

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 854 837**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/543** (2006.01)

**G01N 33/558** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.08.2010** **PCT/EP2010/061525**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.02.2011** **WO11020724**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2010** **E 10739645 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.12.2020** **EP 2467721**

54 Título: **Sistema de prueba para evaluación visual**

30 Prioridad:

**17.08.2009 DE 102009037791**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**23.09.2021**

73 Titular/es:

**DST DIAGNOSTISCHE SYSTEME &  
TECHNOLOGIEN GMBH (100.0%)  
Güterbahnhofstr. 16  
19059 Schwerin, DT**

72 Inventor/es:

**VON OLLESCHIK-ELBHEIM, LARS;  
HÜNKEN, MARK;  
DANGERS, MARC y  
PUTENSEN, OLAF**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 854 837 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Sistema de prueba para evaluación visual

5 La presente invención se refiere a un sistema de prueba para evaluación visual y su uso en el ámbito del punto de atención.

10 En la investigación, el diagnóstico o una pluralidad de otros campos de aplicación, las pruebas analíticas de laboratorio, que se utilizan para la determinación cualitativa y/o cuantitativa de moléculas, analitos o su actividad o composición, representan la base de declaraciones de gran alcance hasta el desarrollo de nuevos procedimientos o dispositivos. La base son los métodos bien conocidos de análisis de ADN/ARN o análisis de proteínas. Otro ejemplo es la pluralidad de procedimientos y métodos analíticos que se utilizan para controlar las reacciones de anticuerpos, las llamadas reacciones inmunes, que se utilizan para la determinación de (bio)marcadores y muchas otras sustancias/analitos.

15 Se conocen procedimientos de prueba rápidos, como la prueba de flujo lateral (LFT), la prueba de flujo continuo (FTT), la prueba de aglutinación (AT) o la prueba de fase sólida (SPT). Todos estos procedimientos se utilizan para la detección rápida de analitos sin el uso de equipos y son adecuados para la evaluación visual.

20 Se conoce un principio de ensayo robusto, como se describe en la técnica anterior, para el diagnóstico in vitro, como un inmunoensayo (IA), en particular como un EIA, o "ensayo de unión" ("sándwich") (véase, por ejemplo, los documentos EP0171150B1, EP0063810B1). Además, por ejemplo, la detección fluorométrica de IgE en el contexto de un ensayo de unión se conoce por el documento EP0119613 B1. Además, se hace referencia a la bibliografía de Roger P. Ekins (por ejemplo, el documento WO8401031 y muchos otros).

25 Además, desde finales de la década de 1980 se conoce un ensayo de unión soportado por membrana, en particular de IgE de la sangre en alérgenos. Por ejemplo, CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 101, no. 25, 17 de diciembre de 1984, folio 578, resumen núm. 228190b, Columbus, Ohio, EE.UU.; B.J. WALSH et al.: "Allergen discs prepared from nitrocellulose: detection of IgE binding to soluble and insoluble allergens", & J. IMMUNOL. METHODS 1984, 73(1), 139-45 o en forma de una tira de prueba (documento WO2007/063423 A1).

30 El documento US 4.943.522 A describe una tira de prueba para la evaluación visual de la unión de un analito a un receptor específico unido en una zona indicadora por medio de un reactivo de detección, por lo que en el modo de realización especial según el ejemplo 6 y la figura 9 varias zonas indicadoras con diferentes concentraciones de receptor permiten un modo de realización de prueba semicuantitativo.

35 El documento WO02/088739 A1 muestra una tira de prueba para la evaluación visual de la unión de un analito a un receptor específico unido en una zona indicadora por medio de un reactivo de detección, reaccionando tres zonas indicadoras con diferentes concentraciones de analito en la configuración especial según la FIG. 2

40 El documento US 2003/119203 A1 divulga una tira de prueba para la evaluación visual de la unión de un analito (por ejemplo, un alérgeno) a un primer receptor específico unido en una zona de prueba por medio de un reactivo de detección, un área de calibración con zonas de control adicionales ubicadas en la tira de prueba, que están ocupados con diferentes concentraciones de un segundo receptor y permiten un modo de realización de prueba semicuantitativo.

45 Para el ámbito del punto de atención (POC), por ejemplo, se describe el Fast-Check-Poc disponible comercialmente del solicitante (véase el documento EP1718970), que puede usarse sobre la base de un ensayo de unión soportado por membrana para detectar alergias en sangre completa.

50 El documento WO 2007/122403 A1 describe una tira de prueba en el punto de atención para la evaluación visual de la unión de hCG a un anticuerpo de hCG unido en una zona de prueba por medio de un reactivo de detección, con varias zonas de prueba que permiten un modo de realización semicuantitativo con la ayuda de diferentes diluciones de anticuerpos.

55 Sin embargo, existe una gran necesidad de mejorar el valor informativo de un sistema de prueba de lectura visual.

60 Un problema particular es la dificultad de evaluar de forma fiable un contraste de intensidad con más niveles de gris que "claro" y "oscuro" solo visualmente y sin más ayudas técnicas. Esto es fundamental en el punto de atención, por lo que se debe garantizar que se pueda evaluar rápidamente sin ayudas adicionales (por ejemplo, lectores, ayudas visuales, etc.).

65 Hay varios sistemas de prueba disponibles comercialmente que se basan en el principio del ensayo de flujo lateral (por ejemplo, Phadia Rapid ([www.phadia.com](http://www.phadia.com))). En esta prueba, los anticuerpos contra antígenos específicos en la sangre se detectan por el hecho de que un antígeno se fija en una tira de detección en una membrana soporte, los anticuerpos de la muestra se adhieren a este antígeno y un anticuerpo marcado se une a este anticuerpo de la muestra. El marcado, en este ejemplo con nanopartículas de oro, hace que la tira aparezca coloreada tan pronto como

se hayan unido suficientes anticuerpos marcados. En las proximidades de la tira de detección hay una tira de control sobre la que se fija una mezcla de diferentes IgE humanas. Por tanto, el anticuerpo marcado se une al campo de control, independientemente de la presencia de IgE específica en la muestra y, por tanto, siempre que la tira de membrana y el anticuerpo marcado sean funcionales.

La prueba de verificación Fast-PoC del solicitante (véase anteriormente, documento EP1718970 ) se basa en un antígeno fijado al que se unen los anticuerpos de una muestra. Después de una etapa de lavado, se agrega otro anticuerpo marcado con la enzima fosfatasa alcalina, que se une al primer anticuerpo. Después de una etapa de lavado adicional, se agrega un sustrato para la enzima, que se oscurece cuando reacciona de modo que aparece una franja oscura en la ubicación de detección. Esta reacción de detección se detiene con una solución de parada para evitar que el pequeño número de anticuerpos marcados unidos de forma inespecífica produzca un color oscuro.

Otros ejemplos son el sistema CLA de Hitachi (<http://www.hcdiagnostics.com/CLAIntl.html>) y el sistema de disco de alérgenos del Dr. Foooke ([http://www.fooke-labs.de/inVitro/allergie\\_diagnostik\\_1.htm](http://www.fooke-labs.de/inVitro/allergie_diagnostik_1.htm)) Todos se basan en la detección visual de una tira que se decolora u oscurece o un portamuestras con otra conformación.

Sin embargo, ninguno de los procedimientos permite una cuantificación más allá de los dos valores “claro” y “oscuro”, ya que el ojo humano no es capaz de determinar objetivamente valores absolutos de luminosidad.

La prueba “Combur” comercializada por Hoffmann-LaRoche (CH) y pruebas de tiras de orina similares, por otro lado, difieren de las pruebas mencionadas anteriormente, ya que comprende un gran número de campos de prueba. Se basan en diferentes principios de ensayo, pero lo que todos tienen en común es un cambio en la intensidad del color de incoloro/blanco a color intenso, que se puede evaluar visualmente. Para ello, se imprimen áreas coloreadas en el embalaje de la prueba Combur, con la ayuda de las cuales el usuario puede evaluar y clasificar la intensidad de la decoloración de la prueba.

Sin embargo, una desventaja de este procedimiento es que un campo de comparación impreso no proporciona ninguna información sobre el curso correcto de la prueba y ningún control. Si se desea, esta información debe proporcionarse mediante campos de control adicionales, lo que reduce la capacidad de la tira de prueba con respecto al número de pruebas que se pueden leer.

Por tanto, el objetivo de la presente invención es permitir una evaluación visual mejorada de un sistema de prueba.

El objetivo se logra porque el sistema de prueba genera diferentes luminosidades para el observador visual, lo que permite una evaluación ventajosa y fiable.

Por tanto, la invención se refiere a un sistema de prueba para la evaluación visual, preferentemente a simple vista sin más ayudas, que tiene una unidad de evaluación para una prueba de alergia o una prueba de intolerancia alimentaria.

Esta unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba consta de al menos dos campos ópticamente distinguibles, al menos un primer campo principal que tiene moléculas receptoras de una especie, siendo al menos un alérgeno moléculas receptoras de una especie, y al menos otro campo de comparación adicional presenta una densidad más baja de moléculas receptoras de una especie, con todas las moléculas receptoras de una especie fijadas en un soporte, siendo los campos para una muestra de líquido que contiene uno o más aglutinantes humectables y el éxito de la unión se detecta con un medio de detección, de modo que la unidad de evaluación genera diferentes luminosidades (por ejemplo, niveles de grises).

Para producir campos con una densidad más baja, las moléculas receptoras pueden tener un peso relativo de 10 a 90 % en peso. en particular del 20 al 80 % en peso. respecto al campo principal, que tiene el 100 % en peso de moléculas receptoras.

Esta unidad de evaluación según la invención permite una evaluación visual fiable a simple vista y aprovecha el hecho de que el ojo no puede determinar la luminosidad absoluta, pero puede reconocer diferencias relativas de luminosidad.

Por tanto, la unidad de evaluación según la invención permite de manera especialmente ventajosa la detección de valores umbral relativos para el respectivo aglutinante/analito en una molécula receptora en una unidad de evaluación.

En otra forma de realización, los campos ópticamente distinguibles están separados espacialmente entre sí en una unidad de evaluación. Esto se puede lograr, por ejemplo, a través de huecos en el soporte o de cualquier otra forma.

También se prefiere que uno o más campos principales estén rodeados por al menos dos campos (de comparación) con una densidad más baja de moléculas receptoras en una unidad de evaluación. Preferentemente, los campos de comparación tienen cada uno una densidad diferente entre sí. Por ejemplo, para dos campos de comparación, se establecen 10 y 90 %, 20 y 80 % o 30 y 70 % de densidad.

En una forma de realización adicional, el campo de comparación puede tener una especie diferente o la misma de moléculas receptoras que el campo principal. Sin embargo, es esencial que al menos un aglutinante en el campo principal y/o campo de comparación se una a una molécula receptora en una unidad de evaluación.

5 Si, por ejemplo, la luminosidad del campo principal permanece sin cambios y la luminosidad del campo de comparación cambia, la prueba es negativa.

10 En el caso de una prueba de alergia o una prueba de intolerancia alimentaria, la molécula receptora puede ser un antígeno, mientras que los campos de comparación tienen, por ejemplo, moléculas receptoras de una especie que se obtienen de otra fuente, en particular del plasma sanguíneo, o son producidas sintéticamente. En particular, estos pueden ser anticuerpos, y en particular inmunoglobulinas como IgE, IgA1, IgA2, IgA3, IgA4, IgG o IgG1-4.

15 Por tanto, una molécula receptora en un campo de comparación puede ser idéntica a un aglutinante que se une a las moléculas receptoras en el campo principal.

En una forma de realización adicional, la invención se refiere por tanto a una en la que al menos un campo de comparación tiene una molécula receptora de una especie que es idéntica a un aglutinante para una molécula receptora en el campo principal.

20 Se prefiere además en esta forma de realización que un medio de detección se una al aglutinante del campo de comparación y al aglutinante idéntico del campo principal, que está presente en el caso de un resultado positivo, y provoque el cambio de luminosidad o color. En particular, el medio de detección puede ser un anticuerpo secundario contra el anticuerpo primario (= aglutinante), en particular contra inmunoglobulinas tales como IgE, IgA1, IgA2, IgA3, IgA4, IgG o IgG1-4. El anticuerpo secundario (= agente de detección) se marca preferentemente con nanopartículas  
25 de oro, puntos cuánticos o partículas fluorescentes, entre las que se prefieren especialmente los colorantes fluorescentes, o con enzimas como la fosfatasa alcalina, que reacciona con un sustrato y, por tanto, provoca un cambio de luminosidad o color. En otra forma de realización, la unidad de evaluación contiene un campo de control, alcanzándose una luminosidad independientemente del líquido de muestra. Aquí, se logra una luminosidad mediante los medios de detección. Este puede ser, por ejemplo, un campo donde la molécula receptora está saturada con un  
30 aglutinante. Por tanto, un campo de control de este tipo puede ser un control positivo o negativo.

Otra forma de realización preferente se refiere a una disposición en la que el campo principal está rodeado por un campo de control y un campo de menor densidad.

35 Una forma de realización de este tipo es, por ejemplo, una disposición de barras, que también se distinguen visualmente entre sí, ya que las barras tienen huecos (recortes) (véanse las figuras).

40 En una forma de realización particularmente preferente, varias unidades de evaluación de acuerdo con la invención con las mismas, pero preferentemente diferentes, moléculas receptoras de una especie se aplican a un soporte, preferentemente en forma de un sistema de coordenadas, formando un sistema de prueba.

Esto permite ventajosamente la determinación simultánea de varias, en particular más de 5 y en particular más de 8, moléculas receptoras de diferentes especies en unidades de evaluación independientes con una muestra de líquido.

45 La unidad de evaluación según la invención se utiliza para diagnosticar alergias e intolerancias alimentarias en animales y seres humanos. Por ejemplo, para determinar alergias, donde los alérgenos representan tales moléculas receptoras y el aglutinante, como las inmunoglobulinas, puede detectarse directamente en la sangre.

50 En otra forma de realización preferente, la unidad de evaluación según la invención es adecuada para un sistema de prueba en el ámbito del punto de atención. Para este propósito, dicho sistema de prueba debe estar disponible en una cámara. También se prefiere que las dimensiones sean de bolsillo y que el sistema de prueba tenga una longitud de hasta 20 cm, una altura de hasta 10 cm y una anchura de hasta 20 cm. Estos tamaños permiten un manejo cómodo y móvil, de modo que se puede realizar una rápida evaluación en el ámbito del punto de atención.

55 En el contexto de esta invención, se entiende por punto de atención:

- realización de pruebas de laboratorio en las proximidades del paciente, fuera de un laboratorio central;
- sin preparación de la muestra, especialmente sin pipeteo, el material de prueba es preferentemente sangre completa;
- reactivos listos para usar, por ejemplo en forma de tanque o casete;
- dispositivos de medición que solo están destinados a la medición de una sola muestra;
- no se requiere capacitación médico-técnica detallada para su uso;

Por lo tanto, la invención se refiere igualmente al uso de la prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria según la invención en el ámbito del punto de atención.

5 Además, la invención se refiere a un procedimiento correspondiente para diagnosticar alergias e intolerancias alimentarias, en el que se aplica una muestra de líquido a al menos dos campos ópticamente distinguibles de una unidad de lectura, siendo al menos un alérgeno moléculas receptoras de una especie,

donde al menos un campo principal tiene moléculas receptoras de una especie,

10 y al menos un campo de comparación adicional tiene una densidad más baja de moléculas receptoras de una especie, estando todas las moléculas receptoras de una especie fijadas en un soporte, los campos se humedecen con el líquido de muestra que contiene un aglutinante, siendo el aglutinante al menos una inmunoglobulina, y se detecta el éxito de la unión con un medio de detección, de modo que la unidad de evaluación genera diferentes luminosidades (por ejemplo, niveles de grises).

Se pueden deducir otras configuraciones según el procedimiento a partir de las formas de realización procedentes.

20 Los términos "a simple vista" o "visual" se utilizan como sinónimos y cada uno significa que el ojo humano puede determinar el cambio de luminosidad provocado en la detección sin más ayudas técnicas, en particular sin la necesidad de un dispositivo de lectura.

El término "campo" se utiliza como sinónimo de "ubicación de detección".

25 El valor de lectura del procedimiento de prueba según la invención puede ser la luminosidad de un punto o un área que cambia tras la detección por medio de medios de detección de tal manera que sea visualmente reconocible. La luminosidad se puede aumentar o disminuir en presencia del analito. También se puede entender que "luminosidad" significa un cambio de color. La "oscuridad" también es el resultado de un cambio de luminosidad.

30 Otros ejemplos de "luminosidad" también incluyen la saturación de color de un reactivo de prueba coloreado, un cambio en el color de un reactivo de prueba, el cambio en el tamaño u otros elementos estructurales planos de un punto o una superficie, el cambio en otra propiedad óptica del material como el brillo, transparencia, granulosidad de una superficie. Se pueden preferir combinaciones de estos cambios. Por lo tanto, los cambios de luminosidad pueden tener lugar de "blanco" a "gris" a "negro" y viceversa. El soporte visible es preferentemente "blanco" o "negro" o está revestido en consecuencia para producir un contraste.

La intensidad de una lectura es su propiedad o propiedades visualmente reconocibles que cambian cuando se realiza la verificación.

40 El aglutinante es preferentemente un analito y puede ser cualquier sustancia o mezcla de sustancias, dado el caso incluyendo disolvente, de cualquier origen, en particular de una planta o un animal, preferentemente un mamífero, y particularmente preferentemente de un ser humano. Según la invención, el aglutinante o analito es un componente de una muestra líquida, purificada o pura, que, sin embargo, procede preferentemente de un fluido corporal y puede pretratarse. Se prefieren los fluidos corporales tales como sangre completa, sangre híbrida, sangre estabilizada con EDTA, suero, saliva, fluido lagrimal, orina o fluido cerebral. En el sentido más amplio, el aglutinante se dirige a las moléculas receptoras.

50 Los campos según la invención están ubicados en un soporte (de detección), en tal proximidad espacial que ambos campos están en el mismo campo de visión para el observador visual. Se prefiere un soporte (de detección) con más de un campo. Se prefieren los soportes (de detección) en los que se pueden suministrar más reactivos de prueba útiles para la detección, por ejemplo, con una pipeta o bomba o con fuerza capilar. Se prefieren particularmente soportes de detección en los que se suministran líquidos en microcanales, el soporte se prepara en una cámara.

55 Los campos se pueden ubicar directamente sobre el sustrato del soporte o sobre un revestimiento. Se prefieren los geles o membranas, en particular membranas de nitrocelulosa, sobre o en las que se encuentran las moléculas receptoras o los reactivos de prueba. Al menos una molécula receptora o reactivo de prueba se fija preferentemente sobre o en la membrana, tal como inmovilizada, manchada o similar. Se puede preferir que haya más de una membrana en el soporte de detección, en particular que cada unidad de evaluación esté ubicada en su propia membrana, o una ubicación de detección y al menos una ubicación de comparación asociada, o varias ubicaciones de detección y comparación en una membrana. Además, puede ser preferente colocar varias unidades de evaluación en una membrana y, por separado de la misma, varias unidades de evaluación en otra membrana.

La intensidad de los valores de lectura cambia en la misma dirección durante la detección, tanto en una ubicación de detección como en las ubicaciones de comparación asignadas.

Se puede preferir que el soporte de detección según la invención contenga estructuras que faciliten la determinación

visual; en particular elementos ópticos como ventanas transparentes o lechosas, lentes, lentes Fresnel, prismas, espejos, divisores de haz, rejillas, hologramas u otros elementos ópticos digitales que permitan ver las ubicaciones directamente. La implementación de la detección según la invención también incluye una posible iluminación artificial que el usuario percibe como ventajosa, y una iluminación que puede ser selectiva en un rango espectral específico.

5 Este rango espectral puede incluir el rango IR o UV, que no son directamente perceptibles visualmente en el lado de la excitación, pero generan un valor de lectura en el rango visible en la detección.

Según la invención, el área de los campos es suficientemente grande para permitir la determinación visual directamente o con la ayuda de los elementos ópticos integrados. Los campos pueden ser redondos, elípticos, ovalados, triangulares, poligonales, cuadrados o rectangulares, en particular en forma de una tira o barra alargada, o completamente irregulares. Puede subdividirse, por ejemplo, en dos franjas, o en forma de anillo con un área invariable dentro de la ubicación.

10

Puede ser ventajoso estructurar una tira con elementos visibles, en particular con tiras que se extienden a lo largo de una ubicación de detección en forma de tira y se perciben como "+" en el caso de detección positiva y como "-" en el caso de detección negativa. También se puede preferir proporcionar a los campos una designación legible, por ejemplo, el nombre de un alérgeno o una designación abreviada, o con un código de barras, código de matriz, código de puntos u otra designación legible por máquina.

15

Además, puede ser preferente aplicar o imprimir al menos un valor de lectura, en particular valores de gris o de color, como un control visual adicional en el soporte, que no están sujetos a ninguna reacción de detección o control y de esta manera permiten que una ubicación de comparación o ubicación de detección sea comparada adicionalmente con valores de referencia que proporcionan valores de comparación para los valores de lectura independientemente de cualquier reacción de detección.

20

El campo de comparación se establece, por ejemplo, por la concentración o cantidad especificada de una molécula receptora o reactivo de prueba, en particular un antígeno o anticuerpo, de tal manera que su luminosidad no sea ni el 100 % de la posible luminosidad o cambio de color en la ubicación de detección ni el 0%. Se prefieren valores entre el 20 % y el 80 %, de manera especialmente preferente entre el 30 % y el 70 %, en cada caso en una escala lineal o logarítmica. Puede ser preferente establecer una ubicación de comparación con un valor del 50 %.

25  
30

La invención proporciona valores de lectura en dichos campos de comparación que, al igual que los valores de lectura en los campos, tienen un cambio mayor o menor con respecto al valor inicial dependiendo de la forma en que se lleve a cabo la verificación. Esta variación de los valores de lectura en la misma dirección es una ventaja, ya que la detección se vuelve tolerante a los cambios en el proceso de verificación. Por ejemplo, si los tiempos de incubación son más largos o más cortos que la verificación estándar, se conserva la posibilidad de comparar la ubicación de detección (el campo principal) y el campo de comparación.

35

Otra ventaja es que se pueden registrar las variaciones de un lote a otro de algunos reactivos de detección. Por ejemplo, en el caso de un anticuerpo que está conjugado con fosfatasa alcalina, puede producirse una variación en su constante de unión aparente, en la actividad enzimática aparente o en la calidad del sustrato enzimático. En todos estos casos, los valores de lectura para las ubicaciones de detección y comparación varían en la misma dirección y permiten la determinación visual a pesar de la variación.

40

En una forma de realización preferente, al menos dos campos de comparación están ubicados en el mismo campo de visión que la ubicación de detección (por encima del campo principal). La detección se establece de manera diferente para al menos dos campos de comparación, de modo que los cambios en la luminosidad o el color de las ubicaciones de control se pueden diferenciar visualmente, por lo que el ojo humano ve el cambio en luminosidad o de color en la ubicación de detección como más fuerte que el campo de control más fuerte, tan fuerte como el campo de control, entre el campo de control fuerte y el campo de control más débil, tan débil como el campo de control más débil, o más débil que el campo de control más débil, hasta "no presente".

45  
50

Se prefiere una disposición en la que la ubicación de detección (campo principal) se encuentra entre dos ubicaciones de control asignadas.

55

Las ubicaciones de control se establecen, por ejemplo, mediante concentraciones o cantidades predeterminadas de un reactivo de prueba, en particular un anticuerpo, de tal manera que su luminosidad no sea ni el 100 % del posible cambio de luminosidad o de color en la ubicación de detección ni el 0 %. En el caso de dos ubicaciones de control, se prefieren valores de aproximadamente el 20 % y el 80 % por pares, de manera particularmente preferente de aproximadamente el 30 % y el 70 % en una escala lineal o logarítmica.

60

En una forma de realización preferente, se usa un ensayo de unión para la detección, entre moléculas receptoras y aglutinantes, tales como péptidos y/o proteínas, en particular una unión entre anticuerpo y antígeno, anticuerpo y anticuerpo, receptor y ligando, o ADN, ARN, PNA, LNA y ADN, RNA, PNA, LNA. La invención incluye la detección en la que diferentes moléculas se unen entre sí, por ejemplo aptámeros a proteínas o PNA a ARN. Puede resultar ventajoso aumentar la detección a partir de varias reacciones de unión, por ejemplo, utilizando anticuerpos primarios

65

y secundarios.

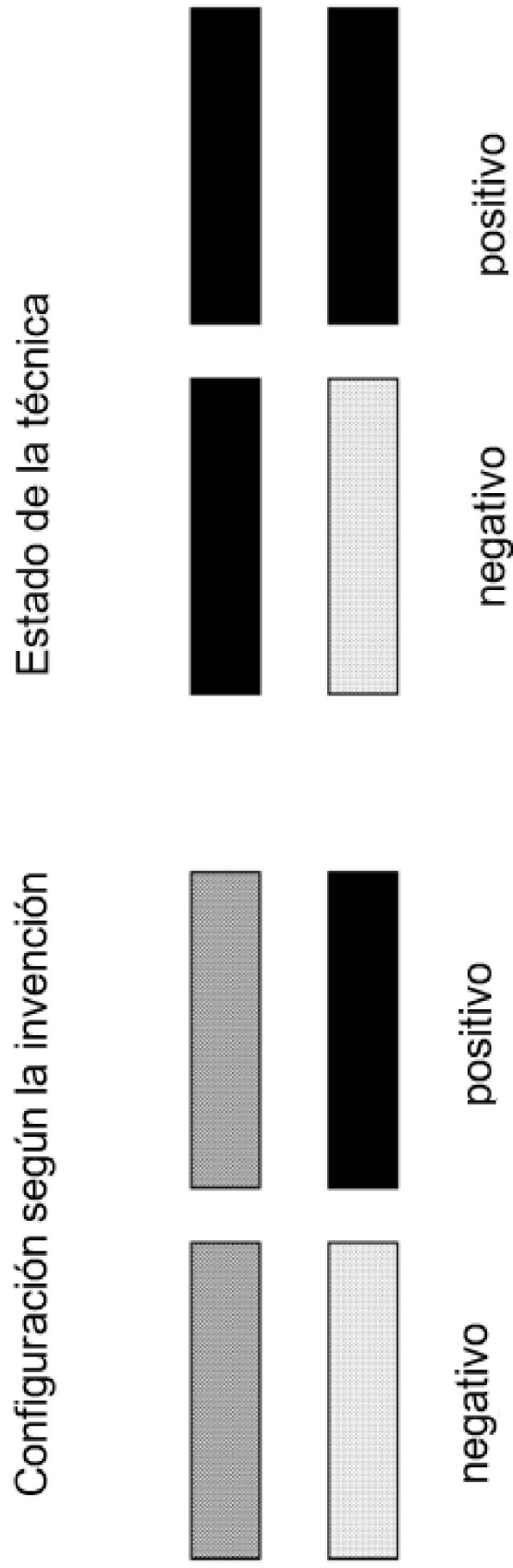
Los medios de detección son todos los medios de detección y sus métodos de reacción de unión.

- 5 En una forma de realización preferente, al menos uno de los reactivos de prueba está marcado de tal manera que se pueda reconocer visualmente en el campo en caso de una detección positiva y en el campo de comparación. Se prefiere particularmente el marcado con nanopartículas de oro, puntos cuánticos o partículas fluorescentes, entre las que se prefieren particularmente los colorantes fluorescentes.
- 10 En una forma de realización preferente adicional, el menos uno de los reactivos de prueba está marcado con una enzima, y al menos otro reactivo de prueba es un sustrato que es convertido por la enzima y, al menos en la ubicación de comparación y, si la detección es positiva, también en la ubicación de detección, se produce un cambio en el que se puede ver a simple vista la intensidad de la lectura. Esta forma de realización de una detección es particularmente preferente si está estructurada de manera análoga a una detección Elisa. A este respecto una molécula, por ejemplo
- 15 un antígeno o un antígeno de intolerancia alimentaria, se fija en el soporte de detección al que se une un anticuerpo de la muestra. Un anticuerpo del reactivo de prueba, que está marcado con una enzima, por ejemplo fosfatasa alcalina, se une a esta muestra de anticuerpo. En una etapa adicional, se suministra un sustrato que es convertido por la enzima y, por lo tanto, conduce a un cambio en la intensidad de la lectura. Puede ser preferente presentar el sustrato marcado, por ejemplo, con un tinte fluorescente que tenga una fluorescencia más intensa o menos intensa debido a
- 20 una interacción modificada cuando parte del sustrato se separa, o con dos tintes fluorescentes que se desactivan entre sí y se aíslan y se vuelven más intensamente fluorescente cuando el sustrato se separa, o dos tintes fluorescentes, entre los cuales tiene lugar una transferencia de energía, y que aparecen con un desplazamiento de Stokes aparentemente más bajo cuando se escinde el sustrato.
- 25 En una forma de realización preferente, al menos un antígeno se fija en el campo al que se une un anticuerpo de la muestra, al que a su vez se une un anticuerpo marcado, y los anticuerpos que no se originan en la muestra se fijan en una ubicación de comparación, uniéndose el anticuerpo marcado a este anticuerpo.

## REIVINDICACIONES

1. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba, que consta de al menos dos campos ópticamente distinguibles, caracterizada por que al menos un primer campo principal tiene moléculas receptoras de una especie, siendo al menos un alérgeno molécula receptora de una especie, y presentando al menos un campo de comparación adicional una densidad más baja de moléculas receptoras de una especie, todas las moléculas receptoras de una especie están fijadas en un soporte, los campos para una muestra de líquido que contiene un aglutinante son humectables, el aglutinante es en al menos una inmunoglobulina, y el éxito de la unión se detecta con un medio de detección, de modo que la unidad de evaluación genera diferentes luminosidades.
2. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual del resultado de una prueba de acuerdo con la reivindicación 1, donde los campos con moléculas receptoras de menor densidad presentan de 10 a 90 % en peso. en particular del 20 al 80 % en peso de moléculas receptoras para el primer campo.
3. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, teniendo cada campo adicional una densidad diferente de moléculas receptoras.
4. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, donde las moléculas receptoras en los campos son iguales o diferentes.
5. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para la evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, donde al menos un campo de comparación tiene una molécula receptora de una especie idéntica a un aglutinante para una molécula receptora en el campo principal.
6. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que los campos ópticamente distinguibles están separados espacialmente entre sí, en particular los campos pueden ser redondos, elípticos, ovalados, triangulares, poligonales, cuadrados o rectangulares, especialmente en forma de tira o barra alargada.
7. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para la evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria contiene al menos un alérgeno como moléculas receptoras en un primer campo y el aglutinante es al menos una inmunoglobulina, presentando otro campo una inmunoglobulina.
8. Unidad de evaluación de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria para una evaluación visual de un resultado de prueba de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la muestra de fluido es un fluido corporal tal como sangre entera, sangre híbrida, sangre estabilizada con EDTA, suero, saliva, líquido lagrimal, orina o líquido cerebral.
9. Pruebas de alergia o pruebas de intolerancia alimentaria que contienen una o más unidades de evaluación de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, preferentemente en forma de sistema de coordenadas.
10. Procedimiento para diagnosticar alergias e intolerancias alimentarias, en el que se aplica una muestra de líquido a al menos dos campos ópticamente distinguibles de una unidad de lectura, teniendo al menos un campo principal moléculas receptoras de una especie, siendo al menos un alérgeno moléculas receptoras de una especie, y al menos un campo de comparación adicional que tiene una densidad más baja de moléculas receptoras de una especie, todas las moléculas receptoras de una especie están fijadas en un soporte, los campos se humedecen con el líquido de muestra que contiene un aglutinante, siendo el aglutinante al menos una inmunoglobulina, y detectándose el éxito de la unión con un medio de detección, de modo que la unidad de evaluación genere diferentes luminosidades.
11. Utilización de una prueba de alergia o prueba de intolerancia alimentaria con una unidad de lectura de acuerdo con la reivindicación 1 en el ámbito del punto de atención.

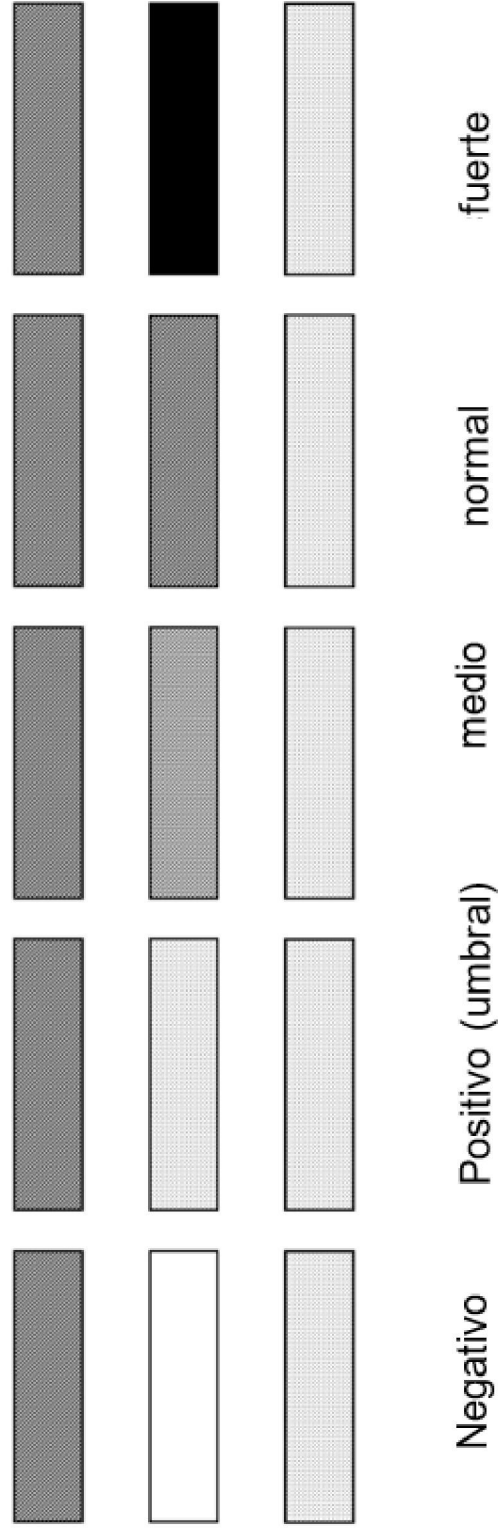
Figura 1



Configuración mínima: 1 campo de comparación (arriba), campo principal (abajo)

Figura 2

Ejecución según la invención



Configuración preferente: 2 campos de comparación (arriba y abajo), campo principal (medio)