

22. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 20, caracterizado porque el al menos un sensor son siete sensores y porque dichos siete sensores son:

25

- dos sensores que comprenden nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluolentol;

30

- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluolentol;

35

- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol.

23. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 20, caracterizado porque el al menos un sensor son seis sensores y porque dichos seis sensores son:

5

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- 10 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol;
- 15 - un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-dodecanotiol.

20

24. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 21, caracterizado porque el al menos un sensor son seis sensores y porque dichos seis sensores son:

25

- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 1-dodecanotiol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Au funcionalizadas con 2-mercaptobenzoxazol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con 11-mercaptoundecanol;
- 30 - un sensor que comprende nanopartículas de Cu funcionalizadas con ácido 11-mercaptoundecanoico;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 4-metoxi- α -toluentiol;
- un sensor que comprende nanopartículas de Pt funcionalizadas con 1-
- 35 dodecanotiol.

- 5 25. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, caracterizado porque comprende una etapa de análisis de datos en la que se utiliza un algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones.
- 10 26. Método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según la reivindicación 25, caracterizado porque el algoritmo de entrenamiento y reconocimiento de patrones es DFA.
- 15 27. Test o kit para llevar a cabo un método para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 26.
- 20 28. Uso de al menos un compuesto orgánico volátil para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto.
- 25 29. Uso según la reivindicación 28, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis quística.
- 30 30. Uso según la reivindicación 29, caracterizado porque el al menos un compuesto orgánico volátil es 1-trideceno, ácido (E)-13-docosenoico o combinaciones de los mismos.
- 35 31. Uso según la reivindicación 28, caracterizado porque la enfermedad causada por helminto es equinococosis alveolar.
32. Uso según la reivindicación 31, caracterizado porque el al menos un compuesto orgánico volátil es Hexadecano, Heptadecano, Eicosano, 11-(pentan-3-il)hencosano, tetratriacontano, 2-metiloctacosano, Hentriacontano o combinaciones de los mismos.
33. Uso de una muestra de exhalado de un sujeto para el diagnóstico de una enfermedad causada por helminto.

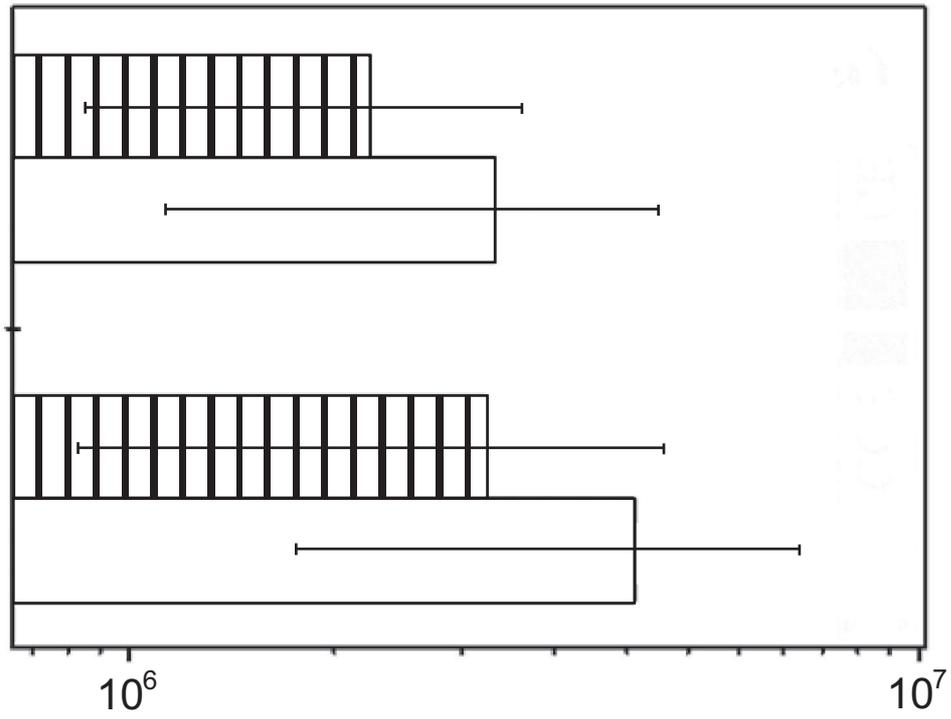


Fig. 1

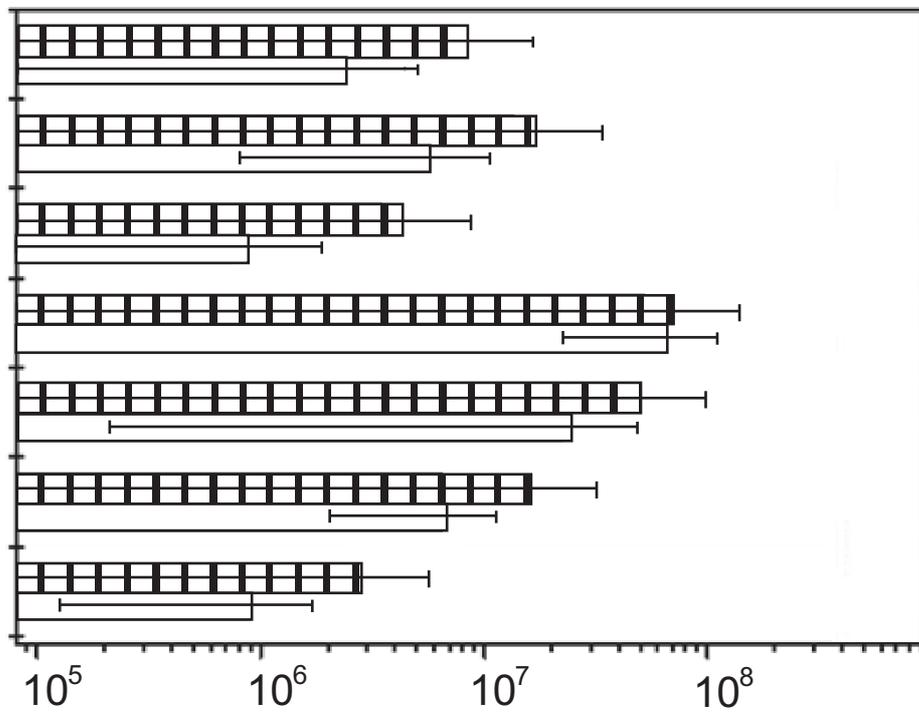
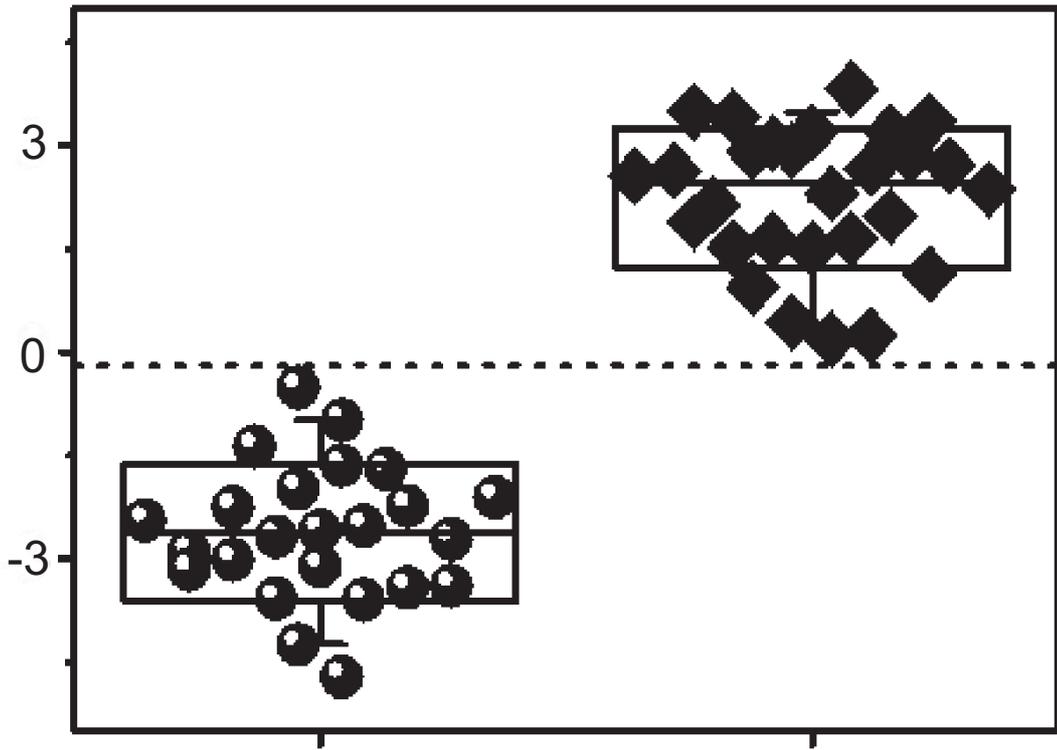


Fig. 2



CE

Fig. 3

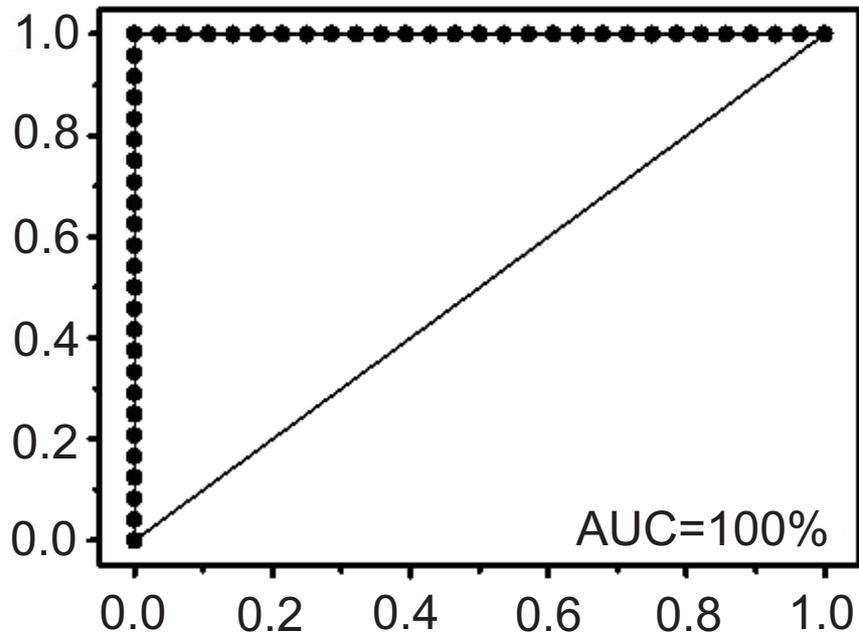


Fig. 4

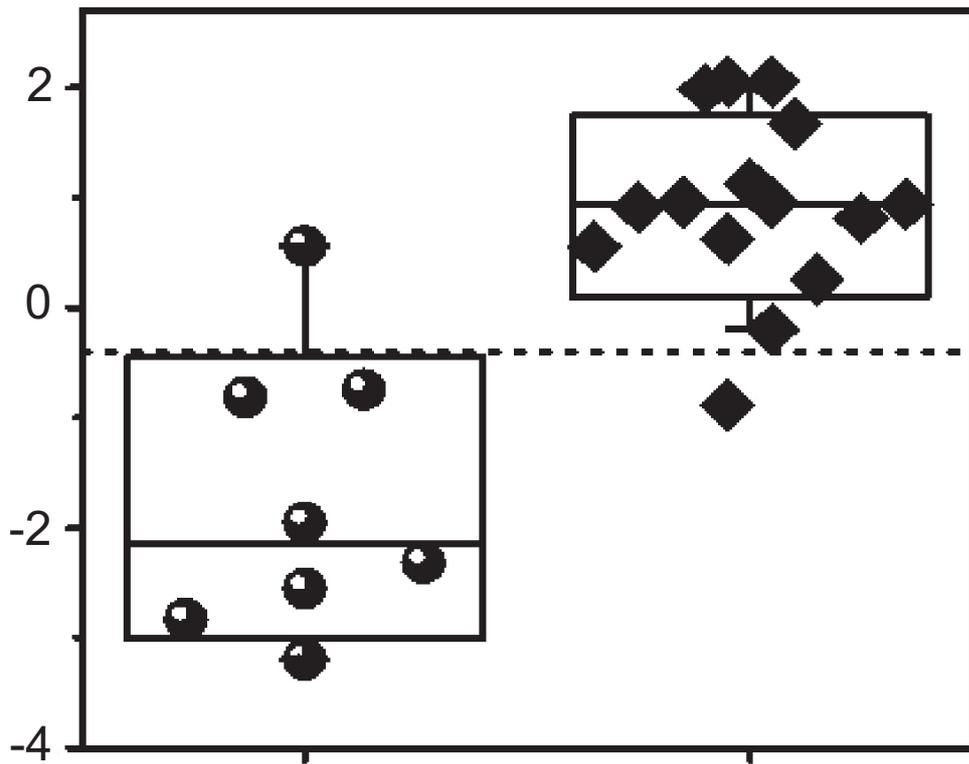


Fig. 5

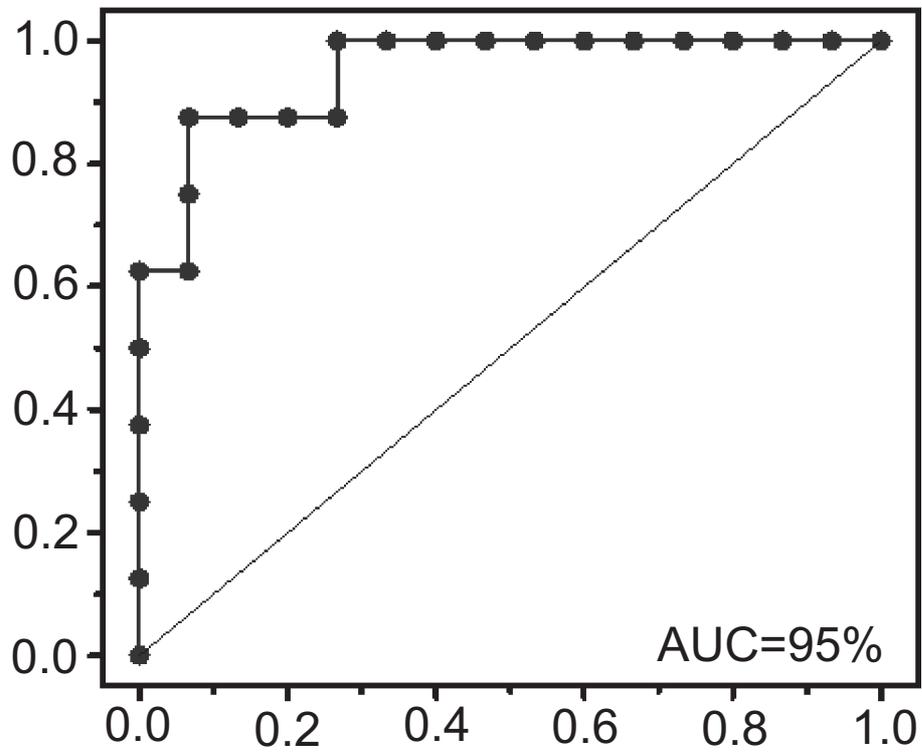
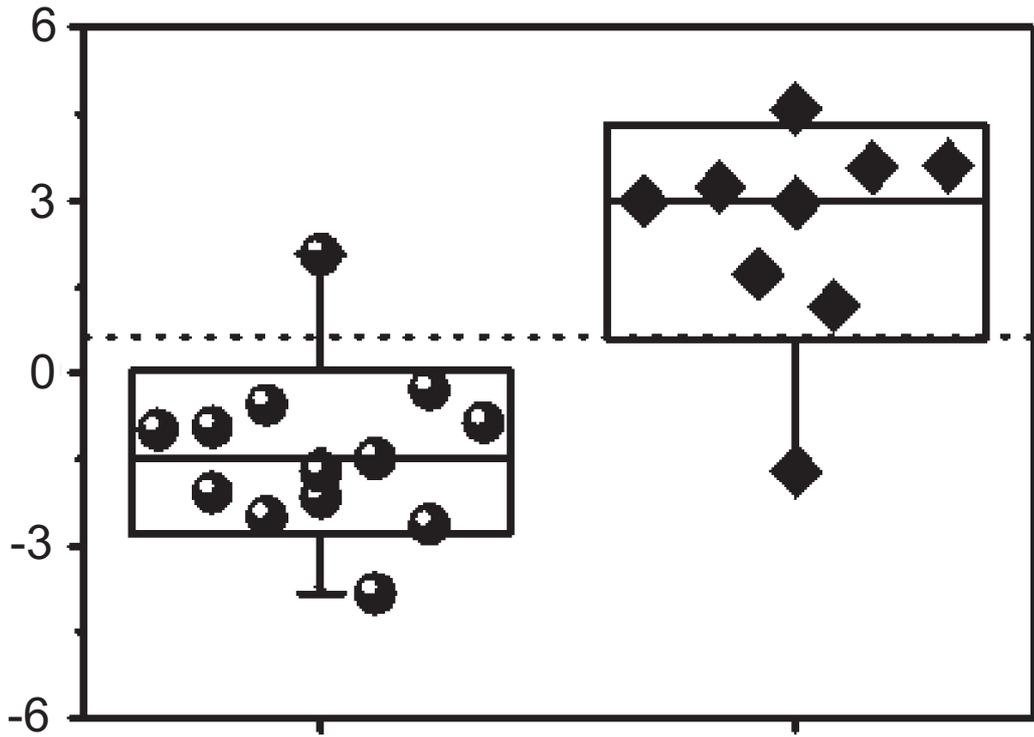


Fig. 6



AE

Fig. 7

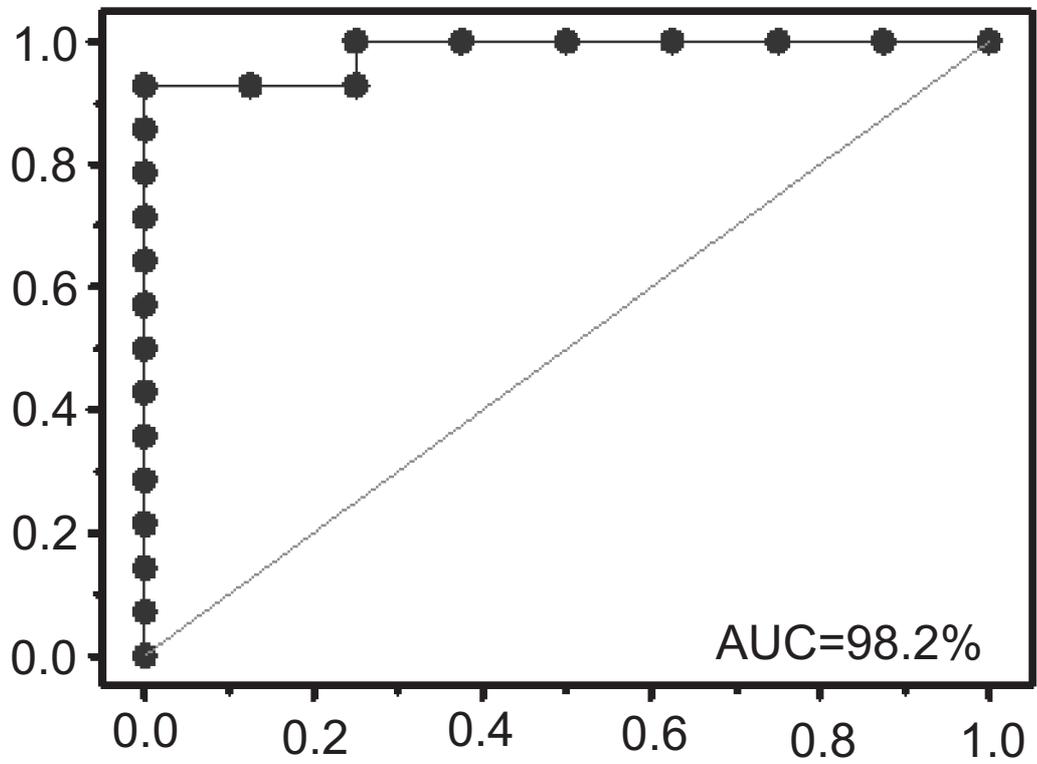


Fig. 8

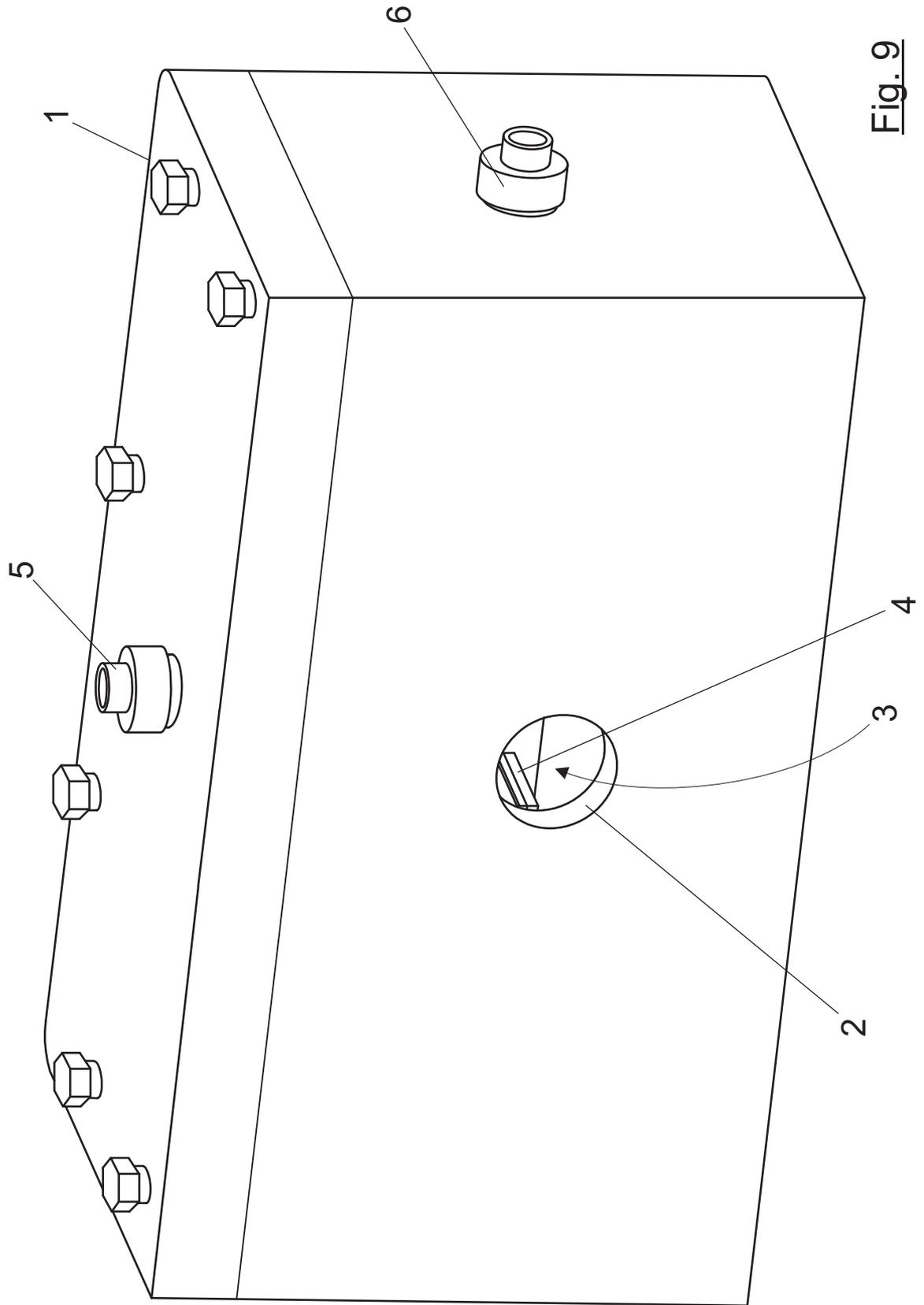


Fig. 9

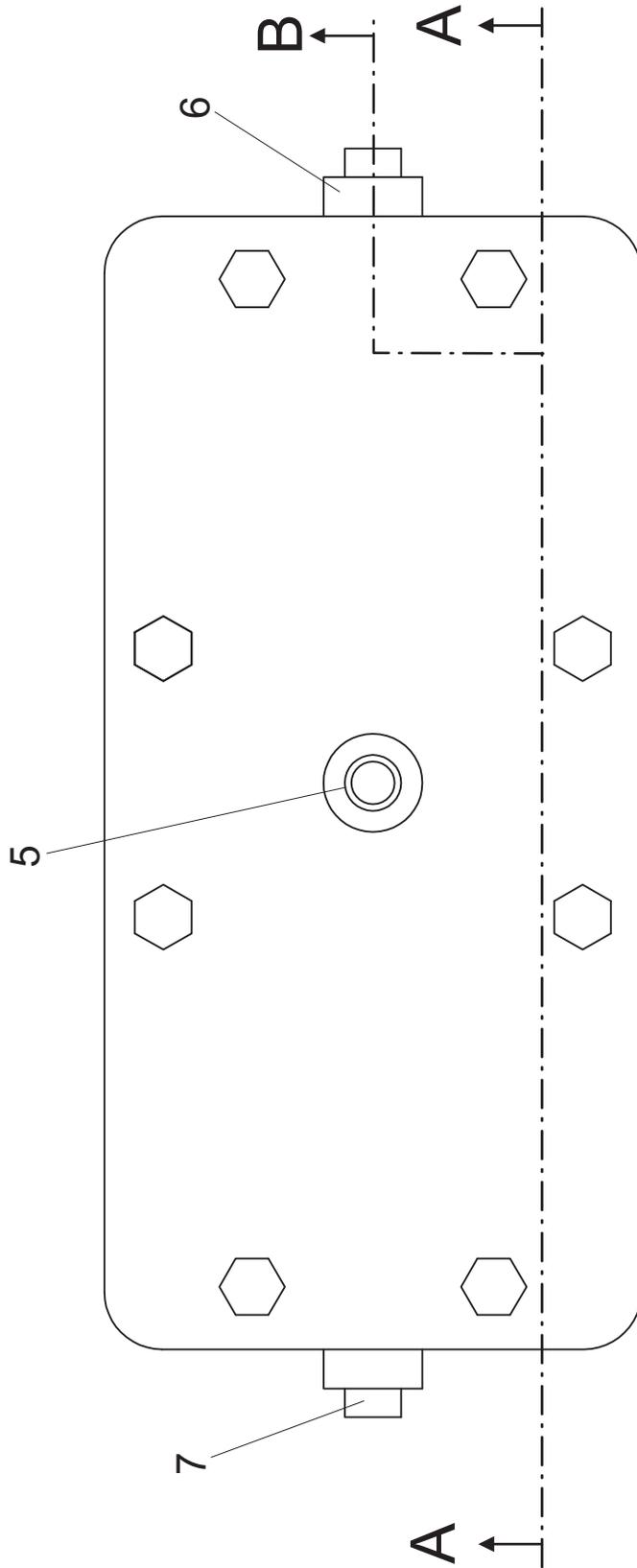


Fig. 10

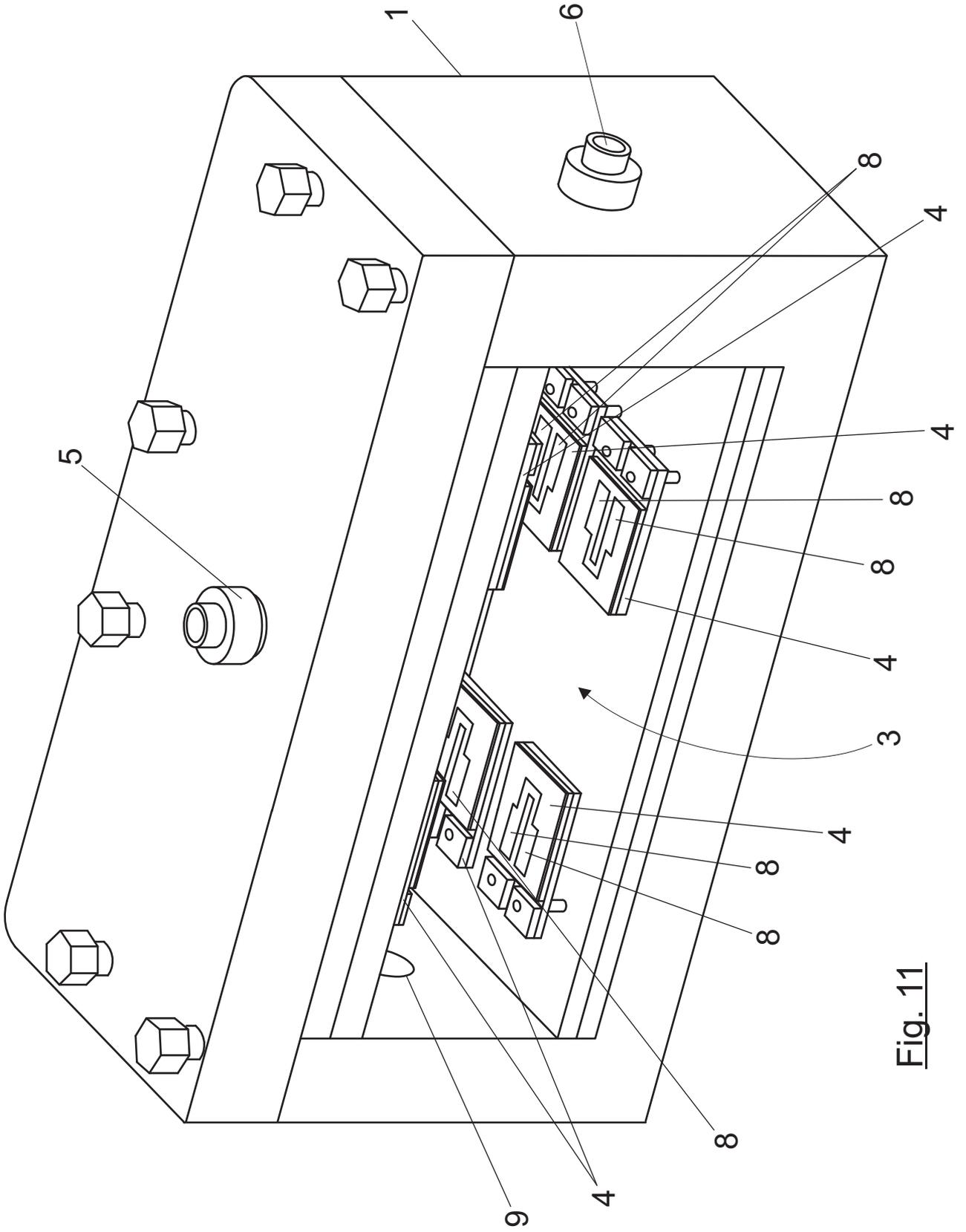


Fig. 11

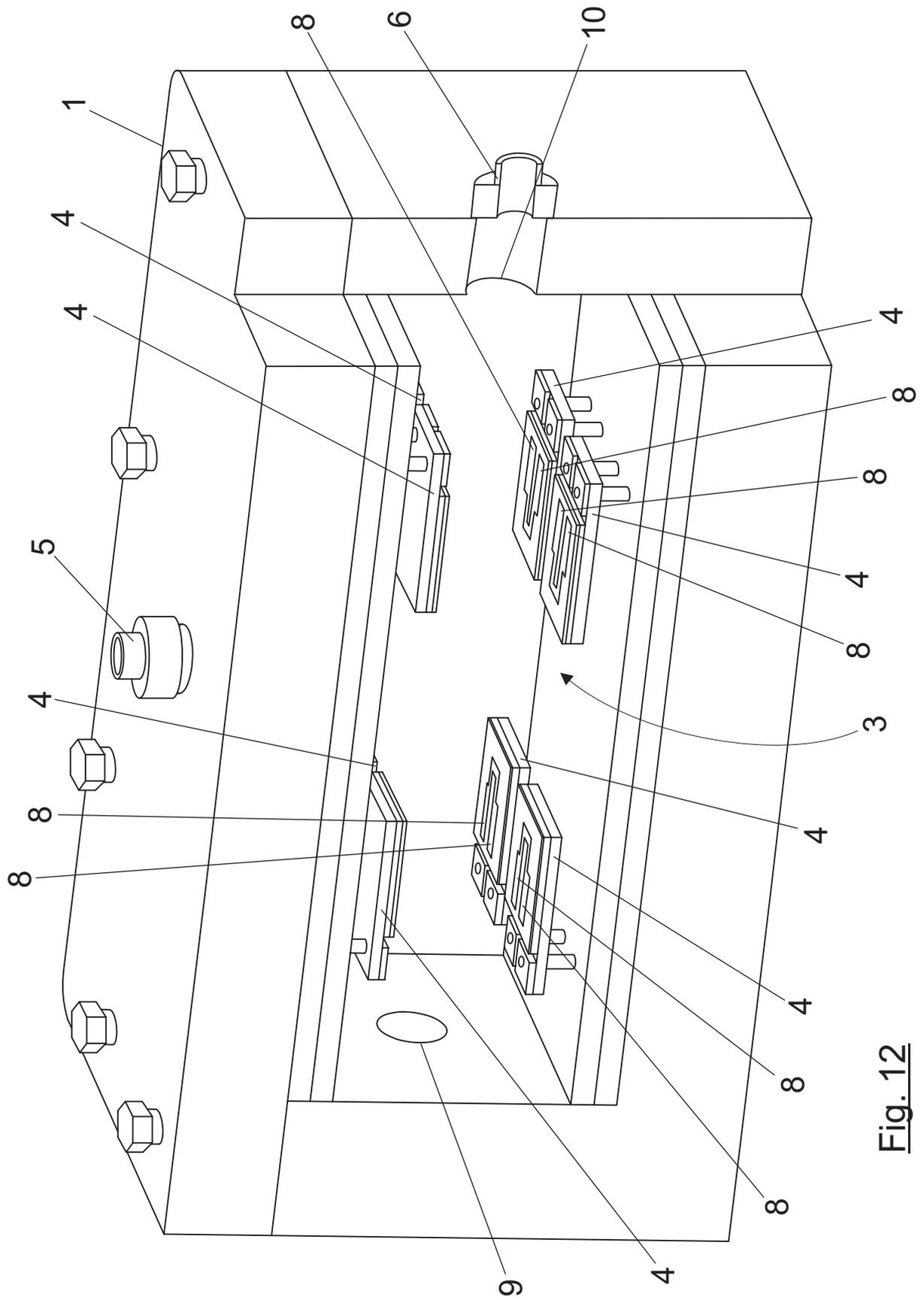


Fig. 12



- ②① N.º solicitud: 201830378
②② Fecha de presentación de la solicitud: 18.04.2018
②③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N30/00** (2006.01)
G01N33/497 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| A | NARDI-AGMON INBAR et al. Exhaled Breath Analysis for Monitoring Response to Treatment in Advanced Lung Cancer.. Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer United States 06 2016. , 31/05/2016, Vol. 11, Páginas 827 - 837, ISSN 1556-1380 (Electronic), <DOI: doi:10.1016/j.jtho.2016.02.017 pubmed: 26968885>. pagina 829, figura 1, página 831, tabla 3 y página 834 | 1-22 |
| A | BROZA Y Y et al. A nanomaterial-based breath test for short-term follow-up after lung tumor resection. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine January 2013 Elsevier Inc. usa. , 31/12/2012, Vol. 9, Páginas 15 - 21, ISSN 1549-9634 (print) ISSN 1549-9642 (electronic), <DOI: doi:10.1016/j.nano.2012.07.009>. resumen y tabla 3 | 1-22 |
| A | PENG G et al. Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. British Journal of Cancer AUG 10 2010. , 31/07/2010, Vol. 103, Páginas 542-551, ISSN 0007-0920(print) ISSN 1532-1827(electronic), <DOI: doi:10.1038/sj.bjc.6605810>. páginas 543, 544 y figura 3 | 1-22 |
| A | NAKHLEH M K et al. Distinguishing idiopathic Parkinson's disease from other parkinsonian syndromes by breath test. parkinsonism and related disorders elsevier science, oxford, GB. Bhidayasiri Roongroj; van Laar Teus; Chaudhuri Ray, 00/00/2015, Vol. 21, Páginas 150 - 153, ISSN 1353-8020, <DOI: doi:10.1016/j.parkreldis.2014.11.023>. página 153, tercer párrafo | 1-22 |
| A | WO 2015077843 A1 (COMMW SCIENT IND RES ORG) 04/06/2015, página 28, reivindicaciones 15, 16 y 17 | 1-22 |

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
24.01.2019

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
1/3



- ① N.º solicitud: 201830378
② Fecha de presentación de la solicitud: 18.04.2018
③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **G01N30/00** (2006.01)
G01N33/497 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A | WELEAREGAY T G et al. Ultrapure Organically Modified Gold Nanoparticles for Breath Analysis. PROCEDIA ENGINEERING, 20170104 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL. Islam A K M Sadrul; Amin Ruhul; Ali Mohammad, 04/01/2017, Vol. 168, Páginas 133 - 136, ISSN 1877-7058, <DOI: doi:10.1016/j.proeng.2016.11.176>. todo el documento | 1-22 |

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
24.01.2019

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
2/3

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, PATENW, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, NPL, XPESP