

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 528**

51 Int. Cl.:
C12Q 1/00 (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **01123622 .1**
96 Fecha de presentación: **02.10.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1195441**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.04.2002**

54 Título: **Biosensor**

30 Prioridad:
06.10.2000 US 684257

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.04.2012

73 Titular/es:
F. Hoffmann-La Roche AG
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:
Bhullar, Raghbir Singh;
Wilsey, Christopher D. y
Hill, Brian S.

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

ES 2 378 528 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

Biosensor

5 Sector de la invención

La presente invención se refiere a un biosensor y, particularmente, a un biosensor que comprende, como mínimo, un rebaje.

10 Antecedentes y Resumen de la Invención

15 Los biosensores electroquímicos son conocidos. Han sido utilizados para determinar la concentración de diferentes analitos procedentes de muestras biológicas, particularmente sangre. Se describen biosensores en las patentes US Nos. 5.413.690; 5.762.770; 5.798.031; 5.997.817; EPO 964059. Los biosensores de dosificación superior que comprenden rebajes que aumentan el efecto capilar en la placa inferior del sensor son también conocidos por el documento JP 01134242.

20 La ablación por láser es una técnica conocida que usa un láser para eliminar material. Ver, por ejemplo las patentes US Nos. 5.576.073 y 5.593.739. Estos sistemas de ablación por láser utilizan un láser excimer de alta potencia, tal como un láser excimer de fluoruro de krypton, con una longitud de onda de iluminación de 248 nanómetros, para eliminar material de la superficie. También se han utilizado procedimientos de corte mediante una matriz para formar pocillos de reactivo que incluyen paredes que mantienen o retienen reactivos líquidos sobre la banda del sensor, manteniéndose secos. Ver, por ejemplo, las patentes USA Nos. 4.225.410 y 5.288.636.

25 De acuerdo con la presente invención, se da a conocer un biosensor, según la reivindicación 1.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se da a conocer un método para la formación de un biosensor, de acuerdo con la reivindicación 13.

30 Las características adicionales de la invención quedarán evidentes para los técnicos en la materia al considerar la descripción detallada siguiente de la realización preferente, que muestra un ejemplo de la mejor forma de realizar la invención.

35 Breve descripción de los dibujos

La descripción detallada se refiere, en especial, a las figuras adjuntas, en las que:

40 La figura 1 es una vista en perspectiva, con las piezas desmontadas, de un biosensor electroquímico, de acuerdo con la presente invención.

La figura 2 es una vista a mayor escala, con partes seccionadas del biosensor de la figura 1.

45 La figura 3 es una vista a mayor escala de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, que muestra el biosensor que incluye elementos de placa superior e inferior y pistas eléctricamente conductoras.

La figura 4 es una vista según las líneas 4-4 de la figura 3.

50 La figura 5 es una vista en perspectiva del elemento de placa inferior y pistas del biosensor de la figura 3, mostrando un dispositivo de ablación por láser, que forma ranuras en las pistas;

La figura 6 es una vista lateral a mayor escala del elemento de placa inferior y pistas de la figura 5;

55 La figura 7 es una vista según las líneas 7-7 de la figura 5;

La figura 8 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, mostrando el biosensor que incluye un elemento de placa superior, que tiene una abertura (vista translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo que define un área electroquímica y rebajes que circunscriben, como mínimo, una parte del área electroquímica;

60 La figura 9 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, mostrando el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (vista translúcida), un elemento de placa inferior, un electrodo de forma circular que define un área electroquímica, y rebajes que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica.

65

La figura 10 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, que muestra el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo de forma rectangular que define un área electroquímica, y rebajes que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica;

La figura 11 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, mostrando el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo que define un área electroquímica, y rebajes que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica;

La figura 12 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, mostrando el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo con forma de rueda, que tiene radios y que define un área electroquímica, y rebajes que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica;

La figura 13 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, mostrando el biosensor que incluye un elemento de placa superior, que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo intercalado que define un área electroquímica, y una serie de rebajes circulares individuales separados entre sí y que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica;

La figura 14 es una vista en planta de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, que muestra el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior, un conjunto de electrodo intercalado que define un área electroquímica, y una serie de rebajes de forma rectangular individuales separados entre sí, y que se circunscriben, como mínimo, a una parte del área electroquímica;

La figura 15 es una vista en planta de un biosensor fotométrico, de acuerdo con otro aspecto de la invención, que muestra el biosensor que incluye un elemento de placa superior que tiene una abertura (en representación translúcida), un elemento de placa inferior que tiene una zona de reacción predefinida, un rebaje continuo que se circunscribe a la zona de reacción, y un reactivo dispuesto dentro de dicha zona y que se extiende hacia dentro del rebaje;

La figura 16 es una vista en planta con partes seccionadas de un biosensor electroquímico, de acuerdo con otro aspecto de la invención; y

La figura 17 es una vista similar a la figura 16, mostrando una muestra de líquido aplicada al biosensor.

Descripción detallada de los dibujos

Un biosensor 10, de acuerdo con la presente invención, da a conocer un elemento de placa que tiene, como mínimo, un rebaje formado en el mismo. Los rebajes formados en el elemento de placa pueden ser separados o se puede formar un rebaje continuo en el elemento de placa. Cada uno de los rebajes puede estar formado en una serie de biosensores de diagnóstico, incluyendo, por ejemplo, biosensores electroquímicos y fotométricos. El objetivo de los rebajes es controlar el flujo de fluido sobre el elemento de placa y/o proporcionar un borde de alta capilaridad a una muestra de líquido, a efectos de retener la muestra dentro de los límites circunscritos. Se presentan varios aspectos de la invención en las figuras 1-17, que no están dibujadas a escala y en las que los componentes iguales se han numerado igual en las diferentes vistas.

Las figuras 1-2 muestran un aspecto de la invención en forma de biosensor electroquímico 10, que tiene un elemento 12 de placa superior, un elemento 14 de placa inferior formado de manera que incluye rebajes 34, un separador 15, vistas eléctricamente conductoras 16, 18, un reactivo 20 que se extiende sobre la parte de las pistas 16, 18 y rebajes 34 formados en el elemento de placa 14. El biosensor 10 es, de forma preferentemente, rectangular. Se observará, no obstante, que el biosensor 10 puede adoptar una serie de formas de acuerdo con esta invención. El biosensor 10 es producido, preferentemente, a partir de rollos de material. De este modo, cuando es producido a partir de rollos, la selección de materiales para la construcción del biosensor 10 requiere la utilización de materiales suficientemente flexibles para el procesamiento de rollos, pero que sean suficientemente rígidos para proporcionar una rigidez útil al biosensor terminado 10.

El elemento de placa inferior 14 del biosensor 10 comprende una primera superficie 22 que soporta las pistas conductoras 16, 18, y una segunda superficie opuesta 24. Ver figura 1. Además, el elemento de placa 14 tiene extremos opuestos 26, 28 y bordes 30, 32 que se extienden entre los extremos 26, 28. El elemento de fondo 14 puede estar realizado a partir de una amplia variedad de materiales aislantes. Se incluyen, entre los ejemplos no limitativos de materiales aislantes que proporcionan características estructurales deseables, cristal, cerámica, polímeros vinílicos, poliimidas, poliésteres, y materiales estirénicos. Preferentemente, el elemento de fondo 14 es un polímero flexible, tal como poliéster o poliimida. Un ejemplo no limitativo de material adecuado es plástico

Kaladex®, con un espesor de 5 milésimas de pulgada, un poliéster disponible comercialmente de la firma E.I. DuPont de Nemours, Wilmington, Delaware.

5 Adicionalmente, se forman rebajes 34 en la primera superficie 22 del elemento de placa inferior 14. Los rebajes 34 están formados en forma de canales, tienen extremos opuestos 43, 45, y cada uno de ellos está definido por un reborde 36, un piso 38, y paredes opuestas 40 que se extienden entre el reborde 36 y el piso 38. Ver figura 1. Las paredes opuestas 40 definen lados opuestos de los rebajes 34. Las paredes 40 están separadas entre sí y definen un ancho de rebaje 34 menor de unos 1000 μm . Preferentemente, la anchura del rebaje 34 es de 10 μm a 750 μm . Se observará, no obstante, que las paredes 40 pueden estar situadas en una serie de ángulos distintos con respecto a la perpendicular al piso 38, haciendo que la anchura de los rebajes varíe de acuerdo con esta invención. 10 Además, la altura de las paredes 40 de los rebajes es aproximadamente de 1 μm a 1500 μm . Preferentemente, las paredes 40 tienen una altura aproximada de 1 μm a 100 μm , y más preferentemente de 4 μm a 20 μm , aproximadamente.

15 Los biosensores, de acuerdo con la presente invención, están constituidos para incluir un área de reacción predefinida, en la que tiene lugar la detección. Cuando el biosensor es electroquímico, tal como se ha mostrado en las figuras 1-14 y 16-17, el área predefinida es un área electroquímica situada en una parte de los electrodos. Haciendo referencia a continuación a las figuras 1-2, el biosensor 10 incluye un área de reacción electroquímica 42, que está definida como el área de electrodos 44, en la que se sitúa el reactivo 20. Los rebajes 34 del biosensor 20 10 circunscriben, aproximadamente, el 90% del área 42. Se apreciará, no obstante, que los rebajes formados en biosensores de esta invención pueden circunscribir un área mayor o menor de 90% del área 42. De manera específica, los rebajes 34 circunscriben, como mínimo, aproximadamente, 44% del área 42, más preferentemente, como mínimo 70% del área 42, y de manera más preferente, como mínimo 90% del área 62.

25 Tal como se ha mostrado en la figura 2, las pistas electro-conductoras 16, 18 son creadas o aisladas sobre la primera superficie 24 del elemento inferior 14. Las pistas 16, 18 representan los electrodos del biosensor 10. Tal como se utiliza en esta descripción, la frase "juego de electrodos" es un juego de un mínimo de dos electrodos, por ejemplo, de 2 a 200, ó 3 a 20, electrodos. Estos electrodos pueden ser, por ejemplo, un electrodo de trabajo y un electrodo auxiliar. Las pistas 16, 18 cooperan para formar un dispositivo de electrodo intercalado 44 dispuesto dentro de la periferia de los rebajes 34 y patillas 46 que se prolongan del conjunto 44 entre los rebajes 34 hacia el extremo 28. 30

Las pistas 16, 18 están construidas a partir de materiales eléctricamente conductores. Se incluyen entre los ejemplos no limitadores de materiales eléctricamente conductores el aluminio, carbón (tal como grafito), cobalto, 35 cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (como amalgama), níquel, niobio, osmio, paladio, platino, renio, rodio, selenio, silicio (tal como silicio policristalino altamente dopado), plata, tántalo, estaño, titanio, tungsteno, uranio, vanadio, zinc, zirconio, mezclas de los mismos, y aleaciones, óxidos o compuestos metálicos de estos elementos. Preferentemente, las pistas comprenden oro, platino, paladio, iridio, o aleaciones de estos metales, dado que estos metales nobles y sus aleaciones no son reactivos en sistemas biológicos. De manera más preferente, la pista 16 es un electrodo de trabajo realizado a base de oro, y la pista 18 es un electrodo auxiliar que también está realizado en oro y que es sustancialmente de las mismas dimensiones que el electrodo de trabajo. 40

Las pistas 16, 18 son aisladas del resto de la superficie eléctricamente conductora mediante ablación por láser. Se conocen técnicas para la formación de electrodos sobre una superficie utilizando la ablación por láser. Ver, por ejemplo, la solicitud de patente USA No. 09/411.940, presentada el 4 de Octubre de 1999, titulada "LASER 45 DEFINED FEATURES FOR PATTERNED LAMINATES AND ELECTRODE" ("características determinadas por láser para laminados modelados y electrodo"). Las pistas 16, 18 son creadas, preferentemente, al eliminar material eléctricamente conductor de un área que se extiende alrededor de los electrodos. Por lo tanto, las pistas 16, 18 son aisladas del resto del material eléctricamente conductor sobre el sustrato 14 por un intersticio que tiene una anchura aproximada de 5 μm hasta unos 500 μm , preferentemente un intersticio tiene una anchura aproximada de unos 100 μm a unos 200 μm . De manera alternativa, se apreciará que las pistas 16, 18 pueden ser creadas mediante ablación por láser solamente sobre un sustrato de fondo 14. Además, las pistas 16, 18 pueden ser laminadas, serigrafadas o formadas por fotolitografía, de acuerdo con la presente invención. 50

55 También son posibles, disposiciones de electrodos múltiples, de acuerdo con esta invención. Por ejemplo, se prevé que se pueda constituir un biosensor que incluye una pista adicional eléctricamente conductora (no mostrada). En una disposición de tres electrodos, la primera pista un electrodo de trabajo, la segunda es un electrodo contador, y el tercer electrodo es un electrodo de referencia. También se apreciará que la disposición alternativa de tres electrodos es posible en caso de que las pistas sean electrodos de trabajo y que se disponga un tercer electrodo como electrodo auxiliar o de referencia, de acuerdo con esta invención. Se apreciará que el número de pistas, así como la separación entre las pistas en el conjunto 44, puede variar de acuerdo con esta invención, y que se puede formar una serie de disposiciones, tal como se apreciará por un técnico en la materia. 60

El reactivo 20 proporciona sondas electroquímicas para analitos específicos y es aplicado sobre el elemento de placa inferior 14, de manera tal que el reactivo 20 cubre la disposición 44. Un reactivo 20 es colocado sobre la 65

disposición 44. El reactivo 20 se extiende sobre la disposición 44 hasta alcanzar los rebajes 34. Se cree que, cuando el reactivo alcanza los bordes de los rebajes 34, la energía superficial entre el conjunto 44 y el elemento de placa superior 12 disminuye por debajo de la tensión superficial del reactivo 20 conservando el reactivo 20 sobre la disposición 44. De manera adicional, el reactivo 20 es sometido a tracción a lo largo de los bordes de los rebajes 34, lo cual contribuye a la extensión del reactivo 20 dentro de los límites de la disposición 44. Se cree que ambos bordes de los rebajes 34 actúan como bloque y ayudan a extender el reactivo alrededor del perímetro de la disposición 44. Por lo tanto, cuando una cantidad predeterminada adecuada de reactivo líquido es colocada sobre el elemento de placa 14, el reactivo 20 se extiende sobre la superficie, hasta que encuentra los rebajes 34 para formar un perfil de reactivo que tiene un grosor de productos químicos, de modo general, uniforme, lo que permite un análisis exacto. No obstante, cuando se aplica un exceso de reactivo líquido 34 al elemento de placa 14, el reactivo 20 se desbordará hacia dentro de los rebajes.

La elección del reactivo específico 20 depende del analito o analitos específicos a medir, y son bien conocidos por los técnicos ordinarios en la materia. Un ejemplo de un reactivo que puede ser utilizado en el biosensor 10 de la presente invención es un reactivo para medir glucosa a partir de una muestra de sangre íntegra. Un ejemplo no limitativo de un reactivo para la medición de glucosa en una muestra de sangre íntegra contiene 62,2 mg de óxido de polietileno (peso molecular medio de 100-900 kilo Daltons), 3,3 mg NATROSOL 244M, 41,5 mg AVICEL RC-591 F, 89,4 mg de fosfato potásico monobásico, 157,9 mg de fosfato potásico dibásico, 437,3 mg de ferricianuro potásico, 46,0 mg de succinato sódico, 148,0 mg de trehalosa, 2,6 mg de tensoactivo TRITON X-100, y de 2.000 a 9.000 unidades de actividad de enzima por gramo de reactivo. La enzima es preparada como solución de enzima, a partir de 12,5 mg de coenzima PQQ y 1,21 millones de unidades de la apoenzima de la quinoproteína glucosa dehidrogenasa. El reactivo es descrito adicionalmente en la patente USA No. 5.997.817.

Cuando se tiene que determinar el hematocrito, el reactivo incluye formas oxidadas y reducidas de un compuesto electroactivo reversible (hexacianocerrato (III) de potasio ("ferricianuro") y hexacianoferrato (II) de potasio ("ferricianuro"), respectivamente), un electrolito (tampón de fosfato potásico), y un material microcristalino (Avicel RC-591F, mezcla de 88% de celulosa microcristalina y 12% de carboximetilcelulosa sódica, disponible de FMC Corp.). Las concentraciones de los componentes dentro del reactivo antes del secado son las siguientes: ferricianuro 400 milimolar (mM) ferricianuro 55 mM, fosfato potásico 400 mM, y 2,0% (peso: volumen) Avicel. Otra descripción del reactivo para un ensayo de hematocrito se encuentra en la patente USA No. 5.385.846. Se pueden utilizar ejemplos no limitativos de enzimas y mediadores en la medición de analitos particulares en el biosensor 10 de la presente invención, se indican en la lista de la Tabla 1.

TABLA 1

Analito	Enzimas	Mediador (Forma Oxidada)	Mediador Adicional
Glucose	Glucosa dehidrogenasas y Diaforasa	Ferricianuro	
Glucosa	Glucosa dehidrogenasa (Quinoproteína)	Ferricianuro	
Colesterol	Colesterol Esterasa y Colesterol Oxidasa	Ferricianuro	2,6-Dimetil-1,4-Benzoquinona 2,4-Dicloro-1,4-Benzoquinona o Etosulfato de Fenazina
Colesterol HDL	Colesterol Esterasa y Colesterol Oxidasa	Ferricianuro	2,6-Dimetil-1,4-Benzoquinona 2,4-Dicloro-1,4-Benzoquinona o Etosulfato de Fenazina
Triglicéridos	Lipoproteína Lipasa, Glicerol Quinasa, y Glicerol 3 fosfato Oxidasa	Ferricianuro o Etosulfato de Fenazina	Metosulfato de Fenazina
Lactato	Lactato Oxidasa	Ferricianuro	2,6-Dicloro-1,4-Benzoquinona
Lactato	Lactato dehidrogenasa y Diaforasa	Ferricianuro Etosulfato de Fenazina, o Metosulfato de Fenazina	
Lactato de dehidrogenasa	Diaforasa	Ferricianuro	Etosulfato de Fenazina, o Metosulfato de Fenazina
Piruvato	Piruvato Oxidasa	Ferricianuro	
Alcohol	Alcohol Oxidasa	Fenilendiamina	
Bilirubina	Bilirubina Oxidasa	1 Metoxi-Fenazina Metosulfato	
Ácido úrico	Uricasa	Ferricianuro	

- 5 En algunos de los ejemplos mostrados en la tabla 1, se utiliza, como mínimo, una enzima adicional como catalizador de reacción. Asimismo, algunos de los ejemplos mostrados en la tabla 1 pueden utilizar un mediador adicional que facilita la transferencia de electrones a la forma oxidada del mediador. El mediador adicional puede ser facilitado al reactivo en una cantidad más reducida que la forma oxidada del mediador. Si bien se han descrito los ensayos anteriores, se prevé que la corriente, la carga, la impedancia, la conductancia, el potencial, u otra propiedad indicada electroquímicamente de la muestra podría ser correlacionada de manera precisa a la concentración del analito en la muestra con el biosensor 10, de acuerdo con esta invención.

Haciendo referencia nuevamente a la figura 1, el separador 15 del biosensor 10 comprende una primera y segunda partes 70, 72. Cada una de las partes 70, 72 del separador 15 comprende extremos 60, 62 y bordes 64, 66 que se prolongan entre los extremos 60, 62. Además, los bordes 64 de las partes 70, 72 cooperan para definir un intersticio 68 en el biosensor montado 10. Ver figura 2. Los extremos 62 de las partes 70, 72 están formados también para su posicionado, separados de la disposición 44 cuando el biosensor es montado. Además, el separador 15 coopera con los elementos de placa superior e inferior 12, 14 para exponer la disposición 44 a una muestra de líquido aplicada al biosensor 10 en el intersticio 68. El separador 15 es una cinta adhesiva de doble recubrimiento que está acoplada al elemento de placa inferior 14 y a las pistas 16, 18. Un ejemplo no limitativo de este adhesivo es 3M High Performance Double Coated Tape 9500 PC, comercialmente disponible de la firma Minnesota Mining and Manufacturing Company, St. Paul, Minnesota. Se observará que el separador 15 puede

5 estar construido a base de múltiples materiales, y puede estar acoplado a elementos de placa superior e inferior 12, 14, utilizando una amplia variedad de adhesivos disponibles comercialmente. De manera adicional, cuando la superficie 22 del elemento 14 está expuesta y no recubierta por un conductor eléctrico, el separador 15 puede estar acoplado a un elemento de placa 14, por soldadura (térmica o por ultrasonidos), de acuerdo con la presente invención.

10 El elemento de placa superior 12 del biosensor 10 comprende una primera superficie 48 dirigida al separador 15, y una segunda superficie opuesta 50. Ver figura 1. Además, el elemento superior de placa 12 tiene extremos opuestos 52, 54 y bordes 56, 58 que se extienden entre los extremos 52, 54. Preferentemente, el elemento de placa superior 12 es un polímero flexible, tal como un poliéster o una poliimida. Un ejemplo no limitativo de un material adecuado es una película de poliéster MYLAR® ST505 con un grosor de 5 milésimas de pulgada, disponible comercialmente de la firma E.I. DuPont de Nemours, Wilmington, Delaware. El recubrimiento adhesivo del separador 15 acopla el elemento de placa superior 12 al elemento de placa inferior 14. Se observará que el elemento de placa superior 12 puede ser acoplado también al separador utilizando una amplia variedad de adhesivos comercialmente disponibles o con soldadura (térmica o por ultrasonidos), de acuerdo con la presente invención.

20 Una serie de biosensores 10 se envasan de manera típica en un vial, usualmente con un tapón formado para cerrar el vial de forma estanca. Se observará, no obstante, que los biosensores 10 pueden ser envasados individualmente o que los biosensores pueden ser plegados, uno encima de otro, arrollados en un carrete, apilados en un cassette de almacenamiento, o envasados en un envase blister.

El biosensor 10 es utilizado conjuntamente con lo siguiente:

25 1. una fuente de potencia conectada eléctricamente con los electrodos y capaz de suministrar una diferencia de potencial eléctrico entre los electrodos, suficiente para provocar electrooxidación limitada por difusión de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo; y

30 2. un medidor conectado eléctricamente con electrodos y capaz de medir la corriente limitada por difusión, producida por oxidación de la forma reducida del mediador, cuando se aplica la diferencia de potencial eléctrico antes indicada.

35 El medidor estará adaptado normalmente para aplicar un algoritmo a la medición de la corriente, de manera que se prevé una concentración de analito y se muestra visualmente. Las mejoras en dicha fuente de potencia, medidor y sistema biosensor son el objeto de las patentes US transferidas a la solicitante: 4.963.814, concedida el 16 de Octubre de 1990; U.S. Pat. No. 4.999.632, concedida el 12 de Marzo de 1991; U.S. Pat. No. 5.243.516, concedida el 7 de Setiembre de 1993; U.S. Pat. No. 5.352.351, concedida el 4 de Octubre de 1994; U.S. Pat. No. 5.366.609, concedida el 22 de Noviembre de 1994; White y otros, U.S. Pat. No. 5.405.511, concedida el 11 de Abril de 1995; y White y otros, U.S. Pat. No. 5.438.271, concedida el 1 de Agosto de 1995.

40 Se pueden analizar muchas muestras de fluidos. Por ejemplo, fluidos corporales humanos, tales como sangre íntegra, plasma, sueros, linfa, bilis, orina, semen, fluido cerebroespinal, fluido espinal, fluido lacrimonal, y especímenes de excrementos, así como otros fluidos biológicos fácilmente aparentes para los técnicos en la materia. También se pueden ensayar preparaciones fluidas de tejidos, junto con alimentos, productos de fermentación y sustancias ambientales que contienen potencialmente contaminantes ambientales. Preferentemente, se ensayan con la presente invención, sueros humanos.

50 Después de que la reacción ha terminado, una fuente de potencia (por ejemplo, una batería) aplica una diferencia de potencial entre electrodos. Cuando se aplica la diferencia de potencial, la cantidad de forma oxidada del mediador en el electrodo auxiliar y la diferencia de potencial, deben ser suficientes para provocar la electrooxidación limitada por difusión de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo. Un medidor de medición de corriente (no mostrado) mide la corriente limitada por difusión, generada por la oxidación de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo. La corriente medida puede ser correlacionada, de manera precisa, con la concentración del analito en la muestra, cuando se satisfacen las siguientes exigencias:

55 1. La tasa de oxidación de la forma reducida del mediador es controlada por la tasa de difusión de la forma reducida del mediador a la superficie del electrodo de trabajo.

60 2. La corriente producida es limitada por la oxidación de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo.

65 Para fabricar el biosensor 10 se alimenta un rollo de película metalizada, con intermedio de rodillos de guía, a una estación de ablación/lavado y secado. Un sistema de láser capaz de ablación del elemento de la placa inferior 14 es conocido por los técnicos ordinarios en esta técnica. Entre los ejemplos no limitativos se incluyen láseres excimer, con el dibujo de la ablación controlado por espejos, lentes, y máscaras. Un ejemplo no limitativo de este sistema son

los LPX-300 ó LPX-200, ambos disponibles comercialmente de la firma LPKF Laser Electronic GmbH, de Garbsen, Alemania.

En el dispositivo de ablación por láser, la capa metálica de la película metalizada es cortada con un modelo predeterminado, para formar una banda de juegos de electrodos aislados. La película metalizada es sometida a ablación adicionalmente, después de que los juegos de electrodos aislados están formados, para crear rebajes 34 dispuestos adyacentemente al área electroquímica. La banda se hace pasar a continuación por otros rodillos de guía con un bucle tensor y por una cámara de inspección opcional. La cámara es utilizada para un control de calidad, a efectos de comprobar los defectos.

El reactivo 20 es preparado y aplicado en forma líquida al centro del área electroquímica 42 en una estación de dispensación y secado. Las técnicas de aplicación de reactivos son bien conocidas para los técnicos en la materia, tal como se describe en la patente USA No. 5.762.770. Se observará que el reactivo puede ser aplicado a la disposición 44 en forma líquida u otra, y secado o semisecado sobre el centro del área electroquímica 42, de acuerdo con esta invención.

Además, se alimenta un elemento de material de un rollo o placa superior a la estación de acoplamiento, junto con un rollo de un material separador. Se eliminan los recubrimientos de uno y otro lado del material separador en dicha estación, y el elemento de la placa superior es aplicado a una capa del material separador para formar un subconjunto de elemento de placa superior/separador. El subconjunto de elemento de placa superior/separador es cortado a la anchura apropiada para una fila de biosensores 10. A continuación, se añade un nuevo recubrimiento de liberación a la cara del material separador opuesta al recubrimiento, y el subconjunto es arrollado formando un rollo.

La banda del elemento de placa inferior con recubrimiento de reactivo es desenrollado y alimentado a la estación del conjunto sensor, junto con el subconjunto de elemento de placa superior/separador. El revestimiento es eliminado del separador y el subconjunto es colocado sobre el elemento de placa inferior 14 para cubrir el reactivo 20. A continuación, el material acoplado es cortado para formar biosensores individuales 10, que son clasificados y envasados en viales, cada uno de ellos cerrado con un tapón, para facilitar tiras de sensores envasados.

Si bien, se han descrito rebajes 34 realizados por ablación, se apreciará que el método de formar rebajes 34 en el elemento de placa inferior 14 no está limitado. Por ejemplo, los rebajes pueden ser formados por ataque químico (utilizando métodos fotolitográficos) o eliminando de otra forma una parte de la superficie del elemento de placa superior 12. El borde de electrodo más próximo se encuentra aproximadamente entre 10 μm y 500 μm del rebaje, preferentemente entre 100 μm y 400 μm con respecto al rebaje, más preferentemente entre 200 μm y 300 μm del rebaje. Los biosensores formados con rebajes, de acuerdo con esta invención, proporcionan un perfil de reactivo que tiene un grosor uniforme de modo general de material químico. Un grosor, de modo general uniforme, del material químico permite un análisis de muestras más preciso.

Los procesos y productos que se han descrito incluyen un biosensor de un solo uso, especialmente para su utilización en dispositivos de diagnóstico. No obstante, también se incluyen sensores electroquímicos para utilizations de no diagnóstico, tales como la medición de un analito en cualquier muestra biológica, ambiental, u otra. Tal como se ha indicado anteriormente, el biosensor 10 puede ser fabricado en una amplia variedad de tamaños y formas.

Haciendo referencia a las figuras 3-7, el biosensor 110 está realizado de acuerdo con la presente invención. El biosensor 110 comprende un elemento de placa superior 112, un elemento de placa inferior 114, y un separador 115. El biosensor 110 tiene preferentemente forma rectangular. Se observará, no obstante, que el biosensor 110 puede adoptar cualquier tipo de forma de acuerdo con esta invención. El biosensor 110 es fabricado, preferentemente, a partir de rollos de material. De este modo, la selección de materiales para la construcción del biosensor 110 necesita la utilización de materiales suficientemente flexibles para el proceso de los rollos, pero que sean suficientemente rígidos para proporcionar una rigidez útil al biosensor terminado 110.

El elemento de placa superior 112 del biosensor 110 está formado de manera similar al elemento de placa superior 12, excepto que el elemento 112 tiene mayor longitud y está formado de manera que incluye una abertura 116. Ver figura 3. La abertura 116 está alejada de la disposición 44, en el montaje del biosensor 110 se puede colocar en una serie de posiciones, siempre que la muestra de líquido fluya desde la abertura 116 a la disposición 44. Además, el elemento de placa inferior 114 del biosensor 110 incluye una primera superficie 122 que soporta pistas conductoras 16, 18 y una segunda superficie opuesta 124. Ver figuras 3-4.

El elemento inferior 114 puede ser fabricado a partir de una amplia variedad de materiales aislantes, de modo similar al elemento inferior 14. El elemento de placa inferior 114 comprende una primera superficie 122 que soporta pistas conductoras 16, 18 y una segunda superficie opuesta 124. Las pistas 16, 18 son creadas sobre la superficie 122, eliminando sustancialmente la totalidad del material eléctricamente conductor de la superficie 122, excepto el modelo 136 del elemento metalizado de la disposición 44.

Se forman múltiples rebajes 134 en el elemento de placa inferior 114 dentro del modelo del electrodo metalizado 136 de la disposición 44. En realizaciones preferentes, los rebajes 134 están constituidos por ablación, en primer lugar de la película metalizada de la disposición 44 (figura 6) para formar intersticios 135 del modelo de electrodo 136 y, a continuación, a través de la superficie 122 del elemento de placa inferior 114 (figura 7). El reactivo 20 fluye por la disposición 44 pasando hacia dentro de los rebajes 134 dispuestos dentro del modelo 136, formando un grosor uniforme, de modo general, de material químico sobre la disposición 44. Ver figura 4. El reactivo 20 cubrirá la disposición 44 sin extenderse hacia dentro de los rebajes 34, excepto que se aplique una cantidad excesiva de reactivo 20 al elemento de placa 114. Si se aplica un exceso de reactivo al elemento de placa 114, los rebajes 34 retendrán el reactivo en exceso.

El separador 115 del biosensor 110 está formado de manera similar al separador 15, excepto que el separador 115 tiene una longitud mayor. Ver figura 3. El separador 115 coopera con los elementos de placa 112, 114 para exponer la disposición 44 a una muestra de líquido aplicada al biosensor 10. Si bien, el separador 115 está formado, de modo ilustrativo, mediante una cinta adhesiva de doble cara, se apreciará que el separador 115 puede ser constituido con una variedad de materiales, y puede ser acoplado al elemento de placa inferior 114 utilizando una serie de adhesivos disponibles comercialmente o cuando las partes de la superficie 22 están expuestas, con soldadura (térmica o ultrasónica) de acuerdo con esta invención.

Para crear rebajes 134 dentro del dibujo 126, el elemento de placa inferior 114 se desplaza con respecto al láser 138 a lo largo del eje x-y, tal como se ha mostrado por las flechas 142 en la figura 5. La máscara dotada de dibujo (no mostrada) puede también desplazarse a lo largo del eje x-y, de manera que la disposición 44 es expuesta a un segundo impulso de la luz láser 140 (figura 7) para la ablación de la superficie 122, según un dibujo que se adapta al diseño de la máscara. Estos pulsos subsiguientes producen la ablación de la superficie 122 para formar múltiples rebajes 134, tal como se ha mostrado en las figuras 4 y 7. Se apreciará que el número y profundidades de los rebajes 134, formados en la mencionada disposición, pueden variar dependiendo del reactivo seleccionado, de acuerdo con esta invención. Una vez que la disposición 44 y los rebajes 34, 134 se han formado en el elemento de placa 114, el biosensor 110 es montado de manera similar al biosensor 10 que se ha descrito anteriormente. Se apreciará, no obstante, que las pistas conductoras 16, 18 pueden estar formadas también tal como se ha explicado anteriormente, con referencia al biosensor 10.

Se observará que se puede fabricar una serie de biosensores, de acuerdo con esta invención, que presentan una variedad de rebajes y dibujos de los electrodos, mostrándose ejemplos no limitativos de los mismos en las figuras 8-16. Haciendo referencia, a continuación, a la figura 8, se da a conocer un biosensor 210, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 210 incluye el elemento de placa superior 112 formado incluyendo una abertura 116, y un respiradero (no mostrado) separado de la abertura 116. El biosensor 210 comprende también un elemento de placa inferior 214 que soporta pistas eléctricamente conductoras 216, 218. Las pistas 216, 218 cooperan para formar una disposición de electrodos intercalados 244 dispuestos dentro de la periferia de los rebajes 234. Excepto lo que respecta al dibujo específico, las pistas 216, 218 están formadas a base de materiales similares y de manera similar a las pistas 16, 18. Los rebajes 234 están formados en una primera superficie 222 del elemento de placa inferior 214. El biosensor 210 comprende dos rebajes, uno de los cuales tiene forma general lineal, y uno de ellos tiene tres brazos que se extienden alrededor de tres lados de la disposición 244. Los rebajes cooperan entre sí para formar una forma general rectangular que se extiende alrededor de la disposición 244. Excepto en lo que respecta a la forma específica de los rebajes 234, el biosensor 210 es fabricado de manera similar al biosensor 10 que se ha descrito anteriormente.

Tal como se ha mostrado en la figura 9, un biosensor 310 queda dispuesto, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 310 comprende un elemento de placa superior 112 formado de manera que incluye el rebaje 116 y un elemento de placa inferior 314. El elemento de placa inferior 314 soporta las pistas eléctricamente conductoras 316, 318 que cooperan para formar una disposición de electrodo interpuesto 344 dispuesto dentro de la periferia de rebajes 334 que están formados en el elemento 314. Excepto en lo que respecta a la forma específica, las pistas 316, 318 están formadas de materiales similares y de manera similar a las pistas 16, 18. La disposición de electrodos 344 tiene una forma general circular y está, de manera general, alineada con la abertura 116. Una malla impregnada de detergente es colocada, preferentemente, entre la disposición 344 y el elemento de placa superior 112. Esta malla es preferentemente una malla de monofilamento de poliéster de la firma Sefar America, Inc. Briarcliff Manor, NY. Se apreciará que el biosensor 310 puede ser fabricado utilizando una serie de mallas de tipo comercial, o que puede ser concebido también sin malla, de acuerdo con la presente invención.

Además, los rebajes 334 están formados en una primera superficie 322 del elemento de placa inferior 314. El biosensor 310 incluye dos rebajes, uno de los cuales tiene forma general de C, y uno de ellos es de forma general curvada, que coopera con el primer rebaje para formar una forma general circular. Se apreciará que el grado de curvatura del rebaje 334 puede variar dependiendo de las dimensiones de la disposición 344 y de la colocación de las pistas 316, 318 sobre el elemento de placa inferior 314. Excepto en lo que respecta al dibujo específico de los rebajes 334 y la disposición 344 y la aplicación de la malla (no mostrada) sobre la disposición 344, el biosensor 310 es fabricado de manera similar al biosensor 10, tal como se ha descrito anteriormente. Se apreciará que se pueden utilizar una serie de métodos para la colocación de la malla sobre la disposición de electrodos 344.

La figura 10 muestra un biosensor 410, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 410 comprende el elemento de placa superior 112 formado para incluir una abertura 116 y un elemento de placa inferior 414. El elemento de placa inferior 414 soporta las pistas eléctricamente conductoras 16, 18, tal como se ha descrito anteriormente con referencia al biosensor 10. El elemento de placa inferior 414 tiene rebajes 434 formados en una primera superficie 422. El biosensor 410 incluye dos rebajes, uno de los cuales tiene forma general lineal, y uno de ellos tiene tres brazos que se extienden alrededor de tres lados de la disposición de forma rectangular 44. Dos brazos extremos del segundo rebaje 234 incluyen extremos apuntados. Los rebajes 434 cooperan entre sí para constituir una forma general rectangular. Además, los rebajes 434 están separados de la disposición 44 de la primera superficie 422 del elemento de placa inferior 414. Excepto por el dibujo específico de los rebajes 434, el biosensor 410 está fabricado de manera similar al biosensor 110, tal como se ha descrito anteriormente.

La figura 11 muestra un biosensor 510, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 510 comprende una placa superior 112 formado de manera que incluye una abertura 116 y un elemento de placa inferior 514. El elemento de placa inferior 514 soporta las pistas eléctricamente conductoras 516, 518, que cooperan entre sí formando la disposición de electrodos 544. Excepto por el dibujo específico, las pistas 516, 518 están formadas de materiales similares y de manera similar a las pistas 16, 18. El biosensor 510 incluye también rebajes 534 formados en la primera superficie 522 del elemento de placa inferior 514. El biosensor 510 incluye dos rebajes formados de manera similar a los rebajes 434, excepto sus longitudes relativas. Los rebajes 534 están también separados de la disposición 544 sobre la primera superficie 522 del elemento de placa inferior 514. Excepto por el dibujo específico de los rebajes 534 y de la disposición 544, el biosensor 510 está fabricado de manera similar al biosensor 110, que se ha descrito anteriormente.

La figura 12 muestra un biosensor 610 de acuerdo con la presente invención. El biosensor 610 incluye el elemento de placa superior 112 formado de manera que incluye una abertura 116 y un elemento de placa inferior 614. El elemento de placa inferior 614 soporta las pistas eléctricamente conductoras 616, 618, que cooperan entre sí formando una disposición de electrodos 644. Excepto en lo que respecta a su dibujo específico, las pistas 616, 618 están formadas de materiales similares y de manera similar que las pistas 16, 18. La disposición de electrodos 644 está conformada de manera similar a una rueda, y comprende ocho radios 646 que se extienden hacia el centro de la rueda. Además, la disposición 644 está colocada en alineación general con la abertura 116. La malla, tal como se ha descrito anteriormente, haciendo referencia al biosensor 310, está dispuesta preferentemente entre la disposición 344 y el elemento de placa superior 112. Se apreciará que se puede utilizar, de acuerdo con la invención, una amplia variedad de mallas de tipo comercial.

Además, se forman rebajes 434 en una primera superficie 622 del elemento de placa inferior 614. Se apreciará que el grado de curvatura de los rebajes 434 puede variar dependiendo de las dimensiones de la disposición 644 y del posicionado de las pistas conductoras 616, 618 sobre el elemento de placa inferior 614. Excepto por el dibujo de los rebajes 434 y la disposición 644, el biosensor 610 está fabricado de manera similar al biosensor 110 que se ha descrito anteriormente.

En la figura 13, se ha mostrado un biosensor 710, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 710 incluye el elemento de placa superior 112 formado de manera que comprende una abertura 116 y un elemento de placa inferior 714. El elemento de placa inferior 714 soporta las pistas eléctricamente conductoras 716, 718 que cooperan entre sí para formar la disposición de electrodo 744. Excepto por el dibujo específico, las pistas 716, 718 están formadas de materiales similares y de manera similar de las pistas 16, 18. Además, se forman rebajes 734 en una primera superficie 722 del elemento de placa inferior 714. De manera ilustrativa, el biosensor 710 incluye treinta y cuatro rebajes 734 formados como aberturas de forma circular separadas entre sí en una primera superficie 722. Se apreciará que el biosensor 710 puede incluir más o menos de treinta y cuatro rebajes, de acuerdo con la presente invención. Además, se observará que los rebajes 734 pueden estar formados en una variedad de formas y tamaños, de acuerdo con esta invención. Excepto por la forma de los rebajes 734 y la disposición 744, el biosensor 710 está fabricado de manera similar al biosensor 110 que se ha descrito anteriormente.

En la figura 14, se ha mostrado un biosensor 810, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 810 comprende un elemento de placa superior 112 formado de manera que incluye una abertura 116 y un elemento de placa inferior 814. El elemento de placa inferior 814 soporta las pistas eléctricamente conductoras 716, 718 que cooperan entre sí para formar una disposición de electrodos 744. De manera adicional, se forman rebajes 834 en una primera superficie 822 del elemento de placa inferior 814. De manera ilustrativa, el biosensor 810 comprende dieciséis rebajes 834 que están formados como aberturas rectangulares, separados entre sí en una primera superficie 822. Se observará que el biosensor 810 puede comprender un número mayor o menor a dieciséis rebajes 834 y que puede estar constituido con una serie de formas y dimensiones, de acuerdo con esta invención. El biosensor 810 está fabricado de manera similar al biosensor 110, tal como se ha descrito en lo anterior, excepto en la forma de los rebajes 834 y la disposición de electrodos 744.

Haciendo referencia a continuación a la figura 15, se forma un biosensor 910, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 910 comprende el elemento de placa superior que incluye la abertura 116 y el elemento de placa inferior 914. El elemento de placa inferior 914 comprende un rebaje continuo 934 que se extiende alrededor de la zona de reacción predefinida 936, en la que está situado un reactivo y la detección tiene lugar sobre el

biosensor 910. De manera ilustrativa, el biosensor 910 está formado para realizar la medición fotométrica de un analito en un fluido biológico.

5 El siguiente ejemplo no limitativo se facilita con el objetivo de ilustrar un reactivo adecuado para su utilización con el biosensor 910 que está constituido para la prueba de colesterol.

0,117 g metil hidroxpropilcelulosa (Culminal MHPC 8800)
 7,000 g. dióxido de titanio
 0,138 g dihidrógeno fosfato monopotásico
 10 0,479 g monohidrógeno de fosfato disódico
 3400 U colesterol esterasa
 5000 U colesterol oxidasa
 7x104 U peroxidasa
 0,476 g. dioctil sulfosuccinato sódico

15 se disuelven en 70 ml de agua. A continuación, son incorporados sucesivamente de forma homogénea

14,0 g. de celulosa
 8,4 g. de dispersión de polivinil propionato

20 Finalmente se añaden:

0,66 g. 3,3',5,5'- de tetrametilbenzidina, disuelto en 1,6 ml de acetona.

25 Esta masa es aplicada como recubrimiento, con un grosor de capa aproximado de 300 μm sobre el elemento de placa inferior 914. Ver patente US No. B1 4.477.575, de Vogel y otros. Se observará que se puede utilizar con el biosensor 910, de acuerdo con la presente invención, cualquier número de reactivos fotométricos.

30 Para la fabricación del biosensor 910, se constituye el elemento de placa superior 912 de manera similar al elemento de placa superior 112. Para formar el elemento de placa 914, se alimenta un rollo de película no metalizada por rodillos de guía, pasando a una estación de ablación, lavado y secado, tal como se ha descrito. En el dispositivo de ablación por láser, la película es sometida a ablación con un dibujo de rebaje predeterminado 934, que es formado de manera que se prolongue alrededor de la zona de reacción 936. El material cortado resultante se hace pasar, a continuación, por otros rodillos de guía, con un bucle tensor y por una cámara de inspección
 35 óptica. La cámara se utiliza para el control de calidad, a efectos de comprobar defectos.

El reactivo es combinado y aplicado en estado líquido al centro de la zona de reacción 936 en una estación de dispensación y secado. Se describen técnicas de aplicación de reactivo bien conocidas por los técnicos de la materia en la patente US No.5.762.770. Se apreciará que el reactivo puede ser aplicado al área 42 en estado
 40 líquido, o en otra forma, y puede ser secado o semisecado sobre el centro del área electroquímica 42, de acuerdo con esta invención.

Además, un material de rollo o elemento de placa superior es alimentado a una estación de montaje, junto con un rollo de material separador. Los recubrimientos a uno y otro lado del separador son eliminados en dicha estación, y
 45 el elemento de placa superior es aplicado a una cara del material separador para formar un subconjunto de elementos de placa superior/separador. El subconjunto de elemento de placa superior/separador es cortado a la anchura apropiada para una fila de biosensores 910. A continuación, se añade un nuevo recubrimiento de desprendimiento a la cara del material separador opuesto a la tapa, y el subconjunto es arrollado formando un rollo.

La cinta de elemento de placa inferior del recubrimiento de reactivo es desenrollada y alimentada a una estación de incorporación del sensor junto con el subconjunto de elemento de placa superior/separador. El recubrimiento es eliminado del separador y el subconjunto es colocado sobre el elemento 914 de placa inferior para cubrir el reactivo. A continuación, el material ya montado es cortado para formar biosensores individuales 910, que son clasificados y envasados en viales, cada uno de ellos cerrado con un tapón, para proporcionar tiras de sensor
 50 envasadas.

Tal como se ha mostrado en las figuras 16, 17, se proporciona un biosensor 1010, de acuerdo con la presente invención. El biosensor 1010 controla el flujo de fluido del reactivo durante el montaje, así como el flujo de fluido de una muestra líquida que es aplicada al biosensor 1010. El biosensor 1010 tiene un elemento de placa superior
 60 1012, un elemento de placa inferior 1014, una primera y segunda partes 70, 72 del separador 15 posicionadas de manera que se sitúen entre los elementos de placa superior e inferior 1012, 1014.

El elemento de placa inferior 1014 del biosensor 1010, incluye una primera superficie 1022 que soporta las pistas conductoras 1016, 1018. Ver figura 16. Excepto en la forma específica de las pistas 1016, 1018, estas están formadas de materiales similares, y de manera similar a las pistas 16, 18. Además, el elemento de placa 1014 tiene un extremo 1016 y bordes 1030, 1032 que se extienden desde el extremo 1026. El elemento inferior 1014 puede

- 5 estar construido a partir de una amplia variedad de materiales aislantes, similares al elemento inferior 14. Además, el elemento de placa inferior 1014 está formado para incluir rebajes 1034 en una primera superficie 1022. De manera ilustrativa, el biosensor 1010 comprende dos rebajes separados entre sí conformados de forma lineal, que se encuentran a uno y otro lado de la disposición 1044. Se observará que los rebajes 1034 pueden estar formados según una serie de formas y dimensiones, de acuerdo con esta invención. El rebaje 1034, adyacente al extremo 1026, está formado para distribuir una muestra de líquido en una dirección que es, en general, paralela al extremo 1026, antes de que la muestra de líquido establezca contacto con la disposición de los electrodos 1044. El biosensor 1010 está realizado de manera similar al biosensor 10.
- 10 En su utilización, el usuario del biosensor 1010 pone un dedo 1046 adyacente al extremo 1026. La muestra de líquido fluye en dirección de las flechas 1048 al interior del primer rebaje 1034, tal como se ha mostrado en la figura 17. Una vez que la muestra ha llenado el rebaje 1034, la muestra fluye en dirección de la flecha 1050, a través de la disposición de electrodos 1044, en la que tiene lugar la detección del biosensor 1010. La muestra pasa eventualmente sobre la disposición 1044 y fluye a través de un segundo rebaje 1034, tal como se ha mostrado por
- 15 las flechas 1052. El segundo rebaje actúa como depósito para muestras de líquido, con el objetivo de distribuir la muestra sobre la disposición 1044. Los rebajes 1034 del biosensor 1010 cooperan entre sí para posibilitar al fabricante el conseguir un perfil de reactivo con un grosor de material químico que, en general, es uniforme. Además, el rebaje 1034 extiende la muestra de líquido sobre el elemento de placa inferior 1014 en una dirección que es, en general, perpendicular al flujo de fluido (ver flechas 1048), de manera que el área de contacto de la
- 20 disposición de electrodos 1044 resulta máxima. Los elementos de placa superior e inferior 1012, 1014 son montados tal como se ha explicado anteriormente con referencia al biosensor 110.
- 25 Si bien la invención ha sido descrita en detalle con referencia a una realización preferente, existen variaciones y modificaciones dentro del alcance de la invención, tal como se describe y se define en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Biosensor (10) que comprende:
 - 5 un elemento de placa inferior (14) que comprende una primera superficie (22), un área de reacción predeterminada (42) sobre la primera superficie (22) y, como mínimo, un rebaje (34) formado en la primera superficie (22) y que circunscribe, como mínimo, una parte del área de reacción (42); y un reactivo (20) posicionado sobre el área de reacción;
 - 10 un elemento de placa superior (12) y un separador (15) formando un subconjunto, incluyendo dicho separador (15) una primera y segunda partes (70, 72), incluyendo cada una de las partes extremos (60, 62) y bordes (64, 66) que se extienden entre los extremos (60, 62), estando situado dicho subconjunto sobre el elemento de placa inferior (14) cubriendo el reactivo (20) y cooperando con el elemento de placa inferior (14), definiendo los bordes (64) de las partes (70, 72) del separador (15) un intersticio (68) en el biosensor montado (10),
 - 15 en el que el rebaje (34) está dispuesto en el intersticio (68).
2. Biosensor, según la reivindicación 1, en el que el elemento de placa comprende rebajes separados.
3. Biosensor, según la reivindicación 2, que comprende, además, electrodos dispuestos en la zona de reacción y el reactivo establece contacto, como mínimo, con una parte de los electrodos.
4. Biosensor, según la reivindicación 3, en el que, como mínimo, uno de los rebajes tiene forma lineal.
5. Biosensor, según la reivindicación 2, en el que los electrodos cooperan para definir una disposición de electrodos con un dibujo predeterminado, y los rebajes están dispuestos dentro de dicho dibujo.
6. Biosensor, según la reivindicación 2, en el que, como mínimo, uno de los rebajes tiene forma curvada.
7. Biosensor, según la reivindicación 3 ó 6, en el que los rebajes cooperan entre sí para circunscribir, como mínimo, una parte de la zona de reacción.
8. Biosensor, según la reivindicación 1 ó 2, en el que, como mínimo, un rebaje tiene una anchura menor de 1000 μm .
9. Biosensor, según la reivindicación 1 ó 2, en el que, como mínimo, uno de los rebajes tiene una anchura de 1 μm a 250 μm .
10. Biosensor, según la reivindicación 1, en el que el rebaje tiene una altura de 0,5 μm a 500 μm .
11. Biosensor, según la reivindicación 10, en el que, por lo menos, una pared tiene una altura de 8 μm a 25 μm .
12. Biosensor, según la reivindicación 1, en el que el rebaje tiene forma rectangular.
13. Método para la formación de un biosensor (10) que comprende las siguientes etapas:
 - 45 disponer un elemento de placa inferior (14);
 - formar, como mínimo, un rebaje (34) en el elemento (14) de la placa inferior; y
 - aplicar un reactivo (20) sobre el elemento (14) de placa inferior para definir un área de reacción (42);
 - 50 disponer un elemento de placa superior (12) y un separador (15) para cubrir el reactivo (20) y cooperando con el elemento de placa inferior,
 - incluyendo el separador (15) una primera y segunda partes (70, 72), incluyendo cada una de las partes extremos (60, 62) y bordes (64, 66) que se extienden entre los extremos (60, 62),
 - los bordes (64) de las partes (70, 72) del separador (15) definen un intersticio (68) en el biosensor montado (10),
 - 55 en el que el rebaje (34) está dispuesto en el intersticio (68), y circunscribe, como mínimo, una parte del área de reacción (42).
14. Método, según la reivindicación 13, que comprende, además, la etapa de formar un conjunto de electrodos en la zona de reacción.
- 60 15. Método, según la reivindicación 13, en el que se forma, como mínimo, un rebaje por ablación por láser.

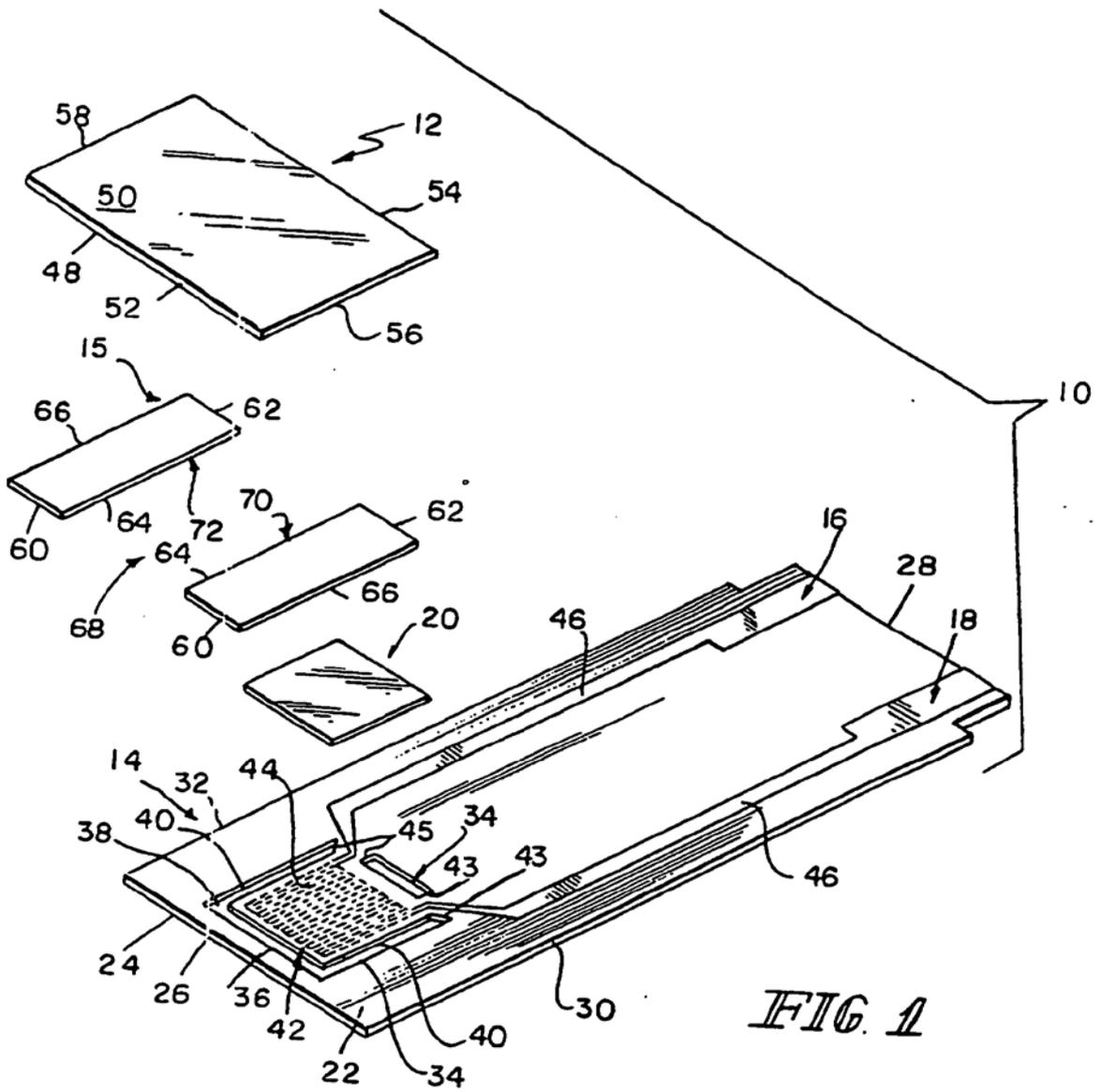


FIG. 1

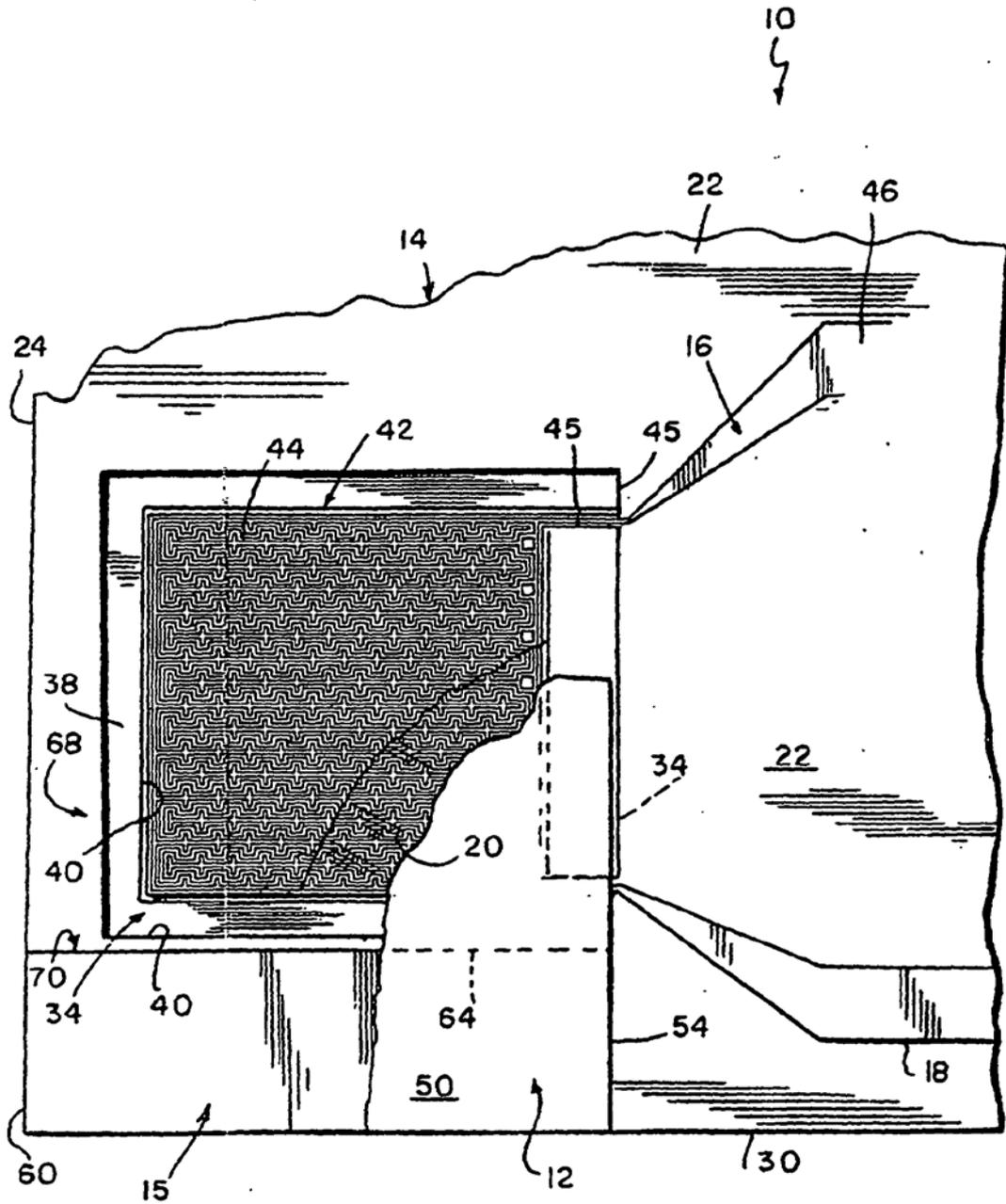
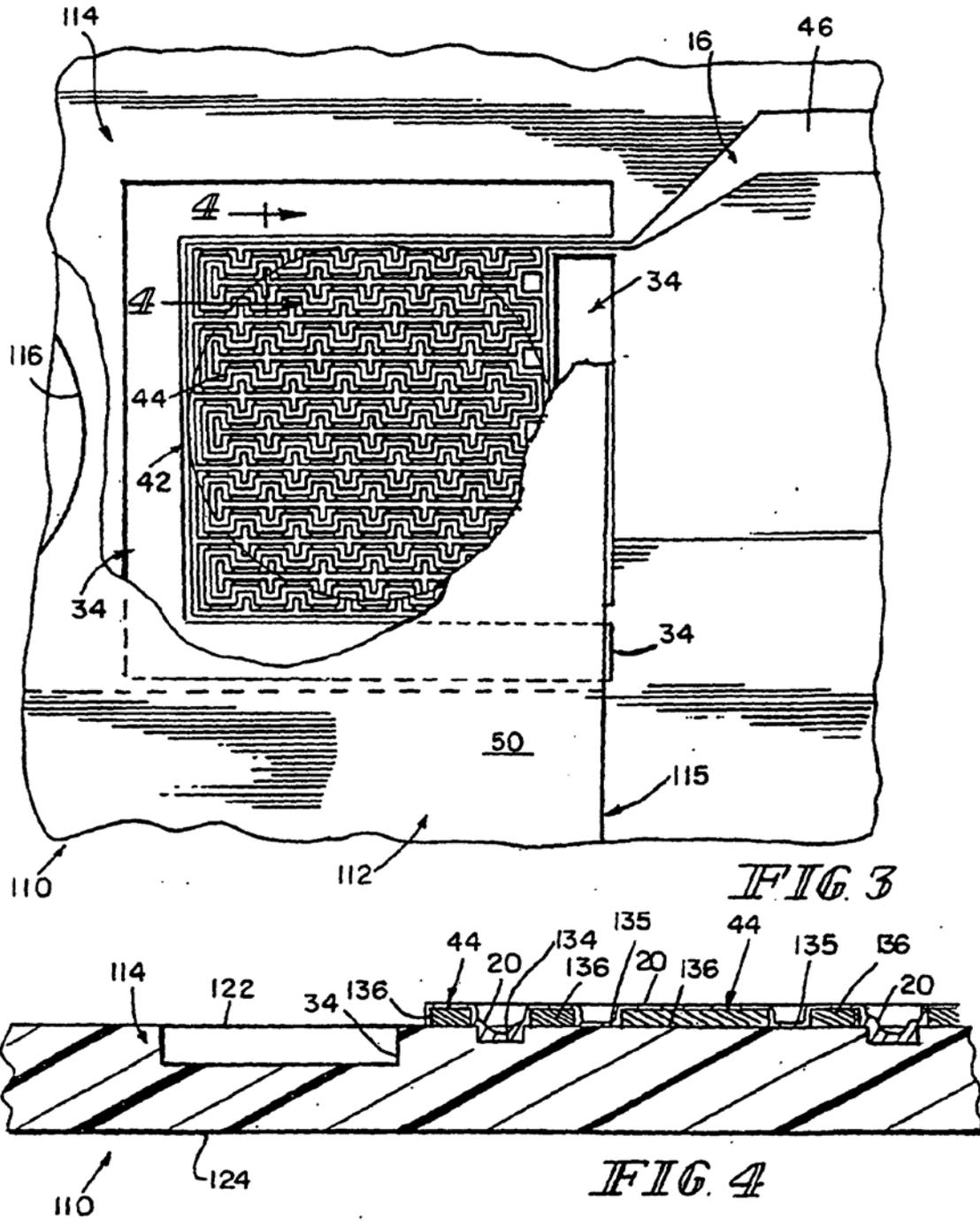
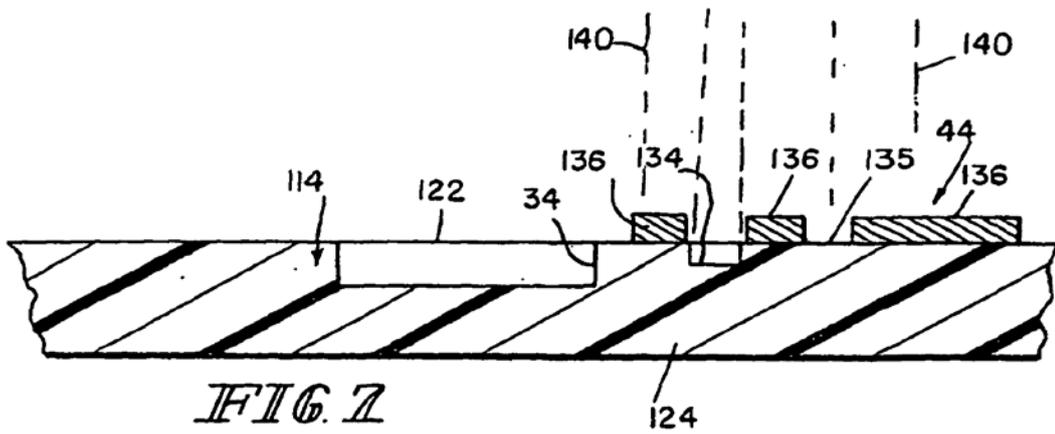
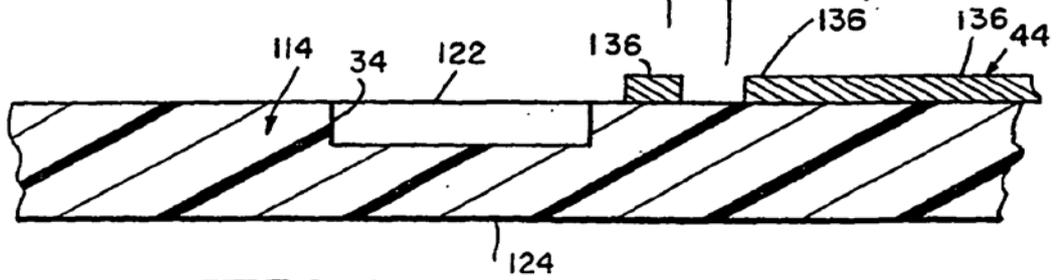
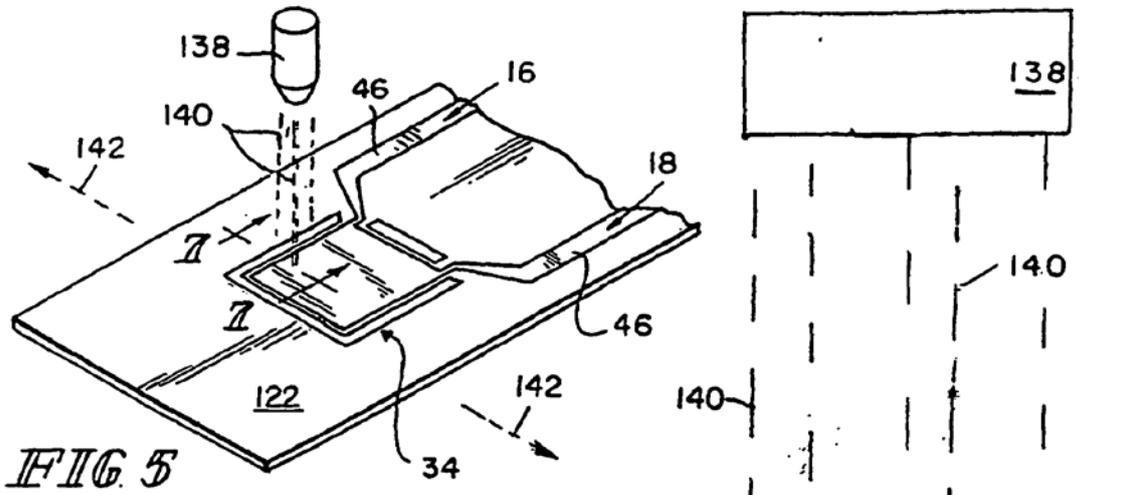
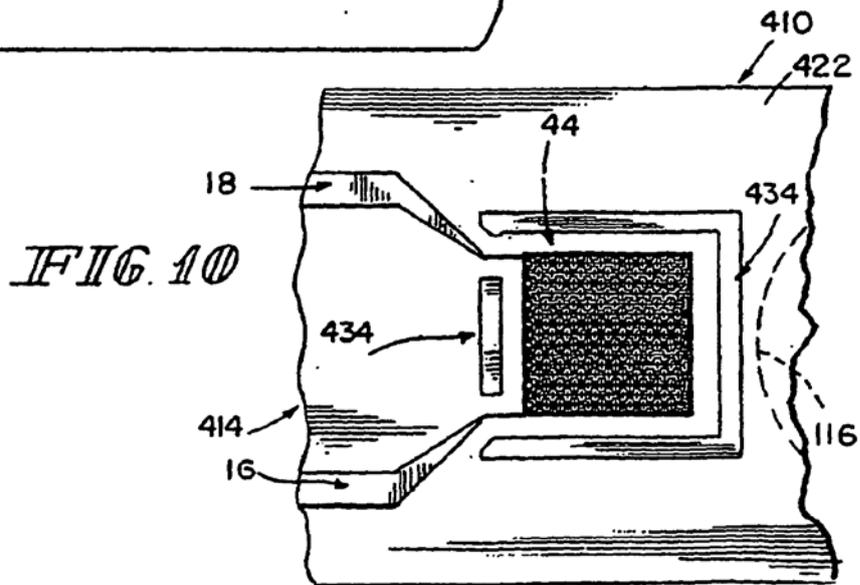
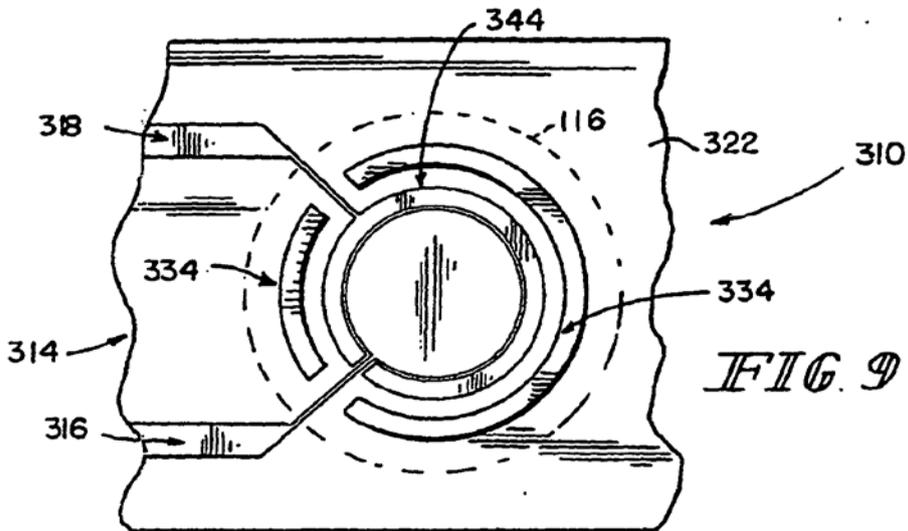
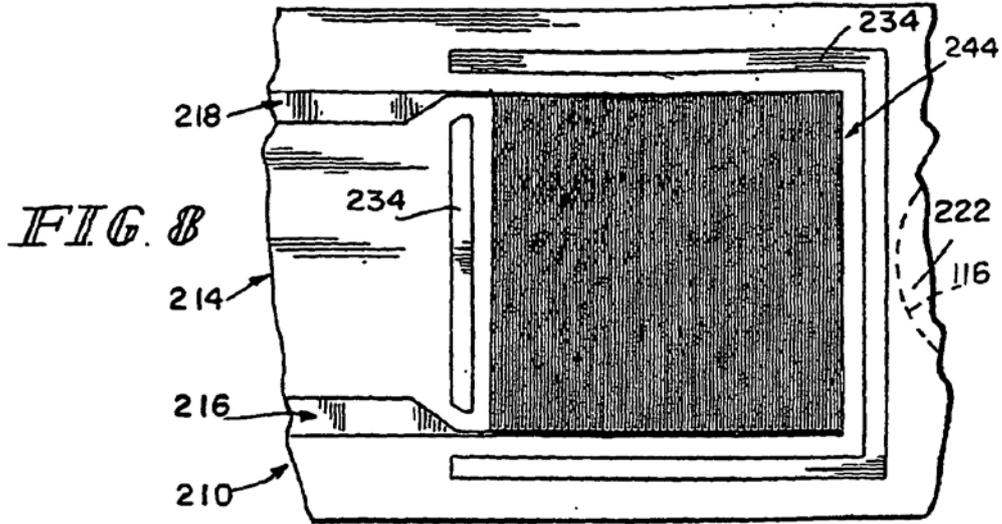


FIG 2







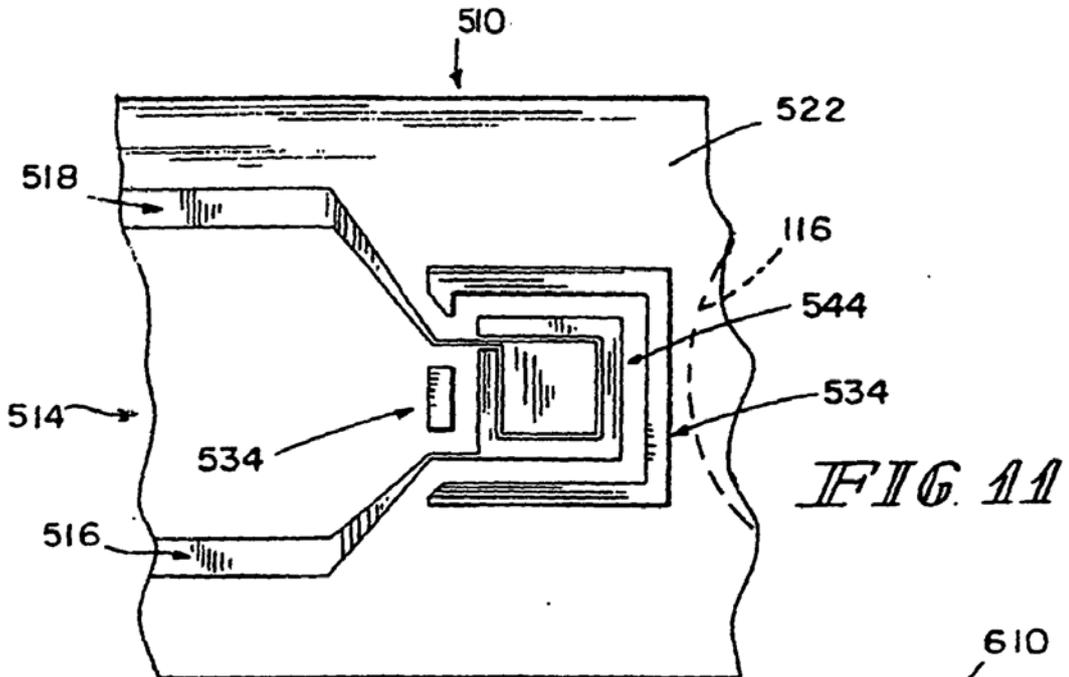


FIG. 11

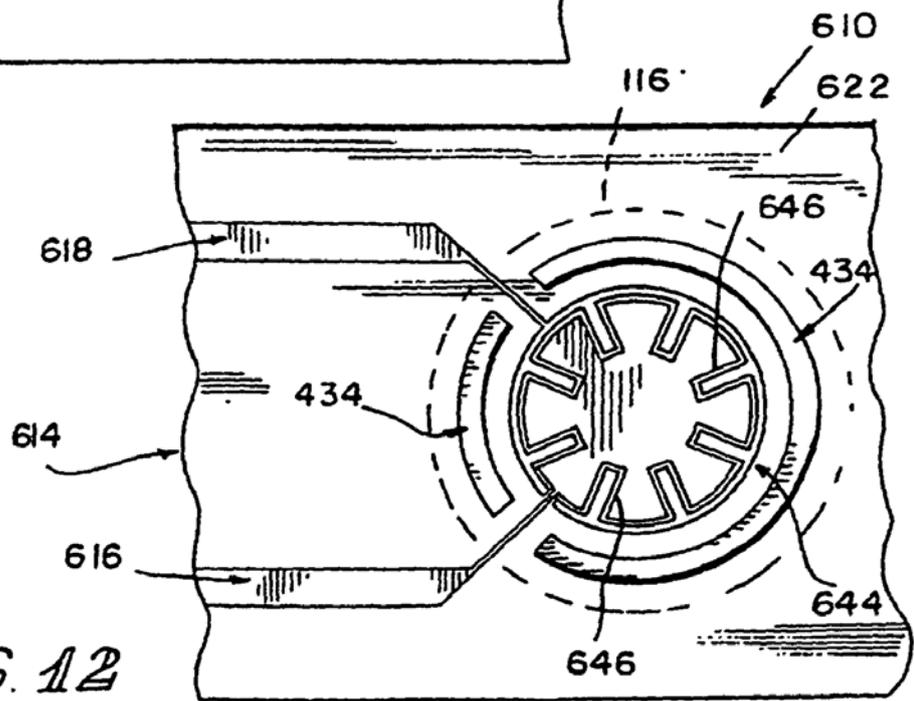


FIG. 12

