

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 050**

51 Int. Cl.:  
**G01N 27/30** (2006.01)  
**G01N 33/487** (2006.01)  
**G01N 33/543** (2006.01)  
**C12Q 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05723742 .2**  
96 Fecha de presentación: **23.02.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1718961**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.11.2006**

54 Título: **Dispositivo de pruebas microfluídicas**

30 Prioridad:  
**23.02.2004 US 547274 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.06.2012**

73 Titular/es:  
**Leadway (HK) Limited**  
**Unit 6501-02 The Centre 99 Queen's Road**  
**Hong Kong, HK**

72 Inventor/es:  
**TSAI, Fu, Hsiung;**  
**LIN, Jinn-Nan y**  
**WANG, Chia-Lin**

74 Agente/Representante:  
**Isern Jara, Jorge**

ES 2 384 050 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 de pruebas microfluídicas

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a biosensores que tienen características mejoradas de aplicación y medición de muestras, y a procedimientos para su utilización.

10 Antecedentes de la invención

15 En estos últimos años, los cuidados médicos han cambiado de manera dramática, pasando de utilizar análisis de laboratorios clínicos de muestras a pruebas realizadas en el punto en que se llevan a cabo los cuidados médicos, en el consultorio del médico, o junto al propio enfermo. Se utilizan frecuentemente biosensores de enzimas de un solo uso para llevar a cabo estas pruebas rápidas. Tomando el ensayo de glucosa como ejemplo, las pruebas domésticas por parte del paciente son actualmente habituales y necesarias para el control apropiado de la enfermedad. Para llevar a cabo una prueba doméstica utilizando un biosensor de glucosa, el paciente diabético perfora el dedo para recoger una pequeña cantidad de sangre. El paciente aplica la sangre a la tira de pruebas del biosensor y al cabo de unos pocos segundos el medidor que forma parte del biosensor registra datos eléctricos del biosensor y calcula la concentración de glucosa en la sangre del paciente. Esta información es utilizada para tomar 20 decisiones con respecto a cuanta insulina se debe administrar y en qué momento.

25 A pesar de los avances conseguidos en la medición rápida y precisa de metabolitos, la colaboración del paciente sigue siendo un problema significativo debido al dolor asociado a la extracción de sangre. Para reducir el dolor y aumentar la conformidad del paciente, se utilizan, en la actualidad, nuevos dispositivos de lanceta que obtienen sangre del antebrazo o del muslo. Estos dispositivos de lanceta provocan menos dolor porque en estos lugares del cuerpo hay un número menor de terminales nerviosos. No obstante, también existen menores vasos sanguíneos superficiales, lo que hace difícil obtener suficiente sangre para la prueba. De modo general, los pacientes se encuentran con que, si bien el dispositivo de lanceta produce menos dolor, también se obtiene una cantidad menor de sangre. Esto es un problema porque los biosensores de la técnica anterior requieren varios microlitros de sangre para llenar correctamente el canal capilar y para su funcionamiento. Si el volumen de la muestra es demasiado reducido, el canal capilar no quedará apropiadamente lleno. La prueba, o bien no funcionará o proporcionará resultados imprecisos. Entonces, el paciente tendrá que descartar la tira de pruebas mal llenada y volver a empezar. El paciente tendrá que pincharse nuevamente con la lanceta, por lo menos otra vez, utilizando una segunda tira de pruebas. Esta situación es muy difícil e incómoda para algunos pacientes y reduce su conformidad con respecto al control de la sangre. Como consecuencia, estos pacientes tienen dificultades en el control y tratamiento correcto de su enfermedad.

35 Se disponen varios ejemplos de biosensores. Por ejemplo, las patentes US 5.120.420 y 5.320.732 a Nankai, US 5.141. 868 a Shanks y la solicitud de patente 2003/0196894 a Cai dan a conocer biosensores de glucosa de un solo uso. Estos biosensores están contruidos a base de dos capas de plástico, laminadas sobre separadores y, por lo tanto, mantenidas conjuntamente. Esta estructura forma un canal capilar ventilado que succiona una muestra aplicada hacia el interior y encima de un área de pruebas. La ventilación es necesaria para que el canal capilar funcione adecuadamente. Cuando la muestra fluye hacia dentro del canal por flujo capilar, la muestra establece contacto con la capa de enzima y los electrodos, que detectan y opcionalmente miden un analito en la muestra.

45 El documento WO 99/13100 A1 da a conocer un sensor electroquímico que comprende tres electrodos sobre un sustrato dieléctrico. Una serie de capas de material hidrofóbico aislante, cada una de las cuales comprende una abertura y rejillas hidrofílicas, están formadas sobre el sustrato, y electrodos para definir un espacio como muestra. Una capa de recubrimiento tiene una abertura para el acceso de la muestra a las capas de rejilla situadas por debajo. Las capas de material aislante hidrofóbico no cubren parte alguna de los electrodos.

50 La patente US 6. 491. 803 da a conocer una tira de pruebas de un biosensor, que comprende un sustrato dieléctrico, un par de electrodos, estando los electrodos recubiertos por una película de reacción. Una capa aislante con una abertura lateral recubierta por un recubrimiento reticular hidrofóbico permite la introducción de muestras desde la abertura lateral mediante capilaridad.

55 De acuerdo con ello, existe una necesidad continuada en la técnica de los biosensores y procedimientos que proporcionan una aplicación mejorada de muestras y mejores características de medición.

60 Resumen de la invención

65 La presente invención da a conocer dispositivos de prueba para la medición de la presencia o cantidad de un analito en un fluido biológico. Los dispositivos de prueba contienen componentes materiales que están reunidos para formar el dispositivo. Estos dispositivos requieren un mínimo de volumen de muestra, y pueden ser utilizados para determinar de manera precisa la cantidad de un analito en un fluido de muestra. Los dispositivos tienen una placa de base que tiene un sistema de electrodos incorporado en la misma, y un material poroso hidrofílico situado

sobre la placa de base. Una capa protectora hidrofóbica está situada sobre el material poroso hidrofílico, y un recubrimiento está situado sobre la capa protectora hidrofóbica. En una realización, la capa de protección es porosa y permite el paso de aire desde la cámara de reacción al exterior del dispositivo. Algunas realizaciones utilizan también una capa aislante que puede estar situada entre la capa de base y el material poroso hidrofílico. El recubrimiento del dispositivo tiene una abertura presente en el mismo, que está situada sobre los electrodos, de manera que los electrodos comunican con el exterior del dispositivo a través de la abertura. La capa aislante puede tener también una abertura situada en la misma, que en una realización es una ranura situada para alinearse con la abertura del recubrimiento. De esta manera, en estas realizaciones, los electrodos comunican con el exterior del dispositivo a través de la ranura y la abertura del recubrimiento. La capa del material hidrofílico poroso y la capa protectora hidrofóbica no recubren necesariamente la totalidad de la placa de base, sino que recubren, como mínimo, el área situada por encima de la ranura en la capa aislante (cuando existe) o el área situada por debajo de la abertura en el recubrimiento. La invención da a conocer, asimismo, procedimientos para la fabricación de los dispositivos y procedimientos para su utilización.

En un primer aspecto, la presente invención da a conocer dispositivos microfluídicos para determinar la cantidad de un analito en una muestra. Los dispositivos tienen una placa de base realizada mediante un material dieléctrico y tiene un sistema de electrodos en el que la placa de base comprende un extremo próximo, el cual incluye, como mínimo, dos electrodos en un material dieléctrico. Una capa de reacción se encuentra presente sobre, como mínimo, uno de los electrodos, teniendo reactivos para producir una señal detectable como respuesta a una cantidad de analito de la muestra. Los dispositivos tienen también un material poroso hidrofílico que retiene una muestra de líquido en contacto con la placa base, y una capa protectora hidrofílica dispuesta sobre el material poroso hidrofílico. El dispositivo contiene también un recubrimiento realizado a base de un material dieléctrico que tiene un extremo próximo y un extremo distal. El recubrimiento está situado sobre la capa protectora hidrofóbica y tiene una abertura que proporciona comunicación entre los electrodos y el exterior del dispositivo. La capa protectora hidrofóbica recubre, como mínimo, dicho extremo próximo, en el que están dispuestos dichos, como mínimo, dos electrodos. En una realización, la abertura es una ranura que se extiende desde un extremo próximo hacia el extremo distal del dispositivo.

En una realización, el dispositivo tiene también una capa aislante dispuesta entre la placa de base y el material poroso hidrofílico, y que tiene una ranura. En una realización, la ranura está situada en alineación con la abertura del recubrimiento del dispositivo. La abertura del recubrimiento puede encontrarse presente también como una ranura, y las dos ranuras pueden estar alienadas. Los, como mínimo, dos electrodos del dispositivo pueden ser, por ejemplo, tres electrodos, un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia, y un contraelectrodo. En varias realizaciones, la placa de base puede ser realizada a base de una serie de materiales, por ejemplo, carbono, poliestireno, policarbonato, y un poliéster. El material poroso hidrofílico puede estar realizado también a base de una serie de materiales, por ejemplo, un gel, una fibra de vidrio, un plástico poroso, un material celulósico, o un poliéster. El material hidrofílico poroso puede encontrarse presente en forma de una rejilla. En una realización, el poliéster es polietilentereftalato (PET). En una realización, el material hidrofílico poroso tiene una superficie hidrofílica.

La capa protectora hidrofóbica del dispositivo puede estar realizada también de una serie de materiales en diferentes realizaciones, por ejemplo, un gel, una fibra de vidrio, un plástico poroso, material celulósico, o un poliéster. En una realización, la capa hidrofóbica protectora se encuentra presente en forma de una rejilla.

En varias realizaciones, la tapa y/o la capa aislante está realizada de un material hidrofóbico, no conductor, por ejemplo, una tinta, adhesivo, cinta adhesiva, plástico, material de celuloide, vidrio, o una lámina no conductora.

En una realización, el material hidrofílico poroso y la capa protectora hidrofóbica recubren la parte próxima de la placa de base y los, como mínimo, dos electrodos, comunican con el exterior del dispositivo a través de la abertura del extremo próximo del recubrimiento. En otra realización, el material hidrofílico poroso y/o el material protector hidrofóbico se extienden sobre la ranura y la abertura del recubrimiento del dispositivo (que en una realización, es una segunda ranura). La capa hidrofóbica protectora puede estar situada entre el material poroso hidrofílico y el recubrimiento, y se extiende por encima de la abertura del recubrimiento. La capa de reacción del dispositivo puede contener una enzima u otros reactivos para detectar la cantidad de un analito en la muestra de fluido. En una realización, la capa de reacción contiene glucosa oxidasa.

Los electrodos pueden estar dispuestos en cualquier orden adecuado. En una realización, el contraelectrodo es el más próximo al extremo próximo de la placa de base, y el electrodo de referencia es el más alejado con respecto al extremo próximo de la placa de base. El electrodo de trabajo puede estar situado entre el contador y los electrodos de referencia. En una realización del dispositivo, el material hidrofílico poroso está dispuesto sobre la placa de base, la capa protectora hidrofóbica está dispuesta sobre el material hidrofílico poroso, y el recubrimiento está dispuesto sobre la capa protectora hidrofóbica.

En otro aspecto, la presente invención da a conocer procedimientos de determinación de la concentración de un analito en una muestra de fluido. Los procedimientos comportan la colocación de una parte de la sangre sobre un dispositivo de prueba de la presente invención, insertando el dispositivo de prueba en el sistema electrónico de

detección, de manera que el dispositivo de prueba está conectado al sistema de detección a través de conductores de contacto del dispositivo de prueba, y determinando la concentración del analito de la muestra de fluido.

Breve descripción de los dibujos

5 La figura 1 muestra la disposición de las capas de un dispositivo de la invención y la cámara de reacción definida por las capas, que está limitada por la placa de base 101, lados de la ranura 113, y material hidrofílico poroso 115.

10 La figura 2 muestra la disposición de componentes de un dispositivo de la invención.

La figura 3 muestra otra ilustración de un dispositivo de la figura 2, con las capas superiores alineadas representadas esquemáticamente y mostrando la posición de los conductores en contacto 123 de una realización.

15 La figura 4 es una vista superior y en el dispositivo de la figura 1.

La figura 5 proporciona una ilustración gráfica de los resultados de ensayos utilizando un dispositivo de la invención.

Descripción detallada

20 El dispositivo de la presente invención comprende una placa de base, un material poroso hidrofílico, un protector hidrofóbico, y un recubrimiento. En algunas realizaciones, el dispositivo puede contener también una capa aislante. Los componentes del dispositivo pueden estar laminados conjuntamente o en otras realizaciones pueden estar impresos sobre la placa de base para formar el dispositivo, o pueden estar fijados entre sí utilizando adhesivos. La  
25 placa de base 101, la capa aislante 111 (en caso de que exista) y el material hidrofílico poroso 115 forman una abertura 201 para la entrada de la muestra, donde se introduce la muestra de fluido hacia dentro del dispositivo en la preparación para el análisis. La abertura de entrada de la muestra puede encontrarse presente en el extremo próximo del dispositivo, de manera que la muestra introducida en dicha entrada para la admisión de muestras es retenida sobre los electrodos del dispositivo de la cámara de reacción.

30 En su utilización, el extremo próximo 109 del dispositivo, que contiene la abertura para la entrada de la muestra, establece contacto con una gotita de la muestra de pruebas. En una realización, la muestra de pruebas es sangre entera, que el usuario puede conseguir pinchando un dedo. Cuando la abertura para la entrada de la muestra establece contacto con una gotita de fluido de muestra, el fluido de muestra es introducido en la cámara de  
35 reacción del dispositivo y es retenido sobre los electrodos del dispositivo. El dispositivo es preparado a continuación para su inserción en un lector electrónico, que dirigirá una corriente eléctrica que pasará por los electrodos, y de esta manera medirá el paso de corriente y determinará la presencia o cantidad del analito en la muestra:

40 Placa de base

Haciendo referencia a la figura 1, la placa de base 101 del dispositivo se ha mostrado conteniendo los electrodos (103, 105, 107), que son utilizados para determinar electrónicamente la presencia o cantidad de un analito de interés presente en la muestra de fluido. Como mínimo, dos electrodos se encuentran presentes en el dispositivo, pero la  
45 placa de base puede contener tres (o más) electrodos (tal como se ha mostrado). La placa de base 101 puede ser construida mediante una serie de materiales, tales como carbono, poliestireno, policarbonato, resina de cloruro de polivinilo, y un poliéster. En una realización, la capa de base está fabricada de polietileno tereftalato (PET). Una tira de PET de 5 milésimas de pulgada de grosor proporciona el soporte apropiado, tal como lo hace una película de PET blanco de 14 milésimas de pulgada. Desde luego, muchos grosores distintos funcionarán igualmente bien en la  
50 invención. La placa de base proporciona un soporte para recibir los electrodos y los conductores de los electrodos.

En una realización, los electrodos y conductores de los electrodos están impresos sobre la placa de base. Se pueden utilizar Ag/AgCl, tintas de carbón (grafito), paladio, oro, platino, iridio, óxido de estaño dopado con indio, acero inoxidable, y otros materiales conductores adecuados. Los electrodos pueden ser realizados también a base  
55 de combinaciones de estos materiales. Por ejemplo, una parte del electrodo puede ser de un material y otra parte del mismo electrodo puede ser de otro material. Los electrodos pueden ser dispuestos sobre la capa de base en cualquier formato deseable. En una realización, el dispositivo tiene tres electrodos, un electrodo de trabajo, un contraelectrodo, y un electrodo de referencia. En una realización, el contraelectrodo 107 está situado más próximo al extremo próximo 109 del dispositivo, y el electrodo de referencia 105 está colocado el más alejado con respecto al  
60 extremo próximo del dispositivo. El electrodo de trabajo 103 puede ser colocado entre el contraelectrodo 107 y el electrodo de referencia 105. En otra realización, dos electrodos (o más) pueden encontrarse presentes, o los electrodos pueden estar dispuestos en otros formatos. La placa de base contiene también conductores 121 para los electrodos, y tiene conductores de contacto 123 en un extremo. En una realización, los conductores de contacto se encuentran presentes en el extremo distal del dispositivo. Los conductores de contacto pueden ser utilizados para  
65 conectar el dispositivo a un lector que dirige corriente por los electrodos para medir la presencia o la cantidad de un analito de interés en una muestra de líquido. En el presente contexto, el término extremo "próximo" se refiere al

extremo del dispositivo en el que están situados los electrodos, mientras que el extremo “distal” se refiere al extremo del dispositivo en el que están situados los conductores de contacto. Si bien la figura 1 muestra un sistema de electrodos, son posibles otros diseños, y estos se encuentran también dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, los electrodos pueden ser diseñados de manera que la abertura de entrada de la muestra puede ser posicionada en uno u otro lado del sensor. En estas realizaciones, la abertura de entrada de la muestra se encontraría presente hacia el extremo próximo del sensor, pero no necesariamente en el borde extremo.

En una realización, el material hidrofílico poroso y la capa protectora hidrofóbica recubren la totalidad del sensor, pero en otras realizaciones recubren solamente el extremo próximo del dispositivo. El “extremo próximo” del dispositivo es el extremo más alejado con respecto a los conductores de contacto y el extremo en el que están situados los electrodos. En varias realizaciones, el extremo próximo del dispositivo es el tercio del dispositivo más próximo a los electrodos y más alejado de los conductores de contacto, según una medición longitudinal. En otras diferentes realizaciones, el extremo próximo es la cuarta parte, o la quinta parte, o la mitad del dispositivo más próxima a los electrodos y más alejada de los conductores de contacto. En una realización, el material hidrofílico poroso y la capa protectora hidrofóbica recubren, como mínimo, el espacio situado dentro de la ranura de la capa aislante (cuando exista) y el espacio situado por debajo de la abertura en el recubrimiento.

#### Capa de reacción

Una capa de reacción puede ser situada sobre, como mínimo, uno de los electrodos, pero puede recubrir dos electrodos o la totalidad de los mismos. La capa de reacción contiene uno o varios reactivos para medir la presencia o la cantidad de un analito de interés en la muestra de fluido. Los reactivos presentes en la capa de reacción dependerán del ensayo específico que se lleva a cabo. Cualquier analito para el que existan reactivos que producirán una señal detectable eléctricamente cuando se encuentra presente el analito, pueden ser incluidos en la capa de reactivo. En una realización, la capa de reacción contiene un óxido reductasa y un aceptador de electrones, para analizar la muestra y generar una sustancia mediante la reacción que es detectable por el sistema de electrodos. La capa de reacción está contenida de modo deseable sobre la placa de base, pero también puede encontrarse presente en cualquier punto dentro de la cámara de reacción, que es el volumen definido por la placa de base 101, la superficie interna de la ranura 113 de la capa aislante 111 (cuando existe dicha capa aislante) y la rejilla del material hidrofílico poroso 115. El término “ranura” se refiere a un canal, rebaje, o regata. La ranura puede tener cualquier forma, pero en una realización será un canal o rebaje redondeado, tal como se ha mostrado en las figuras. La ranura se puede extender desde cualquier lado de la capa aislante o recubrimiento sobre, como mínimo, uno de los electrodos del dispositivo.

En una realización, el analito de interés es glucosa presente en la sangre (por ejemplo, sangre entera). En esta realización, la capa de reacción puede incluir glucosa oxidasa. Los reactivos pueden incluir también un agente de unión. En una realización, el agente de unión es hidroxietilcelulosa (HEC). También se puede utilizar el polímero NATROSOL<sup>®</sup> HEC M para la unión de los componentes de la capa de reactivo. Esta unión es hidrofílica y también puede ser utilizada para mezclar la muestra de sangre entrante, de manera que se establece una célula electroquímica en un periodo de segundos. También se pueden utilizar como unión otros materiales, por ejemplo, hidroximetilcelulosa e hidroxipropil celulosa. También se puede incluir un estabilizante en la formulación de reactivo. En una realización, se puede incluir polietilenglicol (PEG). El PEG puede facilitar también una respuesta rápida en el ensayo. En otras varias realizaciones, la capa de reacción puede contener también mediadores, tensoactivos, estabilizantes y polímeros, y cualesquiera otros reactivos útiles para llevar a cabo el ensayo.

#### Capa aislante

En algunas realizaciones, una capa aislante 111 se encuentra presente sobre la capa de base 101. Sin embargo, en otras realizaciones, el dispositivo funcionará sin capa aislante. Cuando se encuentra presente, la capa aislante puede contener una ranura 113 presente en el extremo próximo 109 del dispositivo, y que establece un límite de la cámara de reacción. En estas realizaciones en las que no se encuentra presente capa aislante, la cámara de reacción es el espacio situado dentro de la rejilla de material poroso hidrofílico. La ranura de la capa aislante también puede estar situada abriéndose a cualquiera de los lados del dispositivo, y no necesariamente debe estar situada extendiéndose desde el extremo próximo hacia el extremo distal del dispositivo en todas las realizaciones.

En algunas realizaciones, la capa aislante puede ser material plástico u otro material dieléctrico. Entre los ejemplos de materiales dieléctricos adecuados a utilizar como capa aislante se incluyen tintas dieléctricas, adhesivos, cinta o película adhesiva, plásticos, materiales de celuloide, cristal, y elementos laminares dieléctricos. En algunas realizaciones, la capa aislante contendrá también un adhesivo para asegurarlo a la capa de base. La capa aislante puede ser también una cinta adhesiva de dos caras, con una cara fijada a la capa de base y la otra fijada al material poroso hidrofílico y/o al recubrimiento del dispositivo.

En una realización, la capa aislante es AR-care<sup>®</sup> 7840 (Adhesives Research, Inc., Glen Rock, PA), que es una cinta adhesiva de doble cara con recubrimiento de resina acrílica AS-110. La cinta está aplicada como recubrimiento sobre un soporte de plástico de PET de color blanco, de 2 milésimas de pulgada, para formar la placa de base y capa aislante. El recubrimiento adhesivo de cada cara es de 0,70 milésimas de pulgada. En esta realización, el

grosor de la ranura o canal formado es de 3,4 milésimas de pulgada. Cuando existe, la ranura de la capa aislante ayuda a conducir la muestra de fluido a establecer contacto con los electrodos.

#### Material poroso hidrofílico

5 El material poroso hidrofílico 115 puede ser realizado a base de cualquiera de una variedad de materiales, por ejemplo, un gel, fibras de vidrio, un plástico poroso, una membrana porosa, un poliéster, una poliamida, y un material de celulosa (por ejemplo, celulosa o acetato de celulosa). El material hidrofílico poroso sirve para retener la muestra de líquido en contacto con la cámara de reacción, y puede servir también para aspirar por capilaridad la muestra de líquido hacia dentro de la cámara de reacción. El material hidrofílico poroso puede adoptar la forma de una rejilla y tiene superficie hidrofílica. De este modo, el material hidrofílico poroso puede estar realizado a base de un material que es hidrofóbico, pero tiene una superficie modificada para tener características hidrofílicas. El material puede también estar realizado a base de un material que tiene características hidrofílicas naturales. En una realización, el material hidrofílico poroso tiene un adhesivo aplicado al mismo a efectos de fijarlo a la superficie de la placa de base o capa aislante. También puede tener una capa de adhesivo para la fijación de la protección porosa hidrofóbica.

En una realización, el material hidrofílico poroso puede ser una rejilla realizada a base de un poliéster, por ejemplo, una rejilla de poliéster tejida de polietilentereftalato (PET). La superficie del material puede ser modificada por acoplamiento químico de una molécula hidrofílica a la misma. Por ejemplo, en realizaciones en la que el poliéster PET es el material poroso hidrofílico, se puede fijar químicamente un tensoactivo al PET para formar una superficie hidrofílica sobre el PET. El tensoactivo puede ser cualquier tensoactivo que se pueda unir a la superficie del material hidrofílico poroso y que tenga un terminal hidrofílico. Son ejemplos de tensoactivos adecuados el dodecil sulfato sódico, TRITON X-100<sup>®</sup>, polietilenglicoles y dioxanos (por ejemplo, 1,4-dioxano). El material hidrofílico poroso es un material que aspira un fluido y lo transporta a lo largo del material. Una rejilla es una forma de este material. En una realización, la rejilla es un haz de fibras que pueden estar sometidas a torsión de manera libre, trenzadas o tejidas para formar el material hidrofílico poroso. No obstante, la rejilla puede ser de cualquier material poroso que permita el paso de aire a través del mismo. Una rejilla soporta también el transporte y flujo de fluido a través del material.

#### Capa de protección

La capa de protección 117 está situada entre el material hidrofílico poroso 115 y el recubrimiento 119. Por lo tanto, puede estar situado directamente encima del material hidrofílico poroso. La capa de protección protege el área de reacción contra contaminaciones con sustancias que pueden ser introducidas por el usuario al manipular el dispositivo. En una realización, la capa de protección es porosa, para permitir el paso del aire. La capa de protección es hidrofóbica, y sirve para mantener la muestra en el área de reacción e impedir el movimiento de la muestra hacia arriba, saliendo del área de reacción. La capa de protección puede estar realizada a base de cualquier material adecuado. Se incluyen entre los diferentes ejemplos de materiales apropiados un gel, una fibra de vidrio, plásticos porosos y un material celulósico. La capa de protección es hidrofóbica y puede encontrarse presente en forma de una rejilla. En algunas realizaciones, la capa de protección contiene también un adhesivo para unirla a la capa de base y material hidrofílico poroso. La capa de protección no está dotada de recubrimiento con tensoactivo o cualquier otra sustancia que confiera propiedades hidrofílicas a la superficie. El término "hidrofóbico" se refiere a un material que tiene grupos superficiales que no forman una unión significativa de hidrógeno con agua. Los materiales hidrofóbicos no son solubles en agua (si bien pueden tener cierta solubilidad). En general, el agua formará una bolita cuando se coloca sobre un material hidrofóbico, debido a las fuerzas moleculares de repulsión entre el material y las moléculas de agua. Los materiales que son "hidrofílicos" tienen grupos superficiales que forman enlaces de hidrógeno significativos con el agua. Cuando se coloca agua sobre estos materiales esta es adsorbida por el material o retenida dentro del mismo, o es desplazada a través del material. Los enlaces de hidrógeno son significativos cuando constituyen una parte importante de las fuerzas atractivas entre moléculas.

#### Recubrimiento

55 El recubrimiento 119 del dispositivo está realizado a base de un material dieléctrico. Los materiales seleccionados pueden ser cualesquiera de los mismos que se han seleccionado para la capa aislante. El recubrimiento del dispositivo tiene también una abertura dirigida hacia el extremo próximo del dispositivo, para permitir la comunicación de aire entre la cámara de reacción y el exterior del dispositivo. La abertura puede ser una ranura 125 (tal como se ha mostrado en la realización de la figura 1), pero en otras realizaciones la abertura puede ser cualquier tipo de abertura que permita el paso de aire desde la cámara de reacción hacia fuera del dispositivo. En algunas realizaciones, el recubrimiento puede ser una tinta dieléctrica que puede estar impresa sobre el dispositivo. El recubrimiento puede contener también un adhesivo para fijarlo a la capa hidrofóbica protectora y una capa aislante (en caso de que exista), y una placa de base. La abertura del recubrimiento puede estar situada extendiéndose desde el extremo próximo al extremo distal del recubrimiento, tal como se ha mostrado en la figura 1. Sin embargo, la abertura puede estar situada también de manera que se abra desde cualquier lado del recubrimiento, y puede ser también un orificio en el recubrimiento que permite la salida de aire de la cámara de

reacción y la comunicación entre la cámara de reacción y el exterior del dispositivo. La abertura puede estar también alineada con la ranura en la capa aislante para proporcionar la comunicación entre los electrodos y el exterior del dispositivo.

## 5 Área de reacción

La cámara de reacción 201 contiene la capa de reactivo, que está situada, en general, sobre, como mínimo, uno de los electrodos. La cámara de reacción está unida por la placa de base, los laterales de la ranura de la capa aislante (si existe), y el material hidrofílico poroso. Cuando la muestra de fluido es introducida en la cámara de reacción a través de la abertura de admisión de la muestra, los reactivos son solubilizados en la muestra y se prepara la reacción electroquímica para su inicio.

## Analitos y fluidos de muestra

15 Utilizando la presente invención, se puede detectar cualquier analito en una muestra de fluido para la cual se puede diseñar un ensayo electroquímico. Algunos ejemplos de analitos que pueden ser detectados utilizando la presente invención son glucosa, lactato, urea, bicarbonato, ácido 3-hidroxi-butírico (3-HBA), aminoácidos (por ejemplo, L-glutamato, aspartato, L-lisina), amonio, sodio, calcio, metales en forma de trazas, y cualquier otro analito para el que se pueda haber diseñado un ensayo electroquímico. Los reactivos de la capa de reacción se  
20 cambiarán, desde luego, a los apropiados para la prueba del analito de interés. Cuando el 3-HBA es el analito, se pueden incluir en la capa de reactivo mediadores tales como  $K_3Fe(CN)_6$ , ferroceno, hexacianoferrato, y enzimas tales como 3-HBA dehidrogenasa y diaforasa, y el cofactor NAD.

25 Cualquier muestra de fluido (o muestra fluidizada) puede ser analizada utilizando los dispositivos. Se incluyen entre los ejemplos de fluidos de muestra que pueden ser utilizados, la sangre entera, suero de la sangre, plasma de la sangre, orina y saliva. También se pueden comprobar muestras clínicas, muestras biológicas y muestras ambientales, tanto si son suministradas como fluidos o si deben ser licuadas antes del análisis. El fluido de muestra puede ser también un tampón, o una solución o suspensión que contiene un material biológico sólido o gaseoso.

30 Los presentes biosensores y procedimientos se pueden utilizar para detectar cualitativamente o cuantitativamente cualquier analito o enzima. Por ejemplo, el analito a ensayar puede consistir en macromoléculas, tales como péptidos, proteínas, por ejemplo, anticuerpos o receptores, oligonucleótidos, ácidos nucleicos, vitaminas, oligosacáridos, carbohidratos, lípidos o moléculas pequeñas o un complejo de las mismas. Se incluyen entre las proteínas o péptidos a título de ejemplo, las enzimas, proteínas de transporte tales como canales y bombas de  
35 iones, proteínas nutrientes o de almacenamiento, proteínas de contracción o de movilidad, tales como actinas y miosinas, proteínas estructurales, proteínas de defensa o proteínas reguladoras, tales como anticuerpos, hormonas y factores de crecimiento. Se incluyen entre los ácidos nucleicos a título de ejemplo, ADN, tales como ADN de forma A-, B-, o Z-, y ARN tales como mARN, tARN y rARN. Los ácidos nucleicos pueden ser ácidos de cadena única, de cadena doble y de cadena triple. Entre las vitaminas a título de ejemplo se incluyen las vitaminas solubles en agua, tales como tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, piridoxina, biotina, folato, vitamina B<sub>12</sub> y ácido ascórbico, y vitaminas solubles en grasas, tales como vitamina A, vitamina D, vitamina E y vitamina K. Entre los lípidos a título de ejemplo se incluyen los triacilgliceroles, tales como triestearina, tripalmitina y trioleina, ceras, fosfoglicéridos, tales como fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y cardiolipina, esfingolípidos tales como esfingomielina, cerebrosidos y gangliósidos, esteroides, tales como colesterol y estigmasterol, y ésteres de ácidos grasos de esteroles. Los ácidos grasos pueden ser ácidos grasos saturados tales como ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido araquídico y ácido lignocénico, o puede ser ácidos grasos insaturados, tales como ácido palmitoléico, ácido léico, ácido linoléico, ácido linolénico, y ácido araquidónico.

50 El analito o enzima a detectar puede ser un marcador para una ruta biológica, una etapa de un ciclo celular, un tipo de célula, un tipo de tejido, un tipo de órgano, una etapa de desarrollo, una enfermedad, un tipo o etapa de desorden o infección, o un medicamento u otros tratamientos. Se incluyen entre los tejidos a título de ejemplo, tejidos conectivos, hepitelio, músculos o nervios. Entre los órganos a título de ejemplo se incluyen órganos accesorios del ojo, órgano annuloespiral, órgano auditivo, órgano de Chievitz, órgano circumventricular, órgano de Corti, órgano crítico, órgano esmalte ("enamel"), órgano extremo ("end organ"), órgano genital femenino externo, órgano genital masculino externo, órgano flotante, órgano en ramillete de Ruffini, órgano genital, órgano del tendón de Golgi, órgano gustativo, órgano auditivo, órgano genital femenino interno, órgano genital masculino interno, órgano intromitente, órgano de Jacobson, órgano neurohemal, órgano neurotendinoso, órgano olfativo, órgano otolítico, órgano ptótico, órgano de Rosenmuller, órgano del sentido, órgano del olfato, órgano espiral, órgano subcomisural, órgano subfornical, órgano supernumerario, órgano táctil, órgano objetivo ("target"), órgano del gusto, órgano del tacto, órgano urinario, órgano vascular de terminales de lámina, órgano vestibular, órgano vestibulococlear, órgano vestigial, órgano de la visión, órgano visual, órgano vomeronasal, órgano sinuoso ("wandering"), órgano de Weber, y órgano de Zuckerkandl. Se incluyen entre los órganos internos de animales, a título de ejemplo, el cerebro, pulmón, hígado, bazo, tuétano óseo, timo, corazón, linfa, sangre, hueso, cartilago, páncreas, riñón, vesícula, estómago, intestino, testículos, ovario, útero, recto, sistema nervioso, glándulas, vasos sanguíneos internos. Se incluyen entre las enfermedades o desórdenes a título de ejemplo, neoplasma (neoplasia),

cánceres, enfermedades o desórdenes del sistema inmune, enfermedades o desórdenes del metabolismo, enfermedades o desórdenes de músculos y huesos, enfermedades o desórdenes del sistema nervioso, enfermedades o desórdenes señal, enfermedades o desórdenes de transporte.

5 Procedimientos de utilización

Los dispositivos de la invención son útiles para determinar la concentración de un analito en una muestra de fluido. Cuando la muestra de fluido es sangre y el analito de interés es glucosa, se recoge una pequeña muestra de sangre del paciente que en esta realización obtendrá habitualmente la muestra por punción del dedo para obtener una gotita de sangre. El dispositivo, puede establecer contacto con la gotita en la abertura 201 de entrada de la muestra, después de que el dispositivo ha sido insertado en el puerto de lectura de un lector electrónico (por ejemplo, un potencioestado (VMP) y se ha aplicado voltaje. Los contactos eléctricos del medidor establecen contacto con los conductores de contacto correspondientes del dispositivo. La muestra es aspirada hacia el área de reacción por capilaridad a través del material poroso hidrofílico y/o por acción capilar, atrayendo el fluido de muestra hacia dentro de la cámara de reacción. El dispositivo lector proporciona entonces una lectura, y el resultado es determinado por el operador.

Procedimiento de fabricación

20 Se obtiene un material del cual se forma la placa de base. Se disponen electrodos sobre la placa de base. Los electrodos pueden ser conformados utilizando materiales, tal como se ha descrito en lo anterior, y se pueden disponer sobre la placa de base por serigrafía o cualquier otro procedimiento adecuado. Los electrodos pueden ser aplicados en forma de pasta o en otra forma adecuada. Se aplica una capa aislante a la placa de base en algunas realizaciones, si bien no todas las realizaciones utilizan una capa aislante. Cuando la capa aislante es una tinta dieléctrica, esta puede ser también aplicada por serigrafía o cualquiera de los procedimientos que se describen. La capa aislante puede tener una ranura y puede ser aplicada a la placa de base, de manera que los electrodos se encuentran presentes en la ranura, que está rodeada por la capa aislante.

30 A continuación, se aplica un material hidrofílico poroso a la capa de base o capa aislante. El material hidrofílico poroso puede recubrir la totalidad o solamente una parte de la placa de base o material aislante. Si el material hidrofílico poroso recubre solamente una parte de la placa de base, este debe recubrir el área en la que el reactivo está depositado en el área de reacción, y la ranura en la capa aislante (en caso de que exista). También puede cerrar la abertura del recubrimiento cuando se coloca el recubrimiento. Cuando, tanto la capa aislante como el recubrimiento tienen una ranura, las ranuras pueden estar alineadas. A continuación, se fija una capa hidrofóbica protectora al material hidrofílico poroso. Este puede ser fijado nuevamente por adhesivo presente sobre el material hidrofílico poroso o sobre la capa protectora, o sobre ambos. También se fija un recubrimiento al dispositivo. El recubrimiento es fijado de manera que la abertura del mismo se encuentre en alineación con la ranura de la capa aislante (si existe), proporcionando de esta manera comunicación entre los electrodos y el exterior del dispositivo. Cuando el recubrimiento es una tinta dieléctrica, puede ser aplicada por serigrafía sobre la capa protectora hidrofóbica o fijada por cualquiera de los procedimientos que se describen. El dispositivo puede ser configurado también de manera que el material hidrofílico poroso y la capa hidrofóbica protectora no tienen su propia capa o capas de adhesivo, sino que el recubrimiento es una tinta dieléctrica que es aplicada a la capa hidrofóbica protectora y material hidrofílico poroso situado por debajo (y capa aislante si existe). El recubrimiento puede ser aplicado de manera que penetre en los poros de la capa hidrofóbica protectora y el material hidrofílico poroso, y de esta manera fijar estos elementos al dispositivo.

**Ejemplo 1 - Construcción de un sensor**

50 Este ejemplo muestra la construcción de un sensor, según la invención. Un chip de 14 milésimas de pulgada de PET tratado por impresión fue seleccionado para formar la placa de base. Se imprimió tinta Ag/AgCl sobre la base de PET para formar los conductores de contacto, conductores de conducción, y el electrodo de referencia del sistema de electrodos, seguido de calentamiento hasta estado seco. A continuación, se imprimió tinta conductora de carbón para formar los conductores de conducción, contactos, contraelectrodos y electrodos de trabajo del sistema de electrodos, seguido de calentamiento hasta estado seco (figura 1). Una capa aislante de PET dispuesta en sándwich con un adhesivo acrílico sensible a la presión (PSA) y capas de desprendimiento de siliconas en ambos lados, fue cortada para formar la capa aislante 111. Por separación mediante pelado de una cara de la capa de desprendimiento, se superpuso la capa aislante de adhesivo sensible a la presión (PSA) de PET sobre la placa base que tenía los electrodos conductores. Opcionalmente, el PSA PET puede ser sustituido por una capa aislante de carbón aplicada por serigrafía que tiene la ranura 113. Separando por pelado otra capa de desprendimiento de la capa aislante de PSA PET, se expone la ranura. Una mezcla fluida de reactivo fue dispensada en forma de chorro dentro de la ranura y secada a continuación a 65°C durante 5 minutos para formar la capa de reactivo (no mostrada en la figura 1).

65 Una rejilla hidrofílica porosa 115 y una rejilla hidrofóbica protectora 117 fueron depositadas a continuación para recubrir el canal microfluidico. Opcionalmente, se puede utilizar una rejilla hidrofílica/hidrofóbica en sustitución del material hidrofílico poroso y de la capa protectora. Otra capa de PSA PET fue aplicada a continuación para

conseguir el recubrimiento del biosensor (figura 1). También se puede utilizar una capa serigrafiada de negro de carbón en vez del PSA PET para formar el recubrimiento.

## Ejemplo 2

5 Este ejemplo muestra la utilización de la invención en la detección de niveles de glucosa en sangre. Se fabricó un dispositivo, tal como se describe en el ejemplo 1, conteniendo un reactivo seco presente en la cámara de reacción y presentando los siguientes componentes: una solución de tampón de fosfato en la que está disuelto, como  
10 mínimo, un polímero hidrofílico, tal como celulosa, un estabilizante de trietanol de disacárido de cadena corta, un tensoactivo, TRITON X-100<sup>®</sup>, un mediador de ferrocianuro y enzima de glucosa oxidasa. Este reactivo fue seleccionado para comprobar la presencia y cantidad de glucosa en la sangre entera.

15 Se utilizó un sistema de tres electrodos en esta realización y la película de reactivo cubría los tres electrodos. Se estima que, cuando la muestra se aplica al sensor, será llevada a establecer contacto con los tres electrodos dentro de un segundo. La capa hidrofóbica protectora sirvió para impedir la contaminación de la muestra por sudor o grasas de las manos del operador.

20 El sensor fue insertado en el puerto de inserción de un potencioestato VMP. Se aplicó un voltaje de +0,4 V al electrodo de trabajo con respecto al electrodo de referencia y, a continuación, se aplicó una muestra de sangre entera. Veinte segundos después de que la muestra de sangre fue aplicada al electrodo de trabajo se midió la corriente que pasaba por el electrodo de trabajo y el contraelectrodo.

25 Los valores de la corriente fueron obtenidos de varias muestras que contenían diferentes concentraciones de glucosa. La figura 5 proporciona una ilustración gráfica de la característica de respuesta del sensor de glucosa a diferentes soluciones de muestra. Tal como se ha indicado en la figura 5, se obtuvo una correlación lineal y estadística.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo microfluídico para determinar una cantidad de un analito en una muestra, que comprende:

- 5 una placa base realizada en un material dieléctrico y que tiene un sistema de electrodos, en el que la placa base (101) comprende un extremo próximo, cuyo extremo próximo (109) incluye, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107);  
una capa de reacción sobre, como mínimo, uno de los electrodos que comprende reactivos para producir una señal detectable como respuesta a una cantidad de analito de la muestra;
- 10 un material hidrofílico poroso (115) para mantener una muestra de líquido en contacto con la placa base (101);  
una capa hidrofóbica protectora (117) dispuesta sobre el material hidrofílico poroso (115);  
una tapa(119) realizado en un material dieléctrico y que tiene un extremo próximo y un extremo distal comprendido sobre la capa hidrofóbica protectora (117) y que contiene una abertura que proporciona comunicación de fluido entre los electrodos y el exterior del dispositivo, caracterizado porque la capa hidrofóbica protectora (117) recubre, como mínimo, dicho extremo próximo (109) en el que están dispuestos dichos, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107).
- 15 2. Dispositivo, según la reivindicación 1, que comprende, además, una capa aislante (111) dispuesta entre la placa de base (101) y el material hidrofílico poroso (115), de manera que la capa aislante (111) comprende una ranura (113), y está formado por un material hidrofóbico dieléctrico, y en el que el material hidrofílico poroso (115) está dispuesto entre la capa aislante (111) y la capa hidrofóbica protectora (117).
- 20 3. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que los, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107) comprenden un electrodo de trabajo (103), un electrodo de referencia (105), y un contraelectrodo (107).
- 25 4. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que la placa base (101) está realizada en un material seleccionado entre el grupo que consiste en carbono, poliestireno, policarbonato, y un poliéster.
- 30 5. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que el material hidrofílico poroso (115) es seleccionado entre el grupo que consiste en: un gel, una fibra de vidrio, un plástico poroso, una rejilla, un material de celulosa y un poliéster.
- 35 6. Dispositivo, según la reivindicación 5, en el que el material hidrofílico poroso (115) es una rejilla.
7. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que la capa protectora (117) está formada por un material seleccionado entre el grupo que consiste en: un gel, fibra de vidrio, plásticos porosos, material de celulosa, un poliéster, y una rejilla.
- 40 8. Dispositivo, según la reivindicación 7, en el que la capa protectora (117) se encuentra presente en forma de una rejilla.
- 45 9. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que la tapa (119) está formada por un material hidrofóbico, no conductor, seleccionado entre el grupo que consiste en: una tinta, un adhesivo, cinta adhesiva, un plástico, material de celuloide, vidrio, y un elemento laminar no conductor; y en el que la abertura de la tapa (119) comprende una ranura que se extiende desde el extremo próximo al extremo distal de la tapa.
- 50 10. Dispositivo, según la reivindicación 2, en el que la tapa (119) y la capa aislante (111) están formados por un material no conductor, seleccionado entre el grupo que consiste en: una tinta, un adhesivo, una cinta adhesiva, un plástico, un material de celuloide, vidrio, y un elemento laminar no conductor; y en el que la abertura de la tapa comprende una segunda ranura que se extiende desde el extremo próximo al extremo distal de la tapa (119) y está alineada con la ranura (113) de la capa aislante (111).
- 55 11. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que el material poroso hidrofílico (115) y la capa de protección (117) cubren, como mínimo, una parte próxima de la placa base (101) y los, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107) comunican con el exterior del dispositivo a través de una abertura en una parte próxima de la tapa.
- 60 12. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que la capa protectora (117) está situada entre el material hidrofílico poroso (115) y la etapa (119), y se extiende sobre la abertura de la tapa.
13. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que la capa de reacción comprende glucosa oxidasa.
- 65 14. Dispositivo, según la reivindicación 3, en el que el contraelectrodo (107) es el más próximo al extremo próximo de placa de base (101), y el electrodo de referencia (105) es el más alejado con respecto al extremo próximo de la placa de base (101).

15. Dispositivo, según la reivindicación 1, en el que el material hidrofílico poroso (115) está dispuesto sobre la placa base (101), la capa hidrofóbica protectora (117) está dispuesta sobre el material hidrofílico poroso (115), y la tapa está dispuesta sobre, como mínimo, la capa hidrofóbica protectora (117).

5 16. Dispositivo, según la reivindicación 2, en el que la placa base (101), la ranura (113), y el material hidrofílico poroso (115) definen una cámara de reacción, y la capa de reacción está comprendida dentro de la cámara de reacción.

10 17. Procedimiento para determinar la concentración de un analito en una muestra de fluido, que comprende:

colocar una parte de la muestra sobre un dispositivo de prueba, que comprende:

15 una placa de base (101) realizada en material dieléctrico y que tiene un material de electrodos en el que la placa de base (101) comprende un extremo próximo, cuyo extremo próximo (109) comprende, como mínimo, dos electrodos;

una capa de reacción sobre, como mínimo, uno de los electrodos, que comprende materiales para la producción de una señal detectable como respuesta a una cantidad de analito de la muestra;

20 un material hidrofílico poroso (115) para la aspiración por capilaridad de la muestra de líquido a establecer contacto con la primera capa;

una capa hidrofóbica protectora (117) comprendida sobre el material de capilaridad, de manera que la capa hidrofóbica protectora (117) recubre, como mínimo, una parte de dicha placa de base (101), comprendiendo dichos, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107); y

25 una tapa (119) realizada en un material hidrofóbico, dieléctrico, y que tiene un extremo próximo y un extremo distal comprendido sobre la capa hidrofóbica (117) y que contiene una abertura que proporciona comunicación de fluido entre los electrodos (103, 105, 107) y el exterior del dispositivo;

30 insertando el dispositivo de prueba en un sistema de detección electrónico, de manera que el dispositivo de prueba es conectado al sistema de detección a través de los conductores de contacto del dispositivo de prueba;

determinando la concentración del analito en la muestra de fluido.

35 18. Procedimiento, según la reivindicación 17, en el que:

el dispositivo comprende, además, una capa aislante (111) dispuesta entre la placa de base (101) y el material hidrofílico poroso (115), de manera que la capa aislante está formada por material hidrofóbico, material dieléctrico y comprende una ranura alineada con la abertura de la tapa.

40 19. Procedimiento, según la reivindicación 17, en el que:

los, como mínimo, dos electrodos (103, 105, 107) son tres electrodos que comprenden un electrodo de trabajo (103), un electrodo de referencia (105), y un contraelectrodo (107);

45 la placa de base (101) está realizada en un material seleccionado entre el grupo que consiste en: carbono, poliestireno, policarbonato, y un poliéster;

el material hidrofílico poroso (115) es un material seleccionado entre el grupo que consiste en: un gel, una fibra de vidrio, un plástico poroso, un material celulósico y un poliéster;

50 la capa hidrofóbica protectora (117) está formada por un material seleccionado entre el grupo que consiste en: un gel, una fibra de vidrio, un plástico poroso, un material celulósico, y un poliéster; y

la tapa (119) y la capa aislante (111) están formados por un material, no conductor, seleccionado entre el grupo que consiste en una tinta, un adhesivo, una cinta adhesiva, un plástico, un material de celuloide, un cristal, y un elemento laminar no conductor.

55

Figura 1

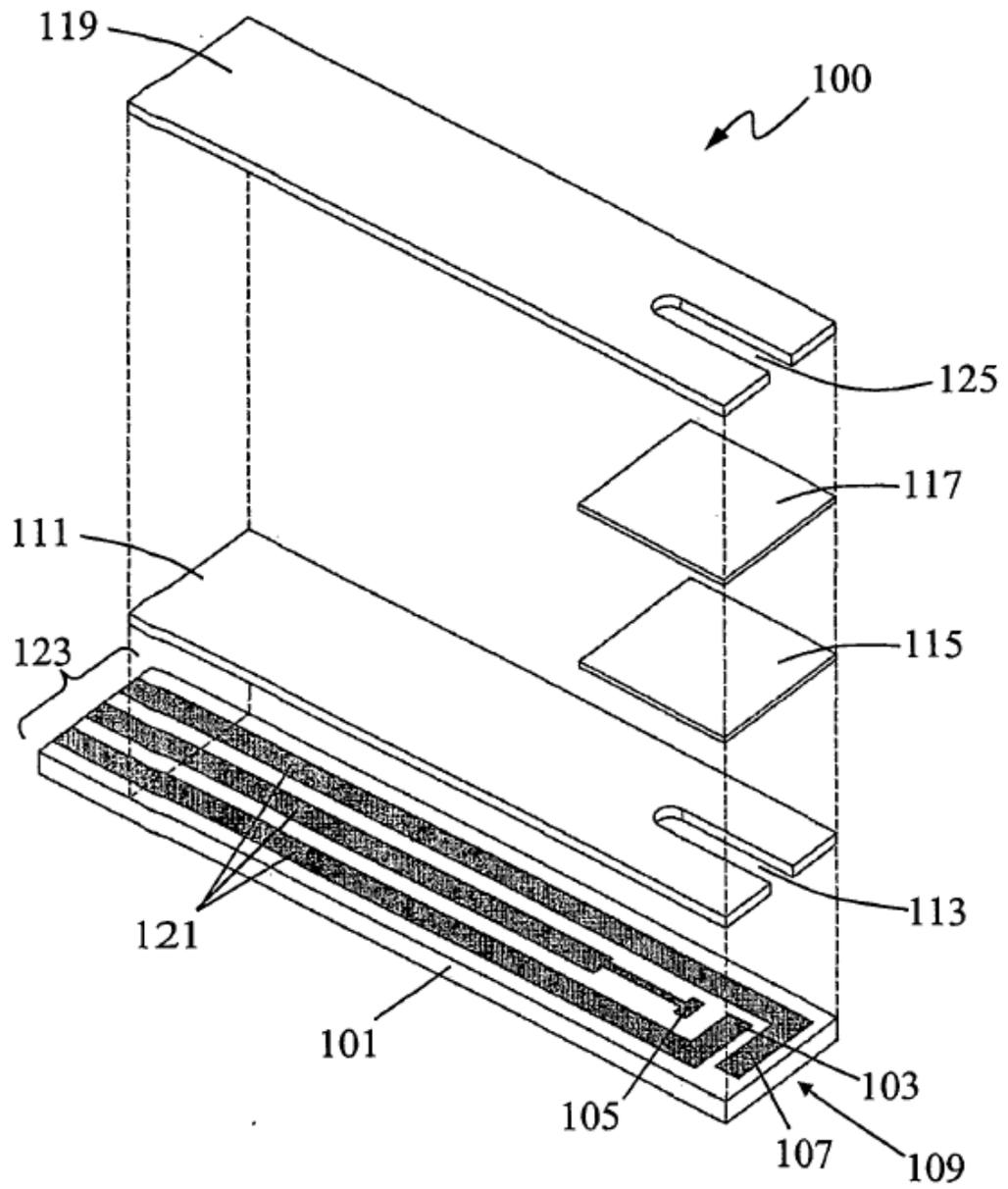


Figura 2

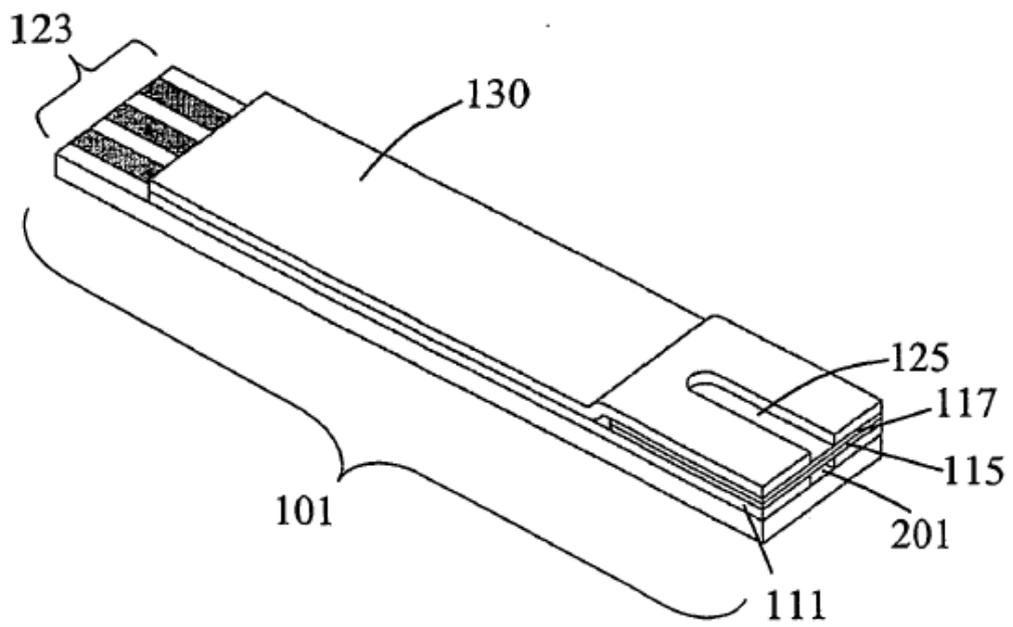


Figura 3

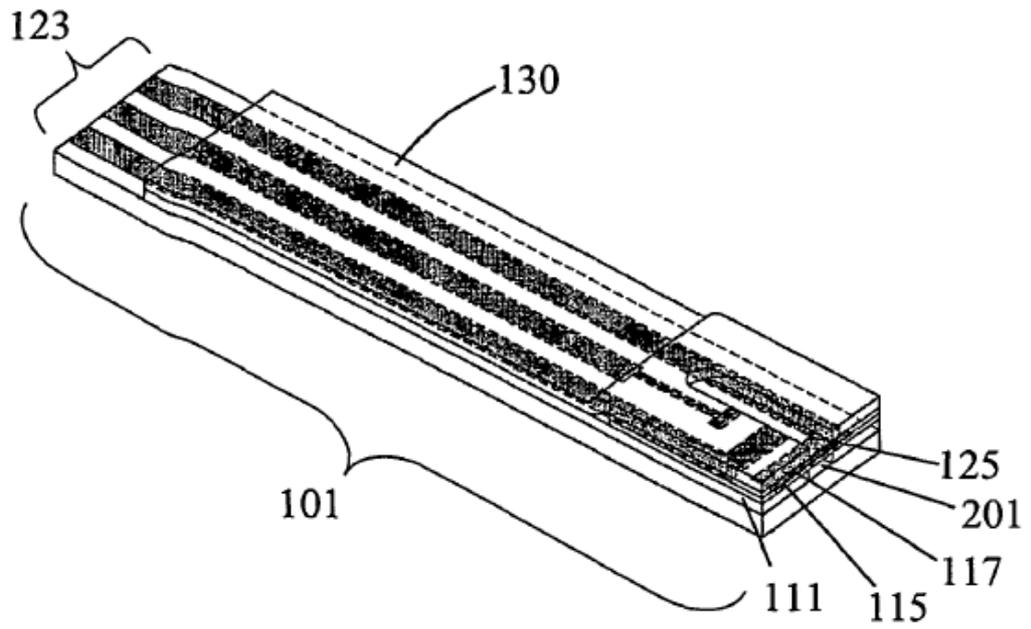


Figura 4

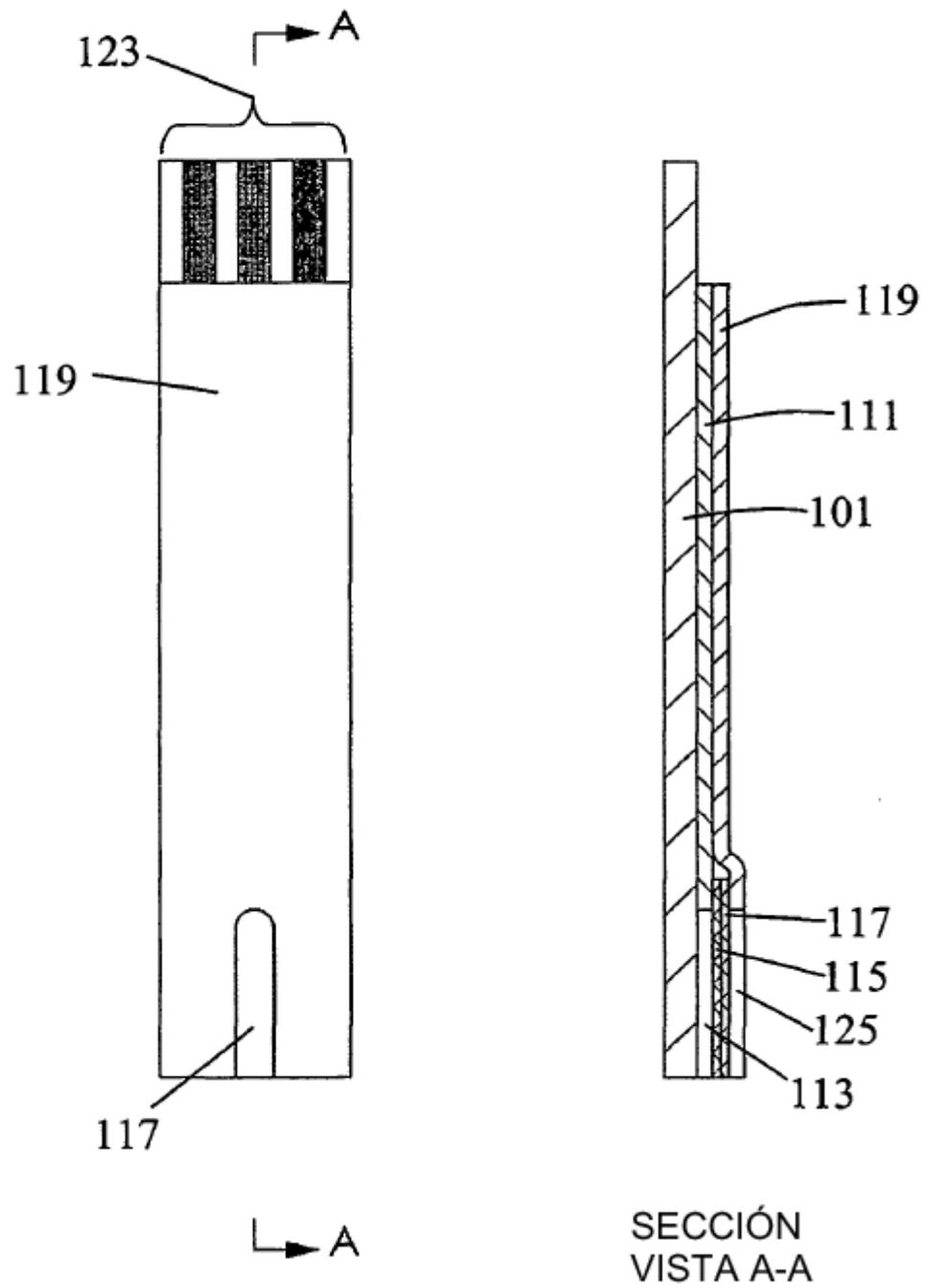


Figura 5

