

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 193**

51 Int. Cl.:
G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04740819 .0**
96 Fecha de presentación: **08.07.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1644735**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.04.2006**

54 Título: **DISPOSITIVO PARA ENSAYOS DE FLUJO LATERAL.**

30 Prioridad:
09.07.2003 DE 10330983

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.02.2012

73 Titular/es:
**MEDION DIAGNOSTICS AG
BONNSTRASSE 9
3186 DÜDINGEN, CH**

72 Inventor/es:
**SCHWIND, Peter y
LÖSTER, Klemens**

74 Agente: **Fàbrega Sabaté, Xavier**

ES 2 374 193 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

Dispositivo para ensayos de flujo lateral

La invención se refiere a un dispositivo para ensayo multiparamétrico de flujo lateral-diagonal para sistemas de ensayo biológicos o no biológicos para la determinación cualitativa o cuantitativa simultánea de varios analitos unidos a célula y plasmáticos, en el que al menos un analito es un analito unido a célula, en una muestra líquida, que comprende al menos una membrana con una zona de alimentación para la aplicación de la muestra líquida, al menos un grupo de al menos dos zonas indicadoras que pueden interactuar con los analitos y al menos una región de absorción que capta el líquido después de pasar por las zonas indicadoras, encontrándose las zonas indicadoras entre la zona de alimentación y una región de absorción, caracterizado porque las direcciones de flujo de la zona de alimentación a través de las respectivas zonas indicadoras de un grupo son esencialmente paralelas a una región de absorción (carriles de flujo) y presentan al menos dos carriles de flujo distintos y, en caso de reaccionar la zonas indicadoras con más de un analito unido a célula, las zonas indicadoras para estos analitos no están dispuestas consecutivamente, y en el que las zonas indicadoras están dispuestas de modo que la zona indicadora del analito unido a célula está dispuesta distal a la zona de alimentación y la zona indicadora del analito plasmático proximal a la zona de alimentación.

Los ensayos de flujo lateral encuentran actualmente numerosas aplicaciones como ensayos rápidos, por ejemplo, como ensayos de embarazo, para la determinación de marcadores de infección o como control antidroga. Una disposición de ensayo de flujo lateral está compuesta conocidamente por un soporte sólido sobre el que se aplica una zona de alimentación para la muestra a analizar, una membrana de separación sobre la que se unen elementos de unión, por ejemplo anticuerpos o antígenos de captura y sobre la que pueden detectarse reacciones de unión, y una región de absorción absorbente que deja fluir la muestra a analizar a través de la membrana de separación.

El documento WO 03/012443 se refiere a un sistema de ensayo de membrana con un "ensayo de dos etapas" y comprende una unidad de ensayo y una unidad posterior de filtración.

El documento WO 99/09410 se refiere a un ensayo para la determinación simultánea de los analitos grupo M de VIH-1, grupo O de VIH-1 y VIH-2 usando polipéptidos específicos de secuencia.

El documento WO 97/32213 describe un dispositivo para la determinación de distintos grupos sanguíneos. El dispositivo comprende una lámina de membrana recubierta con anticuerpo y un soporte de absorción.

Las membranas de ensayo del ensayo de flujo lateral convencional se describen en general con una separación similar a la cromatográfica. El analito en la muestra se une específicamente a los elementos de unión fijados a una membrana, que en general se presentan dispuestos en bandas adyacentes o superpuestas como zonas indicadoras. El complejo de unión se visualiza mediante partículas indicadoras que en general se encuentran ya desecadas en una almohadilla de liberación de conjugado en la disposición. La almohadilla de liberación de conjugado está situada típicamente entre la zona de alimentación y la membrana. Las partículas indicadoras prerrecubiertas coloreadas están recubiertas, por ejemplo, con un anticuerpo dirigido contra el analito buscado.

El formato de ensayo de flujo lateral habitual es el denominado "ensayo de sándwich" en el que tanto las zonas indicadoras como las partículas indicadoras están cubiertas con ligandos dirigidos contra los analitos buscados, normalmente anticuerpos. A este respecto, el ligando (elemento de unión) está inmovilizado sobre la membrana. El reactivo detector, normalmente un anticuerpo que está unido a partículas de poliestireno coloreadas o metales coloidales, está depositado en la almohadilla de liberación de conjugado de forma lixiviable. Este complejo de unión sirve como partícula indicadora. Después de la aplicación de la muestra a analizar, ésta humedece muy rápidamente la almohadilla de liberación de conjugado, con lo que se movilizan las partículas indicadoras. Las partículas indicadoras migran con el frente de líquido a lo largo de la membrana porosa. El analito encontrado en la muestra se une con el anticuerpo que está acoplado con la partícula indicadora. Cuando la muestra pasa por la zona indicadora, se inmoviliza el complejo de analito/partícula indicadora en la zona indicadora mediante reacción del analito con el anticuerpo unido en la zona indicadora, lo que conduce a una señal visible.

Otro formato de ensayo conocido para analitos pequeños con solo un único determinante antigénico que no puede unirse simultáneamente a dos anticuerpos, es el denominado "ensayo competitivo". El reactivo detector unido a las partículas indicadoras es normalmente una molécula idéntica o análoga al analito. Las partículas indicadoras están depositadas en la almohadilla de liberación de conjugado. Las partículas indicadoras migran con el frente de líquido a lo largo de la membrana porosa. Cuando la muestra que contiene analito y las partículas indicadoras (que contienen igualmente analito eficaz) pasan por la zona indicadora, se une una parte de las moléculas de analito de la muestra y una parte de las partículas indicadoras a los elementos de unión. Cuanto más analito se encuentre en la muestra, más eficazmente competirá con la unión de las partículas indicadoras, y más débil será la señal. Conocidamente, estas partículas indicadoras predominantemente de oro coloidal o poliestireno, que se fabrican con procedimientos conocidos por el especialista y están recubiertas. En los formatos de ensayos de flujo lateral típicos, se determinan indirectamente los analitos. Se entiende aquí por determinación directa de un analito que el analito se una ya naturalmente a la partícula indicadora (por ejemplo, eritrocito). En el caso más frecuente de determinación indirecta del analito, la muestra a ensayar contiene en general un componente no unido a célula, por ejemplo

plasmático, como analito y son necesarios además de la muestra a ensayar dos componentes reactivos, a saber, partícula indicadora y elemento de unión. En la determinación indirecta, se une el analito en primer lugar con las partículas indicadoras eluidas de la almohadilla de liberación de conjugado, antes de que este complejo se inmovilice entonces mediante una segunda reacción con el elemento de unión en las zonas indicadoras.

- 5 En el diagnóstico de grupos sanguíneos serológicos, se detectan parámetros generales que son especialmente importantes con respecto a transfusiones o la enfermedad hemolítica del recién nacido. A este respecto, se trata entre otros de la detección de antígenos sobre la superficie de eritrocitos que son característicos de los grupos sanguíneos. Se encuentran otros sistemas antigénicos importantes también en trombocitos, granulocitos y linfocitos, que desempeñan igualmente un papel en la transfusión y/o el trasplante.
- 10 En el uso del ensayo de flujo lateral convencional con eritrocitos como partículas indicadoras que tienen unidos los analitos a determinar, por ejemplo antígenos específicos de grupos sanguíneos, se disponen hasta ahora en las zonas indicadoras anticuerpos contra los correspondientes antígenos de grupos sanguíneos como elementos de unión en bandas adyacentes o superpuestas solo en un carril de flujo como, por ejemplo, anti-A o anti-B contra los antígenos de grupos sanguíneos A o B, o anticuerpos contra antígenos del sistema de grupos sanguíneos Rh. A este respecto, los ensayos de flujo lateral convencionales presentan la desventaja de que los eritrocitos unidos a los anticuerpos forman en la muestra una barrera de flujo para otros analitos a analizar, por ejemplo otros antígenos asociados a célula. Mediante la aglutinación o adsorción de células en una banda de elementos de unión presente proximal a la zona de alimentación, no pueden separarse sin trabas y visiblemente otros analitos de la muestra a analizar, particularmente asociados con células o fragmentos celulares, ni consiguientemente pueden detectarse clara o completamente. Esto puede conducir, por ejemplo en una persona que sea positiva del grupo sanguíneo AB Rh D, a un debilitamiento o eliminación de las bandas B y D, lo que podría conducir a una interpretación errónea en el sentido de un grupo sanguíneo A Rh negativo. Hasta ahora, no podía emplearse por tanto el ensayo de flujo lateral especialmente en el diagnóstico de grupos sanguíneos serológicos con más de una zona indicadora. Para la medida de varios parámetros de grupos sanguíneos, particularmente celulares y plasmáticos, deben llevarse a cabo hasta ahora ensayos uniparamétricos separados.

Es objetivo de la invención superar las desventajas citadas con respecto al estado de la técnica, particularmente del ensayo de flujo lateral convencional con zonas indicadoras o detectoras adyacentes o superpuestas para la medida simultánea de distintos parámetros de muestra, es decir, de parámetros unidos a célula y plasmáticos.

- El objetivo se consigue según la invención mediante un dispositivo para la determinación cualitativa o cuantitativa simultánea de varios analitos unidos a célula y plasmáticos, en el que al menos un analito es un analito unido a célula, en una muestra líquida, que comprende al menos una membrana con una zona de alimentación para la aplicación de la muestra líquida, al menos un grupo de al menos dos zonas indicadoras que pueden interactuar con los analitos y al menos una región de absorción que capta el líquido después de pasar por las zonas indicadoras, encontrándose las zonas indicadoras entre la zona de alimentación y una región de absorción, caracterizado porque las direcciones de flujo de la zona de alimentación a través de las respectivas zonas indicadoras de un grupo son esencialmente paralelas a una región de absorción (carriles de flujo) y presentan al menos dos carriles de flujo distintos y, en caso de reaccionar las zonas indicadoras con más de un analito unido a célula, las zonas indicadoras para estos analitos no están dispuestas consecutivamente, y en el que las zonas indicadoras están dispuestas de modo que la zona indicadora del analito unido a célula está dispuesta distal a la zona de alimentación y la zona indicadora del analito plasmático proximal a la zona de alimentación. Las zonas indicadoras del dispositivo según la invención se encuentran sobre la membrana y comprenden elementos de unión que captan o se unen al/a los analito/s a determinar en la/s muestra/s. En las zonas indicadoras, se detectan las reacciones de unión entre analito y/o partícula indicadora y elemento de unión. Se sitúan en la membrana porosa como elementos de unión especialmente preferidos anticuerpos o fragmentos de anticuerpo, lectinas, antígenos o epítomos antigénicos y/o células o fragmentos de célula.

- Se usan particularmente dos grupos de partículas indicadoras. Uno se representa solo por eritrocitos para la detección directa de analitos unidos a eritrocitos. El otro grupo está compuesto por partículas de cualquier tipo y combinación concebible con las que puedan detectarse reacciones de unión, preferiblemente partículas de oro coloidal o de poliestireno o eritrocitos fijados que se fijan con procedimientos conocidos por el especialista, particularmente con la ayuda de glutaraldehído, y por tanto se vuelven más estables. En una forma de realización preferida, se usan distintas partículas indicadoras por prueba de ensayo, de las que al menos una clase son eritrocitos nativos.

- En una forma de realización de la invención, se disponen las zonas indicadoras de modo que el líquido de muestra por carril de flujo no atraviese ya más de una zona indicadora. Por ejemplo, las zonas indicadoras se disponen espaciadas sobre la membrana. La disposición de las zonas indicadoras se configura a este respecto preferiblemente en una serie continua diagonal de proximal a distal o a la inversa. Las formas de realización especiales están configuradas en forma de V, W, M o N o en forma de V, E, M o N inversas. En una forma de realización adicional, se disponen las zonas indicadoras espaciadas paralelamente entre sí en una serie lineal.

- La introducción de zonas indicadoras espaciadas paralelamente hace por primera vez posible un ensayo multiparamétrico con eritrocitos con partículas indicadoras en una disposición lateral. Además, es posible la

determinación de analitos de todos los constituyentes de la sangre completa, es decir, la determinación simultánea de parámetros celulares y plasmáticos en la misma preparación. Además, se hace posible el ensayo de parámetros celulares y plasmáticos de una muestra de sangre completa en la misma preparación usando dos clases distintas de partículas indicadoras, de las que una clase son eritrocitos nativos.

- 5 La forma de realización especialmente preferida de una disposición diagonal tiene la ventaja de que la indicación de los resultados puede proporcionarse de forma especialmente práctica y fácilmente legible por la disposición según la invención, ya que cada parámetro a detectar presenta una posición X e Y determinada y se considera la disposición del dispositivo según la invención como un sistema de coordenadas con ordenadas (plano de la dirección de flujo) y abscisas (plano de la zona de alimentación).
- 10 En una forma de realización adicional de la invención, se disponen consecutivamente en la dirección de flujo más de una de dichas series de zonas indicadoras, preferiblemente en una serie continua diagonal de proximal a distal o a la inversa, o por ejemplo en una serie continua en forma de V, W, M o N o en forma de V, W, M o N inversa, o por ejemplo también en series continuas espaciadas paralelamente adyacentes, y las zonas indicadoras de las distintas series se disponen al tresbolillo entre sí, de modo que el líquido de muestra no atraviese más de una zona
- 15 indicadora por carril de flujo, o no se disponen al tresbolillo entre sí, de modo que el líquido de muestra atraviese más de una zona indicadora por carril de flujo.

Son particularmente ventajosas entonces más de una de dichas series de zonas indicadoras, por ejemplo dos series de zonas indicadoras con distinta distancia a la zona de alimentación, cuando deben determinarse a partir de una muestra de sangre completa parámetros celulares y plasmáticos. Según la invención, se eligen los elementos de

20 unión, por ejemplo en una preparación de ensayo con sangre completa como muestra, de modo que los analitos contenidos en el plasma, por ejemplo cualquier tipo de anticuerpos que fluyan por el dispositivo de la zona de alimentación a la región de absorción a través de las zonas indicadoras, se unan a los elementos de unión en la serie de zonas indicadoras dispuesta proximal a la zona de alimentación. Los elementos de unión para la detección de analitos unidos a células, por ejemplo antígenos eritrocíticos, se eligen por el contrario de modo que estos se unan a los elementos de unión en la serie de zonas indicadoras dispuesta distal a la zona de alimentación. En esta

25 forma de realización según la invención, se trabaja preferiblemente con una clase adicional de partículas indicadoras además de los eritrocitos nativos, preferiblemente de oro coloidal o poliestireno o eritrocitos fijados. Estas partículas indicadoras se utilizan preferiblemente para visibilizar en un complejo de unión en una zona indicadora los analitos no unidos a eritrocitos, por ejemplo anticuerpos presentes libres en plasma. Si se usan por ejemplo dos clases de

30 partículas indicadoras, de la que una no son eritrocitos, las zonas indicadoras de ambas series pueden no estar dispuestas al tresbolillo entre sí o consecutivamente en un carril de flujo. Es ventajoso en este sentido la disposición en que los analitos a detectar en plasma se detectan en las zonas indicadoras proximales y los analitos unidos a eritrocitos se detectan en las zonas indicadoras distales. En una forma de realización de la invención con más de una serie de zonas indicadoras como se describen anteriormente, de las que los elementos de unión de cada serie

35 reaccionan o se unen con eritrocitos como partículas indicadoras, las series de zonas indicadoras están dispuestas al tresbolillo entre sí o no consecutivamente en un carril de flujo.

En una forma de realización adicional de la invención, se disponen más de una de dichas series de zonas indicadoras, preferiblemente en una serie continua diagonal de proximal a distal o a la inversa, o por ejemplo en una serie continua en forma de V, W, M o N o de V, W, M o N inversa, o por ejemplo también en una serie continua

40 espaciada paralelamente adyacente, bidireccional a una zona de alimentación central. Es entonces especialmente ventajosa dicha disposición según la invención cuando se determinan parámetros celulares y plasmáticos de una muestra de sangre completa.

Según la invención, por ejemplo en una preparación de ensayo con sangre completa como muestra, se eligen los elementos de unión de modo que los analitos contenidos en plasma, por ejemplo cualquier tipo de anticuerpos que fluyan por el dispositivo de la zona de alimentación a la región de absorción a través de las zonas indicadoras, se unan a los elementos de unión de las series de zonas indicadoras dispuestas por el lado de la zona de alimentación. Los elementos de unión para la detección de analitos unidos a células, por ejemplo antígenos eritrocíticos, se eligen por el contrario de modo que estos se unan a los elementos de unión de las series de zonas indicadoras dispuestas en el lado contrario a la zona de alimentación. En esta forma de realización preferida, se trabaja preferiblemente con

50 una clase adicional de partículas indicadoras además de los eritrocitos, preferiblemente de oro coloidal o poliestireno. Estas partículas indicadoras se utilizan particularmente para visibilizar en un complejo de unión en una zona indicadora analitos no unidos a eritrocitos, por ejemplo anticuerpos presentes libres en plasma.

En una forma de realización preferida, la zona de alimentación comprende además dos membranas distintas de distinta porosidad. En esta forma de realización preferida, se trabaja preferiblemente con una clase adicional de partículas indicadoras además de los eritrocitos, preferiblemente de oro coloidal o poliestireno. Estas partículas indicadoras se utilizan particularmente para visibilizar en un complejo de unión en una zona indicadora analitos no unidos a eritrocitos, por ejemplo anticuerpos presentes libres en plasma.

55

En una forma de realización especialmente preferida, la zona de administración comprende una membrana o dos membranas distintas de distinta porosidad. Además, una de las dos membranas comprende una almohadilla de conjugado que está dispuesta entre el elemento sellante y las zonas indicadoras. En esta forma de realización

60

preferida, se trabaja preferiblemente con una clase adicional de partículas indicadoras además de los eritrocitos, preferiblemente de oro coloidal o poliestireno. Estas partículas indicadoras se utilizan particularmente para visibilizar en un complejo de unión en una zona indicadora analitos no unidos a eritrocitos, por ejemplo anticuerpos presentes libres en plasma. Esta clase de partículas indicadoras adicional utilizada además de los eritrocitos se presenta
 5 preferiblemente desecada en la almohadilla de conjugado. Además, la almohadilla de conjugado se ocupa de que el flujo de eritrocitos se ralentice. Esto conduce en la disposición bidireccional de una zona de alimentación única común a procurar condiciones optimizadas para la detección de propiedades celulares en una dirección y condiciones optimizadas para la detección de propiedades plasmáticas en la otra dirección.

Mediante el dispositivo según la invención, se procura un ensayo de flujo lateral, particularmente para el diagnóstico
 10 de grupos sanguíneos serológicos, con el que se usan eritrocitos como partículas indicadoras y en el que pueden determinarse en una preparación de ensayo simultáneamente varios antígenos o epítomos antigénicos celulares, particularmente eritrocíticos, parámetros plasmáticos y/o propiedades de las células sanguíneas, particularmente de constituyentes de la sangre completa, por muestra a ensayar. Además, se procura por tanto un sistema de ensayo de fabricación lo más sencilla posible y fácil de manejar y económico, particularmente con pocas series de ensayo y
 15 sin preparación de muestra, con el que pueden determinarse simultáneamente distintos parámetros celulares y parámetros plasmáticos de una muestra o varias muestras a analizar, particularmente marcadores de grupos sanguíneos.

El dispositivo según la invención ofrece estas ventajas en cualquier campo de la medicina de diagnóstico en el que
 20 deban determinarse simultáneamente distintos parámetros celulares y parámetros plasmáticos, particularmente también en el campo de la medicina de transfusión, particularmente de la serología de grupos sanguíneos y la serología de infección, por ejemplo, para determinar simultáneamente marcadores de grupos sanguíneos, parámetros víricos o bacterianos o para la determinación de un grupo sanguíneo en combinación con la determinación de anticuerpos contra trombocitos o linfocitos o para la determinación de un grupo sanguíneo en combinación con la prueba sérica inversa. Para ello, puede usarse sangre completa anticoagulada o nativa en la que
 25 antes de la determinación no deben separarse de forma laboriosa eritrocitos y la fracción sérica o plasmática entre sí. La determinación puede realizarse en formato manual, que excluye completamente aparatos (incluyendo la corriente eléctrica).

La membrana del dispositivo según la invención es una membrana porosa. Los materiales de membrana preferidos
 30 son, por ejemplo, nitrocelulosa (por ejemplo, UniSart (marca registrada) de Sartorius, HiFlow (marca registrada) de Millipore, Whatman, AE99 o FF85/100 de Schleicher & Schuell), polietileno (Lateral Flo (marca registrada) de Porex Corporation) o nailon (Novylon (marca registrada) de CUNO). Preferiblemente, la membrana presenta un tamaño de poro lo mayor posible, ya que una alta porosidad de la membrana favorece la penetración particularmente de componentes celulares de la muestra a determinar, por ejemplo de eritrocitos, en la estructura porosa. Es especialmente ventajoso el empleo de membranas receptoras. El dispositivo según la invención no está sin embargo
 35 limitado a estas propiedades. Se prefieren todas las membranas con una alta velocidad de flujo capilar (Capillary Speed), en la que la velocidad de flujo capilar es el tiempo que requiere una solución coloreada en recorrer 40 mm de una membrana dada. Se prefieren especialmente membranas cuya velocidad de flujo capilar es < 100.

En la forma de realización bidireccional con dos membranas distintas, una membrana tiene preferiblemente una alta
 40 velocidad de flujo capilar, preferiblemente < 100, y la otra membrana preferiblemente una baja velocidad de flujo capilar, preferiblemente > 100.

En una forma de realización preferida de la invención, se dispone un elemento sellante sobre la membrana porosa
 en la dirección de flujo detrás de la zona de alimentación y antes de las zonas indicadoras del dispositivo según la invención. Se aplican elementos sellantes bi- o tridimensionales que se colocan sobre la membrana porosa y con los que se crea una zona de aplicación de muestra separada del resto de la superficie de la membrana porosa. El
 45 elemento sellante tiene según la invención principalmente el efecto de barrera de líquido y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa. Además, el elemento sellante sella según la invención la zona de alimentación de muestra para evitar una transferencia de líquido indeseada a otras regiones de la disposición del dispositivo de flujo lateral.

Las formas de realización preferidas del elemento sellante son la forma de nervadura, cubeta o embudo. La
 50 conformación del elemento sellante se realiza mediante procesos de corte del material usado para la fabricación del elemento sellante. En el caso de forma de embudo o cubeta, el elemento sellante obtiene una abertura interna cuyas variantes de realización preferidas son formas redondas, cuadradas o rectangulares, en el caso de forma de embudo, las formas con estrechamiento del elemento sellante en la parte inferior (parte en contacto con la membrana).

Son materiales preferidos para el elemento sellante materiales que no son hidrófobos. En una forma de realización
 55 especial, los materiales están recubiertos por un lado con una película de adhesivo, por ejemplo un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Por tanto, el elemento sellante puede adherirse directamente sobre la superficie de la membrana porosa. Como alternativa, el elemento sellante puede unirse con la carcasa de flujo lateral, por ejemplo pegarse, en el que en esta realización la carcasa de flujo lateral comprime el elemento sellante
 60 sobre la superficie de la membrana porosa y por tanto consigue las funciones del elemento sellante.

Son materiales preferidos para la formación de elementos sellantes bidimensionales cualquier forma de cintas adhesivas o láminas adhesivas (por ejemplo, Tesa 4124 de Beiersdorf AG, ARcare 7815 de Adhesives Research).

5 Son materiales preferidos para la formación de elementos sellantes tridimensionales materiales elastoméricos flexibles, de poros cerrados o materiales de silicona flexibles con distintos grosores de material, preferiblemente 3-5 mm (por ejemplo, caucho celular EPDM140 de Pitzner, caucho de silicona o caucho completo, de dureza 40° o menor, de Castan).

10 Mediante esta configuración según la invención, el dispositivo según la invención es capaz de captar muestras líquidas que contienen células, como por ejemplo sangre completa, sin separar por filtración las células. Además, el elemento sellante permite la aplicación de volúmenes grandes de muestra sobre la membrana porosa (zona de alimentación) sin que esta se inunde. Por tanto, el elemento sellante apoya el aprovechamiento de las propiedades receptoras de la membrana porosa. Además, el elemento sellante garantiza un flujo de muestra dirigido. El dispositivo según la invención puede funcionar bien sin embargo con o sin elemento sellante.

15 Para la región de absorción (almohadilla de absorción) del dispositivo según la invención, se prefieren materiales mecánicamente estables, preferiblemente con capacidades de absorción de agua de 20-30 g/100 cm² (por ejemplo, Wicking Papier, tipo 300, Schleicher und Schüll). El contacto entre la almohadilla de absorción y la membrana de flujo lateral del dispositivo según la invención se produce mediante presión y superposición con la membrana porosa. La colocación exacta de la almohadilla de absorción sobre la membrana se consigue mediante la adhesión de la almohadilla de absorción con la capa de soporte (backing sheet) portadora de la membrana de flujo lateral.

20 La almohadilla de conjugado está compuesta preferiblemente por fibras de vidrio o celulosa y tiene preferiblemente la propiedad de retardar el flujo de eritrocitos nativos.

25 Los analitos a ensayar con el dispositivo según la invención se encuentran preferiblemente en fluidos corporales humanos o animales, por ejemplo en orina, sangre, suero, plasma, saliva o constituyentes de los mismos, en productos sanguíneos o plasmáticos terapéuticos como concentrados de eritrocitos, concentrados de trombocitos o plasma fresco congelado o componentes de los mismos (muestra/muestras). La/s muestra/s en que se analiza/n determinados analitos se aplican sobre la zona de alimentación del dispositivo según la invención.

30 En una forma de realización adicional, los componentes del dispositivo según la invención se aplican sobre una base o capa de soporte con fines de reforzamiento mecánico. El dispositivo según la invención puede funcionar sin embargo con o sin capa de soporte. Se prefieren materiales mecánicamente estables y no hidrófobos, preferiblemente con grosores de material de 100 µm o más, que están recubiertos por uno o dos lados con una película adhesiva, por ejemplo, un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo (por ejemplo, poliéster de 0,005" W/GL-187, G & L). Se fijan sobre la capa de soporte la membrana porosa y la almohadilla de absorción. En caso de una capa de soporte adhesiva por ambos lados, se utiliza el segundo lado adhesivo para la fijación del apilamiento sobre otras superficies, por ejemplo, dentro de la carcasa de flujo lateral.

35 En otra forma de realización, se integra el dispositivo según la invención, con o sin capa de soporte sobre la que se aplican los componentes del dispositivo según la invención, en una carcasa, con lo que los componentes de membrana se comprimen entre sí y la carcasa ejerce la función de elemento sellante. A este respecto, el dispositivo según la invención puede funcionar sin embargo igualmente bien con o sin carcasa.

40 Es otro objeto de la invención el uso del dispositivo según la invención para el análisis de fluidos corporales de personas o animales, particularmente para el diagnóstico médico, por ejemplo en el campo de la serología de grupos sanguíneos, la microbiología o el campo veterinario, para diagnosticar preferiblemente enfermedades, indicar formas de terapia y determinar antígenos o anticuerpos de grupos sanguíneos, la presencia o cantidad de medicamentos y/o drogas. Preferiblemente, se usan a este respecto como muestra/s fluidos corporales o de excreción humanos o animales como, por ejemplo, orina, saliva, heces, fluido peritoneal, sangre, plasma, suero, células sanguíneas, líquido sinovial, líquido lacrimal, cerebroespinal, pancreático o bilis, productos sanguíneos y plasmáticos terapéuticos
45 como concentrados de eritrocitos, concentrados de trombocitos o plasma fresco congelado, o componentes de los mismos. Como otras muestras para análisis, se tienen en consideración, por ejemplo, agua potable, agua de piscina o muestras de tierra.

A continuación, se ilustran los ejemplos de realización de la invención mediante las figuras adjuntas.

50 la Fig. 1 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE;

la Fig. 2 muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 1 para ensayos de flujo lateral;

55 la Fig. 3 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE, ejecutado con un elemento sellante tridimensional en forma de nervadura;

- la Fig. 4 muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 3 para ensayos de flujo lateral;
- la Fig. 5 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE, ejecutado con un elemento sellante tridimensional en forma de cubeta;
- la Fig. 6 muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 5 para ensayos de flujo lateral;
- la Fig. 7 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D, C, c, E, e, Cw y K;
- la Fig. 8 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la práctica de la prueba de Coombs directa;
- la Fig. 9 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos, prueba sérica inversa y ensayo de búsqueda de anticuerpos en receptores;
- la Fig. 10 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos, prueba sérica inversa y ensayo de búsqueda de anticuerpos en donantes;
- la Fig. 11 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y la detección de anticuerpos específicos de enfermedades infecciosas;
- la Fig. 12 muestra una representación de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y la detección de anticuerpos contra antígenos trombocíticos.
- la Fig. 13 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE.
- la Fig. 14 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE.
- la Fig. 15 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE.
- la Fig. 16 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE.
- la Fig. 17 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral con flujo bidireccional para la determinación simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y prueba sérica inversa;
- la Fig. 18 muestra una representación en despiece del dispositivo según la invención representado en la Fig. 17 para ensayos de flujo lateral.
- la Fig. 19 muestra una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayo de flujo lateral con flujo bidireccional para la determinación simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y prueba sérica inversa;
- la Fig. 20 muestra una representación en despiece del dispositivo según la invención representado en la Fig. 17 para ensayos de flujo lateral.

En la Fig. 1, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte 1 provista con un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, en la que una parte de la almohadilla de absorción 3 se superpone con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre el lado superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de la zona indicadora 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI en forma de punto

dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocítico (policlonales)

- 5 La zona indicadora VI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras. En la Fig. 2, se muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 1 para ensayos de flujo lateral, que está compuesto por los componentes capa de soporte 1, membrana porosa 2, almohadilla de absorción 3 y elemento sellante 4, que separa la zona de alimentación 5 del resto de la membrana, que contiene a su vez la región de zonas indicadoras 6 con las zonas indicadoras I-VI dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal.
- 10 En la Fig. 3, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. En el presente ejemplo, los componentes del dispositivo corresponden a los componentes del dispositivo representado en la Fig. 1. con excepción del elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de nervadura que está fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2.
- 15 En la Fig. 4, se muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 3 para ensayos de flujo lateral con los componentes capa de soporte 1, membrana porosa 2, almohadilla de absorción 3 y elemento sellante tridimensional 4 ejecutado en forma de nervadura, que separa la zona de alimentación 5 del resto de la membrana, que contiene a su vez la región de zonas indicadoras 6 con las zonas indicadoras I-VI dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal.
- 20 En la Fig. 5, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. En el presente ejemplo, los componentes del dispositivo corresponden a los componentes del dispositivo representado en la Fig. 1, con excepción del elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta que está fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2.
- 25 En la Fig. 6, se muestra una representación en despiece del dispositivo representado en la Fig. 5 para ensayos de flujo lateral con los componentes capa de soporte 1, membrana porosa 2, almohadilla de absorción 3 y elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta, que separa la zona de alimentación 5 del resto de la membrana, que contiene a su vez la región de zonas indicadoras 6 con las zonas indicadoras I-VI dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal.
- 30 En la Fig. 7, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D, C, c, E, e, Cw y K. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte 1 provista con un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3,
- 35 se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-XI en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:
- 40

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-C (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Anti-c (monoclonales)
VII	Anticuerpos	Anti-E (monoclonales)
VIII	Anticuerpos	Anti-e (monoclonales)
IX	Anticuerpos	Anti-Cw (monoclonales)
X	Anticuerpos	Anti-K (monoclonales)
XI	Anticuerpos	Antieritrocítico (policlonales)

La zona indicadora XI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

- 5 En la Fig. 8, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la práctica de la prueba de Coombs directa. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte 1 provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I y II en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	IgG anti-humana (policlona)
II	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora II es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos.

- 20 En la Fig. 9, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos, la prueba sérica inversa y el ensayo de búsqueda de anticuerpos en receptores. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte 1 provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-XII en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, comprendiendo las zonas indicadoras I-VIII la región de zonas indicadoras de prueba sérica inversa/ensayo de búsqueda de anticuerpos y las zonas indicadoras IX-XII la región de zonas indicadoras para la determinación de los grupos sanguíneos, y que está compuesto por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
<i>Región de las zonas indicadoras: prueba sérica inversa/ensayo de búsqueda de anticuerpos</i>		
I	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A1
II	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A2
III	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo B
IV	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo 0
V	Eritrocitos fantasma	Células de investigación 1, grupo sanguíneo 0, R1R1 ^w
VI	Eritrocitos fantasma	Células de investigación 2, grupo sanguíneo 0, R2R2
VII	Eritrocitos fantasma	Células de investigación 3, grupo sanguíneo 0, rr
VIII	Anticuerpos	IgG/IgM antihumanas
<i>Región de las zonas indicadoras: determinación de grupos sanguíneos</i>		
IX	Anticuerpos	Anti-A (monoclonal)
X	Anticuerpos	Anti-B (monoclonal)
XI	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonal)
XII	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonal)

5 La zona indicadora VIII es el control (ctl) de la prueba sérica inversa y del ensayo de búsqueda de anticuerpos y contiene IgG/IgM antihumanas. La zona indicadora XII es el control (ctl) de la determinación de grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

10 En la Fig. 10, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos, la prueba sérica inversa y el ensayo de búsqueda de anticuerpos en donantes. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-X en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, comprendiendo las zonas indicadoras I-VI la región de zonas indicadoras de la prueba sérica inversa/ensayo de búsqueda de anticuerpos y las zonas indicadoras VII-X la región de zonas indicadoras para la 20 determinación de los grupos sanguíneos, y que está compuesto por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
<i>Región de las zonas indicadoras: prueba sérica inversa/ensayo de búsqueda de anticuerpos</i>		
I	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A1
II	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A2
III	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo B
IV	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo 0

V	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo 0, conjunto de células de investigación 1, 2, 3 (véase la descripción de la Fig. 9)
VI	Anticuerpo	IgG/IgM antihumanas
<i>Región de las zonas indicadoras: determinación de grupos sanguíneos</i>		
VII	Anticuerpo	Anti-A (monoclonal)
VIII	Anticuerpo	Anti-B (monoclonal)
IX	Anticuerpo	Anti-AB (monoclonal)
X	Anticuerpo	Antieritrocíticos (policlinal)

La zona indicadora VI es el control (ctl) de la prueba sérica inversa y del ensayo de búsqueda de anticuerpos y contiene IgG/IgM antihumanas. La zona indicadora X es el control (ctl) para la determinación de grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlinales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

En la Fig. 11, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y anticuerpos contra agentes infecciosos. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-XII en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, comprendiendo las zonas indicadoras I-VI la región de zonas indicadoras de la detección de marcadores de infección y las zonas indicadoras VII-XII la región de zonas indicadoras para la determinación de los grupos sanguíneos, y que está compuesto por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
<i>Región de zonas indicadoras: detección de marcadores de infección</i>		
I	Péptidos sintéticos	VIH-1 (gp-14, gp-42)
II	Péptidos sintéticos	VIH-2 (gp-36)
III	Anticuerpos	Anti-HBsAg (monoclonal)
IV	Antígenos recombinantes	HCV (C-100, C-200, C33c, c22)
V	Antígeno recombinante	Sífilis (TpN 15, TpN 17, TpN 47)
VI	Anticuerpos	IgG/IgM antihumanas
<i>Región de zonas indicadoras: determinación de grupos sanguíneos</i>		
VII	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
VIII	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
IX	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
X	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
XI	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
XII	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlinales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) para la determinación de anticuerpos contra agentes infecciosos y contiene IgG/IgM antihumanas. La zona indicadora XII es el control (ctl) para la determinación de grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

- 5 En la Fig. 12, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral para la práctica simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y la detección de anticuerpos contra antígenos trombocíticos. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-IX en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, comprendiendo las zonas indicadoras I-III la región de zonas indicadoras la detección de anticuerpos contra antígenos trombocíticos y las zonas indicadoras IV-IX la región de zonas indicadoras para la determinación de los grupos sanguíneos, y que está compuesto por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
<i>Región de zonas indicadoras: detección de anticuerpos contra antígenos trombocíticos</i>		
I	Proteínas de membrana	Trombocitos, HPA 1bb3aa5bb
II	Proteínas de membrana	Trombocitos, HPA 1aa3bb5aa
III	Anticuerpos	IgG/IgM antihumanas
<i>Región de zonas indicadoras: determinación de los grupos sanguíneos</i>		
IV	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
VII	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
VIII	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
IX	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

- 20 La zona indicadora III es el control (ctl) para la detección de anticuerpos contra antígenos trombocíticos y contiene IgG/IgM antihumanas. La zona indicadora IX es el control (ctl) para la determinación de grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

- 25 En la Fig. 13, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. El presente ejemplo representa un dispositivo de ensayo de flujo lateral para diestros y está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas dispuestas en una serie lineal espaciadas adyacentes paralelas, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

- 5 En la Fig. 14, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. El presente ejemplo representa un dispositivo de ensayo de flujo lateral para zurdos y está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas dispuestas en una serie lineal espaciadas adyacentes paralelas, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

- 20 La zona indicadora VI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

- En la Fig. 15, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayo de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. El presente ejemplo representa un dispositivo de ensayos de flujo lateral para diestros y está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI alargadas o en forma de banda dispuestas en posiciones X e Y definidas dispuestas espaciadas adyacentes paralelas, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

5 En la Fig. 16, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo para ensayos de flujo lateral para la determinación simultánea de los marcadores de grupos sanguíneos A, B, AB, D y CDE. El presente ejemplo representa un dispositivo de ensayo de flujo lateral para zurdos y está compuesto por una capa de soporte 1, la membrana porosa 2, la almohadilla de absorción 3 y el elemento sellante 4 bidimensional ejecutado en forma de nervadura. A este respecto, la membrana porosa 2 está fijada sobre la capa de soporte provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión o autoadhesivo. Igualmente, la almohadilla de absorción 3 está fijada sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de la almohadilla de absorción 3 con la membrana porosa 2. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de la membrana porosa 2 separa la zona de alimentación 5 del resto de la superficie de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en la membrana porosa 2. Entre la zona de alimentación 5 y la región de la membrana porosa 2 que está en contacto con la almohadilla de absorción 3, se dispone la región de zonas indicadoras 6. Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI alargadas o en forma de banda dispuestas en posiciones X e Y definidas dispuestas espaciadas adyacentes paralelas, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a todas las demás zonas indicadoras.

20 En la Fig. 17, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayos de flujo lateral con flujo bidireccional para la determinación simultánea de los grupos sanguíneos y la prueba sérica inversa. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, una membrana porosa 2a para la determinación de los grupos sanguíneos, una membrana porosa 2b distinta de la membrana 2a para la prueba sérica inversa, las almohadillas de absorción 3a y 3b, un elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta y una almohadilla de conjugado 6. A este respecto, las membranas porosas 2a y 2b están fijadas sobre la capa de soporte 1 provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión. Igualmente, las almohadillas de absorción 3a y 3b están fijadas sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de las almohadillas de absorción 3a y 3b con las membranas porosas 2a y 2b. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de las membranas porosas 2a y 2b separa las zonas de alimentación 5a o 5b del resto de las superficies de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en las membranas porosas 2a y 2b. Entre la zona de alimentación 5a y la región de la membrana porosa 2a que está en contacto con la almohadilla de absorción 3a, está dispuesta la región de zonas indicadoras 7a (determinación de grupos sanguíneos). Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras de la región de zonas indicadoras 7a están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	Anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) para la determinación de los grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a las zonas indicadoras I-V.

- 5 Entre la zona de alimentación 5b y la región de la membrana porosa 2b que está en contacto con la almohadilla de absorción 3b, está dispuesta la región de zonas indicadoras 7b (prueba sérica inversa). Esta está formada por las zonas indicadoras VII-IX en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras de la región de zonas indicadoras 7b están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
VII	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A
VIII	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo B
IX	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo 0 (control)

- 10 En la Fig. 18, se muestra una representación en despiece del dispositivo según la invención representado en la Fig. 17 para ensayos de flujo lateral con flujo bidireccional, que está compuesto por los componentes capa de soporte 1, una membrana porosa 2a para la determinación de los grupos sanguíneos, una membrana porosa 2b distinta de la membrana 2a para la prueba sérica inversa, las almohadillas de absorción 3a y 3b, un elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta y una almohadilla de conjugado 6. La zona de alimentación de muestra se extiende por ambas membranas porosas con la zona de alimentación de muestra 5a de la membrana 2a y la zona de alimentación de muestra 5b de la membrana 2b y se separa por el elemento sellante 4 ejecutado en forma de cubeta del resto de superficies de las membranas 2a y 2b. La membrana 2a contiene la región de zonas indicadoras 7a con las zonas indicadoras I-VI dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal, mientras que la membrana 2b de la región de zonas indicadoras 7b contiene las zonas indicadoras VII-IX dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a diagonal.

- 25 En la Fig. 19, se muestra por ejemplo una representación en perspectiva de un dispositivo según la invención para ensayo de flujo lateral con flujo bidireccional para la determinación simultánea de la determinación de grupos sanguíneos y la prueba sérica inversa. En el presente ejemplo, el dispositivo está compuesto por una capa de soporte 1, una membrana porosa 2a para la determinación de los grupos sanguíneos, una membrana porosa 2b distinta de la membrana 2a para la prueba sérica inversa, las almohadillas de absorción 3a y 3b, un elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta y una almohadilla de conjugado 6. A este respecto, las membranas porosas 2a y 2b están fijadas sobre la capa de soporte 1 provista de un adhesivo de acrilato sensible a la presión. Igualmente, las almohadillas de absorción 3a y 3b están fijadas sobre la capa de soporte 1, superponiéndose una parte de las almohadillas de absorción 3a y 3b con las membranas porosas 2a y 2b. El elemento sellante 4 fijado sobre la parte superior de las membranas porosas 2a y 2b separa las zonas de alimentación 5a o 5b del resto de las superficies de membrana y posibilita la distribución dirigida del líquido de muestra y los reactivos de ensayo en las membranas porosas 2a y 2b. Entre la zona de alimentación 5a y la región de la membrana porosa 2a que está en contacto con la almohadilla de absorción 3a, está dispuesta la región de zonas indicadoras 7a (determinación de grupos sanguíneos). Esta está formada por las zonas indicadoras I-VI en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
I	Anticuerpos	Anti-A (monoclonales)
II	Anticuerpos	Anti-B (monoclonales)
III	Anticuerpos	Anti-AB (monoclonales)
IV	Anticuerpos	Anti-D (monoclonales)
V	Anticuerpos	Anti-CDE (monoclonales)
VI	anticuerpos	Antieritrocíticos (policlonales)

La zona indicadora VI es el control (ctl) para la determinación de los grupos sanguíneos y contiene anticuerpos policlonales antieritrocíticos. Se encuentra dispuesta distal a las zonas indicadoras I-V.

- 5 Entre la zona de alimentación 5b y la región de la membrana porosa 2b que está en contacto con la almohadilla de absorción 3b, está dispuesta la región de zonas indicadoras 7b (prueba sérica inversa). Esta está formada por las zonas indicadoras VII-IX en forma de punto dispuestas en posiciones X e Y definidas espaciadas en diagonal, en la que las zonas indicadoras de la región de zonas indicadoras 7b están compuestas por los siguientes elementos de unión:

Zona indicadora	Elemento de unión	Especificación
VII	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo A
VIII	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo B
IX	Eritrocitos fantasma	Grupo sanguíneo 0 (control)

10

En la Fig. 20, se muestra una representación en despiece del dispositivo según la invención representado en la Fig. 19 para ensayos de flujo lateral con flujo bidireccional, que está compuesto por los componentes capa de soporte 1, una membrana porosa 2a para la determinación de los grupos sanguíneos, una membrana porosa 2b distinta de la membrana 2a para la prueba sérica inversa, las almohadillas de absorción 3a y 3b, un elemento sellante 4 tridimensional ejecutado en forma de cubeta y una almohadilla de conjugado 6. La zona de alimentación de muestra se extiende por ambas membranas porosas con la zona de alimentación de muestra 5a de la membrana 2a y la zona de alimentación de muestra 5b de la membrana 2b y se separa por el elemento sellante 4 ejecutado en forma de cubeta del resto de superficies de las membranas 2a y 2b. La membrana 2a contiene la región de zonas indicadoras 7a con las zonas indicadoras I-VI dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal, mientras que la membrana 2b de la región de zonas indicadoras 7b contiene las zonas indicadoras VII-IX dispuestas espaciadas en diagonal de proximal a distal.

15

20

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para la determinación cualitativa o cuantitativa simultánea de varios analitos unidos a célula y plasmáticos, en el que al menos un analito es un analito unido a célula, en una muestra líquida, que comprende al menos una membrana (2) con
 - 5 - una zona de alimentación (5) para la aplicación de la muestra líquida,
 - al menos un grupo de al menos dos zonas indicadoras que pueden interactuar con los analitos y
 - al menos una región de absorción (4) que capta el líquido después de pasar por las zonas indicadoras,

en el que las zonas indicadoras se encuentran entre la zona de alimentación (5) y una región de absorción (3), caracterizado porque las direcciones de flujo de la zona de alimentación a través de las respectivas zonas indicadoras de un grupo son esencialmente paralelas a una región de absorción (carriles de flujo) y presentan al menos dos carriles de flujo distintos y,

10 en caso de reaccionar las zonas indicadoras con más de un analito unido a célula, las zonas indicadoras para estos analitos no están dispuestas consecutivamente y

15 en el que las zonas indicadoras están dispuestas de modo que la zona indicadora del analito unido a célula está dispuesta distal a la zona de alimentación y la zona indicadora del analito plasmático proximal a la zona de alimentación.
2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que las zonas indicadoras se disponen de modo que el líquido de muestra no atraviese más de una zona indicadora por carril de flujo.
3. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que las zonas indicadoras se disponen en forma diagonal, en V, W, M o N o en serie lineal.
 4. Dispositivo según una de las reivindicación 1 a 3, en el que las zonas indicadoras comprenden anticuerpos o fragmentos de anticuerpo, lectinas, antígenos o epítopos antigénicos y/o células o fragmentos celulares.
 5. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que las zonas indicadoras comprenden particularmente anticuerpos anti-A, B, AB, D, C, c, E, e, Cw y/o K o fragmentos de anticuerpos.
6. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la membrana o las membranas (2) están compuestas preferiblemente por polietileno, nitrocelulosa o nailon.
7. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que detrás de la zona de alimentación (5) y delante de las zonas indicadoras sobre la membrana o membranas (2) está dispuesto al menos un elemento sellante (4).
8. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la zona de alimentación y las zonas indicadoras comprenden dos membranas distintas.
 9. Dispositivo según la reivindicación 8, en el que en una de las dos membranas detrás del elemento sellante y delante de las zonas indicadoras se aplica una almohadilla de conjugado.
 10. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 9, en el que los componentes del dispositivo se aplican para reforzamiento mecánico sobre una capa de soporte (1).
 11. Dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 10, en el que los componentes del dispositivo se integran en una carcasa.
 12. Uso del dispositivo según una de las reivindicaciones 1 a 11 para el análisis de sangre, plasma sanguíneo, células sanguíneas, suero, orina o saliva o constituyentes de los mismos.

40

Figura 1

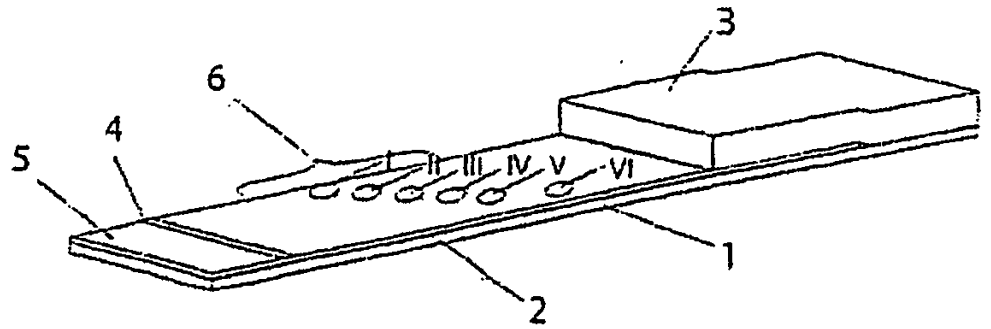


Figura 2

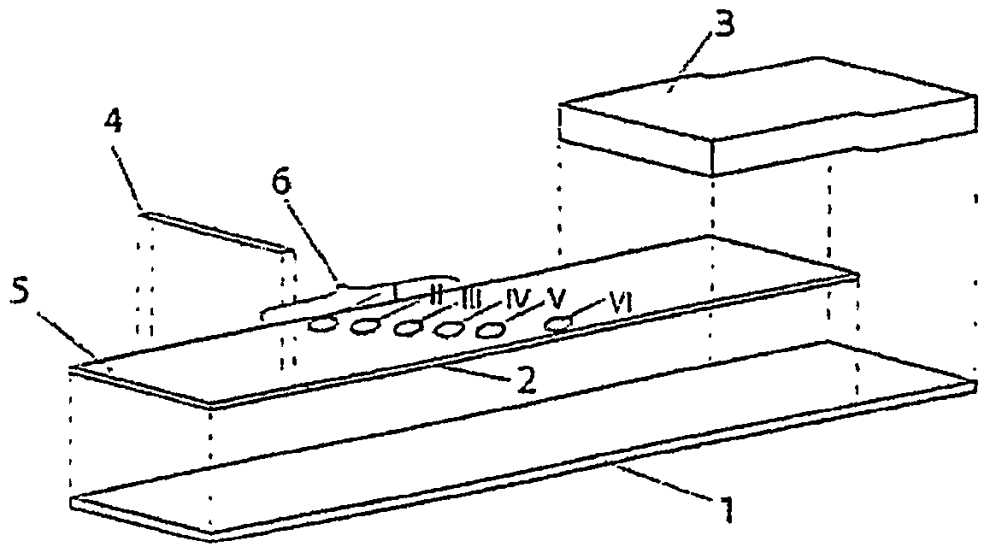


Figura 3

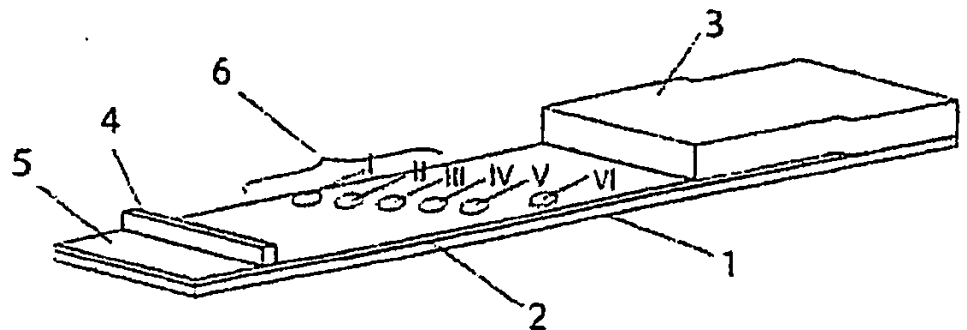


Figura 4

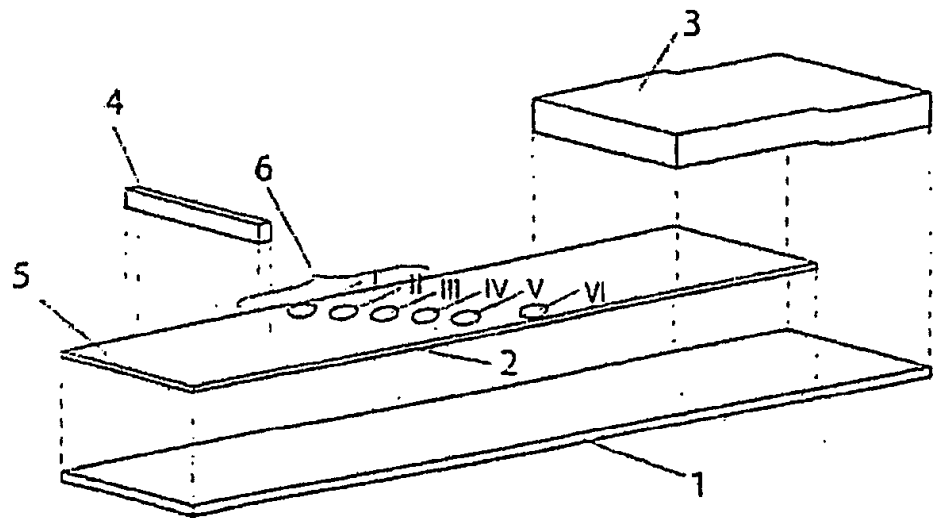


Figura 5

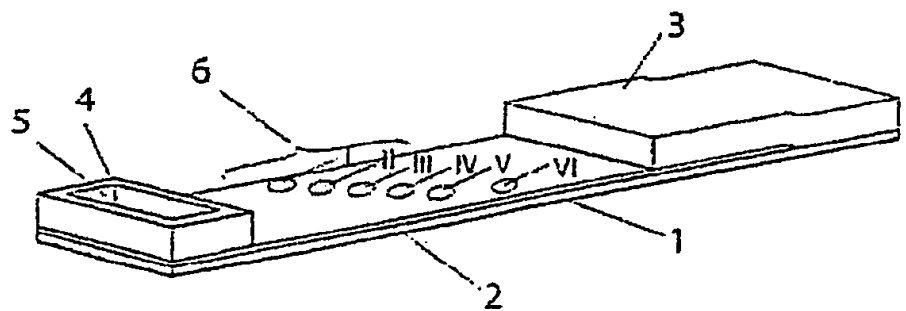


Figura 6

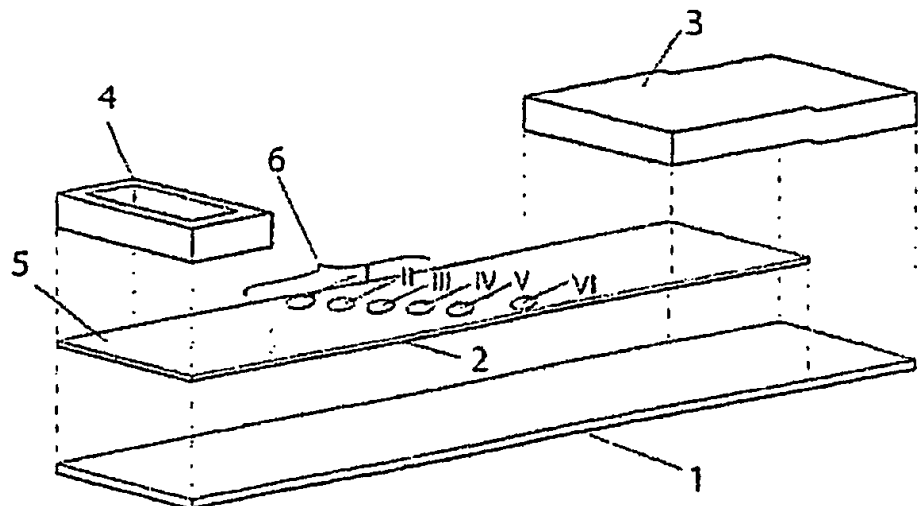


Figura 7

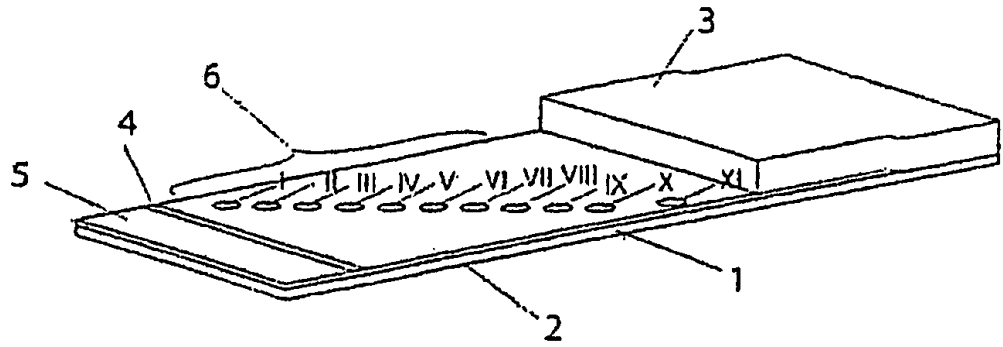


Figura 8

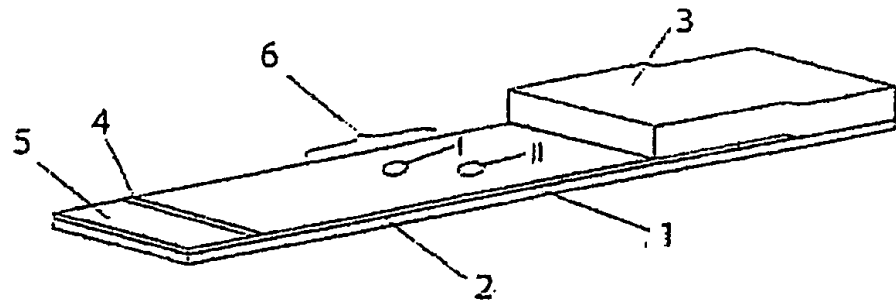


Figura 9

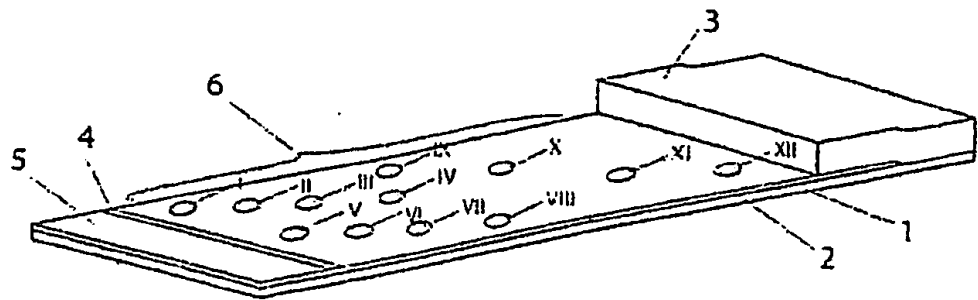


Figura 10

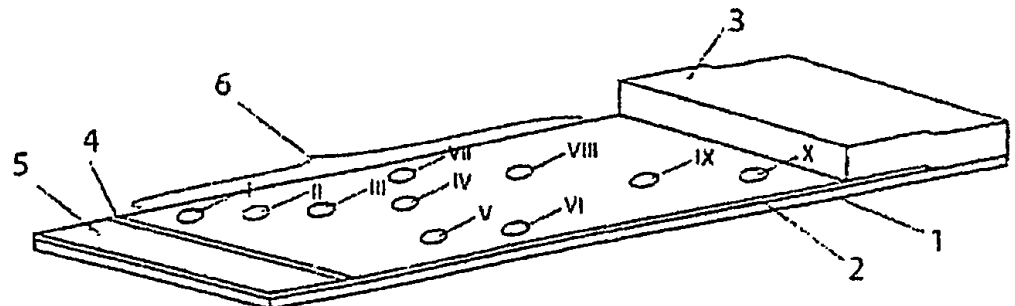


Figura 11

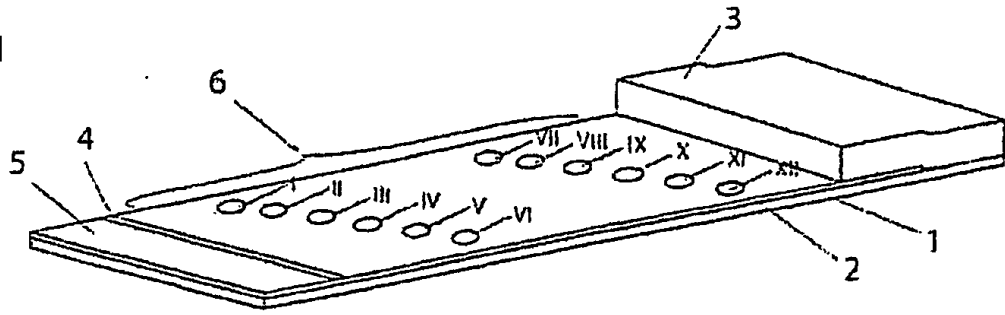


Figura 12

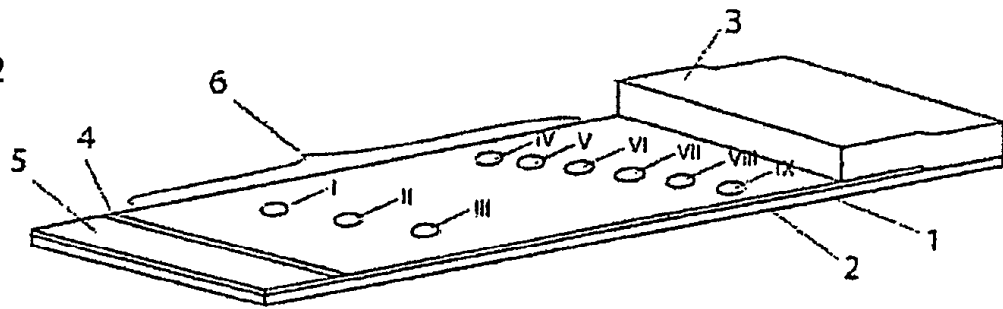


Figura 13

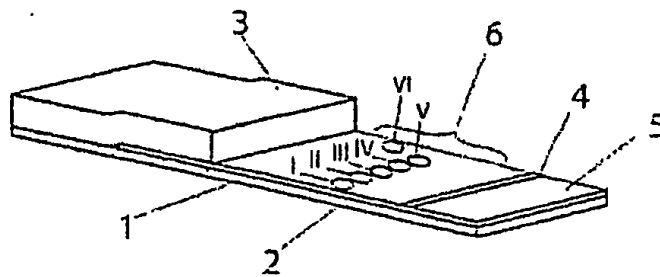


Figura 14

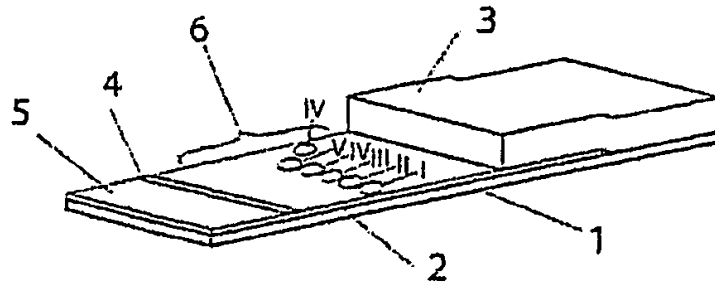


Figura 15

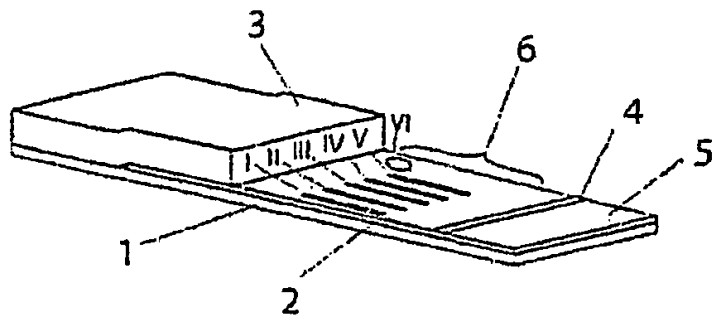


Figura 16

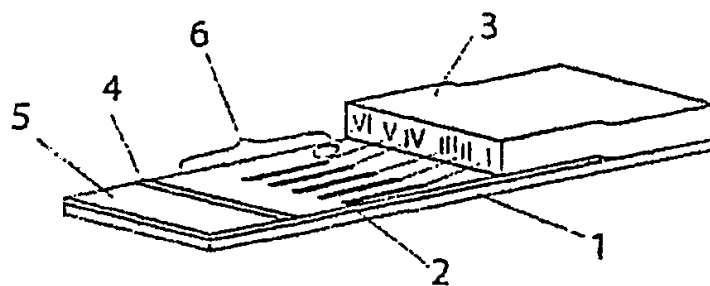


Figura 17

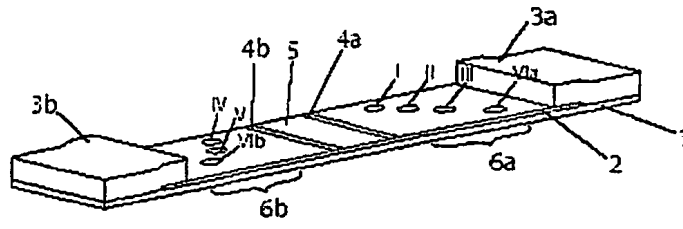


Figura 18

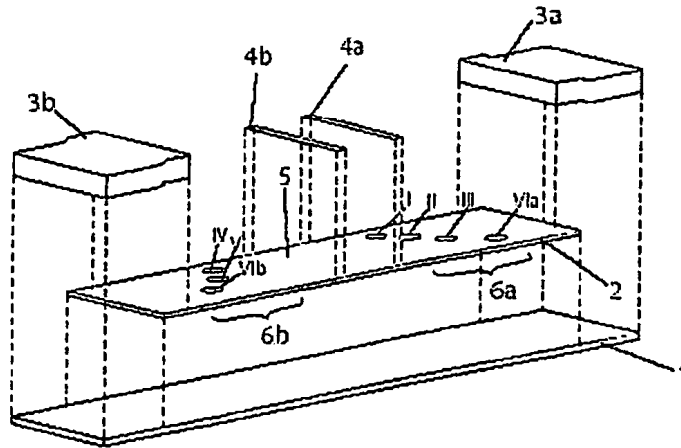


Figura 19

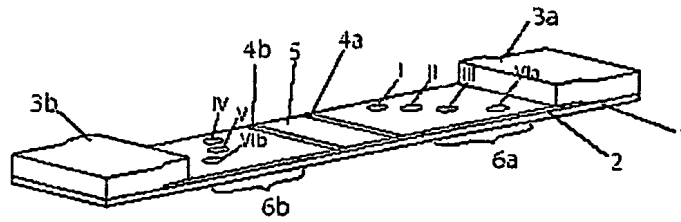


Figura 20

