

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 382**

51 Int. Cl.:
G01N 33/49 (2006.01)
B81B 1/00 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07705600 .0**
96 Fecha de presentación: **15.02.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **1987353**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.11.2008**

54 Título: **Mecanismo de transferencia de fluidos**

30 Prioridad:
21.02.2006 US 774678 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.10.2012

73 Titular/es:
UNIVERSAL BIOSENSORS PTY LIMITED
(100.0%)
1 Corporate Avenue
Rowville VIC 3178 , AU

72 Inventor/es:
HODGES, ALASTAIR MCINDOE;
CHATELIER, RONALD CHRISTOPHER y
CHAMBERS, GARRY

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 389 382 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

Mecanismo de transferencia de fluidos

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 La presente invención versa, en general, acerca de mecanismos de transferencia de fluidos. Los ejemplos de realizaciones particulares de la invención versan acerca de mecanismos médicos de pruebas de fluidos.

Técnica relacionada

- 10 El diseño de algunas tiras de detección requiere dos o más cámaras en las que se pueda introducir fluido en una cámara y luego ser transferido a una segunda cámara o a cámaras adicionales después de un tiempo predeterminado. En particular, las tiras de inmunoanálisis como las divulgadas en las solicitudes de patentes US n^{os} 10/830.841 y 11/284.097 tenían al menos dos cámaras, una primera cámara de reacción y una segunda cámara de detección. Durante su uso, se introducía en primer lugar el líquido en la cámara de reacción y se mantenía ahí durante un tiempo predeterminado mientras proseguían las reacciones de inmunoenlace, luego era transferido a la cámara de detección. Esta transferencia temporizada se conseguía al hacer que la cámara de detección se abra a la cámara de reacción pero sin ventilación inicialmente, de forma que cuando se llenaba la cámara de reacción, el líquido cerraba la abertura a la cámara de detección. Este aire atrapado en la cámara de detección evitaba que se llenase de líquido. Cuando se deseaba llenar la cámara de detección, se abría un agujero de ventilación en el extremo de la cámara de detección alejado de la cámara de reacción, normalmente al perforar una capa, con lo cual el líquido se transfería desde la cámara de reacción hasta la cámara de detección bien al vaciar parcialmente la cámara de reacción o bien al atraer una muestra de un receptáculo de llenado.

- 15 El procedimiento dado anteriormente tiene un número de desventajas potenciales. Puede ser difícil cerrar la entrada a la cámara de detección de forma fiable en toda la gama de viscosidades de muestras encontradas cuando se somete a ensayo a la sangre completa. Esto significa que distintas cantidades de líquido pueden entrar en la cámara de detección durante el llenado de la cámara de reacción, lo que puede añadir a la variabilidad de la respuesta. Además, puede ser difícil garantizar la fiabilidad de un procedimiento de perforación durante la vida del medidor, con el potencial de que una aguja o cuchilla se vuelva roma con un uso reiterado. Por lo tanto, sería deseable desarrollar un procedimiento para efectuar una transferencia temporizada de líquido que supere estas dificultades.

- 20 El documento EP0057110 describe un recipiente de reacción con zonas primera y segunda conectadas por una vía y un procedimiento para llevar a cabo la interacción de líquidos y reactivos.

Breve resumen de la invención

- 25 Un ejemplo de una realización de la invención busca proporcionar un procedimiento fiable y robusto para transferir pequeños volúmenes de líquido entre cámaras utilizando fuerzas pasivas de transferencia. El procedimiento implica proporcionar una pared porosa entre las cámaras entre las que se va a transferir el líquido. La pared porosa tiene poros que son lo suficientemente grandes como para ser llenados sustancialmente con el líquido que va a ser transferido, pero lo suficientemente pequeños de forma que la tensión superficial de la superficie de contacto líquida con la segunda cámara evite que el líquido se escape de los poros al interior de la segunda cámara hasta que se lleve a cabo una etapa de iniciación.

- 30 Se introduce líquido en el interior de una primera cámara, de forma que humecta la pared porosa y llena al menos parcialmente los poros. Sin embargo, el líquido no entra en la segunda cámara en este punto dado que la tensión superficial evita que salga de la cara opuesta de la pared porosa al interior de la segunda cámara. Cuando se desea transferir el líquido a la segunda cámara, se lleva a cabo una etapa de iniciación que supera o rompe la tensión superficial y permite que el líquido fluya fuera de los poros y al interior de la segunda cámara.

- 35 La etapa de iniciación es tal que supera la tensión superficial que mantiene el líquido en los poros en la pared y permite que el líquido entre en la segunda cámara. Se puede proporcionar esta etapa de iniciación al suministrar un impulso de presión al líquido en la primera cámara, creando un vacío en la segunda cámara, haciendo vibrar la tira, poniendo en contacto una superficie con la superficie de la pared porosa orientada a la segunda cámara, o cualquier otro procedimiento que rompa o supere la tensión superficial.

- 40 Se pueden llenar múltiples segundas cámaras desde una única primera cámara al mismo tiempo, o en distintos momentos, al inducir el mecanismo de iniciación en la o las segundas cámaras deseadas en el o los momentos deseados. Además, se podría llenar una tercera cámara desde la segunda cámara al tener al menos una porción de una pared de la segunda cámara porosa y en común con la tercera cámara, llevándose a cabo la etapa de iniciación en la tercera cámara cuando se requiere la transferencia. Por supuesto, esto puede ser repetido para una cadena subsiguiente de cámaras en paralelo o en serie.

Las realizaciones particulares de la invención proporcionan un dispositivo de transferencia de fluidos para transferir líquido desde una primera cámara hasta una segunda cámara. El dispositivo tiene una primera cámara; una segunda cámara; y una barrera entre la primera cámara y la segunda cámara, teniendo la barrera al menos una abertura que conecta de forma fluida la primera cámara con la segunda cámara, estando dimensionada la al menos una abertura de forma que una fuerza de retención mantiene el líquido en la primera cámara. El fluido es transferido desde la primera cámara hasta la segunda cámara cuando se introduce una entrada de iniciación al líquido que es suficiente para superar la fuerza de retención.

Otras realizaciones de la invención proporcionan procedimientos para la transferencia de líquidos desde una primera cámara hasta una segunda cámara. Los procedimientos incluyen proporcionar una primera cámara; proporcionar una segunda cámara; proporcionar una barrera entre la primera cámara y la segunda cámara, teniendo la barrera al menos una abertura que conecta de forma fluida la primera cámara con la segunda cámara, estando dimensionada la al menos una abertura de forma que una fuerza de retención mantiene el líquido en la primera cámara; y transferir el líquido desde la primera cámara hasta la segunda cámara. La transferencia tiene lugar cuando se introduce una entrada de iniciación en el líquido que es suficiente para superar la fuerza de retención.

15 **Breve descripción de los dibujos**

Las anteriores y otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de lo que sigue, más en particular la descripción de realizaciones particulares de la invención, como se ilustra en los dibujos adjuntos en los que los números similares de referencia indican generalmente elementos idénticos, funcionalmente similares, y/o estructuralmente similares.

20 La Figura 1 muestra un ejemplo de una primera realización de la invención;
 la Figura 2 es una vista en corte a lo largo de la línea de sección A-A' de la realización mostrada en la Figura 1;
 la Figura 3 es una vista en corte a lo largo de la línea de sección B-B' de la realización mostrada en la Figura 1;
 la Figura 4 muestra un ejemplo de una segunda realización de la invención;
 la Figura 5 es una vista en corte a lo largo de la línea de sección A-A' de la realización mostrada en la Figura 4;
 25 la Figura 6 es una vista en corte a lo largo de la línea de sección B-B' de la realización mostrada en la Figura 4;
 la Figura 7 muestra una realización alternativa de la invención;
 la Figura 8 muestra un ejemplo de una tercera realización de la invención;
 la Figura 9 es una vista despiezada de la realización mostrada en la Figura 8;
 la Figura 10 es un gráfico que muestra corriente como una función de tiempo de un primer ejemplo de la invención; y
 30 la Figura 11 es un gráfico que muestra corriente como una función de tiempo de un segundo ejemplo de la invención.

Descripción detallada de la invención

Se describirá ahora la invención con referencia a una realización específica de dos cámaras con una etapa específica de iniciación. Esta realización versa acerca de una tira desechable de inmunoanálisis que utiliza una detección electroquímica de los resultados de una reacción de inmunoenlace. Se debe hacer notar que se utilizan los términos superior e inferior únicamente por conveniencia en la siguiente descripción, no implican nada acerca de la orientación preferente del dispositivo durante su uso, que en realidad puede ser utilizado en cualquier orientación.

La tira comprende tres cámaras, una cámara de llenado, una cámara de reacción y una cámara de detección. La cámara de llenado sirve para recibir la muestra y actúa como un receptáculo de muestras, la cámara de reacción contiene reactivos por lo que se inmoviliza de forma selectiva una sonda en la cámara de reacción hasta distintas extensiones dependiendo de la presencia o la concentración de un analito en la muestra. La cámara de detección contiene electrodos y reactivos de forma que pueda detectar la cantidad de sonda transferida con líquido desde la cámara de reacción y, de esta manera, detectar o cuantificar la cantidad de analito en la muestra original. En las Figuras 1-3 se muestra un ejemplo de tal tira. La tira 100 tiene un número de capas que están laminadas entre sí utilizando adhesivos. La tira tiene tres cámaras, una cámara 1 de llenado, una cámara 2 de reacción, y una cámara 3 de detección. Las capas 10 y 70 son capas de sellado que sirven para cerrar las caras de la cámara 1 para ayudar a formar un espacio capilar. La capa 20 es una capa que tiene una superficie superior eléctricamente conductora que sirve de electrodo en la cámara 3 de detección. Las capas 30 y 50 son capas de separación que tienen caras adhesivas superior e inferior. Las capas 30 y 50 sirven para mantener el material laminar unido y para definir la altura de las cámaras de detección y de reacción, respectivamente. Una región recortada de la capa 30 mostrada en las Figuras 2 y 3 define el área de la cámara 3 de detección y el área de los electrodos de la cámara de detección.

Una región recortada de la capa 50 mostrada en las Figuras 2 y 3 define el área de la cámara 2 de reacción. La capa 40 es una capa que contiene poros que sirven de poros que conectan la cámara 2 de reacción con la cámara 3 de detección. La capa 40 tiene un revestimiento eléctricamente conductor en su superficie inferior que sirve de segundo electrodo en la cámara 3 de detección. La capa 60 sirve para cerrar la cámara 2 de reacción y la cámara 1 de llenado. Opcionalmente, la capa 60 puede tener un revestimiento eléctricamente conductor en su superficie inferior para servir de electrodo para detectar cuando el líquido llena la cámara 2 de reacción. Con esta opción, el líquido llena la cámara 2 de reacción y los poros en 40, puenteando de esta manera el electrodo en la cara inferior de 40 y el de la cara inferior de 60. Este puenteo puede ser detectado para indicar al medidor que inicie la secuencia de prueba. Las capas 10 y 70 pueden ser fijadas a capas 20 y 60, respectivamente, por medio de cualquier procedimiento adecuado. Un procedimiento preferente es utilizar adhesivo. En una realización, se puede aplicar el adhesivo a la superficie inferior de la capa 20 y a la superficie superior de la capa 60, entonces se pueden laminar las capas 10 y 70 sobre estas capas adhesivas. De forma alternativa, se puede revestir adhesivo sobre las capas 10 y 70 y luego se pueden laminar esas capas sobre 20 y 60.

Las Figuras 4-6 muestran una realización alternativa en la que el recorte en la capa 50 para formar la cámara 2 de reacción es tal que las paredes del recorte rodean por completo el recorte para formar un área encerrada. Esta realización tiene la ventaja de evitar que el líquido de la cámara 2 de reacción humecte en torno al borde abierto de la cámara 2 de reacción para llenar la cámara 3 de detección desde su borde abierto, en vez de a través de la pared porosa que conecta las dos cámaras. En esta realización, el aire que es desplazado según llena el líquido la cámara 2 de reacción puede ventilarse a través de los agujeros en la pared porosa, permitiendo que la cámara se llene hasta que todos los poros en la pared estén llenos del líquido o la cámara 2 de reacción esté completamente llena. Se debe hacer notar que no es necesario que la cámara 2 de reacción esté completamente llena para una operación correcta, solo que haya un volumen suficiente de líquido en contacto con los reactivos en la cámara 2 de reacción para llenar la cámara 3 de detección.

También se muestra en las Figuras 4-6 una realización en la que no se requieren las capas 10 y 70 y en cambio se extienden las capas 20 y 60 para formar las paredes extremas de la cámara 1 de llenado. Opcionalmente, en esta realización se puede extender la capa conductora sobre la superficie superior de 20 hasta el interior de la cámara 1 de llenado. Si se hace esto, cuando el líquido llena la cámara 2 de reacción y los poros de la capa 40, se realiza una conexión eléctrica por medio del líquido entre la capa conductora sobre 20 en la cámara 1 de llenado y la capa conductora sobre la superficie inferior de la capa 40. Esto puede detectarse eléctricamente como una caída en la resistencia o un cambio en la tensión, o una corriente que fluye o una capacitancia entre las capas conductoras sobre 20 y 40. Esto puede servir de señal para el medidor de que el líquido ha llenado la cámara 3 de detección y, por lo tanto, automáticamente inicia una secuencia predeterminada de prueba. Se debe hacer notar que una ventaja de este procedimiento es que la señal no será detectada hasta que el líquido en la cámara 1 de llenado tenga un volumen suficiente para tocar la abertura de la cámara 2 de reacción y comenzar a llenar los poros de la capa 40. De forma similar al procedimiento divulgado en el documento US 6.571.651, la dimensión capilar de la cámara 1 de llenado es mayor que la de la cámara 2 de reacción, de esta manera la cámara 1 de llenado puede vaciarse para llenar la cámara 2 de reacción. Así, si la cámara 1 de llenado está dimensionada de forma que tenga un volumen al menos igual al de la cámara 2 de reacción, y preferentemente ligeramente mayor que el de la misma, entonces la señal que indica que el líquido ha sido introducido en el dispositivo no será detectada hasta que haya suficiente líquido introducido para que el dispositivo funcione como se pretende. Una ventaja adicional de esto es que si al principio no se introduce suficiente líquido en la cámara 1 de llenado, se puede añadir más hasta que haya presente una cantidad suficiente sin afectar a la operación prevista del dispositivo. Cuando se inicia la transferencia de fluido entre la cámara 2 de reacción y la cámara 3 de detección, se producirá un segundo cambio en las condiciones eléctricas entre las superficies conductoras sobre 20 y 40, debido a la humectación de la capa conductora sobre 20 en el área de la cámara 3 de detección. Se puede utilizar este cambio para confirmar al medidor que la transferencia de fluido ha sido llevada a cabo con éxito. Se debe hacer notar que, en general, la señal de corriente que surge del área de la capa conductora sobre 20 expuesta en la cámara 1 de llenado será pequeña en comparación con la generada por el área de la capa conductora expuesta en la cámara 3 de detección, de forma que no interferirá significativamente con la señal procedente de la cámara 3 de detección. Esto es así dado que, en general, hay bajas concentraciones, o no hay ninguna cantidad significativa, de especies electroactivas en la muestra nativa que puede generar corriente a las tensiones aplicadas normalmente entre los electrodos en la cámara 3 de detección. Además, la vía líquida relativamente larga entre la capa conductora expuesta en la cámara 1 de llenado y la capa conductora sobre 40 produce una resistencia eléctrica relativamente elevada, lo que tiende a reducir la señal producida de corriente.

Una ventaja de esta realización es que solo se requieren dos conexiones eléctricas para detectar todas las señales eléctricas procedentes de la tira para completar la prueba, una conexión a la capa conductora sobre 20 y la segunda a la capa conductora sobre 40. Los conectores adecuados para esto son dados a conocer en las patentes US n^{os} 6.379.513 y 6.946.067, y en la solicitud de patente US n^o 11/284.136.

En la Figura 7 se muestra un procedimiento alternativo de conexión eléctrica para este dispositivo. El dispositivo 200 de conexión se ilustra con referencia a la presente invención, sin embargo se debe comprender que este aspecto de la invención es aplicable a cualquier dispositivo cuando se desee que se realice una conexión a superficies que están en proximidad estrecha y están enfrentadas entre sí. Los elementos numerados en la Figura 7 con números

en común con las otras figuras denotan el mismo elemento en la presente ilustración. En esta realización de este aspecto de la invención, la Figura 7 muestra el extremo de la tira opuesto al extremo sobre el que se abre la cámara 1 de llenado. Según esta realización, la capa 20 se extiende más allá de la capa 30 de separación y la capa 40. La capa 20 tiene una capa eléctricamente conductora 70 sobre su superficie superior y la capa 40 tiene una capa eléctricamente conductora 90 sobre su superficie inferior. Se desea realizar una conexión eléctrica individual a las capas 70 y 90. La capa 40 se extiende más allá de la capa 30 de separación. Se introduce una capa adicional 110 en el espacio entre las capas 20 y 40 que se extienden más allá de 30. Preferentemente, el grosor de la capa 110 más una capa conductora 80 y cualquier capa adhesiva que pueda haber presente es igual o ligeramente mayor que el grosor de la capa 30. La capa 110 es eléctricamente conductora al menos en su superficie superior 80, sin embargo no es lo suficientemente eléctricamente conductora en todo su grosor, de forma que se pueda realizar una conexión eléctrica entre 80 y 90 pero no entre 90 y 70 por medio de 110. La capa 110 y la capa conductora 80 portada sobre la misma se extienden más allá del borde de 40, de esta manera al poner 80 y 90 en conexión eléctrica, se puede realizar una conexión eléctrica con 90 por medio de 80 en el área de 80 que se extiende más allá de 40. Preferentemente, hay presente una capa adhesiva entre la superficie inferior de 110 y 70 para fijar la capa 110 en su posición. Opcionalmente se puede colocar un adhesivo conductor entre las capas 90 y 80, en al menos una porción del lugar en el que se solapan, para ayudar a garantizar una buena conexión eléctrica. De forma alternativa, se puede configurar la conexión que contiene las patillas o dispositivos similares para conectar la tira a un circuito eléctrico externo de forma que cuando se inserta la tira en la conexión, una o unas caras de la conexión empujan contra la superficie superior de 40 para empujar a 90 en conexión con 80.

En las Figuras 8 y 9 se muestra una realización de la invención que utiliza un dispositivo con tres cámaras activas. La Figura 8 muestra una vista en planta de un dispositivo con tres cámaras activas y una cámara de llenado. La Figura 9 muestra una vista despiezada de esta realización que muestra las diversas capas. La tira 700 comprende una cámara 800 de llenado, una primera cámara 510 de reacción, una cámara 310 de transferencia y de reacción y una segunda cámara 520 de reacción. Las perforaciones 410 en la capa 400 sirven para conectar la primera cámara 510 de reacción con la cámara 310 de transferencia y de reacción. Las perforaciones 420 en la capa 400 sirven para conectar la cámara 310 de transferencia y de reacción con la segunda cámara 520 de reacción. Durante su uso, se añade la muestra a la cámara 800 de llenado hasta que se llena hasta la abertura en 510 en el extremo de la cámara 800 de llenado, con lo cual la muestra llena la primera cámara 510 de reacción. El aire que es desplazado necesariamente durante este procedimiento de llenado escapará a través de los extremos abiertos de la segunda cámara 520 de reacción, por medio de las perforaciones 410 y 420. Se pueden secar uno o más reactivos y capas de reactivos en el interior de la primera cámara 510 de reacción para efectuar una etapa de tratamiento previo de la muestra, por ejemplo. Después del tiempo deseado en la primera cámara 510 de reacción, se puede iniciar la transferencia de fluido a la cámara 310 de transferencia y de reacción mediante el medio dado a conocer, tal como al empujar sobre la capa 200 desde debajo hasta que haga contacto con la superficie inferior de la capa 400 en el área perforada 410. Cuando se inicia esto, la muestra tratada fluirá desde la primera cámara 510 de reacción para llenar la cámara 310 de transferencia y de reacción hasta que se bloquean las perforaciones con la muestra líquida, de forma que el aire ya no pueda escapar a través de perforaciones 420. Opcionalmente, se puede secar un segundo conjunto de reactivos en el interior de la cámara 310 de transferencia y de reacción si se desea llevar a cabo una segunda reacción de la muestra, tal como una reacción de enlace, como se expone a continuación. Se debe hacer notar que es ventajoso, pero no necesario, que las reacciones tengan lugar en todas las cámaras. Por ejemplo, la primera cámara 510 de reacción podría responderse con la cámara de reacción de la realización mostrada en las Figuras 1-7 y la segunda cámara 520 de reacción podría funcionar como la cámara de detección. En este caso, la cámara 310 de transferencia y de reacción actúa simplemente como una cámara de transferencia que separa la primera cámara 510 de reacción y la segunda cámara 520 de reacción lateralmente, al igual que por medio del área perforada 420. Esto puede ser ventajoso en algunas aplicaciones al minimizar que el vapor del fluido en la primera cámara 510 de reacción, cuando está llena, se difunda a una segunda cámara 520 de reacción y humecte los reactivos prematuramente.

Después de que el fluido de muestra está presente en la cámara 310 de transferencia y de reacción durante el tiempo deseado, puede producirse una transferencia adicional de la muestra desde la cámara 310 de transferencia y de reacción hasta la segunda cámara 520 de reacción por medio de perforaciones 420. Esta transferencia puede ser iniciada, por ejemplo, al empujar sobre la superficie superior de la capa 600 por encima de las perforaciones 420, de forma que la superficie inferior de la capa 600 haga contacto con al menos algunas de las perforaciones 420. Además, se pueden secar reactivos en el interior de la segunda cámara 520 de reacción para tratar adicionalmente o reaccionar con los componentes de la muestra. Por ejemplo, se pueden detectar los resultados de cualquier reacción llevada a cabo en la cámara 310 de transferencia y de reacción y en la primera cámara 510 de reacción en la segunda cámara 520 de reacción y pueden ser convertidos en una señal utilizable, bien óptica, bien electroquímica o para algún otro procedimiento adecuado.

La Figura 9 da más detalle de cómo están formadas las diversas cámaras en esta realización. Las capas 200 y 600 son las capas inferior y superior de cierre, respectivamente, cuyas funciones son cerrar las caras de los espacios capilares en la tira, proporcionar capas para hacer contacto con la capa perforada para iniciar la transferencia de fluido si se lleva a cabo la iniciación de esta forma, y para servir de soportes sobre los cuales se pueden colocar una o más capas adicionales. Ejemplos de otras capas son capas de material conductor para formar electrodos y pistas

de conexión eléctrica y capas de reactivo secado que pueden ser requeridas para procesar la muestra en las diversas cámaras.

La capa 500 es una capa superior de separación. Las porciones de la capa 500 son bien recortadas o formadas de otra manera para definir el área de las cámaras primera y segunda 510, 520 de reacción. La capa 500 puede estar formada de un sustrato con adhesivo revestido en ambos lados o puede ser simplemente una capa de adhesivo que ha sido formada o depositada con las áreas que se corresponderán con las cámaras primera y segunda 510, 520 de reacción dejadas sin adhesivo. Si se utiliza un sustrato revestido con adhesivo, las áreas que se corresponden con las cámaras primera y segunda 510, 520 de reacción podrían ser formadas mediante troquelado o retirando de otra manera esas áreas.

La capa 400 es una capa que actúa como una barrera intermedia, y comprende las perforaciones necesarias para completar las transferencias de fluido entre la primera cámara 510 de reacción y la cámara 310 de transferencia y de reacción y la cámara 310 de transferencia y de reacción y la segunda cámara 520 de reacción cuando se requiere. Las perforaciones pueden estar formadas como se describe en otro lugar en la presente divulgación. La capa 300 es una segunda capa de separación con un área abierta que sirve para definir la cámara 310 de transferencia y de reacción. Esta puede ser construida por medio de los procedimientos dados anteriormente para la capa 500. La cámara 800 de llenado puede estar formada al laminar primero o uniendo de otra manera las capas 300, 400 y 500 con áreas 310, 510 y 520 y las perforaciones 410 y 420 preformadas en las capas respectivas, y luego al troquelado a través del material trilaminar para formar el recorte para la cámara 800 de llenado. De forma alternativa, las regiones de 300, 400 y 500 que se corresponden con la cámara 800 de llenado pueden estar formadas por separado en las capas y luego las capas laminadas de forma que las regiones recortadas se alinean para formar las paredes laterales de la cámara 800 de llenado. Las caras extremas de la cámara 800 de llenado están cerradas cuando se laminan 200 y 600 sobre las superficies superior e inferior del material trilaminar que comprende 300, 400 y 500.

Con referencia a la realización ilustrada en las Figuras 1-6, para funcionar como una tira seca de inmunoanálisis, se pueden secar reactivos en el interior de la cámara 2 de reacción y la cámara 3 de detección durante la fabricación. Los reactivos en la cámara 2 de reacción comprenden una sonda ligada a un aglutinante (denominado de aquí en adelante el conjugado) y una diana de enlace a la que puede enlazarse el aglutinante, cuando se puede evitar que la especie porte el aglutinante, o la propia diana de enlace, entre en la cámara 3 de detección. Por ejemplo, el conjugado puede consistir en una enzima tal como la glucosa deshidrogenasa dependiente de PQQ (GDH_{pqq}) ligada a un anticuerpo de un analito de interés. Entonces, el lugar diana de enlace puede ser el analito de interés unido a perlas magnéticas. Se puede evitar que las perlas magnéticas entren en la cámara de detección por medio de un imán que las confina a la cámara 3 de reacción. De forma alternativa, las perlas pueden no ser magnéticas sino ser lo suficientemente grandes de forma que no puedan caber a través de los poros en la capa 40, de forma que esto evita que entren en la cámara 3 de detección. Cuando hay analito en la muestra, el analito libre puede enlazarse en el lugar de enlace en el conjugado y, por lo tanto, bloquear que el conjugado se enlace en los lugares diana inmovilizados. Por lo tanto, el conjugado permanece libre en disolución y así poder ser transferido a la cámara 3 de detección. En esta realización es deseable que el conjugado y el lugar diana de enlace no estén mezclados antes de que la muestra contacte con los reactivos. Para conseguir esto, se puede secar el conjugado sobre la cara inferior de 60 y la especie portadora de los lugares diana de enlace sobre la capa superior de 40. Si los lugares diana de enlace están ubicados sobre perlas magnéticas, un imán permanente o un electroimán colocado junto a la cara superior de 60 pueden atraer las perlas hacia arriba para mezclarse con el conjugado después de que la muestra haya llenado la cámara 2 de reacción y liberado las perlas magnéticas de la capa inicialmente seca. Además, el imán sirve para evitar que las perlas entren en la cámara 3 de detección.

La cámara 3 de detección también contiene reactivos secados durante la fabricación de la tira. Estos reactivos son los necesarios para convertir la presencia de la sonda en una corriente que puede fluir entre los electrodos en la cámara 3 de detección. En esta realización de la invención en la que la sonda es una enzima, se puede incorporar un sustrato y un mediador electroquímicamente activo para la enzima. De forma alternativa, el sustrato para la enzima puede estar incorporado en la cámara 2 de reacción. Esto tiene ventajas cuando el sustrato puede llevar algo de tiempo para volverse activo. Cuando la sonda es GDH, glucosa es un sustrato adecuado, sin embargo la GDH_{pqq} solo es activa con β-D-glucosa. La D-glucosa en el estado seco se encuentra predominantemente en forma de α-D-glucosa, que procede a mutarrotar a β-D-glucosa cuando se disuelve. Por lo tanto, es ventajoso disolver la glucosa en la muestra en la cámara 2 de reacción, de forma que pueda mutarrotar mientras que tienen lugar las reacciones de enlace.

Cualquier fluido que contenga una sonda que entre en la cámara de detección disolverá los productos químicos secos y los productos químicos y la sonda comienzan a reaccionar. En el caso de GDH_{pqq} como la sonda, la glucosa es un sustrato adecuado y ferricianuro es un mediador adecuado. Cuando se mezclan GDH_{pqq}, glucosa y ferricianuro la GDH_{pqq} oxidará la glucosa y se reduce durante el proceso, entonces la GDH_{pqq} será reoxidada por el ferricianuro, que forma ferrocianuro durante el proceso. Entonces, se puede oxidar el ferrocianuro en el ánodo en la cámara de detección para producir una corriente mensurable. Esta corriente puede estar relacionada con la tasa de producción de ferrocianuro, que a su vez puede estar relacionada con la concentración de GDH_{pqq} en la cámara de detección, que a su vez puede estar relacionada con la concentración de analito que había originalmente en la muestra.

De forma óptima, los productos químicos secados en la cámara de detección deberían ser secados sobre la superficie superior de 20. Esto evita que el líquido llene los poros de 40 haciendo contacto con los reactivos secados prematuramente. Además, la disolución de los productos químicos sobre 20 en el líquido que se ha hecho reaccionar de muestra cuando los productos químicos hacen contacto con los poros de 40 llenos de líquido (como se define a continuación) ayuda a fomentar la transferencia de líquido al interior de la cámara de detección.

Para que la GDHpqq sea detectada en la cámara de detección, el líquido procedente de la cámara de reacción debe ser transferido a la cámara de detección después de un tiempo predeterminado cuando las reacciones de enlace en la cámara de reacción han proseguido hasta el punto deseado. Cuando el líquido llena la cámara de reacción, la hidrofiliidad de los poros en 40 es tal que también se llenan con líquido en este punto. Sin embargo, para que el líquido salga de los poros en la cara de 40 orientada hacia la cámara de detección tendría que aumentar el área del la superficie de contacto aire/líquido, a lo que se opone la tensión superficial del líquido. Por lo tanto, el líquido tiende a llenarse hasta la base de los poros y detenerse. En esta realización, para romper la tensión superficial la capa 20 es empujada desde debajo en la región de la cámara de detección. Esto distorsiona 20, de forma que su superficie superior hace contacto con la superficie inferior de 40. En el o los puntos de contacto, el líquido puede salir ahora de los poros en 40 sin aumentar el área de la superficie de contacto aire/líquido al humectar directamente la cara superior de 20. Sin embargo, según se retira el mecanismo de empuje y la cara superior de 20 se separa de la cara inferior de 40, la solución que humecta 20 se separa con ella y atrae más líquido a través de los poros de 40 para minimizar la relación de la superficie de contacto aire/líquido con respecto al volumen de líquido según se separan las superficies. Este procedimiento atrae líquido a través de los poros hasta que finalmente se llena completamente la cámara de detección. Se debe hacer notar que tanto la cámara de reacción como la cámara de detección deberían abrirse a la atmósfera cuando son llenadas para un funcionamiento correcto, de forma que el aire pueda ser desplazado y permitir que escape durante los procedimientos de llenado. En la realización mostrada en las Figuras 1-3, se proporciona una función de ventilación al abrirse las cámaras de reacción y de detección a los lados de la tira 100. En la realización mostrada en las Figuras 4-6, la cámara de detección es ventilada a través de sus aberturas hacia los lados de la tira y la cámara de reacción es ventilada a través de los lados abiertos de la cámara de detección por medio de los poros en 40.

Además, para que esta realización funcione de forma óptica es deseable que el llenado de la cámara de detección no tenga como resultado el vaciado de una cámara con dimensiones capilares similares, dado que las dos fuerzas pueden ser opuestas entre sí y crear un llenado lento o incompleto. En la tira 100 mostrada, la cámara de llenado tiene una mayor dimensión capilar que la cámara de reacción o que la cámara de detección. Por lo tanto, cuando se llena la cámara de detección, la cámara de llenado se vaciará si no hay líquido sobrante fijado a la cámara de llenado. Dado que la cámara de llenado tiene una mayor dimensión capilar que la cámara de detección, el llenado de la cámara de detección estará menos obstaculizado. De forma alternativa, si la cámara de llenado tiene las mismas dimensiones capilares que la cámara de detección entonces la cámara de detección debería ser más hidrófila que la cámara de llenado para llevar a cabo la transferencia de líquido. En general, se debería de considerar el valor de $(\gamma_{d,SL} - \gamma_{d,SA}) \Delta A_d + (\gamma_{f,SA} - \gamma_{f,SL}) \Delta A_f$, en la que γ es la tensión superficial, ΔA es el cambio en el área humectada de una cámara, los subíndices d y f hacen referencia a las cámaras de detección y de llenado, respectivamente, SL hace referencia a la superficie de contacto sólido-líquido y SA hace referencia a la superficie de contacto sólido-aire.

La invención tiene un número de ventajas con respecto a la técnica relacionada. Se puede utilizar un mecanismo de empuje en vez de un mecanismo de perforación para iniciar la transferencia de fluido, lo que debería añadir robustez al sistema. Además, las cámaras pueden estar apiladas una encima de la otra, lo que da lugar a ventajas de miniaturización y de fabricación. Además, se pueden apilar y desplazar múltiples cámaras, con múltiples mecanismos de empuje, como se ejemplifica en las Figuras 8 y 9, permitiendo de esta manera que se llenen múltiples cámaras bien en paralelo o bien en serie en momentos deseados, aumentando la flexibilidad. Además, las áreas de electrodo en la célula de detección pueden estar definidas de forma más conveniente dado que una región recortada en 30 puede definir completamente las áreas de electrodo.

Los Ejemplos 1 y 2, dados a continuación, son dados como ejemplos de realizaciones de la invención y no deberían ser considerados limitantes de ninguna forma.

Ejemplo 1

Se revistió mediante deposición electrónica Melinex 329 de un grosor de 0,018 cm con una capa delgada de paladio para dar una resistencia eléctrica de 10 ohmios/cuadrado para formar la capa 20. Se revistió Melinex 329 de un grosor de 0,005 cm con ca. 22 micrómetros de ARCare-90503 de adhesivo activado por calor (Adhesives Research Inc) en ambos lados para servir como las capas 30 y 50. La cinta adhesiva fue suministrada con tiras antiadherentes de PET siliconizado por ambas caras.

Se perforó una banda de PET con un grosor de 0,010 cm mediante agujeros cortados por láser en líneas en la dirección longitudinal de la banda. Los agujeros tenían una forma cónica, teniendo el extremo mayor un diámetro de 150 micrómetros y teniendo el extremo menor un diámetro de 45 micrómetros. La densidad media de agujeros era

de 8,2 agujeros/mm². Después, de la perforación, una cara de la banda fue revestida mediante deposición electrónica con oro para proporcionar una resistencia eléctrica de 10 ohmios/cuadrado.

5 La cinta adhesiva de doble cara fue laminada sobre ambos lados del PET perforado dejando los huecos como se muestra en la Figura 1 que formarían la cámara 2 de reacción y la cámara 3 de detección. Entonces, el Melinex revestido con paladio fue laminado sobre la cara inferior de la capa 30 para formar la capa 20. Se laminó una película transparente de PET sobre la cara superior de la capa 50 para formar la capa 60. Entonces, se formó la cámara 1 de llenado al troquelar a través de las capas 20 a 60 y laminar capas 10 y 70 de película de PET revestida con adhesivo para cerrar las caras de la cámara 1 de llenado.

10 Se prepararon conjugado y perlas magnéticas derivadas según la publicación de la solicitud de patente US nº US-2006-0134713-A1, incorporada en el presente documento por referencia. El conjugado comprendía un anticuerpo de CRP (Proteína C reactiva) unido a al menos una GDHpqq. La superficie de las perlas magnéticas fue modificada para comprender CRP. Esta CRP sirvió como el lugar de enlace inmovilizado para el conjugado. Se evitó que las perlas magnéticas entrasen en la cámara de detección por medio de un imán permanente colocado cerca de la cámara de reacción.

15 El conjugado fue secado sobre la cara inferior de la capa 60. En algunas tiras se secaron perlas en la cara superior de la capa 40. Se secó una mezcla de ferricianuro de potasio, glucosa y tampón sobre la superficie superior de la capa 20. Durante la prueba se colocó un imán permanente adyacente a la cara superior de la capa 60. Esto sirvió el doble fin de evitar que las perlas (si estaban presentes) entrasen en la cámara de detección y de atraer a las perlas hacia la capa de conjugado para fomentar la mezcla de los dos una vez se introdujo la muestra en el interior de la cámara de reacción.

20 Durante su uso, la muestra fue introducida en el interior de la cámara 1 de llenado hasta que se llenó a lo ancho para tocar la entrada de la cámara 2 de reacción, con lo cual la cámara 2 de reacción también se llenó con la muestra. Entonces, se permitió que transcurriesen sesenta segundos. Después de sesenta segundos, se presionó una varilla metálica contra la superficie superior de 20, de forma que 20 fue desviada hacia arriba hasta que la superficie superior de 20 hizo contacto con el líquido que llenaba los agujeros en la capa 40, con lo cual el líquido fluyó a través de los agujeros en 40 para llenar por completo la cámara 3 de detección. Cuando el líquido salvó el espacio entre el electrodo en la cara superior de 20 y el de la cara inferior de 40 el medidor inició una secuencia de prueba electroquímica, en la que hizo que el electrodo inferior tuviese +300 mV con respecto al electrodo superior durante 16 segundos.

30 La Figura 10 muestra gráficos de la típica respuesta de corriente para tiras llenas de tampón de HEPES 0,1 M en agua con y sin la presencia de perlas marcadas con CRP en la disolución de prueba. Cuando no hay perlas presentes, se debería transferir un conjugado máximo a la cámara 3 de detección. Cuando hay presente un exceso de perlas marcadas con CRP con respecto al conjugado en la disolución el conjugado es inmovilizado sustancialmente sobre las perlas, lo que da lugar a una transferencia mínima de conjugado a la cámara 3 de detección. En este caso el electrodo inferior tenía +300 mV con respecto al electrodo superior durante los dieciséis segundos durante los que se aplicó el potencial.

La Figura 11 muestra respuestas típicas de corriente para tiras con conjugado y perlas secadas en las mismas cuando el suero sanguíneo sometido a ensayo contenía bien cero o bien 250 microgramos/mililitros de CRP. En este caso el electrodo superior tenía +300 mV con respecto al electrodo inferior.

40 **Ejemplo 2**

La invención también es pertinente a un sensor con un único agujero troquelado mayor en la capa 40 en vez de una serie de agujeros pequeños formados mediante láser. Por ejemplo, se utilizó un troquel macho/hembra con un diámetro de 1,5 mm para crear un agujero en la capa 40. Cuando el líquido llenó la cámara 2, paró inmediatamente después del borde del agujero. Cuando se empujó la capa 20 contra el agujero, el líquido entró en la cámara 3.

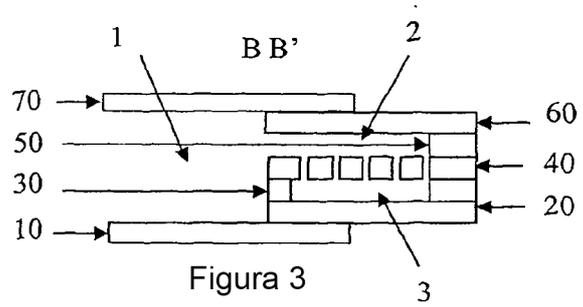
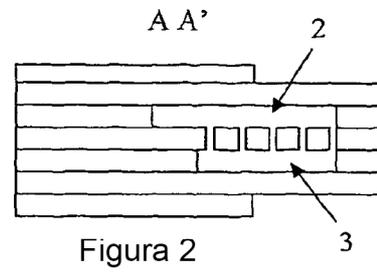
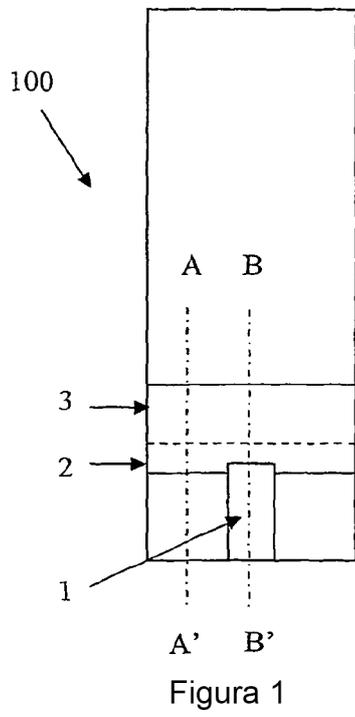
45 La invención no está limitada al número de agujeros por sensor ni a la gama de diámetros de agujero descritos en los Ejemplos 1 y 2.

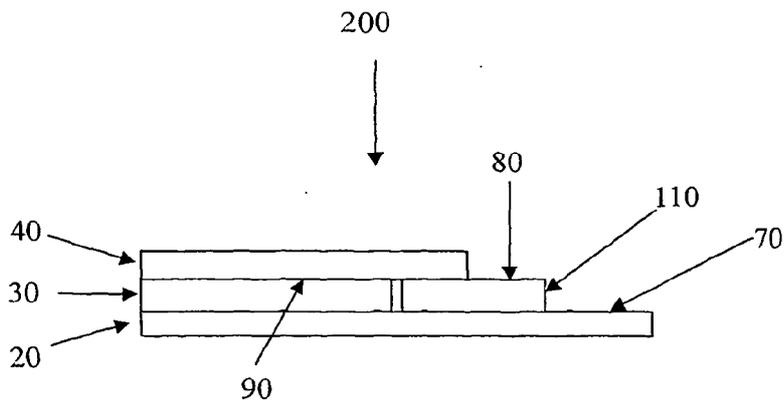
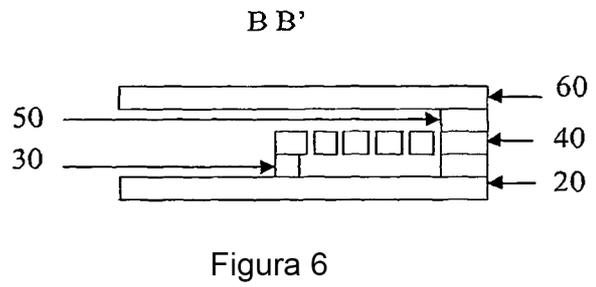
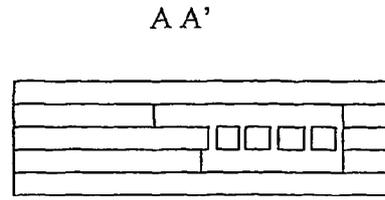
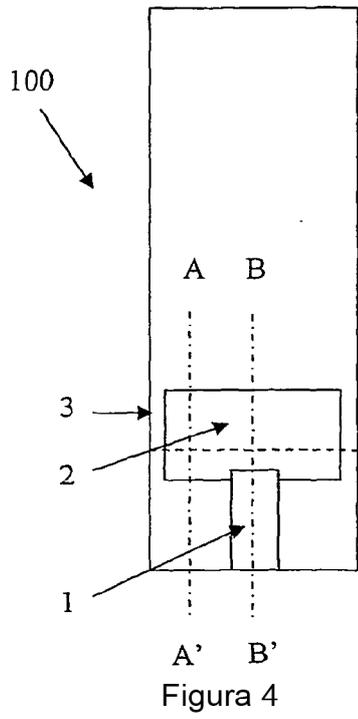
REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (100, 700) de transferencia de fluido para transferir un líquido desde una primera cámara (2, 510) hasta una segunda cámara (3, 310), comprendiendo el dispositivo:
 - 5 una primera cámara (2, 510);
una segunda cámara (3, 310); y
una capa (40, 400) de barrera entre la primera cámara (2, 510) y la segunda cámara (3, 310), teniendo la capa (40, 400) de barrera al menos una abertura que conecta de forma fluida la primera cámara (2, 510) con la segunda cámara (3, 310), definiendo la al menos una abertura (410) una vía de fluido desde la primera cámara (2, 510) hasta la segunda cámara (3, 310), estando dimensionada la al menos una abertura (410), de forma que una fuerza de retención mantiene el líquido en la primera cámara (2, 510) y en la al menos una abertura (410),
10 en el que al menos una porción (20, 200) de la segunda cámara (3, 310) es amovible con respecto a la capa (40, 400) de barrera, y
en el que el líquido puede ser transferido desde la primera cámara hasta la segunda cámara por medio de la vía de fluido cuando se introduce una entrada de iniciación al efecto de que la porción de la segunda cámara (3, 310) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (410).
2. El dispositivo de la reivindicación 1, en el que la fuerza de retención comprende tensión superficial del líquido en la al menos una abertura (410).
3. El dispositivo de la reivindicación 1 o 2, en el que la segunda cámara (3, 310) tiene una superficie interna y una superficie externa, en el que al menos una porción de la superficie interna de la segunda cámara es amovible con respecto a la capa (40, 400) de barrera, y
20 durante su uso la entrada de iniciación comprende una presión aplicada sobre la superficie externa de la segunda cámara (3, 310), de forma que la porción de la superficie interna de la segunda cámara (3, 310) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (410) y haga que el líquido fluya por medio de la vía de fluido al interior de la segunda cámara (3, 310).
4. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el dispositivo es una tira de detección,
la primera cámara es una cámara (2, 510) de reacción de la tira de detección, y
la segunda cámara es una cámara (3) de detección de la tira de detección.
- 30 5. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además una tercera cámara (520); y
una segunda capa (400) de barrera entre la segunda cámara (310) y la tercera cámara (520), teniendo la segunda capa (400) de barrera al menos una abertura (420) que conecta de forma fluida la segunda cámara (310) con la tercera cámara (520), definiendo la al menos una abertura (420) una segunda vía de fluido desde la segunda cámara (3, 310) hasta la tercera cámara (520), estando dimensionada la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera, de forma que una segunda fuerza de retención mantiene el líquido en la segunda cámara y en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera,
35 en el que al menos una porción (600) de la tercera cámara (520) es amovible con respecto a la segunda capa (400) de barrera, y
en el que el líquido puede ser transferido entre la segunda cámara (310) y la tercera cámara (520) por medio de la segunda vía de fluido cuando la porción de la tercera cámara (520) hace contacto con el líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera.
6. El dispositivo de la reivindicación 5, en el que la segunda fuerza de retención comprende tensión superficial del líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera.
- 45 7. El dispositivo de la reivindicación 6, en el que la tercera cámara (520) tiene una superficie interna y una superficie externa, en el que al menos una porción de la superficie interna de la tercera cámara (520) es amovible con respecto a la segunda capa (400) de barrera, y
la segunda entrada de iniciación comprende una presión aplicada sobre la superficie superior de la tercera cámara (520), de forma que la porción de la superficie interna de la tercera cámara (520) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera y haga que el líquido fluya por medio de la segunda vía de fluido en la segunda capa (400) de barrera al interior de la tercera cámara (520).
- 50 8. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en el que el dispositivo es una tira de detección, la primera cámara (510) es una cámara de reacción de la tira de detección,
la segunda cámara (310) es una cámara de transferencia y de reacción de la tira de detección, y
la tercera cámara (520) es una cámara de reacción de la tira de detección.
- 55 9. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la capa (40) de barrera comprende un electrodo.

10. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la porción amovible (20) de la segunda cámara (3) comprende un electrodo.
11. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la primera cámara (2, 510) y la segunda cámara (3, 310) están apiladas.
- 5 12. El dispositivo de la reivindicación 11, en el que la primera cámara (2, 510) y la segunda cámara (3, 310) están desplazadas.
13. El dispositivo de la reivindicación 11, en el que la primera cámara y la segunda cámara están solapadas al menos parcialmente.
- 10 14. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el dispositivo es una tira desechable de inmunoanálisis.
15. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende, además, una cámara (1, 800) de llenado, en el que el líquido puede ser transferido desde la cámara (1, 800) de llenado hasta la primera cámara (2, 510) por medio de una acción capilar.
- 15 16. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la cámara (1, 800) de llenado tiene un volumen mayor que el de la primera cámara (2, 510).
17. El dispositivo de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la tira está formada de una pluralidad de capas, y las cámaras primera y segunda están formadas en capas separadas.
18. Un procedimiento para transferir un líquido desde una primera cámara hasta una segunda cámara, que comprende:
- 20 proporcionar una primera cámara (2, 510);
proporcionar una segunda cámara (3, 310);
proporcionar una capa (40, 400) de barrera entre la primera cámara (2, 510) y la segunda cámara (3, 310),
teniendo la capa (40, 400) de barrera al menos una abertura (410) que conecta de forma fluida la primera
25 cámara (2, 510) con la segunda cámara (3, 310), definiendo la al menos una abertura una vía de fluido
desde la primera cámara (2, 510) hasta la segunda cámara (3, 310), estando dimensionada la al menos una
abertura (410) de forma que una fuerza de retención mantiene el líquido en la primera cámara (2, 510) y en
la al menos una abertura (410) en la capa (40, 400) de barrera;
introducir el líquido en la primera cámara (2, 510) para humectar al menos parcialmente la capa (40, 400)
30 de barrera en la al menos una abertura (410); y
transferir el líquido desde la primera cámara (2, 510) hasta la segunda cámara (3, 310) por medio de la vía
de fluido,
en el que la transferencia tiene lugar cuando se introduce una entrada de iniciación, de forma que una
porción de la segunda cámara (3, 310) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (410) en la
35 capa (40, 400) de barrera, y
en el que la porción de la segunda cámara (3, 310) es amovible con respecto a la capa (40, 400) de
barrera.
19. El procedimiento de la reivindicación 18, en el que la fuerza de retención comprende tensión superficial del líquido en la al menos una abertura (410).
- 40 20. El procedimiento de la reivindicación 19, en el que la entrada de iniciación comprende una presión aplicada sobre una superficie externa de la segunda cámara (3, 310), de forma que una superficie interna de la segunda cámara (3, 310) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (410) y haga que el líquido fluya por medio de la vía de fluido al interior de la segunda cámara (3, 310).
21. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 18-20, en el que la primera cámara (2, 510) es una cámara de reacción de una tira de detección, y
45 la segunda cámara (3) es una cámara de detección de la tira de detección.
22. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 18-21, que comprende, además, proporcionar una tercera cámara (520);
proporcionar una segunda capa (400) de barrera entre la segunda cámara (310) y la tercera cámara (520),
50 teniendo la segunda capa (400) de barrera al menos una abertura (420) que conecta de forma fluida la segunda cámara (310) con la tercera cámara (520), definiendo la al menos una abertura una segunda vía de fluido desde la segunda cámara (310) hasta la tercera cámara (520), estando dimensionada la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera, de forma que una segunda fuerza de retención mantiene el líquido en la segunda cámara (310) y en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera; y

- transferir el líquido desde la segunda cámara (310) hasta la tercera cámara (520) por medio de la segunda vía de fluido,
 en el que la transferencia entre la segunda cámara (310) y la tercera cámara (520) tiene lugar cuando se introduce una segunda entrada de iniciación, de forma que una porción de la tercera cámara (520) haga
 5 contacto con el líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera, y en el que la porción de la tercera cámara (520) es amovible con respecto a la segunda capa (400) de barrera.
- 23.** El procedimiento de la reivindicación 22, en el que la segunda fuerza de retención comprende tensión superficial del líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera.
- 24.** El procedimiento de la reivindicación 23, en el que la segunda entrada de iniciación comprende una presión aplicada sobre una superficie externa de la tercera cámara (520), de forma que una superficie interna de la
 10 tercera cámara (520) haga contacto con el líquido en la al menos una abertura (420) en la segunda capa (400) de barrera y haga que el líquido fluya por medio de la segunda vía de fluido en la segunda capa (400) de barrera al interior de la tercera cámara (520).
- 25.** El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 22-24, en el que
 15 la primera cámara (510) es una cámara de reacción de una tira de detección, la segunda cámara (310) es una cámara de transferencia y de reacción de la tira de detección; y la tercera cámara (520) es una cámara de reacción de la tira de detección.
- 26.** El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 18-25 que comprende:
 20 proporcionar capas primera y segunda de electrodo en ambos lados de la segunda cámara; y conectar eléctricamente las capas primera y segunda de electrodo a un medidor.
- 27.** El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 18-26, en el que la transferencia del líquido desde la primera cámara hasta la segunda cámara por medio de la vía de fluido comprende desviar la porción amovible de la segunda cámara para que haga contacto con el líquido en la al menos una abertura, atrayendo de ese modo el líquido al interior de la segunda cámara.
- 28.** El procedimiento de la reivindicación 26, que comprende, además
 25 medir una propiedad eléctrica de la segunda cámara utilizando las capas primera y segunda de electrodo para determinar un estado de llenado de la segunda cámara.





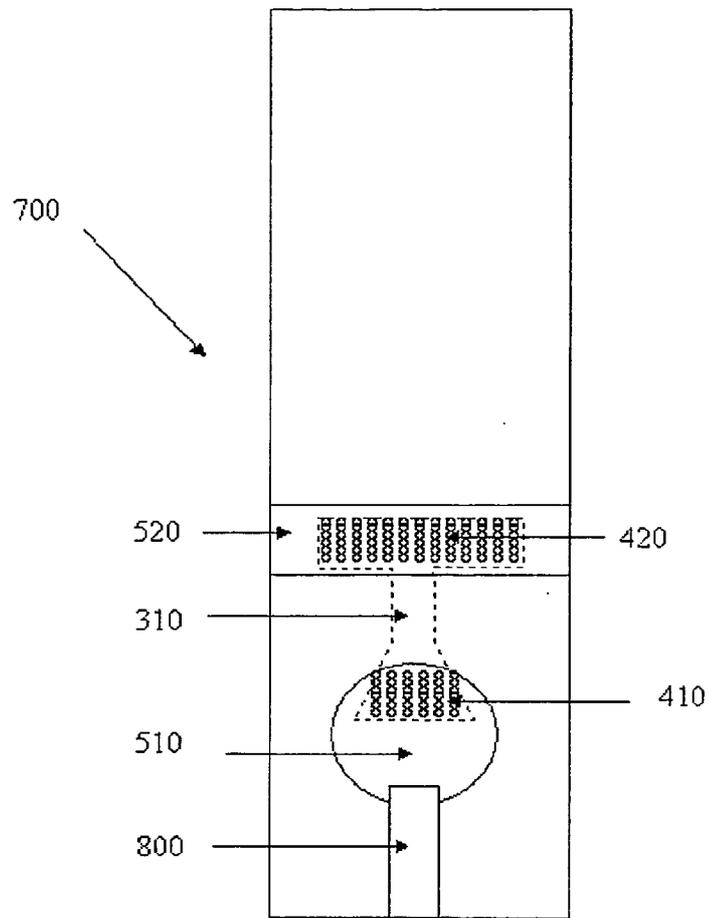


Figura 8

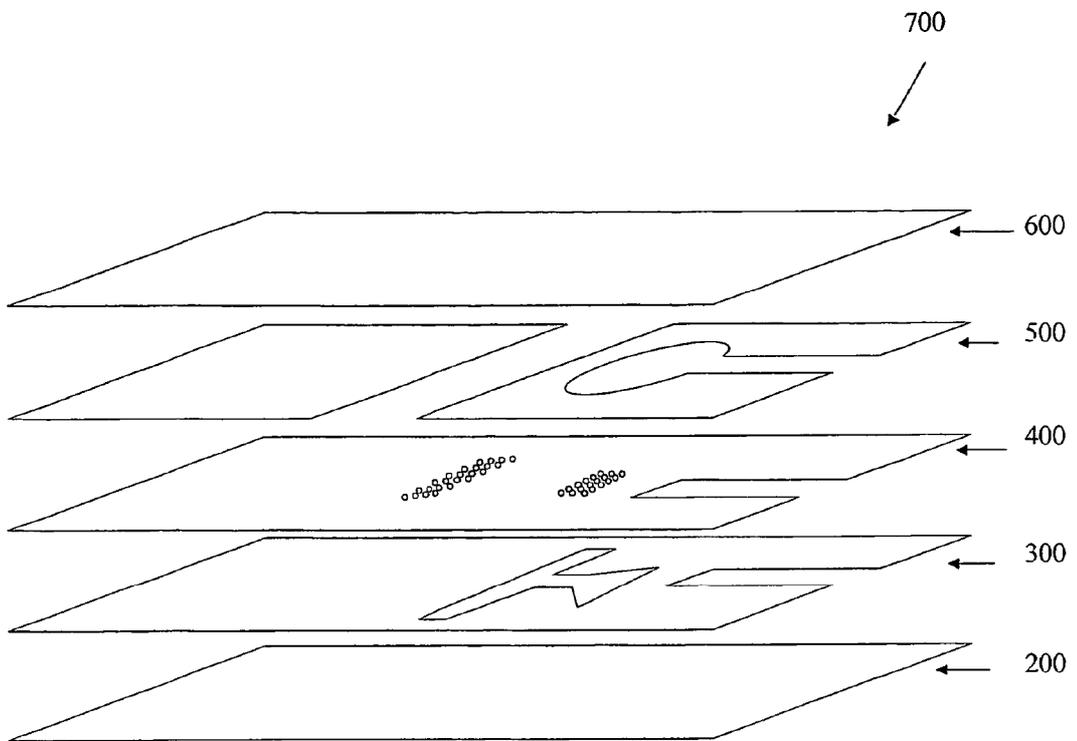


Figura 9

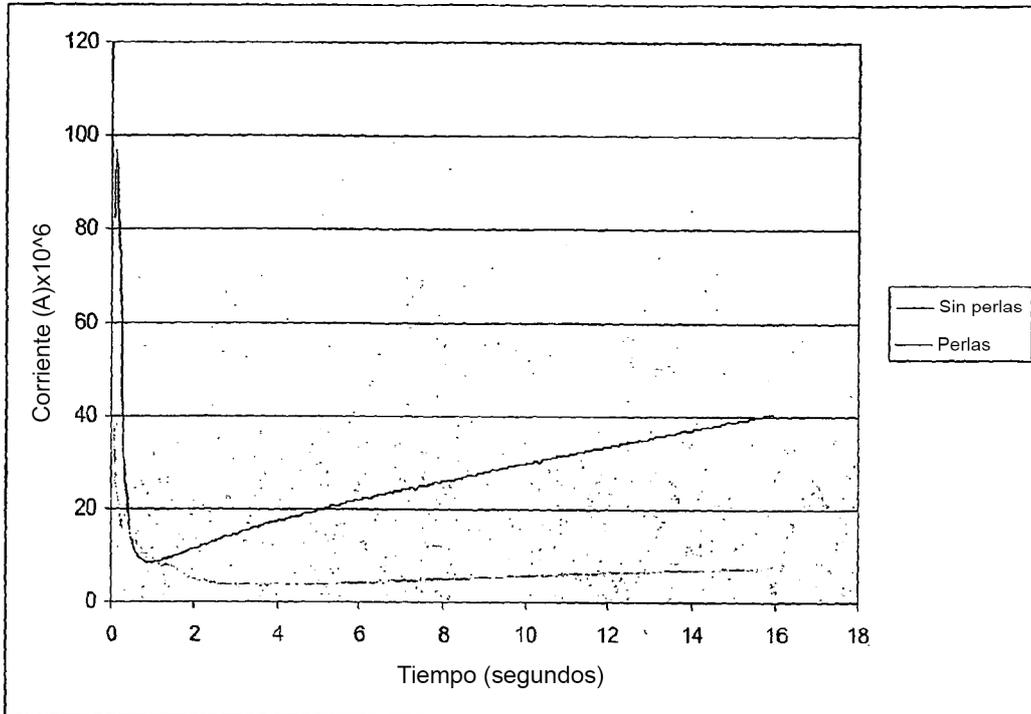


Figura 10

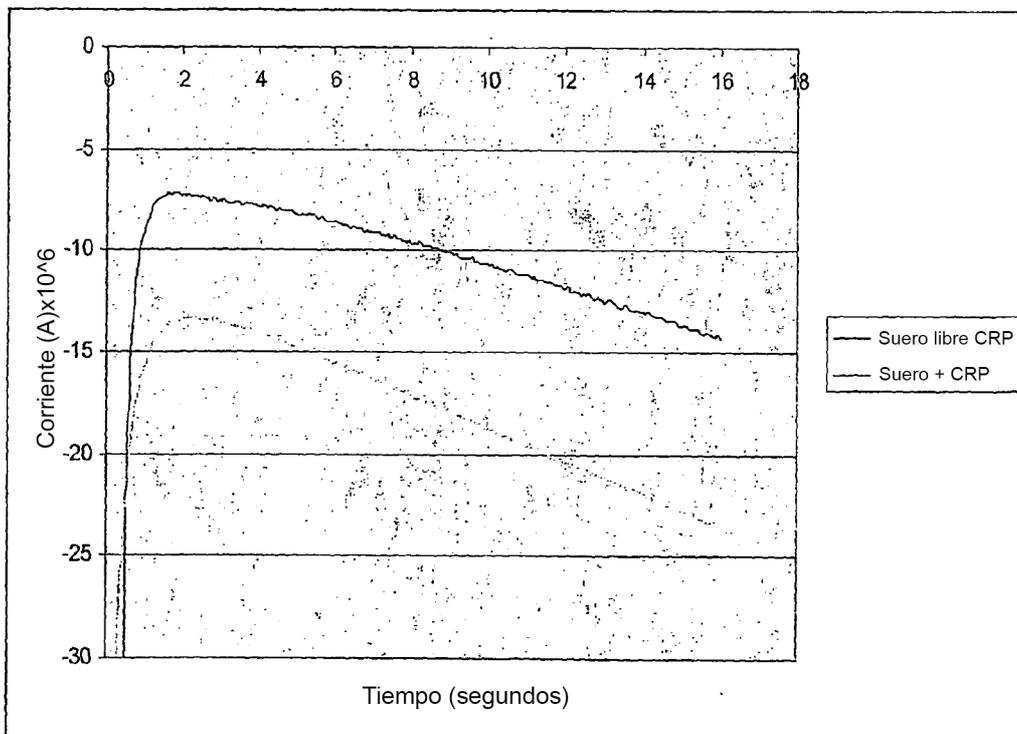


Figura 11