

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 478 891**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/02 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2010 E 10733754 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.06.2014 EP 2382469**

54 Título: **Pruebas de sensibilidad a los alimentos en perros y gatos**

30 Prioridad:

20.08.2009 US 545041

13.05.2009 US 465603

26.01.2009 US 147443 P

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

23.07.2014

73 Titular/es:

DODDS, W. JEAN (100.0%)

938 Stanford Street

Santa Monica, CA 90403, US

72 Inventor/es:

DODDS, W. JEAN

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 478 891 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

Pruebas de sensibilidad a los alimentos en perros y gatos

5 ANTECEDENTES

La descripción se refiere a las pruebas de sensibilidad a los alimentos en animales de compañía. Esta descripción también se refiere a un diagnóstico de nutrición animal.

10 Más específicamente, la descripción se refiere al diagnóstico y cuidado de la nutrición animal, el bienestar animal y la nutrición, y los métodos y sistemas para mejorar la determinación de estos factores.

15 Un problema de salud común identificado en las encuestas de salud de varios clubes de perros de raza pura es la sensibilidad o intolerancia alimentaria. Aparte de que los ensayos de alimentación consumen mucho tiempo, los cuales eliminan los posibles ingredientes alérgicos cada varias semanas, las pruebas de este trastorno usan pruebas de parche par ala piel costosos y antiestéticos o el tamizaje sérico de la alergia que carecen de especificidad.

20 La sensibilidad tardía a los alimentos en las personas es muy común y se pueden manifestar por problemas gastrointestinales, neurológicos, pulmonares, dermatológicos, en oídos, nariz y garganta, musculoesquelético, genitourinario, cardiovasculares y endocrinos. Problemas clínicos similares se manifiestan en animales con sensibilidad a los alimentos.

25 Los sistemas de pruebas de diagnóstico disponibles para los seres humanos se basan normalmente en las pruebas de inmunoglobulina E (IgE) o inmunoglobulina A (IgA) o una combinación de anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG) o la prueba del complejo inmune mediada por el complemento.

30 Las nuevas metodologías de prueba para los seres humanos se ejecutan en suero, heces o saliva y normalmente usan ELISA u otras plataformas de inmunoensayo tales como flujo lateral, o aglutinación de látex o glóbulos, y la identificación de IgG o IgA o reacciones de complejos inmunes a los ingredientes alimentarios que están mediadas por el complemento, así como anticuerpos de IgA o inmunoglobulina M (IgM) a los ingredientes de los alimentos que se elaboran en la saliva.

35 La investigación ha demostrado que la clave para las pruebas de sensibilidad retardada a los alimentos o latente o preclínica en seres humanos es la identificación de anticuerpos IgG o IgA infractores y complejos inmunes en el suero o las heces, y los anticuerpos IgG o IgA infractores en la saliva. De hecho, los anticuerpos para ingredientes alimentarios pueden aparecer en la saliva antes de que se realice el diagnóstico clínico o biopsia gastrointestinal de la enfermedad inflamatoria intestinal o "síndrome de intestino permeable" en pacientes humanos. La prueba de saliva puede revelar así la forma latente o pre-clínica de la sensibilidad a los alimentos. Una elaboración similar de anticuerpos IgA o IgM en la saliva, pero no el suero pertenece a los animales con enfermedad gastrointestinal latente o preclínica.

40 Las sensibilidades retardadas en humanos por lo general se revelan tan pronto como 2 horas o hasta 72 horas después de comer, lo cual es la razón por la que puede ser difícil asociar los síntomas con un alimento o alimentos ingeridos hasta varios días antes. Hay una correlación muy alta entre la sensibilidad alimentaria retardada y la cantidad y la frecuencia de los alimentos consumidos.

45 En las pruebas de suero humano, las reacciones de sensibilidad alimentaria en el intestino conducen al aumento de los niveles sanguíneos de IgA o IgG dirigidos a estos ingredientes alimentarios. Del mismo modo, los complejos inmunes que se forman a partir de reacciones de alimentos en la sangre se adhieren a las células rojas de la sangre y estas células de sangre alteradas se borran a continuación, por el sistema reticuloendotelial del cuerpo en el hígado y el bazo. 50 Los individuos que tienen más complejo inmune en sus células rojas de la sangre son los que padecen de sensibilidad a los alimentos crónica.

55 En la prueba de saliva, la deposición de antígenos de los alimentos o péptidos en el intestino se ha documentado en los seres humanos para dar lugar a la producción de anticuerpos IgA o IgM en el suero y en las secreciones tales como saliva. En algunas situaciones, los anticuerpos IgA o IgM a ingredientes alimentarios aparecen en la saliva pero no están presentes en el suero. Así, en los seres humanos los anticuerpos salivales sirven como una indicación de una respuesta inmune de la mucosa general y pueden ser inducidos en personas y animales sin que se detecte anticuerpos paralelos en el suero.

60 Hay una necesidad de proporcionar una selección y ensayo práctico y rápido para la sensibilidad a los alimentos y la intolerancia para permitir la mejora de la salud de los animales. Los estudios han indicado que la ingesta de nutrientes especializados amplía y mejora la vida, retrasa la aparición y retrasa la progresión de la enfermedad y mejora la calidad de vida de los animales de compañía.

65 El cambio de las proporciones de macronutrientes y micronutrientes en diferentes productos nutricionales y alimentarios

es importante para obtener el equilibrio adecuado. Hasta la fecha, la utilidad de tales características y componentes se ha limitado o no lo más útil posible.

5 Actualmente, los ensayos dietéticos de eliminación del consumo de tiempo se realizan donde se elimina uno de los ingredientes a la vez y la dieta restante se alimenta durante seis a ocho semanas para determinar si los síntomas de intolerancia a los alimentos o la sensibilidad a los alimentos del paciente animal desaparecen. Alternativamente, se puede hacer la selección arbitraria de una preparación alimenticia que contiene una fuente de antígeno específicamente restringida, limitada, o se emplean ingredientes nuevos, es decir, no alimentados previamente. Ambas técnicas son métodos imprecisos o indirectos de abordar el problema. La IgA en la saliva en los perros puede ser un indicador no fiable de la concentración de IgA intestinal (ver Flickinger y otros, J Nutr 134:2130S-2132S, 2004). Además, las mediciones de IgA en suero puede no ser usada para evaluar la IgA secretora en la superficie de la mucosa (ver Rinkinen y otros Microbiol Immunol 47:155-159, 2003). Estudios anteriores de German y otros, Vet Immunol. 64:107-121, 1998, encontraron que las concentraciones de inmunoglobulina en suero fueron indicadores muy pobres de la secreción de la mucosa en perros. Esto confirma los estudios anteriores de otros tales como Heddle and Rowley, Immunol 29:185-195, 1975.

20 Se conoce que la IgA es la inmunoglobulina predominante de las superficies de la mucosa. En humanos, el suero IgA (S-IgA) se divide en dos subclases IgA 1 e IgA 2, pero no se han identificado subclases similares en perros (Rinkinen y otros Microbiol Immunol 47:155-159, 2003). Además, la cantidad de S-IgA en humanos saludables es es muchas veces mayor que la de los perros (150-400 mg/100 ml vs 20-150 mg/100 ml, respectivamente), ver Tizard, Vet Immunol, 4ta Ed, Saunders, Filadelfia, 1992, p. 115.

25 La otra área de marcadas diferencias entre la IgA de los seres humanos, perros y otros mamíferos es la cantidad de IgA secretada en la bilis. Por ejemplo, la rata y el conejo secretan aproximadamente 9-45 veces más IgA en la bilis que los seres humanos, y en ratas, esencialmente toda la bilis de IgA viene a partir del suero (ver Delacroix y otros J Clin Invest 70:230-241, 1982, p. 239). En humanos, las concentraciones de IgA en la bilis son aproximadamente un quinto de la del suero, mientras que las concentraciones en saliva son 3,5 veces la de la bilis y 78% de esa en suero (ver Delacroix y otros, J Clin Invest 70:230-241, 1982, p. 233). En los perros, rumiantes y cerdos, por el contrario, de 5% de suero de IgA entra en la bilis (ver Tizard, Vet Immunol, 4ta Ed, Saunders, Filadelfia, 1992, p. 242). Por lo tanto, en comparación con la rata y el conejo, la IgA en la bilis humana, y más aún en la bilis canina, juega un papel mucho menos importante en la limpieza de la IgA circulante y en la contribución de S-IgA en las secreciones intestinales.

35 El documento US 6,858,398 B2 describe un método para determinar la presencia de alergia a los alimentos o intolerancia a los alimentos y sus antígenos tisulares de reacción cruzada. El método incluye la determinación de un nivel de anticuerpos contra un antígeno de la dieta en una muestra de la mucosa del paciente y comparar el nivel con los niveles normales de los anticuerpos. Los antígenos de la dieta que se probaron incluyen la leche y los productos lácteos; huevos y ovoproductos; carne y productos cárnicos; peces, moluscos y crustáceos y sus productos; aceites, grasas y sus productos; cereales y productos de cereales; legumbres, semillas, granos, nueces y sus productos; productos vegetales y hortalizas; productos de frutas y frutas; azúcar, producto de azúcar, productos de chocolate y confitería; y especias.

La presente descripción proporciona la selección o prueba de perros y gatos para la sensibilidad o intolerancia con respecto a las composiciones de la dieta, y las pruebas y evaluación debe ser ventajosa y útil comercialmente

45 RESUMEN

Se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para la detección o prueba de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en perros y gatos.

50 Particularmente hay un sistema para proporcionar pruebas en etapas a partir de un primer protocolo de prueba, donde la saliva u otro fluido de la mucosa es la base de la prueba, seguido por un protocolo de ensayo basado en suero.

55 En primer lugar se recoge la saliva u otra muestra de fluido corporal que no sea suero. El tamizaje de la saliva u otra muestra de fluido corporal que no sea suero detecta la presencia de al menos uno de los anticuerpos IgA o IgM para un ingrediente o composición alimenticia determinada. Se diagnostica una sensibilidad alimentaria inmunológica o la intolerancia basada en la presencia del anticuerpo. En segundo lugar se toma una muestra de sangre y el suero de la muestra se tamiza para detectar la presencia cuantitativa de al menos uno de un anticuerpo IgA o IgM o de complejos inmunes a un ingrediente determinado del alimento o composición. Se diagnostica sensibilidad alimentaria inmunológica o la intolerancia basada en la presencia del anticuerpo.

60 Las inmunoglobulinas en los animales de compañía son diferentes de los de los humanos en ciertos aspectos estructurales y funcionales en la sangre, fluidos y tejidos del cuerpo. Específicamente, los gatos tienen significativamente más IgA en la saliva y el suero que los perros o los seres humanos, aunque los perros también tienen menos IgA en suero que los humanos. Los niveles de IgA e IgM se correlacionan en la saliva de perro y lágrimas, pero hay datos contradictorios con respecto a la correlación entre el suero y los niveles de IgA secretados en los perros.

Además, los gatos con enfermedades orales tales como la gingivitis o estomatitis han aumentado los niveles salivales de IgG e IgM, pero menos IgA salival, mientras que los niveles en suero de las tres de las inmunoglobulinas se incrementan de manera uniforme. Los niveles de inmunoglobulinas salivales en los gatos se mantienen relativamente constantes, mientras que los de los perros varían de día a día y puede haber variación diurna con niveles más altos en la tarde.

Del mismo modo, la saliva y los niveles de IgM en suero de los perros y los gatos son más altos en cantidades que la de los de los humanos.

La saliva puede usarse como una herramienta de diagnóstico para evaluar el estado de salud o enfermedad de un animal. La saliva se recoge fácilmente, almacenada y transportada, y proporciona un medio no invasivo de toma de muestras múltiple o en serie para su uso como una herramienta de diagnóstico para una variedad de condiciones en animales.

La medición de anticuerpos seleccionado en sangre (suero) y saliva se compara en los animales sanos y en aquellos animales que se sabe que tienen o se sospecha que tienen sensibilidades o intolerancias alimentarias. La fiabilidad de las pruebas de saliva depende de conocer la correlación o diferencias entre las concentraciones o actividad de componentes de una sustancia en particular en saliva y en sangre. La transferencia de sustancias desde la sangre a la saliva o viceversa depende de sus propiedades fisicoquímicas. Las Tasas de transferencia más rápidas de las moléculas se asocian con un bajo peso molecular y gran solubilidad en lípidos.

Existe una buena correlación entre la relación en saliva/sangre de sustancias y pH salival. Se ha demostrado que la tasa de flujo salival y cualquier fisiopatología existente de la cavidad oral afecta la distribución salival de sustancias. El contenido de antígenos y anticuerpos en la saliva refleja el estado nutricional y metabólico del cuerpo, así como el estado metabólico, hormonal, bioquímico, fisiológico, inmunológico o incluso emocional, del animal individual.

Se desarrollan pruebas de sensibilidad alimentaria para los alérgenos y péptidos causantes comunes en perros o gatos. La sensibilidad y la prueba es para los granos comúnmente asociados con la enfermedad inflamatoria intestinal ("síndrome de intestino permeable, disbiosis intestinal) o y otros síntomas de las reacciones alimentarias adversas - tales como, pero no limitados a trigo y otros gluten, maíz y soja Estos tres tipos de granos se encuentran entre los principales componentes (5 ingredientes principales) que componen el grueso de la croqueta estándar comercial pre-procesada y pre-compuesta para alimentar a la mayoría de los perros o los gatos. Otro alérgeno común en alimentos para mascotas o composiciones alimenticias para animales es la carne de res, y las pruebas y selección se dirigen además a, pero no se limitan a otras carnes, pescados, lácteos, huevos, otros granos, productos botánicos, aceites de semillas o pescado, productos botánicos, verduras o frutas.

La descripción usa una prueba específica de la especie para los animales de compañía tales como perros o gatos, y otras especies de animales, y los métodos adecuados.

Esta descripción se refiere al sistema de pruebas de diagnóstico para la selección o prueba de la sensibilidad o intolerancia a los constituyentes o composiciones de los alimento de las mascotas para un animal doméstico, particularmente para un perro o gato.

En particular, la descripción se refiere a un sistema de ensayos de diagnóstico para la detección o ensayo para la sensibilidad o la intolerancia a un alimento completo o suplementos alimenticios en una forma seca, forma semi-seca, en polvo, o una forma húmeda integrada con compuestos funcionales o nutracéuticos a partir de plantas u otros orígenes.

La descripción se refiere a un sistema de ensayos de diagnóstico para la detección o ensayos de sensibilidad o intolerancia a diferentes productos botánicos u otros micronutrientes. La actividad y la eficacia de los ingredientes botánicos u otros micronutrientes dependen del individuo y de la constitución genética del individuo.

Los objetivos adicionales y otros, las características y ventajas de la presente descripción serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Existe una necesidad de facilitar la elección de un alimento para mascotas para adaptarse a los animales seleccionados para que haya compatibilidad entre la composición alimentaria integrada pre-preparada y equilibrada o de la mezcla de ingredientes micro- y macro- y las particularidades fisiológicas, metabólicas, bioquímicas o genéticas de la mascota o animal de compañía. La mayoría de los animales de compañía son alimentados con ingredientes comercialmente mezcladas previamente, pre-compuestos, o ingredientes micro- y macro- constituidos de tal manera que hay un solo alimento integrado con tales ingredientes pre-mezclados y pre-integrados. Es generalmente indicado que esto es el alimento base fundamental o dieta para el animal de compañía. Por lo tanto, normalmente este tipo de animales de

compañía reciben como su denominada dieta regular sana y nutritiva una o más mezclas regulares pre-empaquetadas de ingredientes en los alimentos preparados comercialmente.

5 Esto es en gran medida diferente a las dietas humanas las cuales no son generalmente objeto de acondicionamiento previo como un solo alimento completo con los macro-y micro-ingredientes necesarios para una dieta completa y saludable. En cambio, la dieta humana típicamente se forma con variedad y se selecciona a partir de múltiples ingredientes los cuales se ensamblan por elección o propósito, y específicamente preparados y cocinados de manera personalizada de acuerdo a la elección individual y la preferencia de un ser humano, y específicamente para diferentes comidas o combinaciones de comidas.

10 El ingrediente de alimentos o ingredientes para los cuales se realiza el método de la descripción está contenido en una composición que es al menos uno de una composición alimenticia pre-procesada, dieta equilibrada o composición de una receta. Las pruebas se realizan para identificar cuales ingredientes a partir de tales alimentos pre-empaquetados y pre-mezclados para animales de compañía crean sensibilidad o intolerancia. Estos pueden ser alimentos húmedos o semi-húmedos, croquetas secas o productos de cereal extrudido. La mayoría de los animales de compañía o mascotas en los países desarrollados son alimentados mediante estas mezclas pre-preparadas de alimentos para mascotas de manera general comercialmente disponibles en estanterías. Siempre surgen sensibilidades o intolerancias a estos alimentos, pero no existe una manera simple de determinar cual ingrediente(s) en tales alimentos causa la sensibilidad o intolerancia.

20 La presente descripción permite la integración en una sola etapa de varios pasos para pruebas de múltiples antígenos a continuación de la ingestión por el animal de compañía o mascota de productos alimenticios con múltiples ingredientes. La prueba del fluido corporal en una sola etapa, pruebas para múltiples antígenos en el producto alimenticio.

25 En una forma de la descripción, el animal de compañía se prueba dándole tales alimentos que son una pre-mezcla preparada previamente e integrada de ingredientes que contiene múltiples macro- y micro-ingredientes para el animal. A continuación, el animal se somete a al menos una de las pruebas y procedimientos de diagnóstico. De esta manera es posible determinar cuál de los ingredientes en la composición alimenticia pre-procesada, dieta balanceada o receta, induce la posible sensibilidad o asunto de intolerancia. Se realiza una evaluación en cuanto a si las diferentes composiciones de alimentos pre-procesados o envasados previamente, dietas equilibradas o recetas están disponibles para ofrecer alimentos compatibles más adecuados. En algunos casos puede ser necesario determinar si una dieta especial necesita ser formulada sin el ingrediente o ingredientes objetables.

35 La sensibilidad o intolerancia alimentaria tiene una base inmunológica. No es posible distinguir un alimento el cual provoca una respuesta inmunológica de la enfermedad intestinal relacionada o trastorno que refleja la reacción del cuerpo al ingrediente o ingredientes del alimento. La descripción propuesta se relaciona principalmente con la detección de sensibilidad inmunológica a los alimentos o intolerancias en animales.

40 Un ejemplo principal de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos es la sensibilidad al trigo u otros alimentos con gluten, por ejemplo, cebada, arroz, mijo y avena. En la raza Setter Irlandés, por ejemplo, la enteropatía sensible al trigo es una condición hereditaria. Las reacciones inmunológicas a alimentos con gluten provocan la atrofia de las vellosidades intestinales y la inflamación del intestino delgado, que, a su vez, da lugar a diarrea y pérdida de peso a partir de la mala absorción de líquidos, electrolitos, y nutrientes de la dieta. A pesar de que la diarrea crónica o intermitente y vómitos intermitentes son los síntomas más comunes de esta sensibilidad a los alimentos, se han realizado pocos estudios sobre la prevalencia de esta enfermedad en los animales que se presentan a los veterinarios con diarrea crónica o vómitos u otros síntomas gastrointestinales comunes. Por otra parte, más allá de las costosas mediciones de anticuerpos en suero mediadas por IgE, no hay métodos adecuados en la medicina veterinaria para diagnosticar o una forma no invasiva de prueba de sensibilidad inmunológica o intolerancia a los alimentos. Esto con frecuencia resulta tanto en una ausencia de diagnóstico o un diagnóstico errado de una sensibilidad a los alimentos o intolerancia.

50 A pesar de esta situación, muchos animales con sensibilidad o intolerancia al gluten u otra intolerancia alimentaria no tienen diarrea o pérdida de peso, sino que tienen otros signos y síntomas como dolor abdominal vago, náuseas, distensión abdominal, flatulencia, fatiga crónica, estreñimiento, falta de crecimiento y madurez, la anemia por deficiencia de hierro, osteoporosis, convulsiones u otros trastornos neurológicos, o incluso niveles elevados de enzimas hepáticas en suero. Algunos animales pueden ser asintomáticos.

60 Por otra parte, los animales con sensibilidad al gluten u otra intolerancia alimentaria pueden no haber desarrollado plenamente las lesiones intestinales. Por lo tanto, la sensibilidad o intolerancia a los alimentos de estos animales no pueden ser diagnosticadas correctamente usando métodos de ensayo conocidos, tales como la biopsia intestinal endoscópica y pruebas de sangre o suero. Además, estos animales pueden presentarse con otras enfermedades inmunológicas tales como las enfermedades autoinmunes de la piel, el hígado, las articulaciones, los riñones, el páncreas y la glándula tiroides, o colitis microscópica.

65 Una forma de la descripción se refiere a un método para el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos

- 5 en un animal de compañía que comprende las etapas de recoger en primer lugar una muestra de saliva; tamizar la muestra de saliva o gota de sangre para detectar la presencia cualitativa o semi-cuantitativa o cuantitativa de al menos uno de un anticuerpo de IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición. El diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basada en la presencia del anticuerpo se efectúa después.
- 5 Una segunda forma de la descripción consiste en recoger una muestra de sangre; y preparar el suero a partir de la muestra; tamizar la muestra de suero para detectar la presencia cualitativa o semi-cuantitativa o cuantitativa de al menos uno de anticuerpos IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición. Después se efectúa el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia alimentaria basada en la presencia del anticuerpo.
- 10 En algunos casos, la primera y segunda etapas se dividen de forma selectiva en dos etapas, la primera etapa es un paso cualitativo para determinar la sensibilidad a los alimentos, seguido de una etapa semi-cuantitativa o cuantitativa.
- 15 Esta descripción se basa en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), o de otras plataformas de inmunoensayo tales como, pero no limitado al flujo lateral, o látex o gota de aglutinación, que mide la presencia de al menos uno de los anticuerpos IgA o IgM contra una amplia variedad de alimentos o suplementos alimenticios o aditivos alimentarios en el suero de un animal, así como al menos uno de los anticuerpos IgA o IgM en saliva o gota de sangre u otra materia corporal de los animales.
- 20 La actual descripción mide al menos uno de, y preferentemente más de uno de los anticuerpos IgA o IgM en suero que pueden ser mediados por complemento. Además, se mide al menos uno de, y preferentemente más de uno de IgA o IgM en gota de sangre o saliva u otros fluidos corporales.
- 25 La cantidad de estos anticuerpos en el suero y la saliva o gota de sangre u otra materia corporal de los animales individuales sanos se compara con las cantidades de estos en el suero y la saliva o gota de sangre u otra materia corporal de los animales con clínicamente expresada o con sospecha pre-clínica de sensibilidad latente o intolerancia al alimento.
- 30 Un método asociado con la descripción es para el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos en animales de compañía el cual comprende las etapas de: recoger una muestra de sangre; preparar el suero a partir de la muestra; tamizar la muestra de suero para detectar la presencia de al menos uno de, y preferentemente más de uno de un anticuerpo IgA a un ingrediente determinado del alimento o composición. A partir de entonces hay un diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basada en la presencia del anticuerpo. Otro método asociado con la descripción es para el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos en animales de compañía que comprende las etapas de: recoger la saliva o una muestra de gota de sangre; tamizar la muestra de saliva o gota de sangre para detectar la presencia de al menos uno de, y preferentemente más de uno de un anticuerpo IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición. A partir de entonces hay un diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basada en la presencia del anticuerpo.
- 35 El método para el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos en un animal de compañía puede comprender las etapas de obtener una muestra de un suero, fluido biológico no seroso, selectivamente saliva o gota de sangre u otros fluidos corporales o materia no serosa. La muestra se tamiza para detectar la presencia de al menos uno de un anticuerpo de IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición. Se diagnostica una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basándose en la presencia del anticuerpo.
- 40 Cuando la muestra es la saliva o gotas de sangre u otros fluidos corporales o materia, una porción de prueba de la saliva o la gota de sangre u otros fluidos o materia corporal se recoge y la parte de la prueba es la muestra en la etapa de tamizaje. La muestra es aproximadamente de 1-5 mililitros o aproximadamente unos 1-15 gramos.
- 45 La etapa de tamizaje utiliza un inmunoensayo, selectivamente un sistema de ensayo con un inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para detectar la presencia de un anticuerpo a un ingrediente determinado del alimento o composición de ingredientes alimentarios.
- 50 Otro método asociado con la descripción es para el diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos en animales de compañía que comprende las etapas de recoger una muestra de saliva o gota de sangre; tamizar la muestra de saliva o gota de sangre para detectar la presencia de al menos uno de, y preferentemente más de uno de un anticuerpo de IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición.
- 55 A partir de entonces hay un diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basada en la presencia del anticuerpo, y la recogida de una muestra de sangre; la preparación del suero a partir de la muestra; el tamizaje de la muestra de suero para detectar la presencia de al menos uno de, y preferentemente más de un anticuerpo de IgA o IgM a un ingrediente determinado del alimento o composición.
- 60 A partir de entonces hay un diagnóstico de una sensibilidad o intolerancia a los alimentos basada en la presencia del anticuerpo.
- 65

La sensibilidad a los alimentos es al menos una sensibilidad o intolerancia al gluten o trigo, sensibilidad o intolerancia maíz o soja, a las proteínas de la carne de res u otra carne o de pescado o sensibilidad o intolerancia a productos lácteos, huevos, otros cereales, productos botánicos, aceites de semillas o de pescado, verduras, o frutas.

5

El ingrediente de los alimentos para los que se prueba la sensibilidad o intolerancia está contenido en al menos un ingrediente alimentario mixto que tiene múltiples ingredientes en cantidades que varían desde una composición alimenticia premezclada, dieta equilibrada o receta.

10

El animal de compañía se pone a prueba al darle un alimento muy mezclado. El animal se prueba y se hace un diagnóstico de sensibilidad o intolerancia mediante la determinación de la reacción del animal a diferentes alimentos e ingredientes específicos seleccionados. De esta manera es posible determinar si existe y si es así cual ingrediente en la composición alimentaria procesada previamente, dieta equilibrada o receta es un problema potencial o real de sensibilidad o intolerancia para un animal específico de prueba. se realiza una evaluación en cuanto a si se puede utilizar una composición alimentaria mixta procesada previamente diferente, dieta equilibrada o una receta, o si una dieta especial necesita ser formulada sin el ingrediente o ingredientes objetables.

15

La metodología de ensayo de la presente descripción difiere significativamente de todas las otras disponibles para su uso en animales. Es altamente reproducible y clínicamente relevante. En el suero, el antígeno del alimentos o el péptido que se está probando y al menos uno de, y preferentemente más de uno de cualquier anticuerpo específico IgA en el suero, se unen el uno al otro y luego se fija el complemento. En la saliva o gota de sangre u otro fluido corporal, el antígeno del alimento o el péptido que se está probando reacciona directamente con el anticuerpo IgA o IgM en la prueba de saliva o gota de sangre u otro fluido corporal. Los antígenos comunes de los alimentos de los animales (tales como trigo u otros glútenes, maíz y soja, carne de res u otras carnes, pescado u otros alimentos y productos botánicos) están unidos a los pocillos en una placa de microtitulación de ELISA estándar de 96 pocillos de modo que no son reactivos hasta que se añade el suero de un animal o la saliva u otro fluido corporal. La unión específica del anticuerpo IgA en el suero o anticuerpo IgA o IgM en la saliva o gota de sangre u otro fluido corporal a ingredientes alimentarios específicos se identificaron mediante la búsqueda de un aumento de los niveles de uno o más de estos anticuerpos en la prueba, en los individuos no saludables o sospechosos en comparación con los animales de control sanos.

20

25

30

En otra modalidad, la saliva o gota de sangre u otro fluido corporal de pruebas utiliza un sistema kit de prueba cuantitativa o semi-cuantitativa de punto-de-servicio (P-O-S), en el cual el propietario del animal o veterinario u otro probador designado recoge la saliva u otro fluido corporal de los animales sanos o pacientes individuales, animales no saludables o sospechosos. Los hisopos de muestreo biológico necesarios o las pajillas se proporcionan en el kit de prueba de punto de servicio; la saliva recogida u otro líquido corporal se añaden a la cámara del kit de prueba, y la cámara se sella y se somete a la prueba de laboratorio para el análisis cuantitativo. Esta es una prueba de única etapa para múltiples antígenos.

35

40

En otra modalidad, la saliva u otro fluido corporal de pruebas utiliza un sistema cuantitativo de kit de prueba de punto de servicio (P-O-S), en el cual se proporcionan los necesarios hisopos de muestreo biológico de fluidos corporales, salivales, papel absorbente o pajillas. La saliva recogida u otro líquido corporal se añade a un pozo especial en la cámara de kit de prueba, que después se deja reaccionar por atracción capilar con una serie de microcanales que contienen varios antígenos de los alimentos o péptidos de interés dentro del dispositivo de flujo lateral de la cámara. Una vez que se completó la reacción, la cámara se sella y se somete al laboratorio de análisis para el análisis semicuantitativo o cuantitativo. Esta es una prueba de única etapa para múltiples antígenos.

45

En una modalidad adicional, la saliva o la gota de sangre u otras pruebas de fluido corporal utiliza un sistema cuantitativo o semi-cuantitativo de kit de prueba de punto de servicio (P-O-S), en el cual se proporcionan los necesarios hisopos de muestreo biológico de fluidos corporales, salivales, papel absorbente o pajillas. La saliva recogida o gota de sangre u otro fluido corporal se añade a un pozo especial en la cámara de kit de prueba o sumergen en una tira de ensayo, la cual después se deja reaccionar por atracción capilar a través de una tira de reactivo que contiene diversos antígenos de alimentos o péptidos de interés dentro de la tira, al igual que la tecnología existente de tiras de inmersión en orina, utilizados rutinariamente en la medicina humana y veterinaria. Una vez que se completa la reacción, las reacciones cualitativas se leen en una escala de color de clasificación proporcionada con el kit. Estas reacciones pueden variar desde negativo o poca o ninguna reacción de color hasta un desarrollo de color intenso altamente reactivo. Esta es una prueba de única etapa para múltiples antígenos.

50

55

Las reacciones cualitativas positivas observadas con el kit de prueba de P-O-S puede ayudar a identificar los principales antígenos reactivos o péptidos en alimentos en la saliva o gotas de sangre u otro fluido corporal de los animales, pero debe ser confirmada por una o más pruebas cuantitativas o semi cuantitativas de suero o saliva o gota de sangre u otros fluidos corporales descritas en esta descripción. Esta es una prueba de única etapa para múltiples antígenos.

60

Para el ensayo semi-cuantitativo o cuantitativo, el suero animal o gota de sangre o saliva u otro fluido corporal se añade a la placa de microtitulación de ELISA o de otras plataformas de inmunoensayo tales como, pero no limitadas al flujo lateral, o látex o gota de aglutinación, que mide la presencia de IgA o IgM contra una amplia variedad de alimentos o

65

5 suplementos alimenticios o aditivos alimentarios en el suero de un animal, así como en saliva animal o gota de sangre u otro fluido corporal y cualquiera de los anticuerpos específicos presentes dirigido contra los anticuerpos IgA o IgM o anticuerpos IgA, IgM (saliva) o gota de sangre u otro fluido corporal se enlazan a sus respectivos antígenos de los alimentos o péptidos. La placa se lavó y se añade un conjugado de enzima que reconoce los anticuerpos unidos de IgA o IgM en el suero, y de IgA o IgM en la saliva o gota de sangre u otro fluido corporal. Después de la incubación y el lavado, se añade el sustrato para visualizar los anticuerpos unidos de IgA o IgM en el suero, y de IgA o IgM en la saliva o la gota de sangre u otro fluido corporal. La cantidad de la densidad óptica registrada es proporcional a la cantidad de anticuerpo unido a IgA, IgM o IgG o a complejos inmunes en el suero, y de IgA o IgM o IgG en la saliva u otro fluido corporal. Un informe que representa estas reacciones se traza en un gráfico de barras simple o por otros medios. Los resultados muestran con un alto grado de precisión si un paciente animal tiene una reacción positiva o negativa en contra de un ingrediente alimentario en particular.

Reacciones de sensibilidad o intolerancia alimentaria

15 La investigación hasta la fecha ha demostrado que los niveles séricos de IgA o IgG solos, o con el complemento, constituyen las principales vías inmunológicamente reactivas de los alimentos y suplementos alimenticios. En la saliva u otras secreciones de mucosas u otros fluidos corporales tales como lágrimas o la leche, los principales reactivos inmunológicos son IgA o IgM. Estas respuestas inmunes reactivas se caracterizan clásicamente como hipersensibilidades de tipos I, II, III, y IV.

20 Las respuestas reactivas inmunológicas de Tipo I están mediadas por anticuerpos IgE, y se denominan comúnmente como hipersensibilidad inmediata. Esta reacción alérgica se produce dentro de las dos horas de exposición al alérgeno o su ingestión.

25 Las respuestas reactivas inmunológicas de Tipo II están mediadas por anticuerpos IgG o IgM y se denominan comúnmente hipersensibilidad retardada. La reacción alérgica se produce a partir de dos horas hasta varios días después de la exposición al alérgeno.

30 Las respuestas reactivas inmunológicas de hipersensibilidad Tipo III forman un complejo inmune que es también una hipersensibilidad retardada, debido a que la reacción alérgica se produce días o semanas después de la exposición a alérgenos o ingestión. La medición de IgE sigue siendo el patrón para determinar la presencia de alergias por inhalación (atopía), pero este método no suele funcionar o es demasiado costoso para diagnosticar la sensibilidad o intolerancia alimentaria en relación con las enfermedades crónicas.

35 Las sensibilidades retardadas relacionadas con los alimentos comienzan en el tracto gastro-intestinal cuando el revestimiento intestinal se vuelve hiperpermeable. Este problema se conoce como "síndrome de intestino permeable" o disbiosis intestinal, y se define como un aumento en la permeabilidad de la mucosa intestinal a las digeridas parcialmente macromoléculas de proteínas, micromoléculas, antígenos y toxinas. La reacción inmunológica a estas proteínas u otras moléculas en el hígado inicia y perpetúa la sensibilidad alimentaria crónica o intolerancia. Cuando el intestino no es saludable, el resto del cuerpo no es saludable. El proceso de la enfermedad que se produce es típicamente crónica o intermitente y a menudo implica el intestino y la piel, así como los órganos internos tales como el hígado. La función del tracto gastrointestinal se ve interrumpida cuando el revestimiento del intestino está inflamado o dañado. Con un intestino permeable, los antígenos alimentarios pesados pueden ser absorbidos por el cuerpo. Los sistemas de defensa del cuerpo atacan este antígeno o antígenos y el resultado es la producción de anticuerpos en contra de lo que antes era un inofensivo e inocuo ingrediente alimentario. Estos anticuerpos IgA o IgG se forman en el torrente sanguíneo y circulan a través del cuerpo donde pueden dañar otros tejidos a lo largo del recorrido. En la saliva u otro fluido corporal, estos reactivos son típicamente IgA o IgM.

50 Diagnóstico de la sensibilidad inmunológica alimentaria o intolerancia mediante la prueba de muestras de sangre o saliva para anticuerpos

55 Un suero de sangre o saliva o una gota de sangre u otra muestra de fluido corporal del paciente animal se envían al laboratorio para su análisis. Aunque este es un método para recoger una muestra de un paciente, se reconoce que otros métodos de obtención de una muestra se pueden usar dentro del alcance de la descripción. Tales métodos incluyen llevar al paciente físicamente a una clínica veterinaria o de laboratorio para recoger una muestra de sangre para preparar su suero, o saliva o una gota de sangre u otra muestra de fluido corporal; o bien, podría incluir una prueba de tamizaje cualitativa P-O-S de saliva o gota de sangre u otro fluido corporal realizado por el propietario de la mascota o un veterinario u otra persona.

60 Una vez recogido en o recibido por el laboratorio, el suero de la sangre o muestra de sangre o saliva u otra muestra de fluido corporal se seleccionan usando el método ELISA u otras plataformas de inmunoensayo tales como, pero no limitados a flujo lateral, o látex o gota de aglutinación, que mide la presencia de anticuerpos IgA o IgG seleccionados contra una amplia variedad de alimentos o suplementos alimenticios o aditivos alimentarios en el suero de un animal, así como anticuerpos IgA o IgM en una de saliva o gota de sangre u otro fluido corporal de los animales. La detección de un anticuerpo particular en el suero del paciente o la saliva o la gota de sangre u otro fluido corporal a un nivel

superior que la observada en pacientes animales sanos a continuación constituye la base para un diagnóstico de la sensibilidad o intolerancia a los alimentos asociada con ese anticuerpo.

- 5 En una forma, se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para el tamizaje o pruebas de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en los animales a la composición de los alimentos que puede comprender al menos varios componentes activos de trigo u otros alimentos con gluten, maíz, soja, carne de res o pero no limitado a otros tipos de carne, pescado, productos lácteos, huevos, otros granos, productos botánicos, aceites de semillas o pescado, productos botánicos, verduras, frutos secos, o sensibilidad o intolerancia a frutas.
- 10 En otra forma, se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para el tamizaje o pruebas de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en animales a otros constituyentes, incluyendo un grupo de al menos micro- y macro-componentes tales como vitaminas, aminoácidos, y una o más plantas, parte de las plantas y extracto (s) de planta con propiedades funcionales y nutracéuticos.
- 15 Además, se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para el tamizaje o ensayo de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en los animales a la actividad de uno o más compuestos de proteína, dependiendo de los ingredientes de los alimentos, la fisiología del tracto digestivo de los animales y la composición genética individual de los animales.
- 20 Se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para el tamizaje o pruebas de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en los animales que responden de forma individual con una respuesta reactiva inmune a compuestos funcionales, nutracéuticos o terapéuticos, y que depende de la composición genética del animal, que difiere de la capacidad de adaptación al entorno e interactuar con los nutrientes.
- 25 Se proporciona un sistema de prueba de diagnóstico para el tamizaje o pruebas de sensibilidad o intolerancia a los alimentos en los animales en donde el efecto de la reacción inmunológica adversa a los ingredientes también puede variar de acuerdo con el genotipo de animales de compañía, y la variabilidad individual de los animales.
- 30 Los compuestos e ingredientes alimentarios pueden inducir una respuesta inmune reactiva variable a la respuesta fisiológica o patológica de un animal individual mascota. Esto se puede expresar mediante lo que se denomina "síndrome de intestino permeable" o disbiosis intestinal. Por otra parte, la disbiosis intestinal a su vez puede conducir a daños o mal funcionamiento de otros tejidos del cuerpo, especialmente la piel. Esto se denomina "conexión intestino-piel."
- 35 El término "mascota" se refiere a un perro o un gato doméstico. El término "composición de alimentos para mascotas" significa una composición de alimentos o ingredientes de piensos que se destina para la ingestión por el animal doméstico. Las composiciones de alimentos para mascotas pueden incluir, sin limitación, composiciones nutricionalmente equilibradas adecuadas para la alimentación diaria, así como suplementos que pueden o no ser nutricionalmente equilibrados.
- 40 Las composiciones de alimentos para mascotas que inducen reacciones inmunes adversas o sensibilidad a los alimentos pueden ser preparadas por cualquiera de una variedad de procesos. Los componentes pueden ser obtenidos a partir de materia vegetal o animal vertebrado, o de otra manera proporcionado, y después sometido a procesamiento de alimentos para mascotas, como harina, bolillas, extrusión en frío, latas en autoclaves de extrusión por calor y bolsas.
- 45 Se proporciona un sistema de pruebas de diagnóstico para el tamizaje o pruebas para la sensibilidad o intolerancia alimentaria en los animales a los ingredientes objetables en los alimentos que están en las comidas pretratadas o premezcladas de alimentos para mascotas, galletas, bocadillos, golosinas, grageas, dulces u otras formas de alimentos.
- 50 El sistema de pruebas de ELISA, u otras plataformas de inmunoensayo tales como, pero no limitado a, de flujo lateral, o de aglutinación de látex o de bolas, son bien conocidos en la técnica. Estos ensayos miden la presencia de anticuerpos seleccionados IgA o IgG contra una amplia variedad de alimentos o suplementos alimenticios o aditivos alimentarios en el suero de un animal, así como anticuerpos IgA o IgM en saliva o gota de sangre u otro fluido corporal de los animales. La presencia de estos anticuerpos IgA o IgG en el suero de un paciente se comprueba frente a uno o más de un panel o grupo de antígenos en alimentos o ingredientes. La presencia de anticuerpos IgA o IgM en la saliva o la gota de sangre u otro fluido corporal también se comprueba frente a uno o más de un panel o grupo de antígenos en alimentos o ingredientes. Si los resultados muestran un nivel aumentado de cualquiera de estos anticuerpos seleccionados a antígenos de los alimentos o ingredientes en el suero o saliva o gota de sangre u otro fluido corporal de un paciente en comparación con los niveles de los mismos anticuerpos seleccionados en animales sanos, los hallazgos indican que el paciente animal, de hecho, tienen una sensibilidad inmunológica determinada a los alimentos o sensibilidad o intolerancia. El paciente animal debe entonces ser tratado en consecuencia mediante la eliminación de la sustancia desencadenante o sustancias de la dieta o por otros métodos conocidos en la técnica.
- 60 Aunque los parámetros y equipo específicos se han discutido en este aspecto de la descripción, se entiende que los parámetros pueden ser diferentes y que un equipo diferente puede ser utilizado para llevar a cabo las metodologías descritas sin desviarse del alcance de la descripción.
- 65

- 5 Este método de prueba de suero de sangre o saliva o gota de sangre u otro fluido corporal pueden ser combinado con uno o más de otros indicadores de diagnóstico de sensibilidad alimentaria inmunológica o intolerancia descritos anteriormente de acuerdo con otros métodos establecidos con el fin de mejorar aún más la sensibilidad y la precisión de la sensibilidad alimentaria inmunológica o diagnóstico de intolerancia.
- 10 La secreción de IgA sirve como una barrera mucosa a ciertas macromoléculas, bacterias, y virus. Cuando estas moléculas o los organismos interactúan con la secreción de IgA y la mucosa, se bloquea su entrada y exposición al tejido linfoide asociado al intestino (GALT). Este bloqueo permite al hospedero proteger eficientemente la respuesta inmune sistémica, respuesta inmune local, o ambos, del ataque de moléculas extrañas.
- 15 Por lo tanto la secreción de IgA tiene actividades anti-bacterianas, antifúngica, y antivirales, y juega un papel importante en la protección de superficies de la mucosa de la adhesión de los microorganismos.
- Otro papel importante de la secreción de IgA es en la prevención de la difusión de antígenos de alimentos hacia las membranas mucosas.
- 20 A pesar de la ruta entérica de exposición a los antígenos de alimentos y péptidos, los anticuerpos específicos de alimentos se miden típicamente sólo en la sangre, y no en la saliva u otro fluido corporal.
- La descripción incluye el uso de un fluido corporal de un animal de compañía, tales como la saliva para determinar la sensibilidad de dicho animal a los alimentos. La saliva es un fluido accesible, fácil de recoger, y demuestra las respuestas representativas en las secreciones después de un caso antigénico entérico o intragástrico
- 25 La descripción incluye la medición de al menos uno de, y preferentemente más de uno de IgA o IgM salivales o en otro fluido corporal contra diferentes antígenos de alimentos y péptidos para su uso en la determinación de la alergia alimentaria y la intolerancia alimentaria en animales de compañía.
- 30 Un método para determinar la presencia de alergia a los alimentos o intolerancia a los alimentos en un animal de compañía tal como un perro o un gato o caballo incluye (a) la determinación de al menos uno de, y preferentemente más de uno de los niveles de anticuerpo o anticuerpos IgA o IgM en saliva u otro fluido corporal o mucosa contra un antígeno de la dieta o péptido presente en un alimento en saliva, mucosa u otra muestra de fluido corporal del animal; y (b) comparar el nivel determinado en la etapa (a) con los niveles normales del anticuerpo o anticuerpos en la mucosa u otra muestra de fluido corporal.
- 35 Los posibles resultados para la comparación incluyen (i) inferior a los niveles normales o sobre los niveles normales de anticuerpos para antígenos dietéticos que indican condiciones óptimas; y (ii) por encima de los niveles normales de anticuerpos para antígenos dietéticos que indican una alergia alimentaria o intolerancia alimentaria.
- 40 Existe además un método para determinar un tipo de anticuerpo en presencia de una alergia alimentaria o intolerancia alimentaria a un alimento en un animal, que comprende (a) determinar el nivel de anticuerpos contra un antígeno de la dieta o péptido presente en el alimento primero en la saliva o mucosas u otra muestra de fluido corporal del paciente animal; (b) determinar el nivel de anticuerpo o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos o péptidos presentes en una segunda saliva u otra mucosa u otra muestra de fluido corporal del paciente animal, en el que las primera y segunda muestras son iguales o diferentes; y (c) comparar el nivel de anticuerpo o anticuerpos determinados en las etapas a) y b) con niveles normales del anticuerpo o anticuerpos encontrados en animales sanos.
- 45 Los posibles resultados de la comparación incluyen (i) esencialmente niveles normales de anticuerpo o anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y niveles normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o péptido indican condiciones óptimas; (ii) niveles superiores a los normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de la dieta y los niveles esencialmente normales de anticuerpo o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o péptido indican una alergia alimentaria e intolerancia sin reacción cruzada con el antígeno del tejido o péptido; (iii) los niveles esencialmente normales de anticuerpo o anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y superiores a los niveles normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o péptido indican una reacción autoinmune no relacionada con el antígeno en la dieta o péptido; y (iv) superiores a los niveles normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y superiores a los niveles normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o péptido indican una presencia de alergia a los alimentos e intolerancia resultante en una reacción autoinmune.
- 50 La prueba informa al dueño de una mascota de las condiciones clínicas de su mascota la cual puede sufrir de sensibilidad a los alimentos, alergias o intolerancia alimentaria. La prueba utiliza un método que mide los títulos de anticuerpos a los antígenos de la dieta. El método de prueba mide la capacidad de los anticuerpos para unirse a un antígeno recombinante, péptido sintético, un péptido preparado por digestión enzimática correspondiente a la antígenos en la dieta, o un antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos diferentes.
- 60

- 5 Existe un inmunoensayo para la detección de alergias a los alimentos y la intolerancia a los alimentos en un paciente usando las mucosas u otras secreciones de fluidos corporales. Las secreciones mucosas son las secreciones de una mucosa, tales como la saliva.
- 5 Se pueden usar otras formas de fluido biológico, que no sea la saliva, por ejemplo, sangre, heces, orina, lágrimas, o la leche u otras secreciones de la mucosa.
- 10 Hay un método para la detección de alergias a los alimentos y la intolerancia a los alimentos en un animal. El método incluye (a) determinar el nivel de anticuerpo o anticuerpos contra un antígeno o péptido de la dieta en el alimento en una muestra salival u de otra mucosa o de otro fluido corporal de un paciente; y (b) comparar el nivel determinado en la etapa (a) con los niveles normales del anticuerpo o anticuerpos en la saliva u otra mucosa u otra muestra de fluido corporal.
- 15 Los posibles resultados de la comparación incluyen: (i) niveles menor que lo normal o niveles esencialmente normales de anticuerpo o anticuerpos a antígenos en la dieta o péptidos indican condiciones óptimas; y (ii) superiores a los niveles normales de anticuerpos o anticuerpos a antígenos en la dieta o péptido indican una alergia alimentaria o intolerancia alimentaria.
- 20 La detección de anticuerpos se puede realizar con un inmunoensayo. Los inmunoensayos incluyen, pero no se limitan a, prueba de ELISA, ensayo de RIA, aglutinación en látex, ensayo de gotas, y los ensayos proteómicos. Un inmunoensayo preferido es la prueba de ELISA. Se pueden usar otros inmunoensayos y la elección del inmunoensayo puede ser determinada por un experto normal en la técnica.
- 25 Una lectura normal se deriva a partir de una medición de línea base tomada a partir de mediciones de anticuerpos para los individuos sin síntomas relacionados con alergias a los alimentos o intolerancia a los alimentos. Una medida de referencia para la prueba se obtiene mediante la observación de las mediciones de anticuerpos para individuos sin síntomas relacionados con alergias o intolerancias alimentarias. Por ejemplo, la mayoría de las lecturas de las mediciones de anticuerpos de un individuo sin síntomas relacionados con alergias o intolerancia a los alimentos están por debajo de una cierta lectura. Preferentemente, aproximadamente 50-100% de las lecturas de un animal sin síntomas relacionados con alergias a los alimentos o intolerancia a los alimentos están por debajo de cierta lectura, más preferentemente alrededor del 60-100%, 70-100%, o 80-100% de las lecturas, incluso más preferentemente aproximadamente 90-100% de las lecturas. Si un animal exhibe durante una medición de anticuerpos dos desviaciones estándar por encima de la línea base, la medición de anticuerpos por encima de lo normal indica la presencia de alergia a los alimentos o intolerancia alimentaria. Adicionalmente, pueden ser probados los anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos. Los antígenos de reacción cruzada de tejidos o antígenos incluyen, pero no se limitan a, lectinas, receptores de lectinas, tropomiosina, músculo liso, antígenos de las células epiteliales, enzimas, enzimas del citocromo P-450, y transglutaminasa. Los antígenos de la dieta ingeridos o péptidos pueden inducir anticuerpos que reaccionan con el antígeno específico de la dieta y otro antígeno, tal como un antígeno de reacción cruzada de tejidos. Si los anticuerpos contra los antígenos de reacción cruzada de tejidos se prueban además para los antígenos de la dieta, a continuación, los anticuerpos se pueden determinar para ser protectores o patógenos.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- Esencialmente los niveles normales de anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y niveles normales de anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos indican condiciones óptimas. Niveles de anticuerpos superiores a los normales contra el antígeno de la dieta o péptido y los niveles esencialmente normales de anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos indican alergia a los alimentos e intolerancia sin reacción cruzada con el antígeno o antígenos de tejido. Esencialmente los niveles normales de anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y superiores a los niveles normales de anticuerpos o anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos indican una reacción autoinmune no relacionada con el antígeno o antígenos de la dieta. Niveles de anticuerpos superiores a los normales de anticuerpos contra el antígeno de la dieta o péptido y superiores a los niveles normales de anticuerpos contra el antígeno de reacción cruzada de tejidos o antígenos indican una presencia de alergia a los alimentos e intolerancia resultante en una reacción autoinmune.
- Puede haber un aparato y un método para llevar a cabo una variedad de ensayos para la determinación de analitos en las muestras. Puede ser un dispositivo de un solo uso diseñado para ser adaptable a una variedad de protocolos de ensayo en tiempo real, preferentemente ensayos para la determinación de analitos en muestras biológicas utilizando inmunosensores u otras modalidades de biosensores basados en receptores ligando/ligando.
- Puede haber una porción dosificada de una muestra, para un control preciso y flexible del movimiento de la muestra o segundo fluido dentro del dispositivo. El dispositivo y el método es para la rápida determinaciones in situ de uno o más analitos, y la metodología de un solo uso minimiza el riesgo de contaminación del operador y del animal. Como tal, es un punto de servicio (P-O-S) para uso de diagnóstico clínico.
- Una multitud de pruebas de laboratorio para los analitos de interés se realiza en muestras biológicas para el diagnóstico, la detección, la estadificación de la enfermedad, el análisis forense, pruebas de embarazo, pruebas de drogas, y otras

razones. Mientras que unas pocas pruebas cualitativas, tales como las pruebas de embarazo, han sido reducidas a sencillos kits para uso doméstico, la mayoría de las pruebas cuantitativas aun requieren la experiencia de técnicos entrenados en laboratorio y uso de instrumentos sofisticados.

5 Se emplean medios ópticos para detectar la unión de un analito a un receptor, o, alternativamente, puede ser detección electroquímica, en la que la unión de un analito directamente o indirectamente provoca un cambio en la actividad de una especie electroactiva adyacente a un electrodo, y también ha sido aplicado a inmunoensayo.

10 Por lo tanto, existe dentro del campo de detección del analito, y, en particular, para aplicaciones en las que los analitos deben ser determinados en muestras biológicas tales como sangre, una necesidad de un aparato que puede determinar rápidamente y simplemente analitos en el P-O-S, y se puede realizar con personal menos altamente capacitado que es posible para las pruebas de laboratorio convencional. Sería beneficioso para el diagnóstico y tratamiento de condiciones veterinarias críticas para el veterinario o técnico veterinario poder obtener los resultados de pruebas clínicas sin demora. El aparato debe poder adaptarse a la determinación de una gama de analitos y capaz de un solo uso de manera que pueda ser eliminada la muestra después de la prueba.

20 Aunque no de acuerdo con la presente invención tal como se reivindica, un dispositivo de acuerdo con la presente descripción tiene la ventaja de que la muestra y un segundo fluido pueden ponerse en contacto con la matriz de sensores en diferentes momentos durante una secuencia de ensayo. La muestra y el segundo líquido también se pueden formar de forma independiente con otros reactivos o compuestos inicialmente como recubrimientos secos presentes dentro de los respectivos conductos. El movimiento controlado de los líquidos dentro del dispositivo permite además más de una sustancia que se añade en cada líquido cada vez que la muestra o el fluido se mueve a una nueva región del conducto.

25 En la operación, una cantidad preferente de una muestra biológica se coloca en la cámara de muestra del dispositivo. El dispositivo puede tener zonas de lecturas o el dispositivo puede ser colocado en un aparato de lectura. Una porción dosificada de la muestra puede ser modificada con al menos un conjugado anticuerpo-enzima, y se pone en contacto con el inmunosensor. Un segundo fluido, el cual contiene un sustrato inactivo para la enzima, se utiliza para enjuagar el inmunosensor sustancialmente libre del conjugado no enlazado anticuerpo-enzima, y se registra la respuesta del inmunosensor y se analiza para la presencia, o cantidad del analito de interés. El dispositivo puede contener una pluralidad de inmunosensores y reactivos.

35 Después de la lectura, el operador retira y desecha el dispositivo. El lector está entonces listo para otra medición. Mientras que el uso de la descripción se refiere con frecuencia en un contexto biológico o médico, se apreciará que la presente descripción puede ponerse en práctica en cualquier situación en la que se desea realizar in situ los análisis químicos de muestras líquidas a velocidades que se aproximan al tiempo real.

40 Aunque no es acuerdo con la presente invención como se reivindica, un dispositivo de prueba con tira reactiva podría ser utilizado para la detección de un analito en una muestra líquida como la saliva u otro fluido biológico mediante el tratamiento del analito con al menos un reactivo líquido para formar un producto de reacción detectable. El dispositivo puede incluir: a) una zona de reacción impermeable acuosa, insoluble acuosa, adaptada para retener el producto de reacción detectable; y b) un absorbente de control por encima de, y en relación de transferencia de líquido con, la zona de reacción. El control absorbente pueden tener una predeterminada, limitada capacidad de absorción de líquido, y la varilla de medición está configurada para la ubicación en un recipiente que contiene la muestra. El absorbente de control está por encima de la zona de reacción, de manera que el absorbente de control se llena con la muestra y la zona de reacción se incuban con la muestra. El dispositivo puede incluir además un depósito de absorción que se puede mover al interior del contacto de transferencia de líquido con la reacción zona.

50 Este dispositivo y el método es para su uso para la detección de un analito, por ejemplo, usando un inmunoensayo. Un analito en una muestra se puede detectar mediante el tratamiento de la muestra con diversos reactivos, tales como los asociados a marcados inmunológicos de unión al analito y los reactivos para permitir la detección del marcado. A menudo, la muestra se lava entre las administraciones de diversos reactivos.

55 Un ensayo puede depender del control de la cantidad de reactivos expuestos a la muestra y la duración de las reacciones que tienen lugar. Es deseable tener la capacidad para ensayar pequeños volúmenes de muestra con bajas concentraciones relativas de analito, y/o para detectar relativamente pequeñas diferencias en la concentración de analito. Por último, es deseable tener un sistema para permitir la medición de muestras de sangre entera, suero y la saliva u otro fluido corporal sin necesidad de un equipo complejo.

60 Un método para la adición de reactivos y de lavado en un inmunoensayo utiliza un material absorbente para mover los líquidos de lavados y reactivos a través de un sustrato sólido tal como una membrana a la cual otros reactivos están inmovilizados.

65 Puede haber un dispositivo de prueba de inmunoensayo que incluye material absorbente para el arrastre de líquido a través de una membrana microporosa en la parte inferior de un pocillo de ensayo. El material absorbente está

5 elásticamente separado de la membrana, y arrastra líquido a través de la membrana sólo cuando los dos se ven obligados juntos para superar la separación. El material absorbente comprende una capa superficial que es hidrofóbica y una porción mayor que es humectable. Los reactivos se añaden en serie al pozo de prueba y, después de que cada reactivo ha estado en el pozo durante un tiempo prescrito, la membrana y el material absorbente son forzados juntos para arrastrar el líquido antes de añadir el siguiente reactivo.

10 Generalmente, es un dispositivo de prueba de tira reactiva para la detección de un analito en una muestra líquida como la saliva u otro fluido biológico mediante el tratamiento del analito con al menos un reactivo líquido para formar un producto de reacción detectable. El dispositivo de prueba incluye dos componentes: a) medios que definen una zona de reacción acuosa permeable insoluble en medio acuoso, adaptada para retener el producto de reacción detectable; e, integrado con o separado de la zona de reacción, b) un absorbente de control por encima de, y en relación de transferencia de líquido con, los medios de definición de la zona de reacción. El absorbente de control tiene una predeterminado, limitada, capacidad de absorción de líquido. La varilla de medición está dimensionada y configurada para la inserción en un recipiente que contiene la muestra, con el absorbente de control orientado por encima de los medios que definen la zona de reacción, de manera que el absorbente de control se llena a la capacidad y los medios que definen la zona de reacción se incuban con la muestra.

20 La zona de reacción comprende al menos un reactivo, por ejemplo un asociado de unión específica para que el analito que participa en la reacción forme el producto detectable.

25 El producto de reacción se detecta mediante una inspección visual, y los medios que definen la zona de reacción son visibles por inspección externa del dispositivo; opcionalmente, el dispositivo incluye una región de contraste alrededor de la zona de reacción para ayudar en el ensayo por contraste con la zona de reacción con respecto a la característica ensayada; también opcionalmente, el dispositivo puede incluir una escala de intensidad para la detección cuantitativa de la muestra de analito.

30 La zona de reacción es o bien integral con el absorbente de control o está unida a una cara del absorbente de control. La zona de reacción puede definir al menos dos regiones de reacción, y el dispositivo de prueba comprende medios para el aislamiento de las regiones de reacción unas de otros. Al menos una región de reacción puede ser una región de control.

35 El dispositivo incluye una placa de cara impermeable acuosa que tiene al menos una abertura para permitir al líquido llegar a los medios de definición de una zona de reacción. Con el fin de proporcionar una descarga de prueba de color, los medios que definen una zona de reacción comprenden un elemento de retención de reactivo plano que tiene un nodo posicionado para extenderse en cada cara de la abertura de la placa.

40 La prueba puede incluir un paquete de reactivo dimensionado y configurado para suministrar una pluralidad de reactivos a la zona de reacción. Por ejemplo, el paquete de reactivo puede incluir reactivos líquidos para la generación de un producto de reacción detectable.

45 La zona de reacción puede ser posicionada en un extremo de una varilla alargada, y además el dispositivo puede comprender un conjunto de filtros posicionado en un extremo de la varilla. El dispositivo puede incluir una bandeja de reacción que comprende un pozo para el conjunto de filtros en la varilla y para retener el conjunto de filtros así la varilla se retira del pozo.

La detección de un analito en una muestra es mediante la reacción del analito con al menos un reactivo para formar un producto de reacción detectable. El método puede incluir:

- 50 a) proporcionar un dispositivo de prueba que comprende un absorbente de control por encima de, y en -relación de transferencia con, un una zona de reacción definida, el control absorbente que tiene una, limitada, capacidad de absorción de líquido predeterminado; el absorbente de control está en una relación de transferencia de líquido con la zona de reacción definida;
- 55 b) insertar la varilla de medición en un recipiente que contiene un volumen predeterminado de muestra, con el absorbente de control orientado por encima de la zona de reacción definida;
- c) incubar el volumen predeterminado de la muestra con la zona de reacción;
- 60 d) permitir la formación del producto de reacción detectable; y
- e) detectar el producto de reacción.

Los diferentes criterios para perros y gatos

Para un perro o un gato de control sano, los niveles de IgA de anticuerpos salivales están generalmente por debajo de aproximadamente 10 U/ml (perro) o por debajo de aproximadamente 25 U/ml (gato). Los niveles salivales de anticuerpos IgM están generalmente por debajo de aproximadamente 25 U/ml para el perro o gato sano.

5 Para un paciente perro o gato con alergia alimentaria moderada e intolerancia alimentaria, los niveles salivales de anticuerpos IgA están generalmente a aproximadamente 15 U/ml (perros) o en alrededor de 30 U/ml (gato);. Los niveles salivales de anticuerpos IgM están en alrededor de 35 U/ml para un paciente perro o gato

10 Para un paciente perro o gato con alergia a los alimentos y severa intolerancia a los alimentos, los niveles de anticuerpos salivales de IgA están generalmente por debajo de alrededor de 20 U/ml (perro) o alrededor de 35 U/ml (gato). Los niveles salivales de anticuerpos IgM están a aproximadamente 40 U/ml (perro o gato).

15 La mayoría de las lecturas (alrededor del 98%) para los niveles de anticuerpos IgA salivales en el perro control sano o un gato son menores de aproximadamente 10 U/ml (perros) o 25 U/ml (gato). Del mismo modo, la mayoría de las lecturas (cerca del 85%) para los niveles de anticuerpos salivales IgM en el perro control sano o un gato son menores de aproximadamente 25 U/ml. Sin embargo, hay ciertas lecturas en el panel de perros control sanos y gatos que son superiores a aproximadamente 10 U/ml (perros) o 25 U/ml (gato). Las lecturas particularmente altas en el control de perros sanos o gatos puede indicar sensibilidad al antígeno de la dieta correspondiente.

20 En el paciente perro o gato con alergia a los alimentos moderada y intolerancia a los alimentos, la mayoría de las lecturas de los niveles de anticuerpos salivales IgA están por encima de aproximadamente 15 U/ml (perro) y 30 U/ml (gato). En el paciente perro o gato con alergia alimentaria severa e intolerancia alimentaria, la mayoría de las lecturas de los niveles de anticuerpos salivales IgA están por encima de 20 U/ml (perro) y 35 U/ml (gato).

El anticuerpo en suero puede ser IgA o IgM. El nivel en suero de al menos uno de:

25 (a) aproximadamente 100 mg/dl (perro), y aproximadamente 300 mg/dl (gato) de IgA, o

(b) aproximadamente 200 mg dl (perro) y aproximadamente 300 mg/dl (CAT) de IgM es indicativo de insensibilidad al menos leve o intolerancia.

30 Muchos formatos diferentes son posibles para llevar la muestra de fluido corporal a la zona de reacción. En algunos casos el fluido corporal se aplica a un papel de filtro apropiado u otro material de soporte y el papel de filtro u otro material de soporte con la muestra de fluido impregnada sobre y en el papel u otro soporte de soporte de material se envía a un laboratorio por cualquier medio conveniente para el análisis. El papel u otro material de soporte incluyendo la muestra pueden, por ejemplo, en una parte contener, saliva u otro fluido corporal, y en otra parte separada puede ser suero. Mediante el uso de un papel de filtro o de otro material de soporte como portador, puede ser fácil para un dueño de una mascota simplemente enviar por correo una muestra a un laboratorio para su análisis apropiado de uno o más antígenos. El papel de filtro u otro material de soporte pueden tener una o más zonas de reacción para los diferentes antígenos. Este sistema de soporte de papel de filtro u otros materiales soporte permite para una muestra total o parcialmente deshidratada ser llevada a un laboratorio para su posterior procesamiento, el cual puede incluir una etapa de hidratación antes del análisis en un analizador adecuado.

45 En la especificación, se han descrito modalidades típicas preferidas de la descripción y, aunque se emplean términos específicos, se usan en un sentido genérico y descriptivo y no con fines de limitación. Se han descrito algunas modalidades típicas de la descripción. Muchos más ejemplos, modificaciones y variaciones de la descripción son posibles a la luz de las enseñanzas anteriores. Por ejemplo, aunque la descripción y las reivindicaciones indican pasos específicos para llevar a cabo la invención, los pasos descritos no se limitan a una secuencia particular de desempeño y en algunas circunstancias dos o más de estos pasos podrían llevarse a cabo simultáneamente.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para diagnosticar una sensibilidad a los alimentos en un animal de compañía que es un perro o gato, que comprende las etapas de tamizar una muestra de saliva de un animal de compañía para detectar el nivel de anticuerpo IgA o anticuerpo IgM a un ingrediente determinado alimentario o composición, y diagnosticar una sensibilidad alimentaria del animal de compañía basado en la presencia de al menos uno de los anticuerpos.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, que comprende además recoger una porción de pruebas de saliva y en donde la porción de prueba es la muestra en la etapa de tamizaje, y en donde la muestra es de 1-5 mililitros o 1-15 gramos.
- 15 3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 en donde la etapa de tamizaje utiliza un inmunoensayo para detectar el nivel de un anticuerpo a un ingrediente determinado alimentario o composición de ingredientes alimentarios.
- 20 4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde la sensibilidad a los alimentos se selecciona del grupo que consiste en trigo, gluten, maíz, soja, carne de vaca, carne, proteína de pescado, productos lácteos, huevos, granos, productos botánicos, aceites de semillas, peces, verduras y frutas.
- 25 5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el animal es un gato y el anticuerpo es IgA o IgM, y el nivel de al menos uno de 30 U/ml de IgA es indicativo de la sensibilidad a los alimentos; o el nivel de 35 U/ml de IgM es indicativo de sensibilidad a los alimentos.
- 30 6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde el nivel para un perro de 15 U/ml de IgA es indicativo de sensibilidad; o el nivel de 35 U/ml de IgM para el perro es indicativo de sensibilidad.
- 35 7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el nivel para un perro por debajo de 10 U/ml de IgA es indicativo de tolerancia; o un nivel por debajo de 25 U/ml de IgM es indicativo de tolerancia.
- 40 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el nivel de un gato de 25 U/ml de IgA es indicativa de la tolerancia; o un nivel por debajo de 25 U/ml de IgM es indicativo de la tolerancia.
- 45 9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las etapas de recoger en primer lugar una muestra de saliva; tamizar la saliva para detectar el nivel de al menos uno de los anticuerpos IgA o IgM a un ingrediente determinado alimentario o composición, diagnosticar una sensibilidad alimentaria basado en la presencia del anticuerpo, y en segundo lugar recoger una muestra de sangre; preparar el suero de la muestra; tamizar la muestra de suero para detectar semi-cuantitativa o cuantitativamente un nivel de al menos uno de un anticuerpo IgA o IgM a un ingrediente alimentario o composición determinada, y diagnosticar una sensibilidad alimentaria basado en el nivel del anticuerpo.
- 50 10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el ingrediente alimentario para los cuales se lleva a cabo el método está contenido en una composición seleccionada del grupo que consiste de una composición alimenticia procesada previamente, dieta equilibrada y la composición de receta que incluye ingredientes crudos o cocidos.