

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 398**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/30** (2006.01)

**C12Q 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2004 PCT/US2004/019684**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2004 WO04113900**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2004 E 04755692 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 1639353**

54 Título: **Tira reactiva con cámara de recepción de muestra ensanchada**

30 Prioridad:

**20.06.2003 US 480397 P**

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

**12.09.2018**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BHULLAR, RAGHBIR SINGH;  
SURRIDGE, NIGEL A.;  
FUNKE, TOM;  
RIGGLES, RANDALL K. y  
WALLING, PAUL DOUGLAS**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 681 398 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**

Tira reactiva con cámara de recepción de muestra ensanchada

5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud de patente provisional de EE.UU. N.º de serie 60/480.397, presentada el 20 de junio de 2003.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a la prueba de líquidos corporales para concentración de analitos y más particularmente a una tira reactiva o biosensor para tal prueba.

15 Antecedentes

Se usan frecuentemente tiras reactivas para medir la presencia y/o concentraciones de analitos seleccionados en muestras de prueba. Por ejemplo, se usa una variedad de tiras reactivas para medir concentraciones de glucosa en sangre para monitorizar el nivel de azúcar en sangre de personas con diabetes. Estas tiras reactivas incluyen una cámara de reacción en la que se ha depositado una composición de reactivo. Las actuales tendencias en tiras reactivas requieren muestras de prueba más pequeñas y tiempos de análisis más rápidos. Esto proporciona un beneficio significativo al paciente, permitiendo el uso de muestras de sangre más pequeñas que se pueden obtener de áreas del cuerpo menos sensibles. Además, tiempos de prueba más rápidos y resultados más precisos permiten a los pacientes controlar mejor su nivel de azúcar en sangre.

20 A propósito de los volúmenes de muestra más pequeños, es conocido proporcionar tiras reactivas que tienen una cámara de reacción suficientemente pequeña tal que el líquido de muestra sea aspirado en ella por acción capilar, que es un fenómeno resultante de la tensión superficial del líquido de muestra y la tendencia termodinámica de un líquido para minimizar su área superficial. Por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 5.141.868 desvela una tira reactiva que tiene una cavidad de tamaño suficientemente pequeño para aspirar líquido de muestra en su interior por acción capilar. La cavidad está definida por dos placas paralelas separadas aproximadamente 1 mm por dos tiras de epoxi que se extienden longitudinalmente a lo largo de lados laterales de las placas. La cavidad está abierta en ambos extremos, uno de los cuales recibe la muestra, y el otro de los cuales permite que escape el aire. La cavidad incluye una estructura de electrodos y porta un recubrimiento de un material apropiado para la prueba que va a ser realizada por la tira reactiva.

25 Diversos otros diseños de tiras reactivas incluyen cavidades capilares que aspiran líquido de muestra en su interior e incluyen orificios de ventilación para permitir que escape el aire. Como sería apreciado, los canales capilares en los actuales diseños de tira reactiva normalmente son muy pequeños y están siendo continuamente diseñados más pequeños para reducir la cantidad de muestra necesaria para la prueba. Sin embargo, cuanto más pequeña sea la anchura de entrada capilar, más difícil resultará aplicar con exactitud (o "dirigir") un pequeño volumen de muestra al capilar de la tira reactiva. El direccionamiento es incluso más importante en segmentos del sector demográfico con deficiencia visual y/o destreza reducida debido a que es más difícil que este segmento alinee con exactitud sus dedos con el borde de dosificación de una tira reactiva. Además, el líquido de muestra se retarda algunas veces indeseablemente antes ser aspirado en el capilar, un fenómeno denominado "retardo de dosis". Sería deseable vencer las dificultades asociadas a capilares pequeños en el diseño de tiras reactivas.

30 El documento US 5 997 817 A describe una tira reactiva de biosensor electroquímico que incluye una indentación para la sensación táctil en cuanto a la localización del puerto de aplicación de muestra de las tiras. El puerto de aplicación de muestra conduce a una cámara de prueba capilar, que incluye un reactivo de prueba. El reactivo húmedo incluye de aproximadamente el 0,2 % en peso a aproximadamente el 2 % en peso de polí(óxido de etileno) de aproximadamente 100 kilodaltons a aproximadamente 900 kilodaltons de peso molecular medio. El techo de la cámara de prueba capilar incluye una ventana transparente o translúcida. La tira reactiva puede incluir además una muesca dispuesta en el puerto de aplicación de muestra.

35 El documento US 2003/046811 A1 describe un método de formación de espaciador para un biosensor que tiene un biosensor que posee un canal de muestreo capilar y pistas de conexión eléctrica para el uso de un medidor portátil específico. Un par de electrodos están impresos sobre una placa base aislante para ser el transductor del biosensor electroquímico por medio de la tecnología de serigrafía. Se emplea la avanzada tecnología de impresión de películas gruesas para construir el componente espaciador del canal de muestreo. Además, la placa incorporada en el biosensor se introduce en lugar de un microinterruptor en un conector del medidor portátil.

Sumario de la invención

65 La presente invención proporciona una tira reactiva según la reivindicación 1. Una porción ensanchada proporciona un depósito del que puede aspirarse líquido de muestra en el capilar o cámara de recepción de muestra, ayuda al

usuario a introducir la muestra al dispositivo de prueba y reduce el retardo de dosis. En realizaciones preferidas, la capa de reactivo hidrófilo se extiende hasta el extremo de dosis o lado de la tira reactiva y promueve además el ascenso de la muestra a la cámara de recepción de muestra y así reduce además el retardo de dosis. Según la presente invención, una tira reactiva comprende un sustrato de base y una capa de cubierta que cubre el sustrato de base, comprendiendo la capa de cubierta además una ventilación. Está dispuesta una capa espaciadora entre la capa de cubierta y el sustrato de base, y la capa espaciadora tiene un vacío que define una cámara de recepción de muestra dispuesta entre el sustrato de base y la capa de cubierta. La cámara de recepción de muestra define una porción ensanchada que termina en un orificio de recepción de líquido. La ventilación está en comunicación con la cámara de recepción de muestra, por lo que el aire puede escapar de la ventilación a medida que el líquido es aspirado en la cámara de recepción de muestra.

En una forma preferida de la misma, la capa de cubierta, el sustrato de base y la capa espaciadora son sustancialmente planos, de forma que la cámara de recepción de muestra comprende una altura y una anchura sustancialmente constantes que varía en la porción ensanchada. Por consiguiente, la cámara de recepción de muestra incluye una porción alargada que tiene una anchura sustancialmente constante que se extiende hacia el interior desde la porción ensanchada. La capa de cubierta y el sustrato de base incluyen bordes sustancialmente alineados que comprenden un extremo de recepción de líquido o lado de la tira reactiva en el que está dispuesto el orificio de recepción de líquido.

En una forma preferida, los bordes alineados comprenden una muesca que define además el orificio. La muesca es más pequeña que la porción ensanchada y está dispuesta centralmente con respecto a la porción ensanchada.

En otra forma preferida, al menos un electrodo y una capa de reactivo están dispuestos en la cámara de recepción de muestra, y la capa de reactivo cubre al menos un electrodo. Más preferentemente, la capa de reactivo se extiende hasta el orificio de recepción de muestra.

En otra forma preferida, la presente invención proporciona una tira reactiva que comprende un sustrato de base que tiene una capa de reactivo dispuesta sobre ella. Una capa de cubierta cubre el sustrato de base y una cámara de recepción de muestra está dispuesta entre el sustrato de base y la capa de cubierta. La cámara de recepción de muestra comprende una porción ensanchada que define un orificio de recepción de muestra, y la capa de reactivo se extiende hasta el orificio de recepción de muestra.

En una forma preferida de la misma, la tira reactiva incluye una ranura en comunicación con la cámara de recepción de muestra, definiendo la ranura un orificio de ventilación en la capa de cubierta que permite que el aire escape a medida que el líquido entra en la cámara de recepción de muestra. La cámara de recepción de muestra comprende una porción alargada que se extiende hacia el interior desde la porción ensanchada. La porción ensanchada se define por un par de paredes de orificio que se estrechan en una dirección hacia la porción alargada, mientras que la porción alargada se define por paredes sustancialmente paralelas que están conectadas por una pared de extremo. La presente invención también proporciona un método de producción de una tira reactiva, según la reivindicación 6. Se proporcionan un sustrato de base, una capa espaciadora y una capa de cubierta. Se forma un vacío en la capa espaciadora, teniendo el vacío una porción alargada y una porción bulbosa. La capa espaciadora se lamina con el sustrato de base y la capa de cubierta se lamina con la capa espaciadora, formando así un precursor de tira reactiva. Se hace un corte a través del precursor para hacer la tira reactiva, cortando el corte la porción bulbosa del vacío y formando un borde de recepción de muestra de la tira reactiva, en el que el vacío define una cámara de recepción de muestra que tiene una porción ensanchada que termina en un orificio de recepción de muestra en el borde de recepción de muestra de la tira reactiva. Según este método inventivo, el borde de recepción de muestra comprende un extremo de la tira reactiva, el orificio de recepción de muestra está ensanchado hacia afuera, y el extremo de dosificación de la tira reactiva es cónico.

La presente invención proporciona una tira reactiva muy fácil de dosificar y proporciona un proceso de fabricación robusto, pero flexible. Las diversas otras características que caracterizan la invención se muestran con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Para un mejor entendimiento de la invención, sus ventajas y objetivos obtenidos a partir de la misma, se debe hacer referencia a los dibujos y a la descripción adjunta, en la que se ilustran y describen realizaciones preferidas de la invención.

Breve descripción de los dibujos

Con referencia a continuación a los dibujos, en los que números de referencia similares y letras indican estructura correspondiente en todas las diversas vistas:

La FIG. 1 es una vista en perspectiva de una tira reactiva o biosensor según la presente invención.

La FIG. 1A es una vista en perspectiva fragmentaria a escala ampliada de la tira reactiva mostrada en la FIG. 1, que ilustra una realización del novedoso orificio de ventilación o ranura.

La FIG. 1B es una vista en perspectiva fragmentaria a escala ampliada que ilustra una realización alternativa del orificio de ventilación o ranura según la presente invención.

La FIG. 1C es una vista en perspectiva fragmentaria a escala ampliada que ilustra otra realización alternativa del orificio de ventilación o ranura y que también ilustra una configuración alternativa del orificio a la cámara de recepción de muestra del biosensor según la presente invención.

La FIG. 2 es una vista en perspectiva en despiece ordenador del biosensor de la FIG. 1.

La FIG. 3 es una vista en sección transversal de una porción del biosensor de la FIG. 1, que ilustra además capas de adhesivo que han sido omitidas de las FIG. 1-2.

La FIG. 4 es una vista en planta desde arriba de una porción del biosensor de la FIG. 1, con porciones desprendidas para mostrar detalles subyacentes.

La FIGS. 5 y 5A muestran un diagrama de flujo de proceso para un método para producir un biosensor según la presente invención.

La FIG. 6 es una vista en perspectiva que muestra el procesamiento horizontal y corte de un material de banda útil en la formación del sustrato inferior del biosensor de la presente invención.

La FIG. 7 es una vista en perspectiva de una porción de una malla, que muestra un patrón a modo de ejemplo de componentes eléctricos sobre el sustrato de base.

La FIG. 8 es una vista en perspectiva de una porción de la malla de la FIG. 7 y que incluye una composición de reactivos recubierta sobre ella.

La FIG. 9 es una vista en perspectiva en despiece ordenado que muestra una capa espaciadora y las capas de adhesivo y láminas desprendibles asociadas.

La FIG. 10 es una vista en perspectiva en despiece ordenado de una porción de la capa espaciadora con cámaras pre-capilares cortadas y la capa espaciadora que está alineada para laminación con un sustrato de base que tiene patrones de electrodo sobre él.

La FIG. 11 es una vista en perspectiva de un ensamblaje del sustrato de base con la capa espaciadora.

La FIG. 12 es una vista en perspectiva en despiece ordenado que muestra la combinación de las cubiertas de cuerpo y de cámara para el ensamblaje sobre el sustrato de base y la capa espaciadora.

La FIG. 13 es una vista en perspectiva de una porción de un ensamblaje que incluye varias capas que comprenden el biosensor.

La FIG. 14 es una vista en perspectiva de una porción de malla que incluye varios biosensores desmontables.

La FIG. 15 es una vista en perspectiva de un único biosensor separado de la malla ensamblada.

La FIG. 16A es una vista desde arriba de un único biosensor separado de la malla ensamblada.

La FIG. 16B es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustra un vacío con un extremo ensanchado que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 16A.

La FIG. 16C es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustra un vacío en forma de bombilla que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 16A.

La FIG. 17A es una vista desde arriba de un único biosensor separado de la malla ensamblada.

La FIG. 17B es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustra un vacío en forma de cáliz que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 17A.

La FIG. 17C es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustran un vacío en forma de ojo de cerradura que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 17A.

La FIG. 18A es una vista desde arriba de un único biosensor separado de la malla ensamblada.

La FIG. 18B es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustra un vacío en forma de T que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 18A.

La FIG. 18C es una vista desde arriba fragmentaria de una banda o precursor de tira reactiva que ilustra un vacío en forma de T que formará finalmente la cámara de recepción de muestra para un biosensor tal como el mostrado en la FIG. 18A.

La FIG. 19A es una vista desde arriba fragmentaria de una única tira reactiva que ilustra una porción ensanchada en forma de Y que conduce interiormente desde un borde de dosificación recto de la tira reactiva hasta una porción alargada.

La FIG. 19B es una vista desde arriba fragmentaria de una única tira reactiva que ilustra una perfil curvo para un borde de dosificación y una porción ensanchada de forma curva que conduce interiormente sobre la tira reactiva a una porción alargada.

La FIG. 19C es una vista desde arriba fragmentaria de una única tira reactiva que ilustra un perfil cóncavo curvo para un borde de dosificación y una porción ensanchada en forma de Y que conduce interiormente sobre la tira reactiva a una porción alargada.

#### Descripción de las realizaciones preferidas

Para los fines de promover un entendimiento de los principios de la invención, a continuación se hará referencia a las realizaciones específicas ilustradas en el presente documento y se usará lenguaje específico para describir la misma. Sin embargo, se entenderá que así no se pretende limitación del alcance de la invención. Se contempla cualquier alteración y modificación adicional en los procesos o dispositivos descritos, y cualquier aplicación adicional

de los principios de la invención como se describen en el presente documento, como normalmente se le ocurría a un experto en la materia a la que se refiere la invención.

#### Sistema

5 Un sistema que es útil para evaluar un analito en una muestra incluye dispositivos y métodos para evaluar el líquido de muestra para el analito diana. Como se describe más completamente después, la evaluación puede oscilar de detectar la presencia del analito a determinar la concentración de analito. El analito y el líquido de muestra puede ser cualquiera para los que es apropiado el sistema de prueba. Para fines de explicación solo, se describe una realización preferida en la que el analito es glucosa y el líquido de muestra es sangre o líquido intersticial. Sin embargo, la presente invención no es así claramente limitada en alcance.

#### Sensor

15 Un componente del sistema es un sensor electroquímico que incluye una cámara de recepción de muestra para el líquido de muestra, y un reactivo adecuado para producir una señal electroquímica en presencia del analito de prueba. El sensor comprende preferentemente una tira reactiva desechable, particularmente una que tiene una construcción laminar que proporciona un orificio de borde que comunica con la cámara de recepción de muestra. El reactivo se dispone dentro de la cámara de recepción de muestra en posición para proporcionar la señal electroquímica a un electrodo de trabajo también posicionado dentro de la cámara. En circunstancias apropiadas, tales como para la detección de glucosa, el reactivo puede contener una enzima y opcionalmente un mediador.

#### Medidor

25 El sensor se usa en combinación con un medidor para la determinación del analito en el líquido de muestra. El medidor incluye convencionalmente una conexión con los electrodos del sensor y circuitería para evaluar la señal electroquímica correspondiente a la concentración de analito. El medidor también puede incluir medios para determinar que el líquido de muestra ha sido recibido por el sensor, y que la cantidad de líquido de muestra es suficiente para la prueba. El medidor normalmente guardará y presentará los resultados del análisis, o alternativamente puede proporcionar los datos a un dispositivo separado.

#### Analito - Característica

35 El sistema puede proporcionar ya sea una indicación cualitativa o cuantitativa para el analito. En una realización, el sistema indica simplemente la presencia del analito en el líquido de muestra. El sistema puede también proporcionar una lectura de la cantidad o concentración de analito en el líquido de muestra. En una realización preferida, es una característica de la presente invención que una lectura altamente exacta y precisa de la concentración de analito sea rápidamente obtenida de un pequeño volumen de líquido de muestra.

#### Analito - Tipo

40 El sistema es útil para la determinación de una amplia variedad de analitos. La tira reactiva, por ejemplo, se adapta fácilmente para su uso con cualquier química adecuada que se pueda usar para evaluar la presencia del analito. Más preferentemente, el sistema está configurado y se usa para la prueba de un analito en un líquido biológico. Tales analitos pueden incluir, por ejemplo, glucosa, colesterol, colesterol HDL, triglicéridos, lactatos, lactato deshidrogenasa, alcohol, ácido úrico y ácido 3-hidroxibutírico (cuerpos cetónicos). Modificaciones proporcionales al sistema serán evidentes para aquellos expertos en la materia. Para fines de explicación, y en una realización particularmente preferida, el sistema se describe con respecto a la detección de glucosa en un líquido biológico.

#### Interferentes

50 Las metodologías de prueba pueden ser afectadas de diversas formas por la presencia de interferentes en el líquido de muestra. Por ejemplo, la prueba de glucosa en una muestra de sangre puede ser afectada por factores tales como oxígeno, bilirrubina, hematocrito, ácido úrico, ascorbato, acetaminofeno, galactosa, maltosa y lípidos. El presente sistema es adaptable para minimizar o eliminar los efectos adversos de interferentes que también pueden estar presentes en el líquido de muestra. Estos efectos pueden ser tratados por la selección apropiada de materiales y parámetros de prueba, tales como por la selección de químicas que son conocidas por ser menos afectadas, o no afectadas en absoluto, por posibles interferentes. Como se conoce en la técnica, también se pueden realizar otras etapas para tratar los posibles efectos de interferentes, tales como el uso de recubrimientos o películas que previenen que el interferente entre en la zona de prueba. Además, se pueden usar modificaciones a las configuraciones de electrodos o métodos de interrogación para minimizar el efecto de los interferentes.

#### Tipo de líquido

65 El sistema es útil con una amplia variedad de líquidos de muestra, y se usa preferentemente para la detección de analitos en un líquido biológico. En este contexto, el término "líquido biológico" incluye cualquier líquido corporal en el que se puede medir el analito, por ejemplo, líquido intersticial, líquido dérmico, sudor, lágrimas, orina, líquido

amniótico, líquido cefalorraquídeo y sangre. El término "sangre" en el contexto de la invención incluye sangre completa y sus componentes libres de células, concretamente plasma y suero. Además, el sistema es útil a propósito de controlar líquidos que se usan de forma convencional para verificar la integridad del sistema para la prueba.

En una realización preferida, el sistema se emplea para la prueba de glucosa. El líquido de muestra en este caso puede incluir específicamente, por ejemplo, sangre capilar roja obtenida de la yema del dedo o sitios alternativos autorizados (por ejemplo, antebrazo, palma de la mano, lóbulo de la oreja, brazo, pantorrilla y muslo), sangre venosa roja y soluciones de control suministradas con o para el sistema.

El líquido puede ser adquirido y suministrado a la tira reactiva de cualquier forma. Por ejemplo, se puede obtener una muestra de sangre de modo convencional haciendo una incisión en la piel, tal como con una lanceta, y luego poniendo en contacto la tira reactiva con el líquido que aparece en la superficie de la piel. Es un aspecto de la presente invención que la tira reactiva sea útil con muestras de líquido muy pequeñas. Es, por tanto, una característica deseable de la invención que solo sea necesario un ligero corte de la piel para producir el volumen de líquido requerido para la prueba, y el dolor y otros problemas con tal método pueden ser minimizados o eliminados.

También es muy conocido que diferentes localizaciones sobre la piel producirán más o menos cantidades de sangre tras hacer la punción. La yema del dedo, por ejemplo, es un sitio comúnmente usado para obtener una muestra de sangre debido a que produce una cantidad relativamente grande de sangre tras hacer la punción. Sin embargo, también se sabe que áreas que producen mayores volúmenes de sangre están generalmente asociadas a mayores grados de dolor para el usuario. Es, por tanto, una ventaja adicional del presente sistema que el volumen requerido de líquido de muestra sea suficientemente pequeño de manera que la tira reactiva sea útil con la cantidad de sangre normalmente obtenida tras hacer la punción de áreas de la piel menos productivas, pero también menos dolorosas, tales como la palma de la mano y el brazo. El uso de estas localizaciones para obtener líquidos de muestra para la prueba se denomina algunas veces "prueba de sitio alternativo". La presente invención es particularmente muy adecuada para usar con líquidos de muestra, por ejemplo, sangre o líquido intersticial, obtenidos en estos sitios alternativos.

### 30 Tira reactiva - General

#### Introducción

La tira reactiva incluye varios componentes básicos. La tira comprende un pequeño cuerpo que define una cámara en la que el líquido de muestra es recibido para la prueba. Esta "cámara de recepción de muestra" se llena con el líquido de muestra por medios adecuados, preferentemente por acción capilar, pero también opcionalmente ayudado por presión o vacío. La cámara de recepción de muestra incluye electrodos y características químicas adecuados para producir una señal electroquímica indicativa del analito en el líquido de muestra.

#### 40 Descripción básica.

Refiriéndose en particular a los dibujos, se muestra una realización preferida de una tira reactiva útil según la presente invención. La tira reactiva 10 incluye un sustrato de base 12, una capa espaciadora 14 y una capa de cubierta 16 que comprende la cubierta de cuerpo 18 y la cubierta de cámara 20. La capa espaciadora 14 incluye una porción de vacío 22 que proporciona una cámara de recepción de muestra 24 que se extiende entre el sustrato de base 12 y la capa de cubierta 16.

El sustrato de base 12 lleva un sistema de electrodos 26 que incluye una pluralidad de electrodos 28 y pistas de electrodos 30 que terminan en almohadillas de contacto 32. Los electrodos se definen como aquellas porciones de pistas de electrodos 30 que están situadas dentro de la cámara de recepción de muestra 24. Se pueden usar diversas configuraciones del sistema de electrodos 26, como se expone después. Un sistema de reactivos 33 adecuado cubre al menos una porción de los electrodos o pares de electrodos 28 dentro de la cámara de recepción de muestra.

La cubierta de cuerpo 18 y la cubierta de cámara 20 que cubren la capa espaciadora 16 definen una ranura 34 entremedias, definiendo la ranura un orificio de ventilación que comunica con la cámara de recepción de muestra para permitir que escape el aire de la cámara a medida que un líquido de muestra entra en la cámara desde el orificio de borde u orificio de recepción de líquido 35. La tira reactiva, por tanto, incluye un extremo de dosificación 36 y un extremo de inserción de medidor 38. La forma del extremo de dosificación normalmente es distinguible de la del extremo de medidor para ayudar a los usuarios. Como se muestra en la FIG. 1, preferentemente, el extremo de dosificación 36 es cónico o se estrecha para formar una forma trapezoidal para ayudar a los usuarios a alinear la cámara de recepción de muestra 24 de la tira reactiva 10 con una muestra de líquido. La forma cónica del extremo de dosificación 36 minimiza la superficie de contacto disponible del extremo de dosificación con la piel del usuario, ayudando así al alineamiento de la cámara de recepción de muestra 24 con la muestra de líquido, como se describe con más detalle más adelante.

Además, se usan preferentemente gráficos de tiras y colores de contraste en el extremo de dosificación para mejorar además la intuitividad del diseño de la tira. Similarmente, en el extremo de inserción de medidor, el chevrón 31 indica la dirección de inserción de la tira en el medidor. Además, el chevrón 31 está dimensionado y dispuesto sobre la tira reactiva 10 de forma que el chevrón 31 esté dentro del medidor y, por tanto, oculto a la vista, cuando la tira reactiva 10 es apropiadamente insertada en el medidor. El tamaño y posición del chevrón 31 (a diferencia de una flecha) reduce la probabilidad de que los usuarios fueren una tira reactiva marcada con el chevrón 31 en el medidor y dañen o destruyan la tira reactiva 10.

#### Dimensiones generales.

La tira reactiva es un dispositivo relativamente pequeño que está dimensionado para compactibilidad y facilidad de almacenamiento y uso. En una realización típica, la longitud de la tira es del orden de 20 a 50 mm, preferentemente aproximadamente 33 a aproximadamente 38 mm, de longitud, y 5 a 15 mm, preferentemente aproximadamente 7 a aproximadamente 9 mm, de anchura. Se dimensiona la distancia de la ranura u orificio de ventilación 34 al borde del medidor que proporciona un "área de agarre" donde no está presente sangre, y para proteger de la contaminación de la sangre del área de contacto del medidor y, por tanto, puede estar en el intervalo de 5 a 35, preferentemente  $\geq 13$  mm. La longitud de la porción de tira reactiva (desde el extremo de inserción del medidor 38) que se inserta en el medidor es preferentemente  $\leq 6,0$  mm a lo largo del eje largo de la tira reactiva.

La construcción laminar preferida de la tira reactiva también proporciona un dispositivo que es relativamente delgado. El espesor mínimo de la tira permite el fácil envasado de la tira en recipientes apropiados que son convenientes para el usuario. Por ejemplo, el espesor total de la tira reactiva puede ser aproximadamente 500 a 525  $\mu\text{m}$ . El espesor de la porción de tira reactiva que se inserta en el contacto del medidor puede ser aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ .

#### Sustrato

La tira reactiva incluye un sustrato de base 12 que comprende un material aislante que soporta el sistema de electrodos y otros componentes. Normalmente, plásticos tales como polímeros de vinilo, poliimidias, poliésteres y estirenos proporcionan las propiedades eléctricas y estructurales que se requieren. Además, debido a que la tira reactiva se puede producir preferentemente a gran escala a partir de rollos de material, se desea que las propiedades del material sean apropiadas para tener flexibilidad suficiente para el procesamiento del rollo, mientras que también dan una rigidez útil a la tira acabada. El sustrato de base se puede seleccionar como un material polimérico flexible tal como poliéster, especialmente materiales de poliéster de alta temperatura; poli(naftalato de etileno) (PEN); y poliimida, o mezclas de dos o más de estos. Las poliimidias están disponibles comercialmente, por ejemplo, con el nombre comercial Kapton®, de E.I. duPont de Nemours and Company de Wilmington, DE (duPont). Un material de sustrato de base particularmente preferido es MELINEX® 329 disponible de duPont.

#### Electrodos

##### Tipo.

La invención se refiere a un "sensor electroquímico", que es un dispositivo configurado para detectar la presencia de, y/o medir la concentración de, un analito a modo de reacciones electroquímicas de oxidación y reducción dentro del sensor. Estas reacciones se transducen en una señal eléctrica que se puede correlacionar con una cantidad o concentración de analito. La tira reactiva incluye, por tanto, un sistema de electrodos 26 que comprende un conjunto de electrodos de medida, por ejemplo, al menos un electrodo de trabajo y un contraelectrodo, dentro de la cámara de recepción de muestra. La cámara de recepción de muestra está configurada de forma que el líquido de muestra que entra en la cámara se ponga en contacto electrolítico con tanto el electrodo de trabajo como el contraelectrodo. Esto permite que la corriente eléctrica circule entre los electrodos de medida para efectuar la electrooxidación o electrorreducción del analito.

En el contexto de la presente invención, un "electrodo de trabajo" es un electrodo en el que el analito es electrooxidado o electrorreducido con o sin la intervención de un mediador de oxidorreducción. El término "contraelectrodo" se refiere en el presente documento a un electrodo que está emparejado con el electrodo de trabajo y a través del cual pasa una corriente electroquímica de igual magnitud y signo opuesto a la corriente que pasa a través del electrodo de trabajo. El término "contraelectrodo" pretende incluir contraelectrodos que también sirven de electrodos de referencia (es decir, contraelectrodo/electrodo de referencia).

##### Material del electrodo.

Los electrodos de trabajo y contraelectrodos, y las restantes porciones del sistema de electrodos, pueden estar formados de una variedad de materiales, como se conoce en la técnica. Los electrodos deben tener una resistencia eléctrica relativamente baja y deben ser electroquímicamente inertes durante el intervalo de funcionamiento de la tira reactiva. Conductores adecuados para el electrodo de trabajo incluyen oro, paladio, platino, carbono, titanio, rutenio dióxido y óxido de indio y estaño, e iridio, además de otros. El contraelectrodo puede estar hecho de los mismos

materiales o diferentes, por ejemplo, plata/cloruro de plata. En una realización preferida, los electrodos de trabajo y contraelectrodos son ambos electrodos de oro.

Aplicación de electrodos.

5 Los electrodos se pueden aplicar al sustrato de base de cualquier modo que proporcione electrodos de conductividad e integridad adecuadas. Procesos a modo de ejemplo son muy conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, pulverización iónica, impresión, etc. En una realización preferida, se proporcionan electrodos de oro recubriendo el sustrato de base y luego retirando porciones seleccionadas del recubrimiento para dar el sistema de electrodos. Un método de retirada preferido es ablación láser, y más preferentemente ablación láser de campo  
10 amplio.

Las técnicas de ablación láser normalmente incluyen la ablación de una composición de capa metálica única o multi-capa que incluye un material aislante y un material conductor, por ejemplo, un laminado metálico de una capa de metal recubierta sobre o laminada con un material aislante (tratado más adelante). La capa metálica puede contener  
15 metales puros, aleaciones, óxidos, u otros materiales, que son conductores metálicos. Ejemplos de metales o conductores de tipo metálicos incluyen: aluminio, carbono (tal como grafito), cobalto, cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (como una amalgama), níquel, niobio, osmio, paladio, platino, renio, rodio, selenio, silicio (tal como silicio policristalino altamente dopado), plata, tántalo, estaño, titanio, tungsteno, uranio, vanadio, cinc, circonio, mezclas de los mismos, y aleaciones o soluciones sólidas de estos materiales. Preferentemente, los materiales se seleccionan para ser esencialmente no reactivos con los sistemas biológicos; tales materiales incluyen: oro, platino, paladio, iridio, plata, o aleaciones de estos metales u óxido de indio y estaño. La capa metálica puede ser de cualquier espesor deseado. En una realización preferida, el espesor es  
20 aproximadamente 50 nm.

25 Configuración.

El sistema de electrodos puede tener una variedad de configuraciones adecuadas para el funcionamiento de la tira reactiva y el medidor. Para cualquier realización, los electrodos de trabajo y contraelectrodos están preferentemente situados y dimensionados para minimizar el volumen de líquido de muestra requerido para cubrirlos. También es  
30 preferible que los electrodos se configuren para mantener un flujo de trabajo de magnitud suficiente para que sea medible usando un medidor portátil relativamente barato.

A modo de ejemplo adicional, una realización preferida incluye un contraelectrodo que se extiende alrededor de ambos lados del electrodo de trabajo. El contraelectrodo, por tanto, tiene dos elementos, uno delante del electrodo de trabajo y el otro detrás del electrodo de trabajo, a medida que el líquido de muestra entra en la cámara de recepción de muestra. Más específicamente, el contraelectrodo incluye elementos 40 y 42 que se extienden a través de la cámara de recepción de muestra. Cada uno de estos elementos tiene aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de ancho. El elemento de electrodo de trabajo 44 tiene una anchura de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ , y está separado de cada uno de los dos elementos de contraelectrodo aproximadamente 255  $\mu\text{m}$ . Se apreciará que esto es solo una de las varias configuraciones para los electrodos de medida.  
40

Las pistas 30 y las almohadillas de contacto 32 se pueden proporcionar en una variedad de formas de acuerdo con su función prevista con respecto a la tira reactiva. Estos componentes del sistema de electrodos están preferentemente compuestos del mismo material que los electrodos, y se aplican preferentemente al sustrato de base del mismo modo y simultáneamente con la aplicación de los electrodos. En una realización preferida, las pistas y almohadillas de contacto son de oro, y se forman por ablación láser, particularmente como se describe en la solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 10/601.144, presentada el 20 de junio de 2003, titulada, Method of Making a Biosensor. Sin embargo, se pueden emplear materiales y métodos de aplicación alternativos.  
45

50 Características químicas

Composición de reactivos.

La tira reactiva incluye un reactivo químico dentro de la cámara de recepción de muestra que reacciona con el analito de prueba para producir la señal electroquímica que representa la presencia del analito en el líquido de muestra. La capa de reactivo puede incluir una variedad de componentes activos seleccionados para determinar la presencia y/o concentración de diversos analitos. La característica química de prueba es, por tanto, seleccionada con respecto al analito que va a evaluarse. Como es muy conocido en la técnica, existen numerosas características químicas disponibles para su uso con cada uno de los diversos analitos. Por ejemplo, en una realización preferida, la tira reactiva de la presente invención puede incluir una o más enzimas, coenzimas y cofactores, que se pueden seleccionar para determinar la presencia de glucosa en sangre. La selección de una característica química apropiada está, por tanto, perfectamente dentro de la experiencia en la materia, y no se requiere descripción adicional en el presente documento con el fin de permitir que se fabriquen y usen las tiras reactivas con diversos analitos.  
60

65

Adyuvantes.

En el modo convencional, la química de reactivos puede incluir una variedad de adyuvantes para potenciar las propiedades o características de reactivos. Por ejemplo, la química puede incluir materiales para facilitar la colocación de la composición de reactivos sobre la tira reactiva y para mejorar su adherencia a la tira, o para aumentar la tasa de hidratación de la composición de reactivos por el líquido de muestra. Además, la capa de reactivo puede incluir componentes seleccionados para potenciar las propiedades físicas de la capa de reactivo seca resultada, y la captación de una muestra de prueba líquida para análisis. Ejemplos de materiales adyuvantes que se van a usar con la composición de reactivos incluyen espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizadores, tampones, detergentes, gelificantes, cargas, abridores de película, agentes colorantes y agentes que confieren tixotropía.

En una realización preferida de la muestra de prueba, la mayor parte de la cámara está hueca antes de uso. En la cámara de muestra muy pequeña de las tiras reactivas según la presente invención, es preferible que la capa de reactivo sea delgada y uniforme. Puesto que la cámara de recepción de muestra es muy pequeña, menos de aproximadamente 1  $\mu\text{l}$ , es pequeña la profundidad o altura vertical de la cámara. Por consiguiente, la capa de reactivo no debe ocupar la mayor parte de la cavidad interna de la cámara. La capa de reactivo debe ser suficientemente delgada para dejar un amplio espacio para la muestra de prueba en la cámara. Además, la muestra de prueba líquida hidratará o disolverá la delgada capa de reactivo más rápidamente. Como se trata en el esquema de reacción anterior, el mediador y los productos de oxidorreducción del mediador difunden a través y dentro de la capa de reactivo/gradiente a los electrodos. Los componentes reactivos y productos intermedios tendrán una corta distancia para difundir a través de un reactivo delgado, por tanto, la difusión a los electrodos se producirá en menos tiempo. Además, la eficiencia de captura de los productos de oxidorreducción del mediador en un electrodo será mayor para una capa delgada de enzima que una capa gruesa.

En cambio, una capa de reactivo gruesa necesitará más tiempo para que la muestra de prueba líquida se hidrate o disuelva, y una capa de reactivo gruesa aumentará el tiempo que necesita para que el mediador/productos de oxidorreducción del mediador se aproximen a los electrodos. Esto puede retardar el tiempo para determinar la concentración de analito e introducir errores en la determinación.

Se prefiere que la capa de reactivo tenga un espesor uniforme. La falta de homogeneidad del espesor puede conducir a variabilidad en la determinación de la concentración de analito. En una realización preferida, la capa de reactivo tiene un espesor uniforme a través de toda la cámara de recepción de muestra. En esta realización preferida, la capa de reactivo no es más gruesa alrededor del perímetro de la cámara de recepción de muestra adyacente a las paredes laterales verticales que definen la cámara que en la porción central de la cámara. Por consiguiente, la capa de reactivo no presenta un perfil de menisco.

La composición de reactivos se formula como una solución viscosa que se puede depositar en una capa uniforme delgada sobre la capa de base. La composición de reactivos incluye espesantes y agentes tixotrópicos para potenciar las propiedades físicas de la capa de reactivo. Se seleccionan espesantes que proporcionan una matriz líquida densa que tiene los restantes componentes dispersados homogéneamente en su interior. Los agentes espesantes y tixotrópicos también inhiben que el material líquido o semi-pastoso chorree o se extienda sobre la superficie de la capa de base después de haberse depositado y antes de que se seque. Después de depositar la composición de reactivos, se seca rápidamente dando una matriz fácilmente hidratable.

Se proporciona que la composición de reactivos se seca rápidamente ya sea con secado con aire o secado con calor. Después de secarse, la capa de reactivo depositada presenta un espesor de entre aproximadamente 1 micrómetro y aproximadamente 20 micrómetros. Más preferentemente, la capa de reactivo seca presenta un espesor de entre aproximadamente 2 micrómetros y aproximadamente 6 micrómetros.

La composición de reactivos se puede depositar sobre la superficie de la tira reactiva usando una variedad de métodos de recubrimiento que incluyen recubrimiento con boquilla de ranura, recubrimiento con cortina, recubrimiento termofusible, recubrimiento en tamiz rotativo, recubrimiento con racleta o con cuchilla de aire, recubrimiento con barra de Mayer y técnicas de recubrimiento con rodillos invertidos. Estas técnicas son conocidas para aquellos expertos en la materia. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la banda flexible como una composición húmeda a un espesor de entre aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ . Más preferentemente, la composición de reactivos se deposita como una composición húmeda a un espesor de entre aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 80  $\mu\text{m}$ . La composición se puede aplicar como una capa uniformemente delgada de un reactivo directamente en la parte superior de los electrodos de medida y a lo largo de la longitud de una banda de múltiples tiras reactivas, como una banda estrecha continua. En realizaciones preferidas, la banda estrecha tiene una anchura de entre aproximadamente 7 mm y 8 mm y un espesor seco de entre aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 20  $\mu\text{m}$ . La composición también se puede aplicar sobre otros electrodos que pueden residir en la cámara de recepción de muestra, dependiendo de la funcionalidad deseada de tales electrodos externos.

## Capa espaciadora

## Configuración.

5 La tira reactiva incluye una capa espaciadora 14 que cubre el sustrato de base y que en parte define la cámara de recepción de muestra. En particular, la capa espaciadora 14 incluye una porción de vacío 22 que define sustancialmente la altura y el perímetro de la cámara de recepción de muestra 24. La porción vacía 22 está convenientemente situada para tener un orificio de borde por el cual el líquido de muestra se pone en contacto con el orificio de borde para entrar en la cámara de recepción de muestra. El orificio de borde está preferentemente  
10 situado en el extremo de la tira reactiva, aunque se apreciará que también es útil la colocación en un borde lateral.

## Materiales.

15 La capa espaciadora 14 puede estar hecha de cualquier material útil para fabricación con la tira reactiva. Debido a que la capa espaciadora define parcialmente la altura de la cámara de recepción de muestra, el material debe tener resistencia suficiente a espesores apropiados con respecto a la altura deseada de la cámara. Otra función de la capa espaciadora es proteger las pistas de electrodos que se extienden a lo largo de la superficie superior del sustrato de base 12. El material debe también ser fácilmente unido al sustrato de base y los materiales de cubierta, ya sea por adhesivos termosensibles o sensibles a la presión, u otros medios, tales como calor o soldadura láser.  
20 Ejemplos de materiales adecuados incluyen PET de 100  $\mu\text{m}$ , o lámina de PEN recubierta o combinada con adhesivos tales como ARCare 90132 de Adhesives Research Inc.

## Capa de cubierta

25 Configuración.

Se recibe una capa de cubierta 16 y se une a la capa espaciadora 14. Una función de la capa de cubierta es formar la superficie superior de la cámara de recepción de muestra. Otra función es proporcionar una superficie hidrófila para ayudar en la adquisición de la muestra de prueba. Además, la capa de cubierta 16 define preferentemente un orificio de ventilación 34 que permite que escape el aire del interior de la cámara a medida que el líquido de muestra entra y se mueve en la cámara de recepción de muestra.  
30

La capa de cubierta puede estar formada como una pieza unitaria con la ranura 34' formada como una cavidad sobre la parte inferior de la misma, como se muestra en la FIG. 1B. Para fines de producción a gran escala, la ranura 34' sería sustancialmente recta como se muestra y se extendería a través de toda la anchura de la tira reactiva, de forma que el aire se ventilara de la cámara de recepción de muestra 24 a los orificios de ventilación formados en lados laterales opuestos de la tira reactiva. Sin embargo, la ranura podría comprender un canal o cavidad que solo se extiende de la cámara 24 a un lado de la tira reactiva, aunque tal configuración no es preferida para fines de producción a gran escala.  
35

Otra realización alternativa se muestra en la FIG. 1C, en la que la cubierta de cámara 20 "solapa" la cubierta de cuerpo 18. En esta disposición, una pequeña porción terminal 37 de la capa de cubierta 20 está doblada hacia arriba y se extiende a través del borde de la cubierta de cuerpo 18. Así se forma una ranura 34" que tiene aproximadamente una sección transversal de forma triangular como se puede apreciar en los bordes de la tira, en los que hay orificios de forma triangular que permiten que escape el aire. En esta disposición de "solapamiento", no es críticamente importante la disposición precisa de la cubierta de cámara 20 con respecto a la cubierta de cuerpo 18 a lo largo de la dirección longitudinal de la tira. Es decir, la cantidad de material de cubierta de cámara que solapa la cubierta de cuerpo 18 puede variar sin afectar las dimensiones o disposición de la ranura. Esto tiene ventajas en la fabricación, como será evidente con referencia a la discusión de más adelante.  
40

Preferentemente, la cubierta de cuerpo 18 y la cubierta de cámara 20 comprenden dos miembros separados para facilitar la fabricación y la formación del orificio de ventilación. La cubierta de cuerpo 18 y la cubierta de cámara 20 están ambas dispuestas en sustancialmente el mismo plano horizontal. La cubierta de cámara 20 cubre sustancialmente la porción vacía 22 de la capa espaciadora, y forma la parte superior de la cámara de recepción de muestra. La cubierta de cámara incluye preferentemente un recubrimiento o tratamiento hidrófilo 21 en su parte inferior, como se describe con más detalle más adelante. La cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara están dispuestas de extremo a extremo en la dirección longitudinal a lo largo de la tira reactiva e incluyen la ranura 34 entremedias como se muestra en la FIG. 1A. La ranura está dispuesta adyacente al extremo interior de la porción de vacío 22 de la capa espaciadora, y en la realización preferida en la FIG. 1A, forma un pequeño hueco que separa la cubierta de cámara 20 de la cubierta de cuerpo 18. El hueco constituye el orificio de ventilación 34 en comunicación con la cámara de recepción de muestra. La ranura 34 es sustancialmente recta y se extiende a través de la anchura de la tira reactiva 10. La ranura 34 está orientada sustancialmente perpendicular al eje longitudinal o a lo largo de la tira reactiva 10. El líquido de muestra que entra en la cámara de recepción de muestra expulsará el aire a través del orificio de ventilación definido por la ranura 34. Si la ranura está formada como un hueco, un poco o la mayor parte del aire expulsado saldrá de la parte superior de la tira reactiva.  
45  
50  
55  
60  
65

La ranura está situada en una posición con respecto a la cámara de recepción de muestra que es interior a la localización del sistema de electrodos 26. El líquido de muestra que entra en la cámara de recepción de muestra avanzará hasta el orificio de ventilación, pero no más. Cuando se ve desde arriba, la ranura proporciona una indicación visual de una "línea de llenado", como se describe en el presente documento. La disposición del orificio de ventilación, por tanto, asegura que puede ser recibido suficiente líquido de muestra para cubrir completamente el sistema de electrodos. Al mismo tiempo, la disposición del orificio de ventilación inhibirá la continua subida del líquido de muestra más allá de la región del sistema de electrodos.

La formación de la ranura y el orificio de ventilación por la separación de la cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara es además ventajosa debido a que evita la necesidad de formar de otro modo una abertura en la capa de cubierta o capa de base. En el estado de la técnica, ha sido un enfoque formar el orificio de ventilación perforando un agujero en cualquiera de la película superior o inferior que forma la cámara de recepción de muestra, que presenta problemas de fabricación debido a la necesidad de disponer con precisión el agujero con respecto a la cámara de recepción de muestra. Aunque este enfoque también es adecuado para una tira reactiva, el diseño preferido descrito en el presente documento evita la necesidad de alinear el orificio de ventilación lateralmente con respecto a la tira reactiva. Además, el presente diseño es muy adecuado para la producción a gran escala de las tiras reactivas por técnicas de procesamiento por rodillos, como se describe después.

Al mismo tiempo, la construcción de ventilación se puede hacer de tal modo que se inhiba el ascenso de líquido de muestra lateralmente a lo largo de la ranura más allá del área central que cubre la cámara de recepción de muestra 24. Por ejemplo, la cubierta de cuerpo es preferentemente fijada a la capa espaciadora por medio de un adhesivo 46, como se muestra en la FIG. 3. El uso de un adhesivo hidrófobo inhibirá que la sangre, líquido intersticial, y otros líquidos acuosos, se muevan a lo largo de la ranura que se extiende lateralmente por acción capilar. Toda la cubierta de cuerpo, o porciones adyacentes al orificio de ventilación, también pueden ser hidrófobas para inhibir el ascenso. Materiales y métodos para proporcionar propiedades hidrófobas para una superficie de un material son muy conocidos en la técnica. La cubierta de cámara puede ser fijada a la capa espaciadora por el mismo adhesivo o un adhesivo diferente del adhesivo 46, como se explica más adelante.

El adhesivo 49 fija la capa espaciadora al sustrato de base 12. El adhesivo 46, además del adhesivo 49 y el material para la capa espaciadora 14, están todos formados de material sustancialmente hidrófobo en la realización ilustrada. Como tales, las paredes verticales de la cámara capilar formada en la tira 10 son hidrófobas. Por el contrario, el suelo de la cámara está cubierto con un reactivo hidrófilo y la parte inferior de la capa 20 está recubierta con un recubrimiento hidrófilo 21 (FIG. 2). En otras palabras, las superficies horizontales en el capilar son hidrófilas, mientras que las superficies verticales son hidrófobas. Se ha encontrado que esto promueve el buen ascenso de la muestra dentro de la cámara capilar, incluso previene la migración no deseada de la muestra lateralmente desde la cámara, por ejemplo, entre la capa espaciadora y el sustrato de base.

#### Materiales.

La cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara pueden estar hechas de cualquier material útil para fabricación con la tira reactiva. Los materiales para la cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara pueden ser iguales o diferentes. Los materiales deben ser fácilmente unidos a la capa espaciadora, ya sea por adhesivos termosensibles o sensibles a la presión, u otros medios tales como calor o soldadura láser. Ejemplos de materiales adecuados para tanto la cubierta de cámara como la cubierta de cuerpo incluyen lámina de PET de aproximadamente 127  $\mu\text{m}$  de espesor. La cubierta de cámara incluye preferentemente una capa hidrófila 21 como se desvela en el documento WO 02/085185, ARFlow® 90191 de Adhesives Research Inc.

La capa de cubierta 16 también se puede usar para facilitar la visualización del líquido de muestra a medida que entra en la cámara de recepción de muestra. Esto se lleva a cabo proporcionando un contraste en el color o matiz entre la cámara y el área circundante. Por ejemplo, en un enfoque, la porción de la capa espaciadora 14 que rodea el vacío 22 está provista de un color que contrasta con el color del fondo de la cámara de recepción de muestra, por ejemplo, el color de la capa de reactivo químico dispuesta en el fondo de la cámara. Este color de contraste puede proporcionarse, por ejemplo, por la aplicación de una tinta u otro agente colorante a las porciones de la capa espaciadora adyacentes a la cámara de recepción de muestra. Se representa una sección coloreada 23 de la capa 14 en la FIG. 2. La cubierta de cámara 20 se proporciona entonces como un material transparente o translucido que permite que el usuario vea la cámara y la capa espaciadora adyacente. A medida que el líquido de muestra entra desde el borde de la tira reactiva, el usuario es capaz de observar su avance a medida que se mueve por acción capilar hacia el orificio de ventilación. Este tipo de característica se describe además en la patente de EE.UU. N.º 5.997.817, concedida a Crismore et al. el 7 de diciembre de 1999.

#### Capilar

La cámara de recepción de muestra formada por el sustrato de base, la capa espaciadora y la cubierta de cámara comprende esencialmente varias secciones en las que se desplazará el líquido de muestra. Una primera sección de entrada 48 se extiende desde el orificio de borde hasta el área del sistema de electrodos de medida. Una segunda sección de prueba 50 se extiende a través del área del sistema de electrodos. Una tercera sección 52 se extiende

desde el sistema de electrodos de medida hasta el orificio de ventilación. Se apreciará que la prueba del líquido de muestra ocurre en el área del sistema de electrodos en la sección de prueba. Sin embargo, el líquido de muestra también llenará las otras secciones de la cámara en el transcurso del llenado de la tira reactiva.

## 5 Dimensiones.

La altura y anchura de la cámara de recepción de muestra se seleccionan basándose en una variedad de consideraciones, que incluyen el líquido que se prueba y el analito en cuestión. Por ejemplo, las dimensiones de la cámara son preferentemente dimensionadas para promover el flujo capilar del líquido de prueba en la cámara.

10 Alturas de cámara preferidas para su uso con sangre, por ejemplo, son de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ , y más preferentemente de 120 a 180  $\mu\text{m}$ . En una realización preferida, la altura de la cámara es aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ . La anchura de la cámara se puede seleccionar similarmente para corresponderse con un líquido de muestra y analito deseados. Por ejemplo, la cámara debe ser suficientemente  
15 ancha para exponer una cantidad deseada de los electrodos de trabajo y contraelectrodos, y debe ser lo suficientemente estrecha para evitar el requisito de una excesiva cantidad de líquido de muestra para la prueba. La anchura de la cámara de recepción de muestra y la anchura del electrodo de trabajo definen el área del electrodo de trabajo. El área representa una consideración de diseño adicional ya que se refiere a amplitud de señal y diseño de instrumentación. Volumen.

20 La cámara de recepción de muestra está preferentemente provista para tener un volumen mínimo, con el fin de reducir la cantidad de líquido de muestra necesaria para realizar una prueba. La cámara de recepción de muestra global, que incluye las tres secciones que se extienden desde el orificio de borde hasta el orificio de ventilación, tiene un volumen total que se puede considerar que es un factor del área de la cámara desde el borde hasta la ventilación, y la altura de la cámara desde el sustrato de base hasta la cubierta de cámara 20. Sin embargo, el  
25 "volumen de cámara neto" comprende el volumen de líquido de muestra requerido para llenar este espacio. El volumen de cámara neto de la cámara de recepción de muestra será el equivalente del volumen de cámara total menos el volumen ocupado por los electrodos, el reactivo, y quizás otros artículos tales como un material sorbente, si está incluido.

30 Como se indicó previamente, el volumen de la cámara de recepción de muestra global comprende los volúmenes atribuibles a las tres secciones de la cámara. Cada una de las secciones está generalmente dimensionada para ser tan pequeña como sea práctica para el funcionamiento de la tira reactiva. Sin embargo, existen consideraciones, y posiblemente otras funciones, que afectarán el tamaño de cada sección.

35 Los volúmenes de cámara son un factor de tanto la altura como el área. La altura es un resultado del espesor de la capa espaciadora y el espesor de los adhesivos usados para fijar la capa espaciadora a las otras capas. Por ejemplo, el sustrato de base y la cubierta de cámara se unen a lados opuestos de la capa espaciadora. Un método de unión es el sellado térmico o láser de los materiales. Se prefiere, sin embargo, unir estas capas usando  
40 adhesivos adecuados, tales como adhesivos termosensibles o sensibles a la presión. En este enfoque, la altura de la cámara de recepción de muestra, es decir, la distancia entre las superficies opuestas del sustrato inferior y la cubierta de cámara, estará afectada por el espesor de las capas de adhesivo. Como se muestra en la FIG. 3, la cámara 24 está delimitada en su lado inferior por la capa de reactivo 33 y su lado superior por el recubrimiento 21 de cubierta de cámara 20. Sin embargo, las capas de adhesivo 46 y 49, además de la capa espaciadora 14, definen la altura total de la cámara 24.

45 Además, en una realización preferida, la capa de reactivo 33 se extiende entre el sustrato de base 12 y la capa espaciadora 14 y de hecho extiende la anchura total de la tira reactiva, como se describe más adelante. Por tanto, también se puede aumentar la altura de la cámara debido a la presencia de la capa de reactivo que se encuentra debajo de la capa espaciadora. En esta realización, y si se emplea adhesivo, se ha encontrado que el adhesivo  
50 puede combinarse con el reactivo de prueba, al menos a un grado que cause que el adhesivo llene algo dentro y alrededor del reactivo. Por tanto, las alturas de las capas de reactivo y adhesivo no son necesariamente aditivas en la tira reactiva final. Más bien, la altura del espacio resultante entre el sustrato de base y la capa espaciadora es algo inferior a la combinación de las alturas de las capas de reactivo y de adhesivo separadas antes de la laminación.

55 También se ha encontrado que la combinación del adhesivo y el reactivo ayuda ventajosamente a crear un sellado a lo largo del borde de la cámara de recepción de muestra. Esto inhibe que el líquido de muestra ascienda dentro material de reactivo presente en el espacio entre el sustrato de base y la capa espaciadora en el periodo de tiempo necesario para realizar una prueba.

60 La primera sección de entrada está disponible para recibir el líquido de muestra y dirigirlo a los electrodos de medida. Esta sección puede ser bastante pequeña en tamaño, y puede comprender solo un segmento corto de la cámara. La longitud de esta sección es preferentemente inferior a 1200  $\mu\text{m}$ .

65 La segunda sección de prueba incluye los electrodos de prueba o de medida, y también está dimensionada para requerir un volumen de líquido de muestra mínimo. Un factor primario que controla el tamaño de esta segunda sección será el tipo, número, tamaño, intensidad de señales y configuración de los electrodos de medida. La longitud

de esta sección es preferentemente aproximadamente 1260  $\mu\text{m}$ . Un volumen preferido es aproximadamente 0,265  $\mu\text{l}$ , basado en una altura de capilar de 0,15 mm, y una anchura de capilar de 1,4 mm.

El líquido de muestra pasa por los electrodos de medida y entra en la tercera sección. Esto proporciona garantía, y permite preferentemente la confirmación específica de que los electrodos de medida están apropiadamente humedecidos. Esta confirmación puede ser por observación visual por el usuario, o por medios de detección automática. Por ejemplo, se pueden disponer electrodos de cantidad suficiente de dosis en esta sección para detectar cuando el líquido de muestra ha avanzado dentro de esta sección hasta un punto en el que se asegura la humectación de los electrodos de medida. Esto se puede usar como desencadenante para iniciar la aplicación del potencial a los electrodos. La longitud de esta sección es preferentemente 50 a 500  $\mu\text{m}$ , y más preferentemente 255 a 400  $\mu\text{m}$ . El volumen es preferentemente 0,01 a 0,1  $\mu\text{l}$ , y más preferentemente 0,05 a 0,08  $\mu\text{l}$ .

En una realización preferida, el volumen de cámara neto global de la cámara de recepción de muestra es inferior a aproximadamente 1  $\mu\text{l}$ , y es más preferentemente inferior a aproximadamente 0,5  $\mu\text{l}$ . Intervalos deseables para el volumen de cámara neto de la cámara de recepción de muestra incluyen volúmenes de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 1,4  $\mu\text{l}$ , más preferentemente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,7  $\mu\text{l}$ .

Sorbente.

La cámara de muestra puede estar de otro modo vacía, que se prefiere, o alternativamente puede incluir un material sorbente. Materiales sorbentes adecuados incluyen poliéster, nailon, celulosa, y derivados de celulosa tales como nitrocelulosa. Podría incluirse un material sorbente para facilitar la captación del líquido de muestra ayudando en el ascenso del líquido dentro de la cámara. El uso de un material sorbente también serviría para reducir además el volumen vacío de la cámara de recepción de muestra para la recepción del líquido de muestra.

Método de llenado.

El método preferido de llenado de la cámara de muestra es por acción capilar. Además, el llenado de la tira reactiva puede ser incrementado por otros medios, tales como aplicando una presión sobre el líquido de muestra para empujarlo en la cámara de muestra, y/o creando un vacío en la cámara de muestra para sacar el líquido de muestra en la cámara.

Recubrimiento hidrófilo.

Para los fines de llenado capilar de la cámara de recepción de muestra, están disponibles diversos enfoques para facilitar el movimiento del líquido de muestra en la cámara. Por ejemplo, se pueden seleccionar o tratar cualquiera o todas de las superficies que definen la cámara para mejorar la hidrofilia. Tal tratamiento puede comprender el uso de materiales hidrófilos conocidos, la aplicación de un material hidrófilo sobre la superficie, o el tratamiento de las superficies para aumentar la hidrofilia, como se describe más adelante. Además, se puede formular la composición de reactivos para ser fácilmente hidratada y para fomentar el llenado de la cámara de recepción de muestra. Como se indicó previamente, también se puede usar un sorbente.

Prueba de analito

El sensor electroquímico es operado aplicando un potencial adecuado o serie de potenciales a través de los electrodos de trabajo y contraelectrodos, y a través de los electrodos de suficiencia de dosis. Cuando se usa un mediador, la magnitud del potencial requerido a través de los electrodos de trabajo y contraelectrodos dependerá del mediador de oxidorreducción. Además, el potencial en el electrodo donde se electroliza el analito normalmente es lo suficientemente grande para conducir la reacción electroquímica hasta o cerca de la finalización, pero la magnitud del potencial no es preferentemente lo suficientemente grande para inducir la significativa reacción electroquímica de interferentes. Para glucosa, por ejemplo, una diferencia de potencial aplicada normalmente es entre aproximadamente +100 mV y aproximadamente +550 mV si se usa un potencial de CC. Si se usan potenciales de CA, éstos pueden ser normalmente de 5 a 100 mV de RMS.

Se puede aplicar un potencial antes o después de que la muestra empiece a entrar en la cámara de recepción de muestra. Sin embargo, preferentemente se aplica un potencial después de que la muestra haya entrado en la cámara, y más preferentemente después de que se haya determinado que existe una cantidad suficiente de muestra en la cámara de recepción de muestra para realizar una prueba. El momento preciso de la aplicación de un potencial se puede desencadenar de una variedad de formas, que incluyen observación visual por el usuario, un retraso de tiempo tras el muestreo del líquido a la tira reactiva, o tras la detección eléctrica u otra automatizada de una cantidad suficiente de líquido de muestra en la cámara. Las alternativas visual y eléctrica también pueden actuar de respaldos redundantes para asegurar la apropiada operación del dispositivo. Preferentemente, la tira reactiva y el sistema utilizan medios de detección separados, tales como electrodos de suficiencia de dosis, para determinar cuándo la muestra de líquido ha llenado suficientemente la cámara.

Cuando se aplica un potencial y el líquido de muestra está en la cámara de recepción de muestra, circulará una corriente eléctrica entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. La corriente puede ser un resultado de la electrólisis del analito en el líquido de muestra cuando se aplica un potencial de magnitud suficiente. En este caso, se produce la reacción electroquímica por el mediador de oxidorreducción, generalmente como se describe previamente. En el caso en el que se aplique un potencial de pequeña amplitud, particularmente en el caso de potenciales de CA, la corriente se produce no necesariamente por electrólisis, sino por movimiento iónico y respuesta del dieléctrico en la cámara de muestra. Aquellos expertos en la materia reconocerán que existen muchos mecanismos de reacción diferentes que lograrán el mismo resultado.

#### 10 Solución de control

Se puede aplicar una prueba a la tira reactiva después de la dosificación para confirmar que se ha administrado una solución de control, e incluso la solución de control correcta. Las soluciones de control ayudan al usuario a confirmar que todo el sistema está funcionando dentro de las especificaciones de diseño, y que las tiras reactivas no han sido guardadas inapropiadamente o maltratadas de otro modo. Tiras aceptables recuperarán valores dentro de los intervalos de tolerancia especificados para el lote de tiras particulares que se prueba. Los intervalos de tolerancia en cuestión serán publicados para cada lote de tiras en la etiqueta del recipiente.

#### 20 Método de fabricación de tiras

En una realización preferida, el sensor comprende una tira reactiva lamina multi-capa 10. Como se describe previamente, el laminado incluye un sustrato de base 12, una capa espaciadora 14 y una capa de cubierta 16. Estos componentes se pueden ensamblar de diversas formas. Por ejemplo, los componentes se pueden ensamblar por uso de adhesivos, termosellado, soldadura láser, y una variedad de otras técnicas adecuadas apropiadas para fijar los materiales adyacentes. Las tiras reactivas se ensamblan preferentemente en un gran número en una única hoja o banda, y las tiras son después separadas para almacenamiento y uso.

La tira reactiva laminada se puede ensamblar secuencialmente depositando sucesivamente una capa cada vez. Alternativamente, la tira reactiva se puede preparar ensamblando y procesando componentes o capas individuales, que entonces se laminan juntas para proporcionar la tira reactiva funcional. En una forma preferida, se preparan simultáneamente dos o más componentes básicos de la tira reactiva. Entonces, en una o una serie de etapas de ensamblaje o laminado, los componentes básicos se combinan para producir la tira reactiva, que puede o puede no requerir procesamiento adicional. En una realización preferida, la tira reactiva se ensambla a partir de tres componentes básicos: un sustrato metalizado preferentemente con una capa de reactivo recubierta sobre electrodos metálicos definidos sobre el sustrato, una capa espaciadora que tiene una cavidad preformada en su interior, y una o más capas superiores o de cubierta.

Con tales dimensiones pequeñas para la cámara de recepción de muestra, las características de la capa de reactivo pueden tener un impacto significativo sobre el funcionamiento de la tira reactiva, particularmente en vista de las características de hidratación y mezcla. Por tanto, es importante la reproducibilidad de la cantidad, localización, espesor y otras propiedades de la capa de reactivo. Es, por tanto, deseable que la composición incluya materiales que potencien específicamente las características físicas, tales como la uniformidad y planitud, de la capa aplicada.

En un aspecto particular, la tira reactiva incluye un modo único de incorporar el reactivo. El reactivo se coloca en la cámara de recepción de muestra al menos sobre el electrodo de trabajo, y preferentemente también sobre el contraelectrodo. El reactivo se puede aplicar a la tira reactiva en una variedad de modos como es bien entendido en la materia. En una realización preferida, la composición de reactivos se aplica como un delgado recubrimiento sobre los electrodos soportados sobre el sustrato de base.

Más particularmente, el reactivo se coloca sobre el sustrato de base de un modo que se coloque la composición de reactivos entre el sustrato de base y la capa espaciadora. Este modo de aplicación ayuda a hacer la capa de reactivo de espesor más plano y uniforme. A diferencia, un procedimiento del estado de la técnica ha sido para preparar primero el pocillo o cavidad de reacción, y luego llenar el reactivo en el pocillo. Sin embargo, esto puede dar como resultado una capa de reactivo más irregular debido a fenómenos tales como formación de un menisco en el perímetro del pocillo. Esto puede causar a su vez que el reactivo tenga un espesor diferente adyacente a las paredes laterales del pocillo de reacción que en la porción interior, que puede causar incoherencia en el llenado de la cámara, intervalos de disolución prolongados y mezcla incoherente del reactivo con el líquido de muestra, y los resultados de prueba definitivos. Poniendo el reactivo sobre el sustrato de base antes de añadir la capa espaciadora, no existe efecto de menisco que altere la formación de capa uniforme del reactivo a medida que se seca sobre el sustrato de base. Además, este método de aplicación facilita la producción a gran escala de las tiras reactivas.

Con referencia a los dibujos, se muestra la tira reactiva 10 que incluye una capa de reactivo 33 que se extiende entre el sustrato inferior 12 y la capa espaciadora 14. Más particularmente, el reactivo forma una capa 33 que cubre tanto la superficie superior del sustrato inferior 12 como los electrodos 28. El reactivo cubre al menos el electrodo de trabajo, y preferentemente también el contraelectrodo. En la realización más preferida, la capa de reactivo se extiende toda la anchura de la tira reactiva. La capa de reactivo también se extiende preferentemente desde el borde

terminal hasta los electrodos de suficiencia de dosis, y más preferentemente hasta el orificio de ventilación. Así, la capa de reactivo se extiende por debajo de la capa espaciadora y está intercalada entre la capa espaciadora y el sustrato de base.

5 La composición de reactivos se aplica al sustrato inferior o base en cualquier modo adecuado que proporcione una capa deseada y uniforme que finalmente se extenderá debajo de la capa espaciadora. El reactivo se aplica preferentemente en un recubrimiento continuo directamente sobre el sustrato inferior, y sobre los electrodos recibidos sobre ella. Como se describe después, la composición de reactivos se aplica más preferentemente en el transcurso de la producción de una gran cantidad de tiras reactivas sobre una malla de material. De este modo, el reactivo puede aplicarse en forma de una tira continua de material que se extiende sobre un rollo de sustrato que después se separa en tiras reactivas individuales. Se deja que la composición de reactivos se seque o establezca de otro modo y se aplica sobre ella la capa espaciadora.

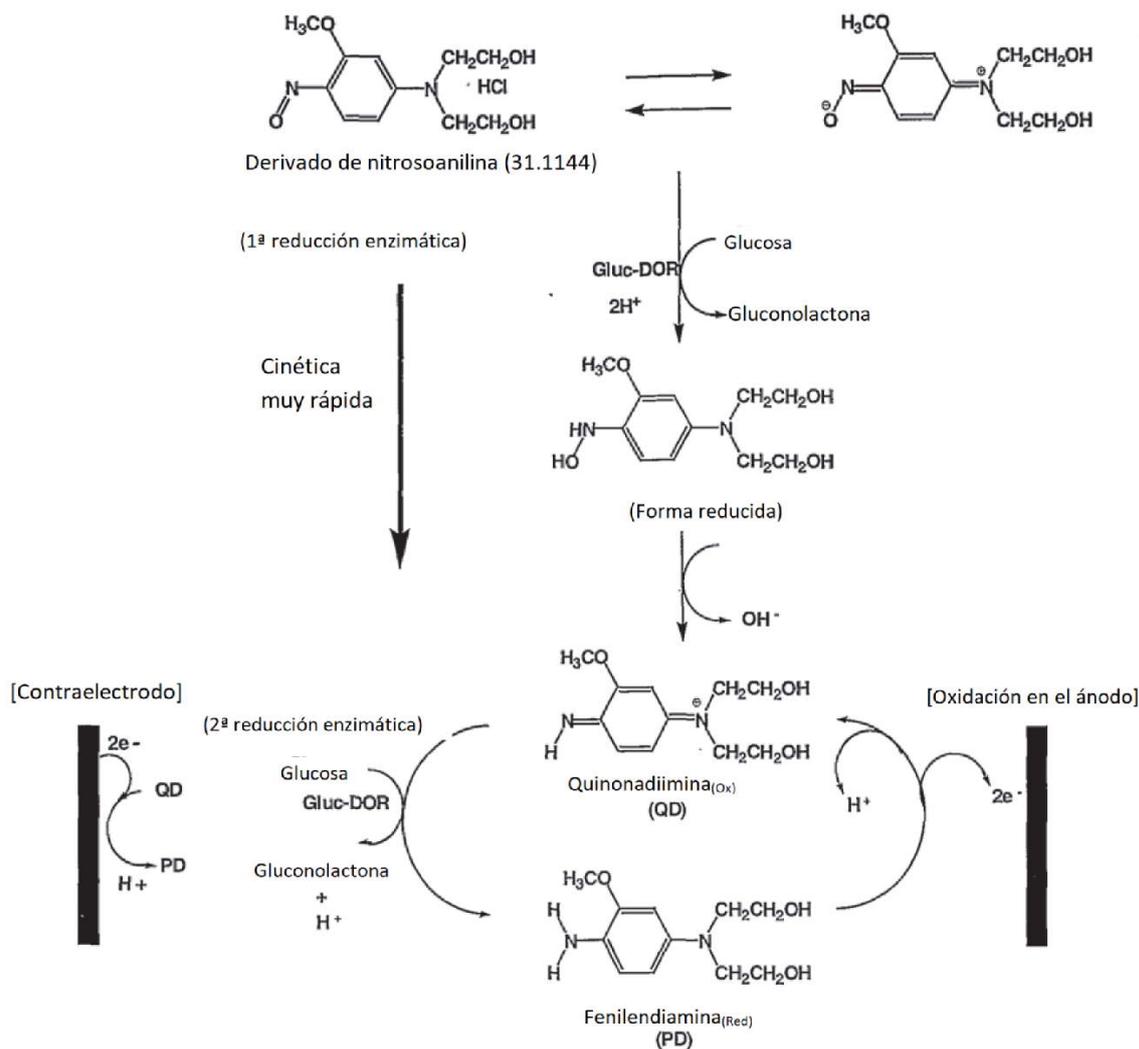
15 En un aspecto relacionado, un modo preferido de fijar la capa espaciadora al sustrato inferior es el uso de un adhesivo. Además de fijar las capas juntas, se ha encontrado que el adhesivo interaccionará suficientemente con la composición de reactivos para ayudar a sellar el espacio entre el sustrato inferior y la capa espaciadora. Los adhesivos se dispusieron preferentemente sobre la capa espaciadora, que está laminada sobre el sustrato de base. Así, el adhesivo se pone en contacto con la porción del reactivo que se extiende debajo de la capa espaciadora.

20 Aunque la capa espaciadora de la realización ilustrada está formada del material Melinex® con adhesivos sobre ambos lados de la misma, también es posible formar la capa espaciadora 14 como un material de adhesivo continuo, tal como una cinta de doble cara. Por ejemplo, podría usarse un ARCare Adhesive de 5 a 6 milímetros de espesor en lugar de la capa espaciadora 14.

25 En un aspecto adicional, se describe una realización preferida en la que el analito es glucosa. En el caso de la glucosa, los componentes activos de la composición de reactivos normalmente incluirán una oxidorreductasa, tal como una enzima para glucosa; opcionalmente una coenzima o cofactor; y un mediador de oxidorreducción. Estos componentes normalmente se disuelven o suspenden en una matriz. La muestra de prueba líquida hidrata o disuelve la matriz, y el analito difunde a través de la matriz para reaccionar con uno o más de los componentes activos. Normalmente, la enzima oxida la glucosa en la muestra de prueba a gluconolactona y/o ácido glucónico. El mediador, a su vez, reacciona con o oxida la enzima reducida y, por consiguiente, el mediador se reduce en el proceso. El mediador reducido se puede detectar en uno de los electrodos sobre la tira reactiva.

35 En un ejemplo específico de un esquema de reacción de oxidación/reducción útil para detectar glucosa en sangre humana, reacciona una muestra de prueba que contiene glucosa con una enzima tal como glucosa-di-oxidorreductasa (Gluc-Dor), y opcionalmente una coenzima o cofactor tal como pirrolo-quinolina-quinona (PQQ), en presencia de un mediador de oxidorreducción. El mediador puede incluir, por ejemplo, benzoquinona, complejos de metales de transición, por ejemplo, ferricianuro de potasio, derivados de osmio (por ejemplo, complejos de osmio-bipiridilo tal como se describen en el documento WO 98/35225) y derivados de nitrosoanilina (véase la patente de EE.UU. N.º 5.286.362). Esto produce la forma oxidada del analito, gluconolactona, y la forma reducida del mediador de oxidorreducción. El mediador transporta después el equivalente de oxidorreducción del producto de mediador, el mediador reducido, a la superficie del electrodo por difusión. Allí, el mediador se oxida cuantitativamente a un potencial anódico definido, y la corriente resultante se relaciona con la concentración aparente de glucosa.

45 Se proporciona a continuación en la Ecuación 1 una representación de las secuencias de reacción para este sistema de reacción usando un derivado de nitrosoanilina.



Archivo= Mediator 311144 RXN Rev 09092002-Text.CDX

Como se muestra, el derivado de nitrosoanilina, *o*-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxietil)]-*p*-nitrosoanilina, existe inicialmente como una mezcla de dos isómeros, o tautómeros, en equilibrio entre sí. La reacción de Gluc-Dor con glucosa en la muestra de prueba da gluconolactona y la forma reducida de Gluc-Dor (Gluc-Dor·2H<sup>+</sup>). La forma reducida de Gluc-Dor (Gluc-Dor·2H<sup>+</sup>) reacciona rápidamente con el derivado de nitrosoanilina, que se reduce y que regenera Gluc-Dor. El derivado de nitrosoanilina reducido se somete entonces a hidrólisis para formar quinonadiimina (QD). En una segunda reacción enzimática de oxidorreducción, Gluc-Dor reacciona con glucosa dando otra molécula de Gluc-Dor·2H<sup>+</sup> y gluconolactona. Gluc-Dor·2H<sup>+</sup> reacciona con (es oxidada por) quinonadiimina para regenerar Gluc-Dor, y produce un derivado de fenilendiamina (PD). Entonces se oxida la PD en el electrodo de trabajo para producir una corriente relacionada con la concentración de glucosa. Además, en el contraelectrodo se puede reducir QD a PD.

Adyuvantes.

Con tales dimensiones pequeñas para la cámara de recepción de muestra, las características de la capa de reactivo pueden tener un impacto significativo sobre el funcionamiento de la tira reactiva, particularmente en vista de las características de hidratación y mezcla. El control y la reproducibilidad de la cantidad, localización, anchura, espesor y otras propiedades de la capa de reactivo llegan a ser más importantes a medida que disminuye el volumen de la cámara y disminuye el tiempo de prueba. Es, por tanto, deseable que la composición incluya materiales que potencien específicamente las características físicas, tales como la uniformidad y planitud, de la capa aplicada. Además, el método de aplicación puede afectar las características físicas, el control y la reproducibilidad de la capa de reactivo.

Por tanto, la composición de reactivos también puede incluir una variedad de adyuvantes para potenciar las propiedades o características de reactivos. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales complementarios para facilitar la disposición de la composición de reactivos sobre la tira reactiva y para mejorar su adherencia a la

tira. La composición también puede incluir materiales para aumentar su tasa de hidratación y/o aumentar su influencia sobre la acción capilar para llenar la cámara con la muestra de prueba. Ejemplos de materiales complementarios que se van a usar con la composición de reactivos incluyen espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizadores, tampones, detergentes, gelificantes, cargas, agentes de apertura de películas, agentes colorantes y agentes que confieren tixotropía.

Los materiales o componentes adyuvantes pueden afectar la aplicación, reproducibilidad y propiedades físicas de la capa de reactivo. Los materiales complementarios pueden incluir uno o más de los siguientes:

Los espesantes pueden incluir, por ejemplo, (1) almidones, gomas (por ejemplo, pectina, goma guar, goma de semilla de algarroba (semilla de arveja), goma konjac, goma xantana, alginatos y agar), caseína, gelatina y ficocoloides; (2) celulosa y derivados semisintéticos de la celulosa (carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa); (3) poli(alcohol vinílico) y carboxivinilatos; y (4) bentonita, silicatos y sílice coloidal. Espesantes preferidos incluyen una combinación de una goma xantana comercializada con el nombre comercial Keltrol F por CP Kelco US, Inc., y carboximetilcelulosa comercializada con el nombre comercial AQUALON® CMC 7F PH por Hercules Inc., Aqualon Division.

Agentes formadores de películas y tixotrópicos útiles en la composición de reactivos incluyen polímeros y sílice. Agentes tixotrópicos preferidos incluyen sílice comercializada con el nombre comercial Kieselsäure Sipernat FK 320 DS por Degussa AG. Agentes formadores de películas preferidos incluyen polivinilpirrolidona, comercializada con la marca registrada polyvinylpirrolidon Kollidon 25, por BASF, y dispersión de poli(propionato de vinilo).

Se pueden seleccionar estabilizadores para la enzima en el reactivo de sacáridos y sales de ácido mono- o di-graso. Estabilizadores preferidos incluyen trehalosa comercializada con el nombre comercial D-(+)-Trehalose dihydrate por Sigma Chemical Co. y succinato de sodio.

Se pueden seleccionar detergentes de jabones solubles en agua, además de compuestos tensioactivos sintéticos solubles en agua tales como sales alcalinas, alcalinotérricas o de amonio opcionalmente sustituidas de ácidos grasos superiores, por ejemplo, ácido oleico o esteárico, mezclas de ácidos grasos naturales, por ejemplo, de aceite de coco o de sebo, sulfatos grasos, ésteres de ácidos sulfónicos, sales de ácidos alquilsulfónicos, sales de taurina de ácidos grasos, amidas de ácidos grasos y amidas de éster. Detergentes preferidos para la presente invención incluyen una amida de éster, n-octanoil-N-metilglucamida, comercializada con el nombre comercial Mega-8 por Dojindo Molecular Technologies, Inc., y una sal de ácido graso, sal de sodio de taurato de N-metioleílo, comercializada con el nombre comercial Geropon T77 por Rhodia HPCII (Home, Personal Care and Industrial Ingredients).

Se debe entender que uno o más de los aditivos específicos anteriormente descritos puede presentar propiedades adicionales y, por consiguiente, podrían clasificarse en una o más de las clases anteriormente indicadas.

Mediador.

Se puede seleccionar un mediador para su uso en la composición de reactivos como cualquier especie química (generalmente electroactiva) que pueda participar en un esquema de reacción que implica una enzima, un analito, y opcionalmente un cofactor, y productos de reacción de los mismos, para producir un producto de reacción electroactivo detectable. Normalmente, la participación del mediador en la reacción implica un cambio en su estado de oxidación (por ejemplo, una reducción), tras la interacción con uno cualquiera del analito, la enzima, o un cofactor, o una especie que es un producto de reacción de uno de estos (por ejemplo, un cofactor que ha reaccionado dando un estado de oxidación diferente). Una variedad de mediadores presentan comportamiento electroquímico adecuado. Un mediador también puede preferentemente ser estable en su forma oxidada, puede opcionalmente presentar electroquímica de oxidorreducción reversible, puede preferentemente presentar buena solubilidad en soluciones acuosas, y preferentemente reacciona rápidamente para producir un producto de reacción electroactivo. Ejemplos de mediadores adecuados incluyen benzoquinona, azul de Meldola, otros complejos de metales de transición, ferricianuro de potasio, derivados de osmio (véase el documento WO 98/35225) y mediadores basados en nitrosoanalina (véase la patente de EE.UU. 5.286.362). En una realización preferida, la composición de reactivos utiliza una química basada en nitrosoanilina.

Mediadores preferidos incluyen N-(2-hidroxi-etil)-N'-*p*-nitrosofenil-piperazina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-*p*-nitrosoanilina, *o*-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxi-etil)]-*p*-nitrosoanilina, *p*-hidroxinitrosobenceno, N-metil-N'-(4-nitrosofenil)-piperazina, dioxima *p*-quinona, N,N-dimetil-*p*-nitrosoanilina, N,N-dietil-*p*-nitrosoanilina, N-(4-nitrosofenil)-morfolina, N-bencil-N-(5'-carboxipentil)-*p*-nitrosoanilina, N,N-dimetil-4-nitroso-1-naftilamina, N,N,3-trimetil-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-5-nitrosoindolina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-cloro-4-nitrosoanilina, 2,4-dimetoxi-nitrosobenceno, N,N-bis-(2-metoxietil)-4-nitrosoanilina, 3-metoxi-4-nitrosofenol, N-(2-hidroxi-etil)-6-nitroso-1,2,3,4-tetrahydroquinolina, N,N-dimetil-3-cloro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-fluoro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-metil-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(2-(2-metoxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(3-metoxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(3-(2-hidroxi-etoxi)-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(2-(2-hidroxi-etoxi)-etil)-4-nitrosoanilina. Mediadores particularmente preferidos según la presente invención incluyen N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-*p*-

## ES 2 681 398 T3

nitrosoanilina, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxietil)]-p-nitrosoanilina, y N-(2-hidroxietil)-N-(2-(2-hidroxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina.

Una composición de reactivos a modo de ejemplo se enumera a continuación en la Tabla I.

5

Tabla I

Componentes	Función	Cantidad abs.	% en sólidos p/p	Nota.
Keltrol F	Espesante	11,60 g	0,24 %	
Carboximetilcelulosa	Espesante	27,24 g	0,57 %	
Kieselsäure Sipernat 320 DS	Abridor de películas	97,01 g	2,01 %	
Polivinilpirrolidina PVP K25	Formador de películas	89,33 g	1,85 %	
Propiofan	Formador de películas	257,09	5,34 %	
GlucDOR	Apo-enzima	19,127 g	0,40 %	0,673 MU/g
pirrolo-quinolina quinina (PQQ)	Cofactor	0,5329 g	0,01 %	
Succinato de Na	Estabilizador	23,23 g	0,48 %	
Trehalosa	Estabilizador	23,6 g	40,49 %	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Tampón	12,02 g	0,39 %	
K <sub>2</sub> BPO <sub>4</sub> x 3 H <sub>2</sub> O	Tampón	43,43 g	0,90 %	
Nitrosoanilina	Mediador	41,26 g	0,86 %	
Mega 8	Detergente	13,23 g	0,27 %	
Geropon T77	Detergente	1,405 g	0,03 %	
KOH 5 N	Tampón de ajuste	36,47 g	0,76 %	
Agua total		4114,52 g		
Suma		4817,80 g		
Sólidos			14,6 %	

Mezcla.

- 10 Los componentes de la composición de reactivos se mezclan con agua para proporcionar una suspensión viscosa homogénea. El orden de adición no es crítico para la invención. Se añade una cantidad suficiente de la solución de tampón para mantener la composición de reactivos a un pH de aproximadamente 7. Normalmente, los componentes seleccionados se premezclan con agua para proporcionar una variedad de soluciones madre que pueden combinarse para dar la composición de reactivos final. Por ejemplo, se puede preparar una solución de tampón
- 15 combinando las sales de fosfato y, opcionalmente, el succinato de sodio. Otras soluciones madre incluyen: los espesantes, es decir, Keltrol F y la carboximetilcelulosa; los tensioactivos, es decir, Geropon T77 y Mega 8; la enzima y coenzima o cofactor; y el mediador.

- 20 Lo siguiente proporciona un ejemplo de la preparación de una composición de reactivos. La composición de reactivos se puede preparar preparando primero las siguientes soluciones madre:

Solución de tampón pH 6,9 a 7,1

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	1214,62
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	18,27
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	43,43
Succinato de Na	23,23

Solución de Keltrol F

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	287,06
Solución de tampón	101,35
Keltrol F	11,60

25

Solución de carboximetilcelulosa (CMC)

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	1334,76
CMC de Na <sup>1</sup>	27,24

<sup>1</sup>. CMC de Na es una sal de sodio de carboximetilcelulosa comercializada por Hercules Inc., Aqualon Division

Suspensión de sílice

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	722,99
Sipernat 320 <sup>1</sup>	
Kieselsäure Sipernat 320 DS (sílice) comercializada por Degussa AG.	

Solución de polivinilpirrolidona (PVP)

	Cantidad (g)
Solución de tampón	226,03
Mega 8 <sup>1</sup>	13,23
Geropon T77 <sup>2</sup>	1,405
PVP <sup>3</sup>	89,33

1. Mega 8 es n-octanoil-N-metilglucamida comercializada por Dojindo Molecular Technologies Inc.  
 2. Geropon T77 es la sal de sodio de taurato de N-metiloleilo comercializada por Rhodia HPCII.  
 3. PVP es Polyvinylpyrrolidone K25 comercializada por BASF.

Solución de trehalosa<sup>1</sup>

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	36,4
Trehalosa	23,6

Esta solución de trehalosa se usa solo en preparar la "Solución de enzima" enumerada más adelante.

5

Solución de PQQ

	Cantidad (g)
Solución de tampón 1 <sup>a</sup> adición	101,59
PQQ	0,533
Solución de tampón 2 <sup>a</sup> adición	30,0

Solución de enzima

	Cantidad (g)
Solución de PQQ	132,12
Gluc-Dor (673 U/mg Ly)	19,13
Solución de trehalosa	58,75

Solución de mediador

	Cantidad (g)
Solución de tampón	782,27
Mediador	41,26
KOH 5 N	36,47

10

Se prepararon un día antes la solución de tampón, solución de Keltrol F, solución de CMC y la suspensión de sílice. Estas soluciones pueden entonces combinarse como se enumera a continuación para preparar la composición de reactivos.

15

Composición de reactivos final

Espesante I (solución de Keltrol F)	331,51 g
Espesante II (solución de CMC)	1262,9 g
Solución de PVP	315,05 g
Suspensión de sílice	762,3 g
Solución de propiofan	257,09 g
Solución de mediador	855,84 g
Solución de enzima	196,65 g
KOH 5 N	según se requiera para lograr el pH final de 6,9 a 7,1
Agua (destilada)	518,69 g

Para este reactivo antes del recubrimiento, el pH final fue 6,96 y no necesitó ajuste con solución de KOH 5 N. La viscosidad medida fue 111 mPas, que está en el intervalo correcto para el recubrimiento de 105 a 115 mPas.

20

Las FIG. 5 y 5A presentan un diagrama de flujo que ilustra un proceso 100 preferido para preparar una tira reactiva útil según la presente invención. El proceso 100 empieza en la línea de proceso central 101 en la etapa 102 con selección de un material de película para la capa de base o sustrato de base. En una realización preferida, la película se proporciona como un rollo continuo que tiene una anchura y longitud adecuadas para fabricar un gran número de tiras reactivas. En las etapas de acabado posteriores, la película procesada se puede subdividir para proporcionar una única tira o banda que tiene una anchura que se aproxima a la longitud de la tira reactiva e incluye una serie de tiras reactivas, o se puede cortar de forma completa para proporcionar sensores de prueba individuales.

25

A partir de la etapa 102, la película avanza a la etapa 104 donde se pretrata para recibir un recubrimiento metálico y se recubre con el metal en un proceso continuo. El pretratamiento 164 (tratado más adelante) se puede usar para limpiar o modificar la superficie para proporcionar un espesor de recubrimiento uniforme y mejor adhesión de la capa metalizada posterior 166 (tratado más adelante). El pretratamiento puede incluir someter la película a descarga

30

corona o plasma de argón. Inmediatamente después de este pretratamiento, se aplica un recubrimiento conductor uniforme a la película como se muestra en 106. Alternativamente, se pueden obtener comercialmente sustratos adecuados con recubrimientos metálicos.

5 La capa metálica puede contener metales puros, óxidos, aleaciones, u otros materiales, que son conductores metálicos. Ejemplos de metales o conductores de tipo metálico incluyen: aluminio, carbono (tal como grafito), cobalto, cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (como una amalgama), níquel, niobio, osmio, paladio, platino, renio, rodio, selenio, silicio (tal como silicio policristalino altamente dopado), plata, tántalo, estaño, titanio, tungsteno, uranio, vanadio, cinc, circonio, mezclas de los mismos, y aleaciones o soluciones sólidas de estos materiales. Preferentemente, los materiales están seleccionados para ser esencialmente no reactivos con los sistemas biológicos; tales materiales incluyen: oro, platino, paladio, iridio, o aleaciones de estos metales. La capa metálica puede ser de cualquier espesor deseado.

15 El recubrimiento conductor es preferentemente una capa de metal que se aplica mediante una variedad de métodos, que incluyen, pero no se limitan a, pulverización iónica, deposición física de vapor (PVD), deposición de vapor asistida por plasma (PAVD), deposición química de vapor (CVD), deposición física de vapor por haz de electrones (EBPVD) y/o deposición química de vapor por organometálicos (MOCVD). La deposición de vapor normalmente se realiza a vacío. Estas técnicas son muy conocidas en la técnica y se pueden usar para proporcionar selectivamente un recubrimiento uniformemente delgado de metal sobre un sustrato. Se puede inspeccionar la película metalizada resultante garantizar que el recubrimiento metálico es uniforme y está libre de defectos de material.

20 El rollo de película metalizada se encuentra a continuación con la etapa 108 donde se subdivide y/o dimensiona para proporcionar bandas que tienen una anchura que se aproxima a la longitud final de una tira reactiva individual. El corte se puede llevar a cabo usando equipo de corte de cuchilla fija muy conocido en la técnica.

25 Una única banda avanza a la etapa 110 para estampar los electrodos, pistas, y contactos o almohadillas. En esta etapa, los electrodos, pistas y almohadillas de contacto se forman retirando metal de la superficie de la tira de banda. El exceso de metal se puede retirar usando una variedad de técnicas muy conocidas en la técnica. En esta etapa, se puede formar una o más marcas de indexado o de registro ya sea sobre un primer borde próximo a los electrodos, el segundo borde opuesto próximo a la almohadilla de electrodos, sobre ambos bordes, o en cualquier parte entremedias. Se pueden usar marcas de indexado, particularmente aquellas en un borde, en operaciones posteriores para alinear los componentes en capas prefabricadas en operaciones separadas.

30 En un método preferido, el metal es ablacionado por láser para eliminar porciones no deseadas del metal y dejar los componentes eléctricos deseados. Según este método, se graban áreas seleccionadas con láser simultáneamente, en un "campo amplio", a diferencia de usando movimiento lineal de un haz de láser enfocado. Este método de ablación láser de campo amplio proporciona un patrón de metal preciso rápidamente y a coste reducido en comparación con otros enfoques. Entonces se realiza el tratamiento corona del sustrato estampado en la etapa 111.

35 La banda estampada continúa a la etapa 112, donde se deposita una capa de reactivo sobre los electrodos. En una realización preferida, la capa de reactivo se deposita como una tira alargada continua que se extiende adyacente o próxima al primer borde, y que cubre los electrodos de medida formados sobre la banda estampada. Como se indicó previamente, el reactivo está dispuesto, por consiguiente, a través de toda la anchura de la tira reactiva, que incluye el área lateralmente fuera de la cámara de recepción de muestra y entre el sustrato de base y la capa espaciadora. También como se indica, esto facilitará el secado del reactivo sin discontinuidades, efectos de borde, u otras divergencias que dejarían de proporcionar una capa de reactivo uniforme plana delgada dentro de la cámara de recepción de muestra. El reactivo incluye una combinación de componentes, y se formula para secarse rápidamente con chorreo mínimo o ninguno después de la deposición, normalmente manipulando la tixotropía de la película de reactivo recubierta.

40 Esta tira se puede aplicar en cualquier modo adecuado que proporcione el grado y uniformidad deseados de espesor, precisión del borde de tira, homogeneidad, y similares. Métodos preferidos son capaces de aplicar el recubrimiento deseado a velocidad relativamente alta y alto tamaño de lote. Métodos adecuados de aplicación son muy conocidos en la técnica y, por tanto, no se detallan en el presente documento.

45 Preparación de la capa espaciadora

50 Refiriéndose a continuación a la línea de proceso 114, se ilustra un flujo de proceso para preparar la capa espaciadora. Empezando en la etapa 116, se selecciona un material para preparar una capa espaciadora para laminar sobre ella la banda recubierta de reactivo preparada en la etapa 112. La película base para el sustrato se puede seleccionar de una variedad de materiales. El material de la capa espaciadora, similar a la capa de base, se puede proporcionar como un rollo alargado que puede ser convenientemente procesado rápidamente y con alta eficiencia. Materiales preferidos incluyen una película de poliéster comercializada con el nombre comercial MELINEX® por DuPont. Otros materiales adecuados para su uso en la presente invención podrían incluir PEN. El material de la capa espaciadora tiene un espesor específicamente seleccionado que proporciona una profundidad de cámara deseada (o altura) en cada una de las tiras reactivas cuando se combina con los espesores de cualquier

capa de unión que se usan para laminar el espaciador con los otros componentes de la tira. En realizaciones preferidas, la capa espaciadora se selecciona para tener un espesor entre aproximadamente 75 µm y aproximadamente 150 µm, más preferentemente de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 125 µm. Como se observa anteriormente, la capa espaciadora se puede formar de un adhesivo de doble cara.

La capa espaciadora se forma preferentemente como una película continua que tiene una serie de huecos que se alinearán con los electrodos sobre la malla de sustrato inferior. El modo de unir la capa espaciadora y el sustrato inferior afectará el método de preparación de la capa espaciadora. Por ejemplo, si la capa espaciadora se va a soldar por calor al sustrato inferior, entonces la capa espaciadora se puede cortar completamente simplemente para proporcionar los huecos de la cámara apropiadamente separados. Sin embargo, un método preferido es el uso de adhesivos no interferentes delgados que unen las capas adyacentes. Según este método preferido, se prepara una capa espaciadora para combinación con la malla de sustrato previamente descrita como se expone después.

Se prepara la película de la capa espaciadora que tiene la anchura deseada para combinación con el resto de los componentes de la tira reactiva. La película de la capa espaciadora puede incluir una porción opaca, por ejemplo, una sección 23 de ella está impresa en azul u otro color para su uso en visualizar la cámara de recepción de muestra, como se describe en cualquier parte. La película de la capa espaciadora se lamina sobre el lado inferior con un adhesivo de combinación y lámina desprendible, y en el lado superior con un adhesivo de combinación similar y lámina.

En la etapa 118, se laminan dos adhesivos de transferencia con el material de capa espaciadora: el primer adhesivo de transferencia se lamina con la superficie superior de la capa espaciadora, y el segundo adhesivo de transferencia se lamina con la superficie inferior de la capa espaciadora. Preferentemente, los adhesivos de transferencia son el mismo adhesivo; sin embargo, en realizaciones alternativas, el primer y segundo adhesivos de transferencia pueden ser diferentes entre sí. En realizaciones preferidas, los adhesivos de transferencia se seleccionan de adhesivos comúnmente usados y conocidos, que incluyen adhesivos sensibles a la presión. Los adhesivos preferidos presentan hidrofobia suficiente para prevenir o inhibir que la muestra de prueba en la cámara suba entre la capa espaciadora y la capa de reactivo o sustrato de base. Un ejemplo de un adhesivo sensible adecuado es ARCare 90132 de Adhesives Research Inc. Los adhesivos se proporcionan con una lámina desprendible para prevenir la adhesión prematura de la capa espaciadora durante el procesamiento. Las láminas desprendibles están dispuestas sobre la superficie exterior del primer y segundo adhesivos de transferencia, con orientación hacia afuera del material de capa espaciadora.

La capa espaciadora con las láminas desprendibles del adhesivo en las superficies superior e inferior avanza a la etapa 120. En la etapa 120, la cavidad que formará la cámara de recepción de muestra se perfora en la capa espaciadora. En una realización, la cavidad se perfora usando un método de "medio corte". El método de medio corte corta a través de la lámina desprendible superior, el adhesivo superior, la capa espaciadora y el adhesivo inferior, pero no a través de la lámina desprendible inferior. En operaciones posteriores, el retirar simplemente la lámina desprendible inferior retirará entonces las porciones perforadas del adhesivo inferior, la capa espaciadora, el adhesivo superior y la lámina desprendible superior de la capa espaciadora perforada. En otras realizaciones, la cavidad se puede perforar con un molde hueco. El molde hueco perfora completamente o corta a través la capa espaciadora, los dos adhesivos y las dos láminas desprendibles, retirándose posteriormente la porción perforada en el molde hueco. Se determina y controla con exactitud la separación o paso entre cada cavidad para permitir la precisa correspondencia de la capa espaciadora perforada sobre los electrodos usando una o ambas de las marcas de indexado estampadas en la banda recubierta con reactivo.

En la etapa 122, se retira la lámina desprendible inferior sobre la capa espaciadora, llevándose consigo las porciones de medio corte y exponiendo el adhesivo sobre la superficie inferior de la capa espaciadora. Avanzando a la etapa 124 en la línea de proceso 101, la capa espaciadora se lamina sobre la banda recubierta de reactivo usando una o más de las marcas de indexado previamente estampadas sobre la banda para alinear correctamente cada cavidad formada en la capa espaciadora perforada directamente sobre ella de un conjunto de electrodos para proporcionar un laminado de banda-capa espaciadora. En la etapa 126 en la línea de proceso central 101, se retira la lámina desprendible superior que cubre el adhesivo superior sobre el laminado de banda-capa espaciadora en preparación para unir la capa de cubierta.

Laminación sobre las porciones de cubierta

En la etapa 128, se introduce un material para una cubierta de cuerpo en el proceso. En ejemplos preferidos, el material es un material polimérico flexible y se puede seleccionar, por ejemplo, MELINEX 454 o MELINEX 339 de du Pont. El material para la cubierta de cuerpo se dimensiona para tener una anchura suficiente para solapar al menos una porción de las pistas de electrodos en la cámara de recepción de muestra de la tira reactiva.

Refiriéndose a continuación a la línea de proceso 130, que empieza en la etapa 131, se selecciona un material de película que proporciona una cubierta de cámara sobre la cavidad, reactivo y electrodos de medida en el laminado de banda-capa espaciadora. En realizaciones preferidas, el material de cubierta de cuerpo se proporciona como una película clara de poli(tereftalato de etileno) (PET) o poli(naftalato de etileno) (PEN) que tiene un espesor entre

aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ . El recubrimiento puede incluir preferentemente una lámina desprendible, que puede retirarse inmediatamente antes de laminar sobre la banda-capa espaciadora. La cubierta de cámara está preferentemente hecha de un material hidrófilo o la superficie inferior de la cubierta de cámara se puede tratar o recubrir para hacerla hidrófila como se indica en 134.

5 En la etapa 138, el material de película se puede dimensionar a una anchura deseada suficiente para formar la cubierta de cámara que cubre la cavidad y electrodos.

10 Avanzando a la etapa 140, la cubierta de cuerpo de la etapa 128 y la cubierta de cámara de la etapa 138 se laminan con el laminado de banda-capa espaciadora. En realizaciones preferidas, la cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara se laminan simultáneamente con el laminado de banda-capa espaciadora. La cubierta de cuerpo se dispone sobre una porción de las pistas de electrodos próxima a los electrodos formados sobre el sustrato de base. La cubierta de cámara se dispone sobre la cavidad, reactivo y electrodos de medida sobre el laminado de banda-capa espaciadora. La cubierta de cuerpo y la cubierta de cámara se separan por un hueco para formar una ventilación 34 en el extremo interior de la cavidad formada en la tira reactiva.

15 Como se ha descrito, la cubierta de cámara se dispone cerca del borde de la tira para cubrir la porción cortada de la capa espaciadora, dejando la porción más interna del corte sin cubrir. Como acaba de describirse, está cubierta de cámara incluye preferentemente una parte inferior hidrófila para promover el ascenso de líquido a la cámara de reactivo. La cubierta de cámara está ligeramente separada de la cubierta de cuerpo para formar un hueco que así comunica con la cámara de recepción de muestra y sirve de orificio de ventilación para que el aire escape a medida que el líquido entra en la cámara, como se ha descrito anteriormente.

20 La opacidad de la capa espaciadora y la transparencia de la cubierta de cámara cooperan para permitir que un usuario de la tira reactiva final vea mejor el progreso de una prueba. Como está construido, el sustrato inferior o la capa de reactivo recubierta sobre él es visible a través del corte en la capa espaciadora y a través de la cubierta de cámara transparente. El sustrato inferior y/o reactivo tienen un color claro, por ejemplo, amarillo brillante, que contrasta con la coloración opaca de la capa espaciadora. Por tanto, se puede monitorizar fácilmente el progreso de un líquido a través del canal capilar por la persona que usa la prueba. Además, puesto que la ranura 34 está configurada para ser hidrófoba sobre el lado de la cubierta de cuerpo e hidrófila sobre el lado de la cubierta de cámara, el líquido se detendrá bruscamente cuando llegue a la ranura, presentando así una línea de llenado claramente definida que a su vez proporciona una clara indicación al usuario de que se ha recibido suficiente muestra de líquido en la cámara.

25 30 Separación de las tiras reactivas

A partir de la etapa 140, se realizan las etapas de procesamiento de acabado para la fabricación de tiras reactivas. En la etapa 141, se hace un corte de perfil a través del extremo de la banda de tiras reactivas 10. Normalmente, el corte de perfil se hace en dos etapas. Primera, la banda se corta por una cuchilla de corte que se mueve a través de la banda, formando así un borde recto; entonces, la banda se corta completamente para producir la forma perfilada deseada (un estrechamiento para la realización ilustrada) del extremo de dosificación 36 de las tiras reactivas.

En la etapa 142, se imprime cualquier gráfica o logotipo sobre las tiras reactivas 10.

40 45 En la etapa 143, se toma la decisión de si fabricar o no una única tira reactiva individual por corte completo similar a la única tira reactiva 10 anteriormente tratada. Si es así, entonces el laminado multi-capa de la etapa 143 avanza a la etapa 144 para ser cortada completamente en tiras reactivas únicas.

50 Alternativamente, el laminado multi-capa de la etapa 143 avanza a la etapa 148, donde se corta por medio corte para definir tiras reactivas individuales y para perforar o debilitar los límites entre tiras reactivas adyacentes sobre la cinta. Además, en la etapa 149, los extremos de las tiras reactivas se cortan completamente a lo largo de la cinta laminada. Se corta un extremo de la banda para formar el extremo de recepción de líquido del sensor de prueba con un orificio en forma de Y que conduce dentro de la cavidad. Las tiras reactivas se pueden dividir en tarjetas que comprenden un número, por ejemplo, 25, de tiras que solo se cortan por alambre y luego se pliegan para ser apiladas en un vial o dispensador.

55 Continuando con cualquiera de la etapa 144 o 149, se inspeccionan las tiras procesadas o cinta de tiras y finalmente se envasan para su uso por el consumidor en la etapa 146 o 150, respectivamente.

60 Las FIG. 6-16 ilustran con mayor detalle algunos de los componentes y/o etapas de proceso previamente descritos con respecto a las FIG. 5 y 5A. La FIG. 6 ilustra una vista en perspectiva de una realización de una película de base para su uso en formar la tira reactiva. La película base 160 se proporciona preferentemente como una película o material de banda flexible que está enrollada en uno o más rollos 162, continuando los procesos 164, 166 en el material entre los rollos.

65

La superficie superior pretratada de la película se metaliza usando una pulverización iónica, PVD, CVD, EBPVD, MOCVD u otro proceso adecuado, ilustrado por el número de referencia 166 y descrito más completamente anteriormente, que deposita un recubrimiento uniforme de un metal o aleación de metal. Los procesos pueden usar una única fuente diana o múltiples para la capa metálica. Entonces, la película metalizada 168 se puede seccionar o subdividir en una pluralidad de películas metalizadas, por ejemplo, 170a, 170b y 170c, cortando o haciendo rebanadas la película como se ilustra por el número de referencia 172. Entonces, cada rollo separado de la película metalizada conductora 170 se puede enrollar en un único núcleo o en una pluralidad de núcleos diferentes según se desee preferentemente.

Se forman los componentes eléctricos a partir de la película conductora, como se muestra en una realización en la FIG. 7. Se trata la superficie metálica de la película 170 para eliminar cualquier componente metálico que no se desee que forme los electrodos, pistas, almohadillas de contacto, u otras características previstas. Este proceso se puede controlar con precisión usando ablación láser u otra tecnología. El proceso proporciona una pluralidad de conjuntos de electrodos 182, pistas 184 y almohadillas de contacto 186. El proceso también puede proporcionar una pluralidad de marcas de indexado o registro 176 a lo largo de un primer borde 178 y/o marcas de registro similares 177 a lo largo del borde opuesto 180. Como se muestra en la FIG. 7, las características repetitivas del patrón de electrodo forman las marcas de registro 177. Preferentemente, cada conjunto de electrodos y/o contactos está asociado a al menos una marca de indexado o registro, 176 y 177, respectivamente.

La FIG. 8 ilustra una porción de una banda recubierta de reactivo 188. La composición de reactivos se deposita sobre la superficie del material de banda flexible. La capa de reactivo 190 se deposita usando una variedad de métodos de recubrimiento que incluyen recubrimiento con cortina, recubrimiento termofusible, recubrimiento en tamiz rotativo, recubrimiento con raqueta o recubrimiento con cuchilla de aire, recubrimiento con barra de Mayer y técnicas de recubrimiento con rodillos invertidos. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la banda flexible como una composición húmeda a un espesor de entre aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , más preferentemente entre aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 90  $\mu\text{m}$ . La banda 188 se puede proporcionar recubriendo una capa de reactivo uniformemente delgada 190 directamente sobre ella de los conjuntos de electrodos 182 y a lo largo de la longitud de la banda 188 como banda estrecha continua 192. En realizaciones preferidas, la banda estrecha 192 tiene una anchura de entre aproximadamente 5 mm y 9 mm y un espesor seco de entre aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . Como se representa en la FIG. 8, la capa de reactivo 190 es translúcida.

La FIG. 9 es una vista en despiece ordenado de un ensamblaje de capa espaciadora 194, que se puede ensamblar según la presente invención. El ensamblaje de capa espaciadora 194 comprende una capa espaciadora 196 preferentemente formada de un material polimérico. La capa espaciadora 196 incluye una banda o sección 197 que está coloreada (correspondiente a la sección 23, FIG. 2). En el proceso de fabricación, la capa espaciadora 196 se proporciona en un rollo 198 y entonces se recubre con adhesivos por encima y por debajo.

El adhesivo superior se proporciona en un rollo 200 que comprende además una lámina desprendible superior o "apretada" 202, que está adaptada para resistir al procesamiento adicional, un adhesivo 204, y una lámina desprendible inferior o "fácil" 206. Adhesivos 204 preferidos para su uso en la presente invención incluyen un adhesivo sensible a la presión comercializado con el nombre comercial ARCare 90132 por Adhesives Research Inc. Durante el ensamblaje, se retira la lámina desprendible inferior 206 y el adhesivo resultante 208 que tiene la lámina desprendible superior 202 todavía presente se adhiere a la capa espaciadora 196 como se indica en la parte superior de la FIG. 9.

Similarmente, el adhesivo inferior se proporciona en un rollo 210 que comprende además una lámina desprendible superior o "apretada" 212, que está adaptada para resistir al procesamiento adicional, un adhesivo 214, y una lámina desprendible inferior o "fácil" 216. Adhesivos 214 preferidos para su uso en la presente invención incluyen un adhesivo sensible a la presión comercializado con el nombre comercial ARCare 90132 por Adhesives Research Inc. Durante el ensamblaje, se retira la lámina desprendible inferior 216 y el adhesivo resultante 218 que tiene su lámina desprendible superior 212 orientada lejos de la capa espaciadora 196 se adhiere a la capa espaciadora 196 como se indica en la FIG. 9. Se debe entender que el adhesivo 204 puede ser igual o diferente del adhesivo 214.

La FIG. 10 ilustra la capa espaciadora 196 que se ha cortado completamente para formar pre-capilares 220a, 220b, 220c, etc., y está lista para ser laminada con una banda de material de sustrato de base 188 como se describe con referencia a la FIG. 8. Se pueden formar pre-capilares 220 usando una técnica de "medio corte" en la que un molde corta a través la lámina desprendible superior 202, el adhesivo 204, la capa espaciadora 196 y el adhesivo 214, pero no la lámina desprendible 212, que, como se observa anteriormente, está orientada en la dirección opuesta de la capa espaciadora 196. Entonces se retira la lámina desprendible 212 junto con porciones de la lámina desprendible superior 202, el adhesivo 204, la capa espaciadora 196 y el adhesivo 214 que se habían cortado a través. Estas porciones que se cortan a través comprenden "corte de capilar", es decir, un sándwich de capas formadas como pre-capilares 220. Este "corte" se retira junto con la lámina desprendible 212, dejando las cavidades 220 que carecen de cualquier material. A medida que se retira la lámina desprendible 212, se puede inspeccionar para garantizar que siempre contenga el corte de capilar que se acaba de describir. Las series resultantes de cavidades 220 están separadas entre sí una distancia deseada seleccionada para disponer cada uno de los canales de las series de

canales 220 directamente sobre un conjunto de electrodos de medida en la tira reactiva. La capa espaciadora 196 que tiene su adhesivo inferior expuesto se puede entonces alinear con la banda 188 por medio de marcas de indexado 176 y laminar con ella. Cada canal capilar de las series de canales 220 cubre un conjunto de electrodos de medida 182.

5 La FIG. 11 ilustra un ensamblaje 230 formado por la laminación de la capa espaciadora 196 con la banda 188. En la FIG. 11, la lámina desprendible superior 202 se ha retirado del adhesivo superior 208, que hace que el ensamblaje 230 esté listo para ensamblaje de material adicional con el mismo. Como se muestra en la FIG. 12, una banda 240 de material de capa de cubierta de cuerpo y una banda 234 de material de cubierta de cuerpo están alineadas sobre el adhesivo superior expuesto 208 de ensamblaje 230 y están listas para ser adheridas al mismo. Como se representa en la FIG. 12, la capa de cubierta de cámara 240 es transparente e incluye un recubrimiento hidrófilo (véase el recubrimiento 21, FIG. 2) sobre al menos el lado que se orienta a las cavidades 220. Esto facilita la ascensión o transporte de la muestra de líquido dentro de la cámara de recepción de muestra y sobre los electrodos y la capa de reactivo. La cubierta de cuerpo 234 es opaca, está coloreada como se muestra, y es preferentemente hidrófoba. La capa de cubierta 240 y la cubierta de cuerpo 234 se pueden proporcionar sobre carretes como aquellos descritos anteriormente con referencia a la FIG. 9.

20 Preferentemente, el material de cubierta de la cámara 240 es ligeramente más delgado que el material de cubierta de cuerpo 234. Después de que el material de cubierta de la cámara 240 y el material de cubierta de cuerpo 234 se laminan con las otras capas (descritas más adelante), el ensamblaje se rebobina en espera de las etapas de procesamiento final. Si material de cubierta de cuerpo 234 es más delgado que el material de cubierta de la cámara 240, entonces el material de cubierta de cuerpo 234 absorberá más de la presión o fuerza conferida a la banda a medida que se rebobina y guarda. Así, si algo de adhesivo sale por compresión de la banda a medida que se rebobina, el adhesivo sale por compresión alrededor del material de cubierta de cuerpo 234 y no el material de cubierta de la cámara 240. Ventajosamente, la cubierta de cámara más delgada reduce así la posibilidad de que el adhesivo salga por compresión desde abajo durante el procesamiento del rollo y que entre en la zona capilar donde podría degradarse o destruir las tiras reactivas finalmente producidas. Además, cuando el ensamblaje 260 (tratado más adelante) se vuelve a enrollar sobre un núcleo, la presión ejercida sobre el material de cubierta de la cámara 240 es inferior a la ejercida sobre el material de cubierta de cuerpo 234 que minimiza la posibilidad de daño durante el procesamiento a la cámara capilar.

30 El ensamblaje 260 mostrado en la FIG. 13 se produce laminando las bandas 234 y 240 con el ensamblaje 230 mostrado en la FIG. 12 y entonces cortando el extremo de la banda para formar el borde de dosificación 250. El borde de dosificación 250 se forma preferentemente por un corte por cizallamiento en el que la cuchilla de corte se mueve a través del extremo de la banda como se indica por la flecha 252. Por el contrario, es más difícil usar una técnica de punzonado sin dañar los capilares. El corte por cizallamiento a lo largo del borde de dosificación 250 también corta una porción de los pre-capilares 220 y define el volumen final de los capilares 222. Los capilares 222 incluyen preferentemente un orificio ensanchado o en forma de Y como se muestra. Preferentemente, se forma un hueco 262 entre la banda de cubierta de cámara y la banda de cubierta de cuerpo y este hueco proporcionará finalmente un orificio de ventilación en las tiras reactivas individuales. En realizaciones preferidas, el hueco tiene una anchura de entre 1,0 mm y aproximadamente 1,6 mm. Como se observa anteriormente, sin embargo, el hueco se podría sustituir usando una capa de cubierta unitaria que tiene una muesca formada sobre su parte inferior (FIG. 1B) o teniendo el solapamiento de cubierta de cámara la cubierta de cuerpo o viceversa. (FIG. 1C).

45 Con referencia adicional a las FIG. 13, el ensamblaje 260 está listo para procesamiento adicional como se indica por las líneas discontinuas 262 y 264. En la FIG. 14 se muestra la tira de medio corte 276 que tiene una pluralidad de tiras reactivas individuales, por ejemplo, 278a, 278b, y 278c, conectadas juntas de forma desprendible. Puede observarse que la tira de medio corte 276 se ha recortado o cortado en su extremo superior a lo largo de las líneas 262 en la FIG. 13 para tener un perfil y/o configuración adecuados para facilitar la absorción de una muestra de líquido muy pequeña en cada una de las series de canales capilares 222. En la realización ilustrada, la tira de medio corte 276 tiene un extremo de trabajo plano 280 que expone el extremo de los conjuntos de los canales capilares cortados en Y 222. Se puede proporcionar la configuración resultante del segundo borde 282 para facilitar la inserción de una única tira en un medidor (no mostrado). Por ejemplo, el segundo borde 282 puede tener una marca de registro y/o lengüetas, ranuras de corte, u otras configuraciones diseñadas para permitir la inserción de una única tira en el medidor en solo una dirección. Por ejemplo, con referencia a la FIG. 13, los bordes 177 de las almohadillas de contacto 288 se separan un paso constante, "P" como se muestra, y, por tanto, se pueden usar los bordes 177 como marcas de registro. Como en otras etapas de procesamiento, las marcas de indexado o registro 176 y 177 en cualquiera del primer borde y/o el segundo borde se pueden usar para realizar "medio corte" con exactitud y cortar las tiras reactivas individuales de la estructura laminada 260.

60 La FIG. 15 es una vista en perspectiva de una realización de una tira reactiva punzonada 290 formada cortando a través de las líneas discontinuas 264 mostradas en las FIG. 13 y 14. La tira 290 ilustrada en la FIG. 15 se ha descrito sustancialmente anteriormente como la tira reactiva 10. La tira 290 se proporciona como una tira reactiva individual separada de cualquier otra tira reactiva.

65

Porción ensanchada de la cámara de recepción de muestra

Como se ha descrito anteriormente y con más detalle en esta sección, realizaciones que incorporan la invención citada en las reivindicaciones adjuntas incluyen una cámara de recepción de muestra que tiene una porción ensanchada que termina en un orificio de recepción de muestra. Como sería apreciado, la acción capilar que aspira líquido de muestra en la cámara de recepción de muestra de tamaño de capilar es el resultado de la adhesión del líquido a las paredes del canal capilar, además de la tensión superficial del líquido que va a muestrearse. La adhesión del líquido a las paredes del canal capilar da lugar a una fuerza que actúa sobre el líquido en sus bordes y da lugar a un menisco. La tensión superficial, o cohesión de las moléculas de líquido del líquido, actúa para mantener la superficie intacta, de manera que en lugar de moverse los bordes hacia el interior en el capilar, toda la muestra de líquido se arrastra dentro del capilar. La acción capilar se ocurre cuando la adhesión a las paredes del canal capilar es más fuerte que las fuerzas cohesivas entre las moléculas de líquido en el líquido corporal muestreado.

En un tubo capilar uniforme, la altura a la que la acción capilar será capaz de levantar el líquido depende de la tensión superficial del líquido y el peso del líquido. Reduciendo el tamaño del capilar, aumento la relación de adhesión del líquido a la superficie del capilar con respecto al peso o masa de líquido que se va a aspirar dentro del capilar, aumentando así la fuerza neta que arrastra el fluid dentro del capilar. Por consiguiente, capilares que son más pequeños en tamaño son capaces de aspirar líquido más rápidamente y a un mayor grado en comparación con capilares más grandes. Así, los canales capilares normalmente son muy pequeños y siéndose están diseñando continuamente más pequeños para reducir la cantidad de muestra que se necesita probar.

Sin embargo, cuanto más pequeña sea la anchura de entrada del capilar, más difícil llegará a ser aplicar con exactitud (o "dirigir") un volumen de 0,05  $\mu$ l o 1  $\mu$ l de muestra al capilar de la tira reactiva. En las realizaciones descritas más adelante, los canales capilares son ensanchados o "en forma de Y"; es decir, se estrechan en una dirección hacia el interior del orificio de recepción de muestra. Ventajosamente, debido a que el canal capilar se estrecha más allá del orificio o entrada, las elevadas fuerzas proporcionadas por la parte estrecha y alargada del canal aspirarán líquido de la porción ensanchada, que también se puede denominar y considerar como una "pre-cámara." Además, esta pre-cámara actúa de "depósito" virtual que minimiza la dosis insuficiente y minimiza la cantidad de muestra que se debe suministrar a la tira.

Se conoce como retardo de dosis un fenómeno en el que una muestra se aplica al orificio de una tira reactiva pero se retarda en ser aspirada dentro del capilar. Como se debe apreciar, este retardo de dosis aumenta el tiempo requerido con el fin de recoger una muestra adecuada. Extendiendo la capa de reactivo hidrófilo al extremo de dosificación de la tira reactiva y recubriendo la parte inferior de la cubierta de cámara con un reactivo hidrófilo, se reduce el retardo de dosis y se promueve el buen ascenso de la muestra de líquido dentro del capilar. El reducir el retardo de dosis reduce a su vez los tiempos de recogida de líquidos y facilita la recogida de líquidos.

Los canales capilares en las realizaciones ilustradas en las FIGS. 16-19 están ensanchados o en "forma de Y". La porción ensanchada proporciona un área diana más ancha para depositar una muestra de líquido sobre la tira reactiva. Además, el extremo de dosificación 36 de una tira reactiva o biosensor es cónico para formar un perfil de forma trapezoidal en el que un borde de dosificación 39 (FIG. 1) de la tira reactiva es más estrecho que la anchura del resto de la tira reactiva. El extremo cónico reduce la longitud del borde que se desecha, es decir, la porción del borde con la que el líquido de muestra se puede poner en contacto, pero no entra en la cámara de recepción de muestra. Además, el orificio en forma de Y aumenta el área diana para la muestra de líquido. La combinación de este extremo cónico y la porción ensanchada produce un efecto sinérgico, ya que proporciona una tira reactiva que aspirará líquido de muestra dentro de la cámara de recepción de muestra sin importar dónde la muestra haga contacto a lo largo del borde de dosificación 39. Esto reduce enormemente las probabilidades de error del usuario en la dosificación de la tira. Además, no es necesario cubrir todo el orificio con líquido de muestra. Esta característica facilita enormemente el uso de pequeños volúmenes de líquido.

Volviendo a continuación a la FIG. 16A, se muestra una tira reactiva o biosensor 300, que es sustancialmente idéntico al biosensor 10 ilustrado anteriormente en este documento. La FIG. 16B ilustra una porción de un precursor o banda 302, que se corresponde con la estructura mostrada en la FIG. 12 después de haberse laminado la cubierta de cámara 240 y la cubierta de cuerpo 234. Como se muestra en la FIG. 16B, la cubierta de cámara 304 es transparente y está separada de la cubierta de cuerpo 306. La cubierta de cámara 304 cubre la capa espaciadora, que se ha formado con una serie de vacíos 308. Los vacíos incluyen una porción alargada 310 y una porción bulbosa 312. La porción bulbosa pueden adoptar una variedad de formas y comprende una forma que determina finalmente la forma del orificio ensanchado, como se describe con más detalle más adelante. La capa de espaciado o espaciadora a partir de la que se forman los vacíos 308 en la FIG. 16B es similar a la mostrada en las FIG. 10-12, descritas anteriormente. Es decir, el vacío se extiende todo el camino hasta el borde de la capa espaciadora y, por tanto, define una periferia discontinua. En otras palabras, el vacío se extiende hasta el borde de la capa espaciadora.

Por el contrario, como se muestra en la FIG. 16C, se forma un conjunto alternativo de vacíos 314 que tienen periferias continuas en la capa espaciadora del precursor o banda 315. Los vacíos 314 comprenden una forma de

bombilla, que tienen porciones bulbosas 316 y porciones alargadas 318. En cualquier caso, el borde de dosificación de la tira reactiva se forma cortando a través del precursor a lo largo de la línea discontinua 320 (FIG. 16B) o línea discontinua 322 (FIG. 16C), formando así la estructura 260 mostrada en la FIG. 13. A medida que se hace el corte, preferentemente por cizallamiento a través de la banda en la dirección indicada en la FIG. 13, el corte se extiende o abarca la porción bulbosa del vacío. La disposición del corte (líneas 320 y 322) debe ser precisa con respecto a la dirección longitudinal o a lo largo de las tiras reactivas formadas finalmente en la banda, de forma que el volumen de los capilares de los biosensores completos sea coherente y esté dentro de una estrecha tolerancia. Por supuesto, la disposición errónea del borde de dosificación afecta más el volumen del capilar cuando el capilar o la cámara de recepción de muestra tenga una porción ensanchada que cuando tenga paredes paralelas. El cortar a lo largo de las líneas 320 y 322 no solo forma el extremo de dosificación de los biosensores, sino que también forma el orificio de recepción de muestras de las tiras reactivas, orificios que están alineados con los bordes de dosificación. También se debe apreciar que mientras que el borde de dosificación se muestra en las realizaciones ilustradas como formadas en el extremo de las tiras reactivas, también se podría disponer sobre un lado, por ejemplo.

Después de formar el borde de dosificación de la banda, la banda se puede cortar a lo largo de las líneas 324 para formar biosensores individuales o tiras reactivas 300. Como se muestra en la FIG. 16A, el biosensor 300 tiene un capilar o cámara de recepción de muestra que incluye una porción ensanchada 328 que termina en un orificio de recepción de muestra 330. Una porción alargada 332 se extiende hacia el interior desde la porción ensanchada. Como se muestra en las FIG. 16A-16C, la porción alargada está formada de paredes sustancialmente paralelas que se definen por el vacío en la capa espaciadora, mientras que las paredes de la porción ensanchada se inclinan hacia afuera o lateralmente a medida que la porción ensanchada se extiende fuera de la porción alargada. El capilar o cámara de recepción de muestra 326 comunica con el orificio de ventilación 334 que se forma como un hueco entre la cubierta de cámara 304 y la cubierta de cuerpo 306, como también se ha descrito en cualquier parte.

También se debe apreciar que, en realizaciones preferidas, el corte a lo largo de las líneas 320 y 322 de las FIG. 16B-C también corta a través la capa de reactivo (véanse las FIGS. 10-14), de forma que la capa de reactivo se extiende hasta y es coextensiva con el borde de dosificación de los biosensores, como se puede apreciar con respecto a la FIG. 2 tratada en cualquier parte en el presente documento. Puesto que el reactivo es hidrófilo, esto promueve ventajosamente el ascenso de la muestra dentro del biosensor y así disuade además el retardo de dosis. Además, el corte que forma el borde de dosificación también retira ventajosamente la porción más irregular de la capa de reactivo, dejando así atrás una capa de reactivo extremadamente plana y uniforme en la cámara de recepción de muestra.

A modo de ejemplo no limitante solo, la porción ensanchada 328 puede tener una longitud de aproximadamente 0,80 +/- 0,2 mm; una anchura en el orificio de recepción de muestra de aproximadamente 2,9 mm; y las paredes ensanchadas forman un ángulo de aproximadamente 110°. Otras dimensiones adecuadas para la cámara de recepción de muestra se enumeran anteriormente en este documento. Un experto en la materia debe apreciar fácilmente que las dimensiones que se acaban de indicar se dan simplemente como un ejemplo, y las dimensiones de un biosensor que se encuentra dentro de los límites de las reivindicaciones adjuntas podrían variar ampliamente de aquellas que se acaban de dar.

De hecho, son posibles muchas otras formas para la porción ensanchada. Por ejemplo, volviendo a continuación a las FIG. 17A-17C, el biosensor 350 es similar al biosensor 300 mostrado en la FIG. 16A, excepto que la porción ensanchada 352 de la cámara de recepción de muestra 354 tiene paredes curvas en vez de rectas. En la FIG. 17B, los vacíos 356 están formados en forma de cáliz, mientras que los huecos 358 en la FIG. 17C están formados como ojos de la cerradura. En cualquier caso, los cortes a lo largo de las líneas discontinuas 362 forman el borde de dosificación de las tiras que a su vez se formarán cortando a lo largo de las líneas 364.

Similarmente, volviendo a las FIGS. 18A-18C, el biosensor 400 es similar al biosensor 300 mostrado en la FIG. 16A, excepto que la porción ensanchada 402 de cámara de recepción de la muestra 404 tiene una forma de T. En la FIG. 18B, los huecos 406 están formados en forma de T, y los huecos 408 en la FIG. 18C también tienen forma de T, teniendo miembros de cruce más delgados de la "T". En cualquier caso, los cortes a lo largo de las líneas discontinuas 410 (FIG. 18B) y 412 (FIG. 18C) forman el borde de dosificación de las tiras que a su vez se formarán cortando a lo largo de las líneas 364.

Con referencia a la FIG. 1C, se puede formar una muesca 41 opcional en el extremo de dosificación de la tira reactiva 10. La muesca 41 puede ayudar a reducir el retardo de dosis y proporciona una sensación táctil al usuario de que un dedo u otro sitio alternativo está colocado correctamente con respecto al biosensor 10 cuando se deposita una muestra de sangre. La muesca está dispuesta centralmente con respecto al orificio de recepción de líquido y se forma cortando las porciones de corte 43 y 45 del mismo tamaño y forma en los bordes alineados de la capa de cubierta 16 y sustrato de base 12, respectivamente. Las porciones corte 43 y 45 se alinean entre sí como se muestra.

Las FIGS. 19A-19C ilustran diversas realizaciones alternativas de tiras reactivas o biosensores que tienen porciones ensanchadas y/o muescas que se pueden formar con la presente invención. En la FIG. 19A, se muestra un extremo de un biosensor 500 en el que el extremo de dosificación 502 comprende un borde plano o recto. La cámara de

recepción de muestra 504 incluye una porción ensanchada en forma de Y 506 que conduce hacia el interior sobre la tira a una porción alargada 508. Se puede cortar una muesca en forma de V 510 opcional a través de la capa de cubierta y sustrato de base. En la FIG. 19B, se muestra un extremo de un biosensor 512 en el que el extremo de dosificación 514 comprende un perfil curvo. La cámara de recepción de muestra 516 incluye una porción ensanchada de forma curva 518 que conduce hacia el interior sobre la tira a una porción alargada 520. Se puede cortar una muesca curva 522 opcional a través de la capa de cubierta y el sustrato de base. Finalmente, en la FIG. 19C, se muestra un extremo de un biosensor 524 en el que el extremo de dosificación 526 comprende un perfil cóncavo curvo. La cámara de recepción de muestra 528 incluye una porción ensanchada en forma de Y 530 que conduce hacia el interior sobre la tira a una porción alargada 532. Se puede cortar una muesca en forma de V 534 opcional a través de la capa de cubierta y sustrato de base.

#### Ejemplo

A modo de ejemplo específico, se forma una tira reactiva basándose en el método descrito y usando materiales del siguiente modo. El sustrato inferior se recubre en la superficie con una capa de oro de 50 nm, y se corta a anchuras de 43-45 mm. Se realiza ablación láser (308 nm) usando un tamaño de campo de aproximadamente 40 mm x 10 mm. El ensamblaje de capa espaciadora incluye una película de la capa espaciadora de Melinex™ 339 blanco, y un espesor de 0,1016 o 0,127 mm (4 o 5 milésimas de pulgada). Los adhesivos inferior y superior son un adhesivo Arcare 90132 de Adhesive Research a 0,0254 o 0,0127 mm (1 o ½ milésimas de pulgada), intercalado entre las láminas desprendibles que tienen un espesor de 0,0508 mm (2 milésimas de pulgada). Los canales capilares están formados con una anchura de 1,500 mm, +/- 0,050 mm, y un paso (espaciado) de 9 mm, +/- 0,150 mm.

La cubierta de cuerpo 18 comprende una tira de material Melinex 454, 453 o 339, 0,127 mm (5 milésimas de pulgada) de espesor. La cubierta de cámara 20 comprende un material de poliéster o poli(naftato de etileno) formado, por ejemplo, de Melinex 454 o 453, 0,1016 mm (4 milésimas de pulgada) de espesor. Como se indica, la cubierta de cámara se puede tratar o recubrir preferentemente para tener una parte inferior hidrófila adyacente al canal capilar para promover el ascenso del espécimen de sangre dentro del canal. En una realización preferida, se recubre una lámina de Melinex 453 (4 milésimas de pulgada) para la cubierta de cámara 20 sobre su parte inferior con un material hidrófilo 21, ARCare 90037 de Adhesives Research Inc. Preferentemente, el material de cubierta de la cámara se forma inicialmente como un material más ancho, y se corta a la anchura deseada después de la preparación.

#### Ejemplos de tira reactiva

Se usarán los siguientes materiales en la tira:

Capa de sustrato de base 12	Melinex 329 - 9 mil (0,229 mm) o 329 - 10 milésimas de pulgada (0,254 mm)
Capa conductora 26	Oro pulverizado iónicamente - 50 nm
Capa de adhesivo inferior 49	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 milésimas de pulgada (0,0254 a 0,0127 mm)
Capa espaciadora 14	Melinex 329 o 339 - 4 a 5 milésimas de pulgada (0,1016 a 0,127 mm)
Capa de adhesivo 46	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 milésimas de pulgada (0,0254 a 0,0127 mm)
Cubierta de cuerpo 18	Melinex 339 o 329 o 454 - 5 milésimas de pulgada (0,127 mm)
Cubierta de cámara 20	Melinex 339 o 329 o 454 - 4 milésimas de pulgada (0,1016 mm)
Lámina hidrófila 21	ARCare 90037

#### Almacenamiento de tiras

Las tiras se pueden envasar en una variedad de formas. Por ejemplo, las tiras se pueden envasar en viales de plástico de cierre levadizo (por ejemplo, número de 10, 25 o 50). Todos los recipientes incluyen materiales desecantes necesarios para garantizar la aceptable estabilidad en almacén. Las tiras reactivas muestran preferentemente una estabilidad en almacén mínima de 18 meses cuando se guardan entre 4 ° - 32 °C en recipientes herméticamente cerrados como se proporciona.

Aunque se han desvelado anteriormente en este documento realizaciones preferidas que incorporan los principios de la presente invención, la presente invención no se limita a las realizaciones desveladas. En su lugar, la presente solicitud pretende cubrir tales desviaciones de la presente divulgación como que entran dentro de la práctica conocida o habitual en la materia a la que se refiere la presente invención y que entran dentro de los límites de las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Una tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) para analizar un líquido, que comprende:

5 un cuerpo de tira reactiva que define una cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) que tiene una porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532) que termina en un orificio de recepción de líquido y una porción alargada (332, 532) que se extiende hacia el interior desde la porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532), en el que la porción alargada (332, 532) se define por un par de paredes laterales opuestas sustancialmente paralelas y una pared de extremo que conecta las paredes laterales, y en el que la porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532) se define por un par de paredes que se estrechan en una dirección hacia la porción alargada (332, 532);  
 10 definiendo el cuerpo de tira reactiva una ventilación en comunicación con la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516), por lo que el aire puede escapar de la ventilación a medida que el líquido es aspirado en la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516);  
 15 comprendiendo el cuerpo de tira reactiva además: un sustrato de base (12), una capa de cubierta (16) que cubre el sustrato de base (12) y una capa espaciadora (14) intercalada entre el sustrato de base (12) y la capa de cubierta (16), definiendo la capa espaciadora (14) un vacío que define el perímetro de la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) entre el sustrato de base (12) y la capa de cubierta (16); y  
 20 comprendiendo la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) además un área de prueba dispuesta en la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) para analizar el líquido; en la que el orificio de recepción de líquido (35) está dispuesto en un extremo de recepción de líquido cónico de la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524).

25 2. La tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) de la reivindicación precedente, en la que la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) incluye al menos un electrodo (28) y una capa de reactivo que cubre al menos un electrodo (28).

30 3. La tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la ventilación está formada en la capa de cubierta (16), en la que la capa de cubierta (16) comprende dos trozos separados por un hueco que cubre la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) y define la ventilación.

35 4. La tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la capa de cubierta (16), la capa espaciadora (14) y el sustrato de base (12) son todos sustancialmente planos.

5. La tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532) se define por un par de paredes de abertura curvas.

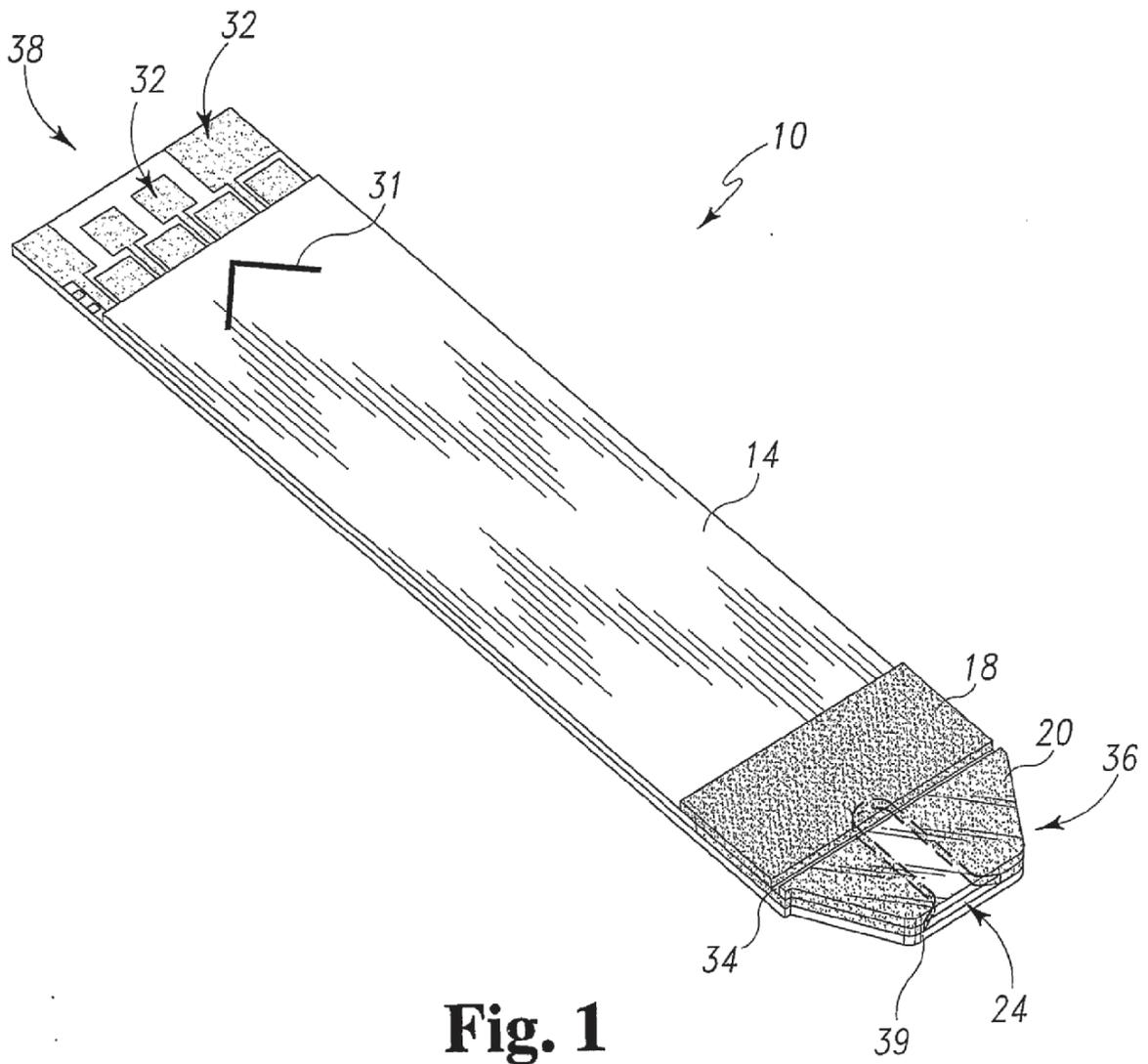
40 6. Un método de fabricación de una tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524), que comprende:

(a) proporcionar un sustrato de base, una capa espaciadora (14) y una capa de cubierta (16);  
 (b) formar un vacío en la capa espaciadora (14), teniendo el vacío una porción alargada (332, 532) y una porción bulbosa, en el que el vacío se extiende a través de la capa espaciadora, en el que la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) está delimitada por la capa de cubierta y el sustrato de base (12);  
 45 (c) laminar la capa espaciadora (14) con el sustrato de base (12) y laminar la capa de cubierta (16) con la capa espaciadora (14), formando así un precursor de tira reactiva; y  
 (d) cortar a través del precursor para fabricar la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524), cruzando el corte la porción bulbosa (312) del vacío y formando un borde de recepción de muestra de la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524), en el que el vacío define una cámara de recepción de muestra que tiene una porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532) que termina en un orificio de recepción de muestra en el borde de recepción de muestra de la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524),  
 50 en el que el borde de recepción de muestra está dispuesto en un extremo de dosificación de la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) y el extremo de dosificación es cónico.

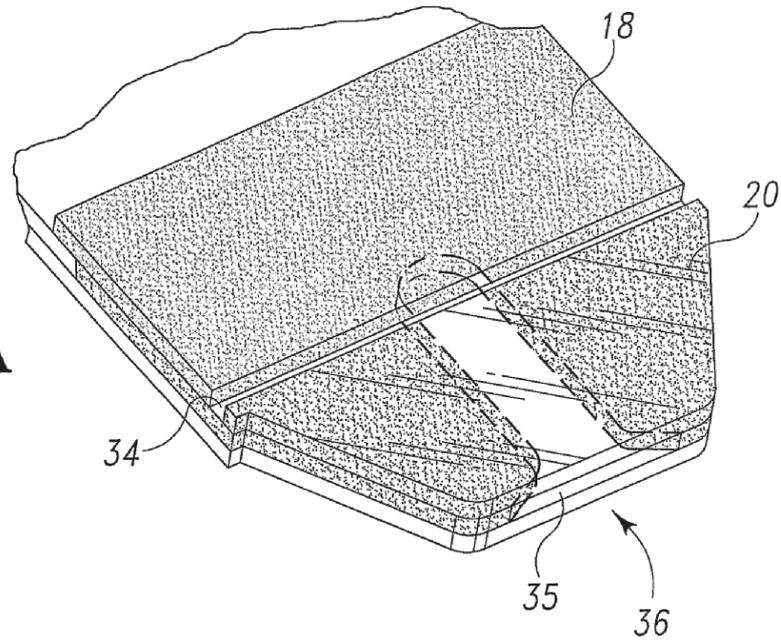
55 7. El método de la reivindicación precedente, en el que la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524) que comprende además una porción alargada (332, 532) de la cámara de recepción de muestra (24, 354, 404, 504, 516) que se extiende hacia el interior desde la porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532), en el que la porción alargada (332, 532) se define por un par de paredes laterales opuestas sustancialmente paralelas y una pared de extremo que conecta las paredes laterales, y la porción ensanchada (328, 352, 402, 518, 530, 532) se define por un par de paredes que se estrechan en una dirección hacia la porción alargada (332, 532).  
 60

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones de método precedentes, en el que:

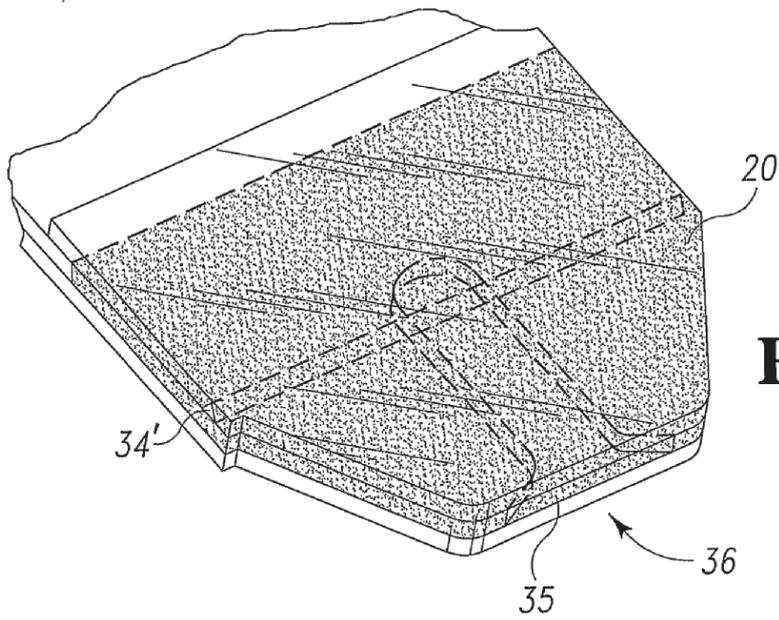
- 5 el sustrato de base comprende una banda de sustrato de base material, la capa espaciadora (14) comprende una banda de material de capa de espaciado y la capa de cubierta (16) comprende una banda de material de capa de cubierta;
- el vacío formado en la etapa (b) comprende una pluralidad de vacíos separados; y  
el método comprende además cortar el precursor en una pluralidad de tiras reactivas (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524).
- 10 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones de método precedentes, en el que el extremo de dosificación comprende dos lados que se inclinan el uno hacia el otro y terminan en un borde de dosificación que es más estrecho que una anchura de la tira reactiva (10, 300, 350, 400, 500, 512, 524).



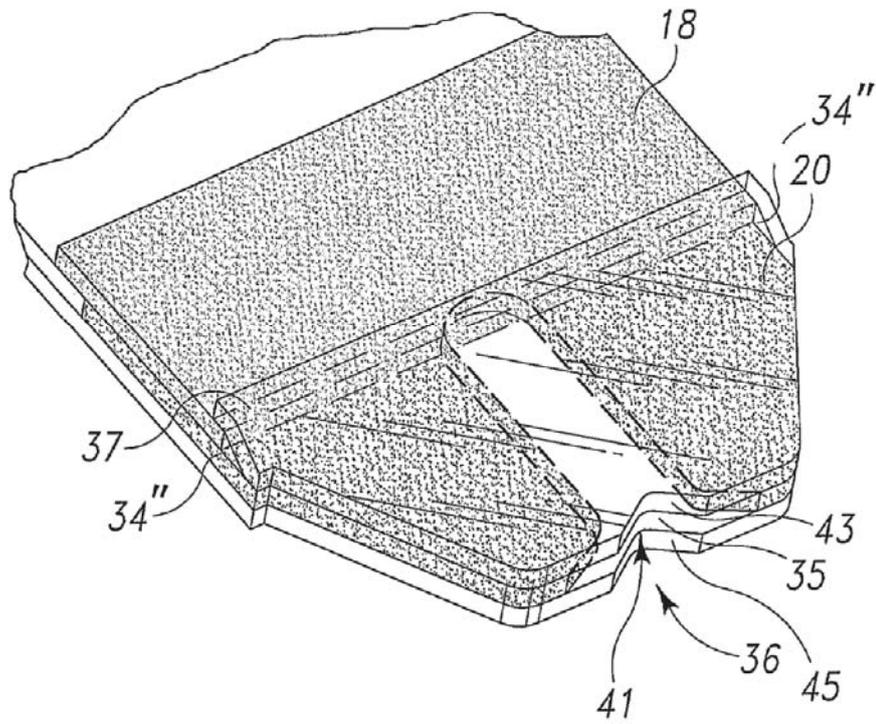
**Fig. 1A**

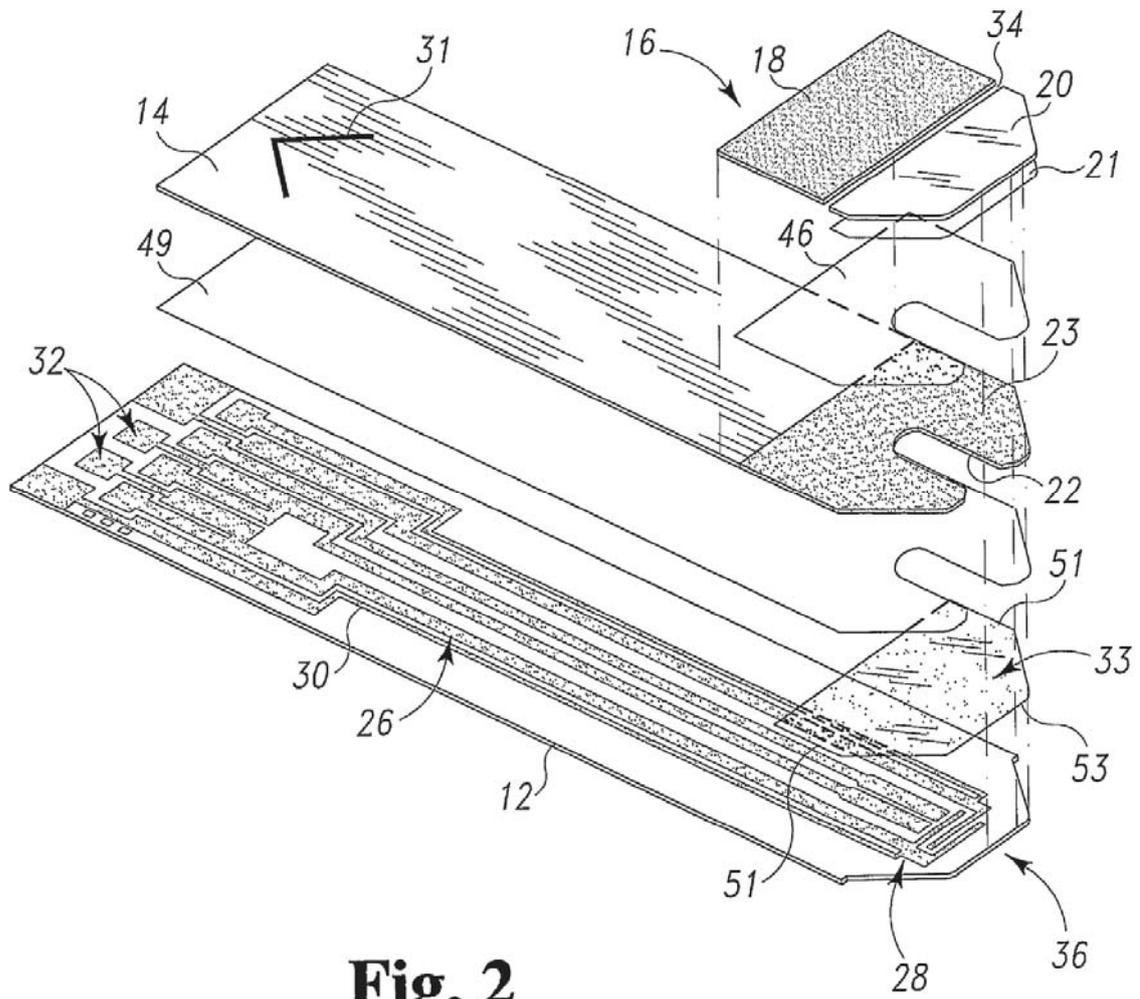


**Fig. 1B**

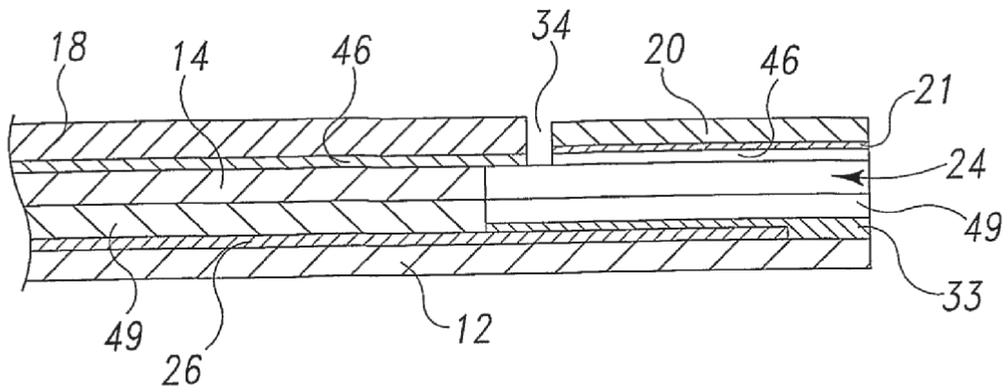


**Fig. 1C**

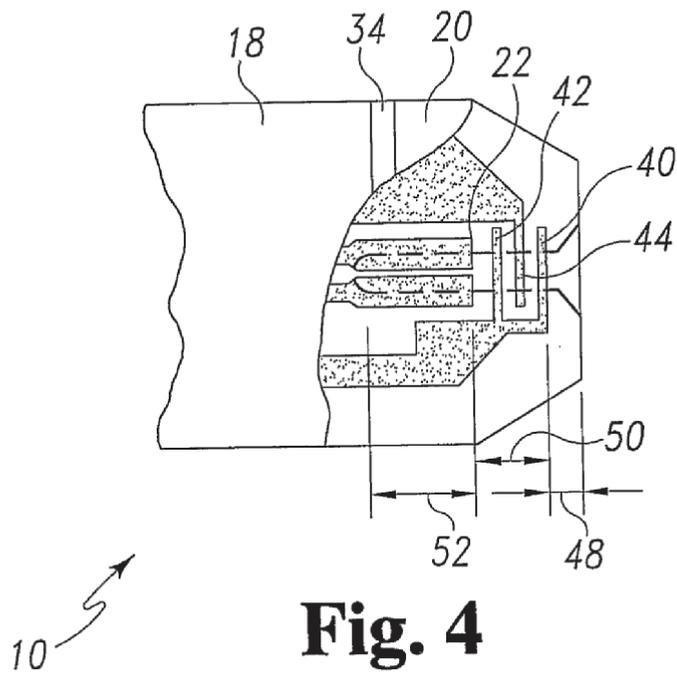




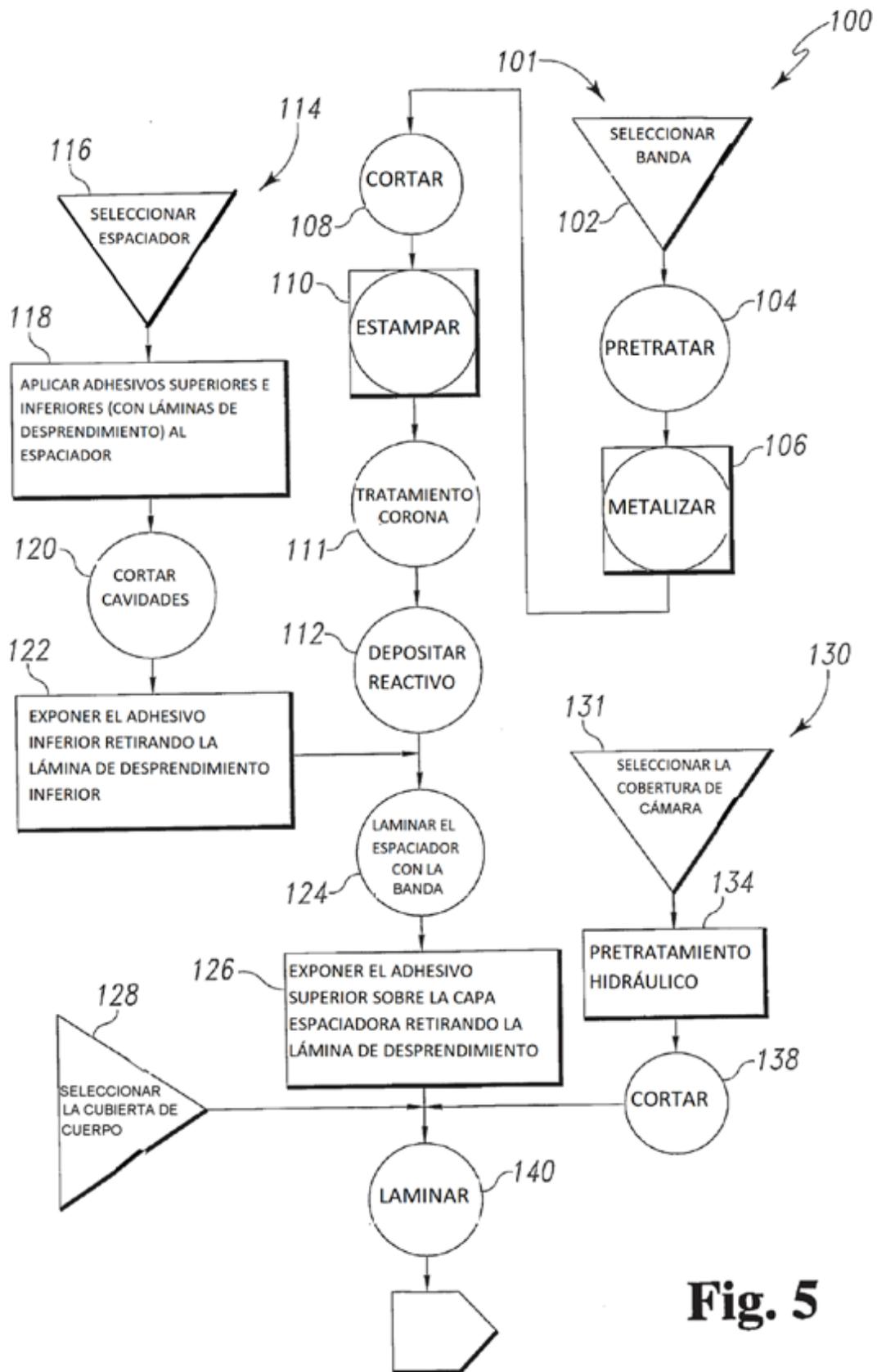
**Fig. 2**



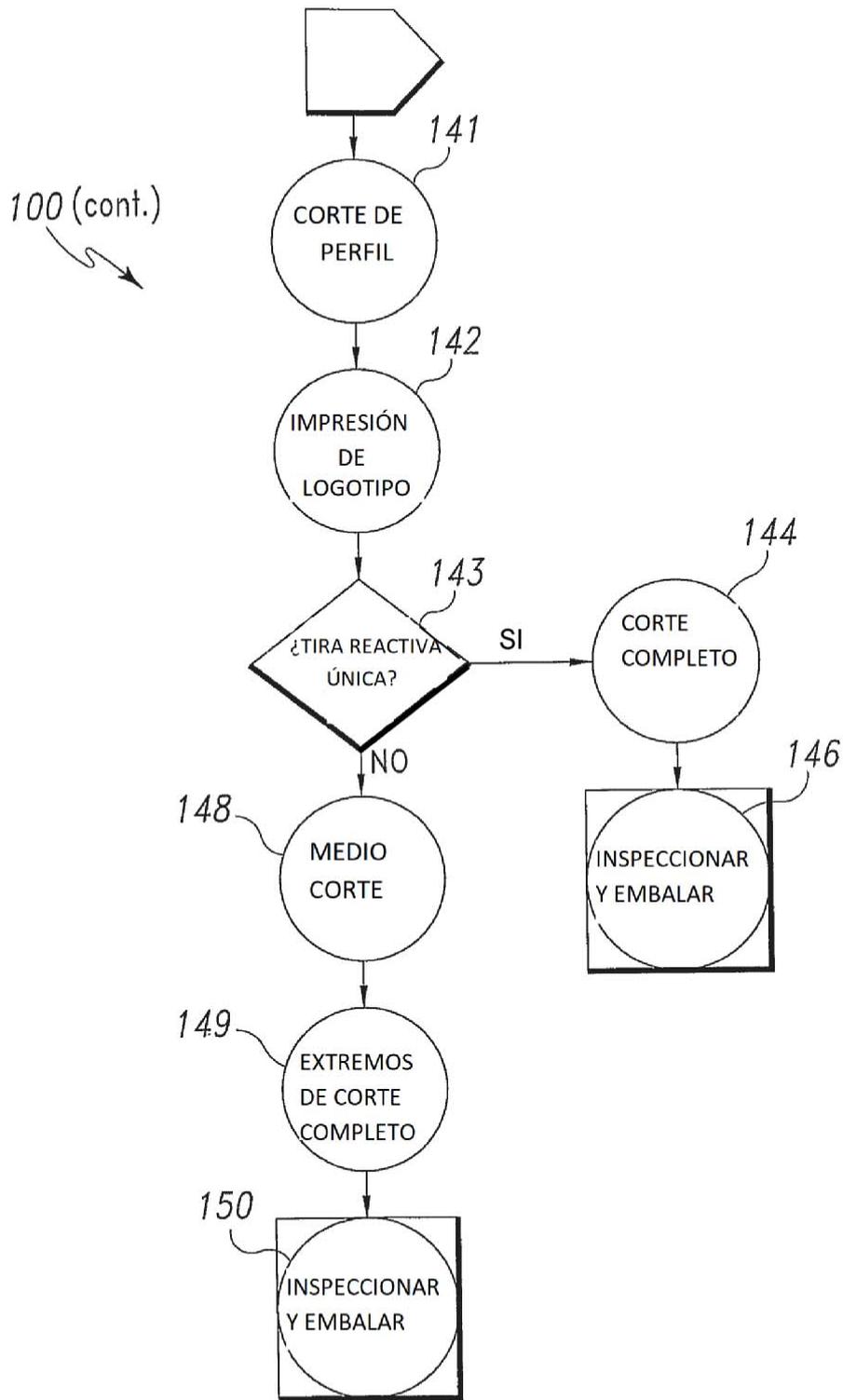
**Fig. 3**



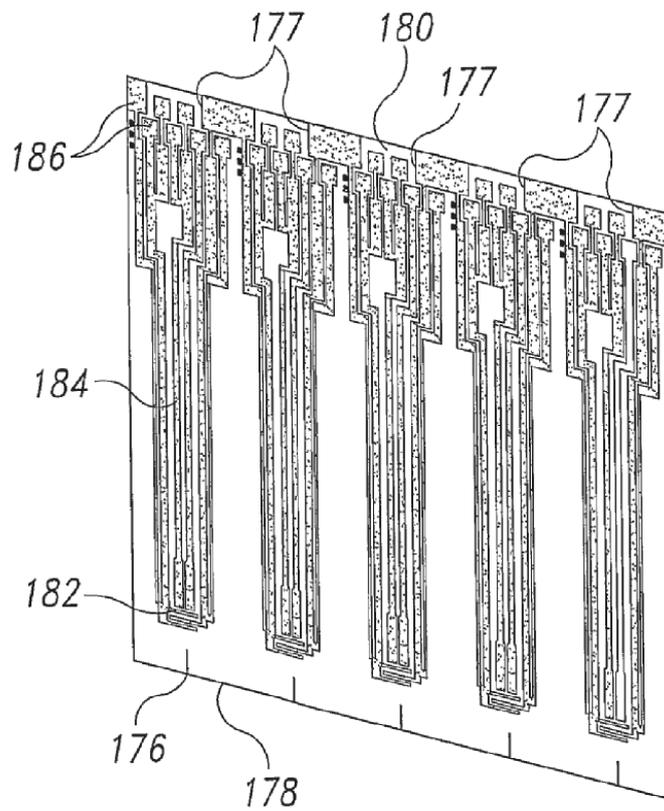
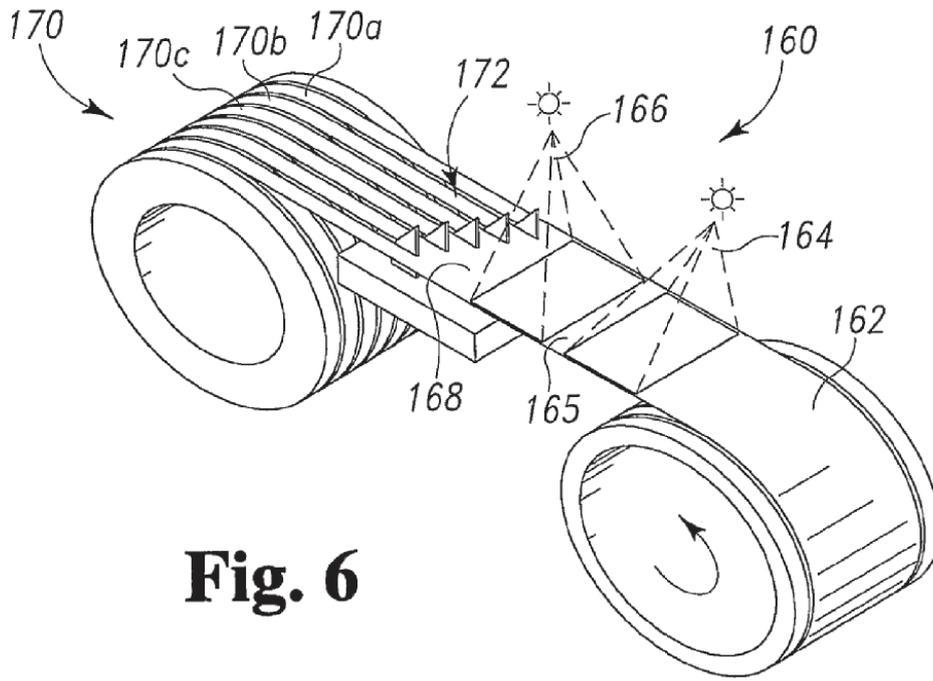
**Fig. 4**

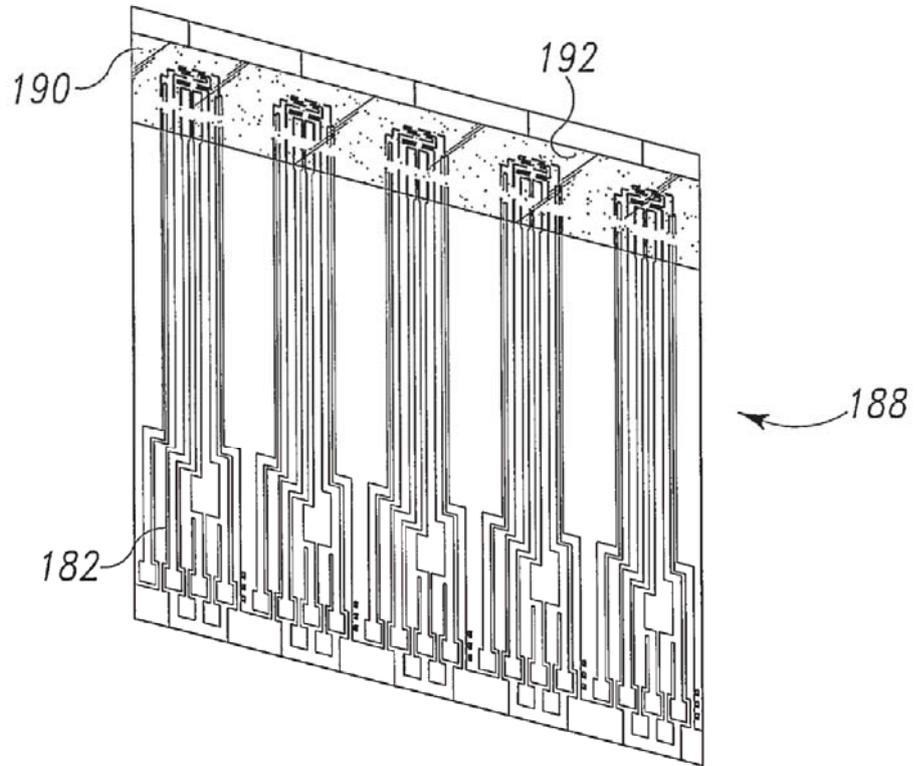


**Fig. 5**

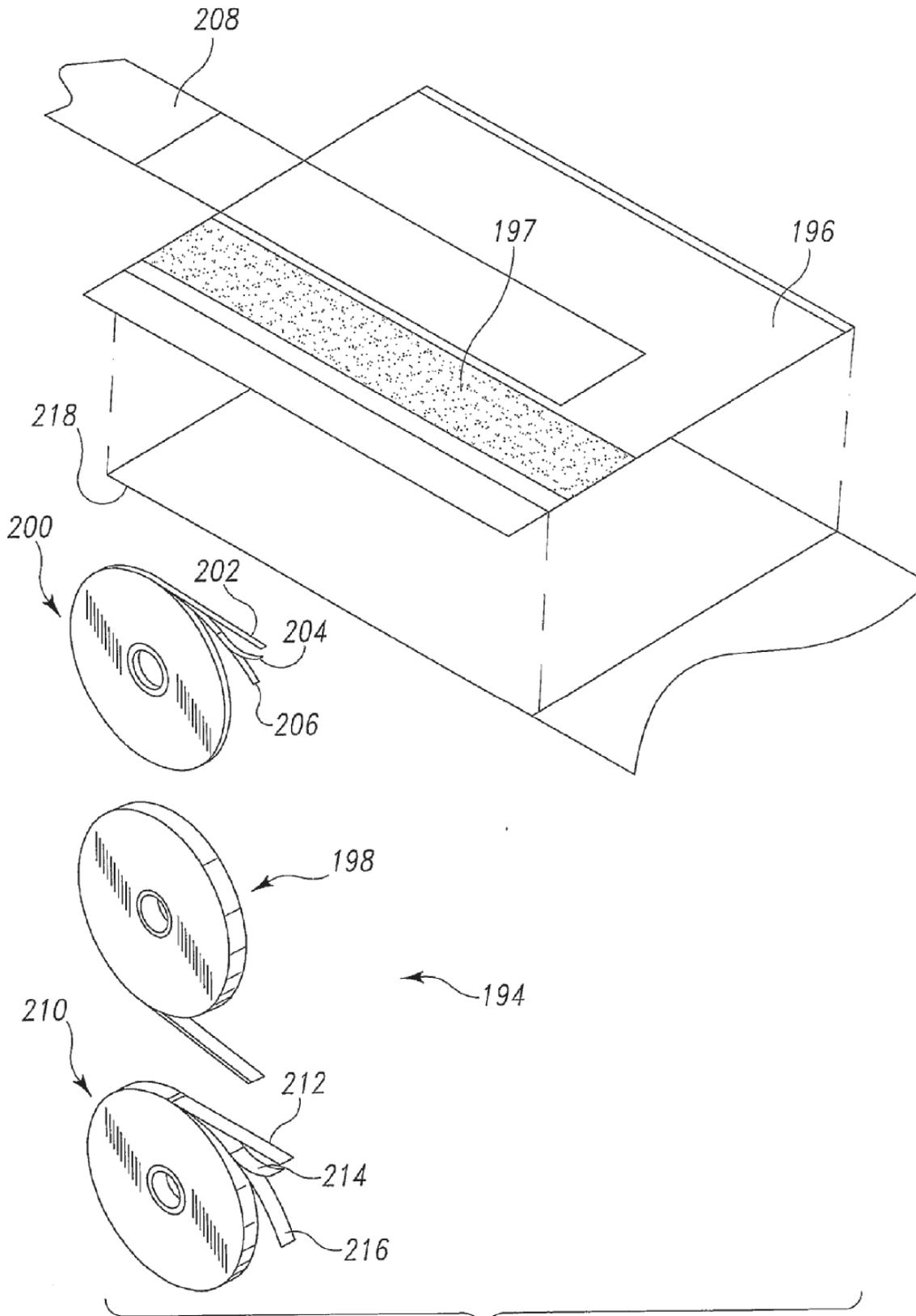


**Fig. 5A**

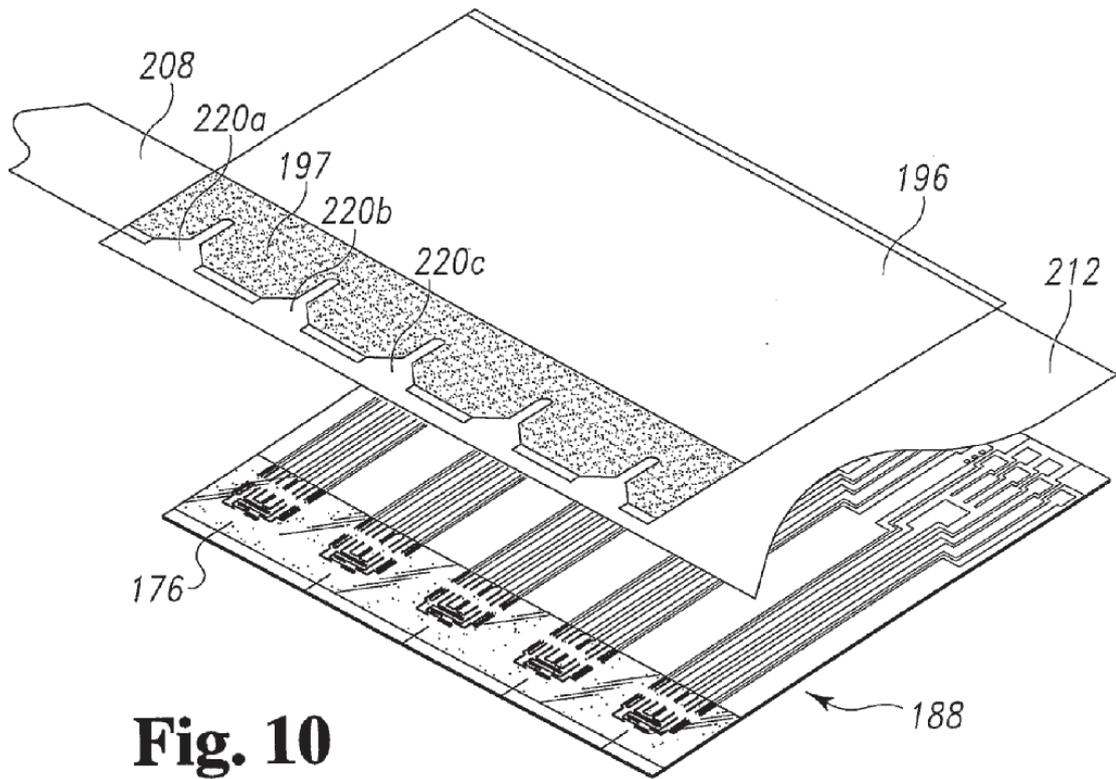




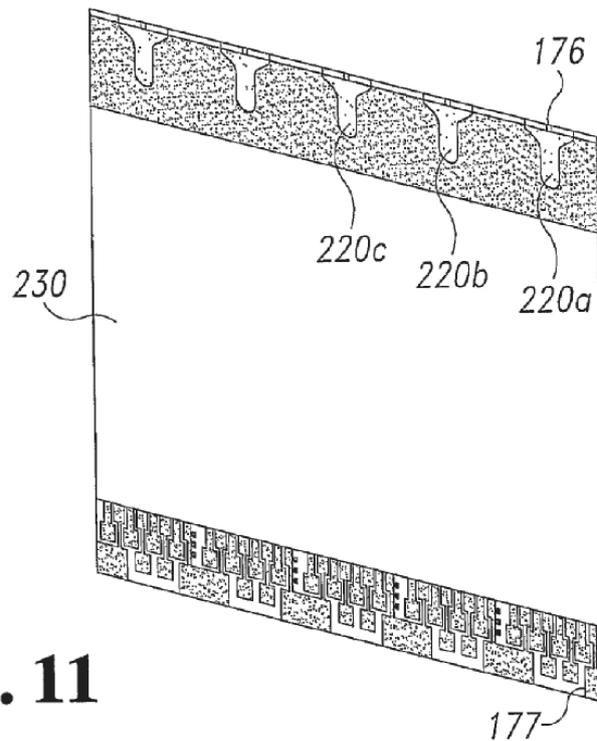
**Fig. 8**



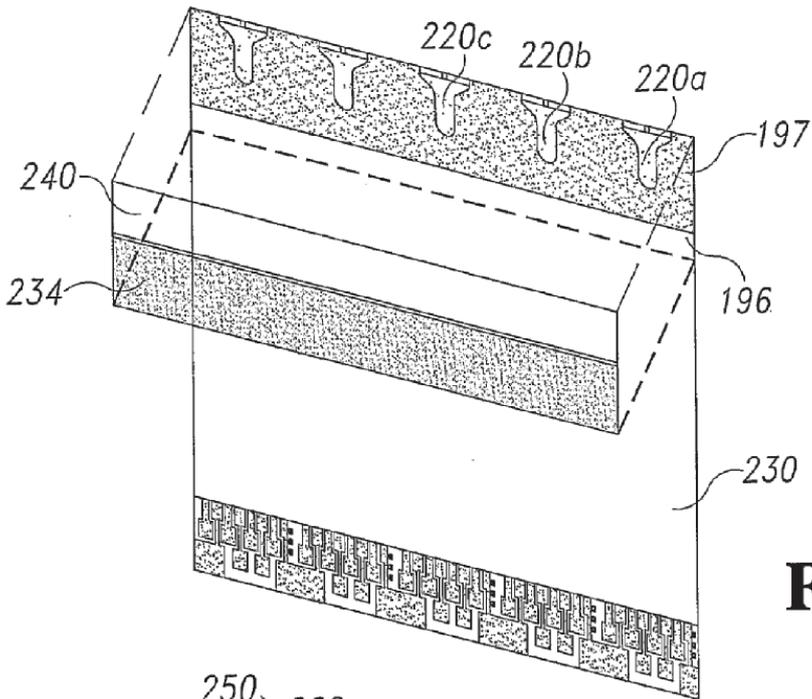
**Fig. 9**



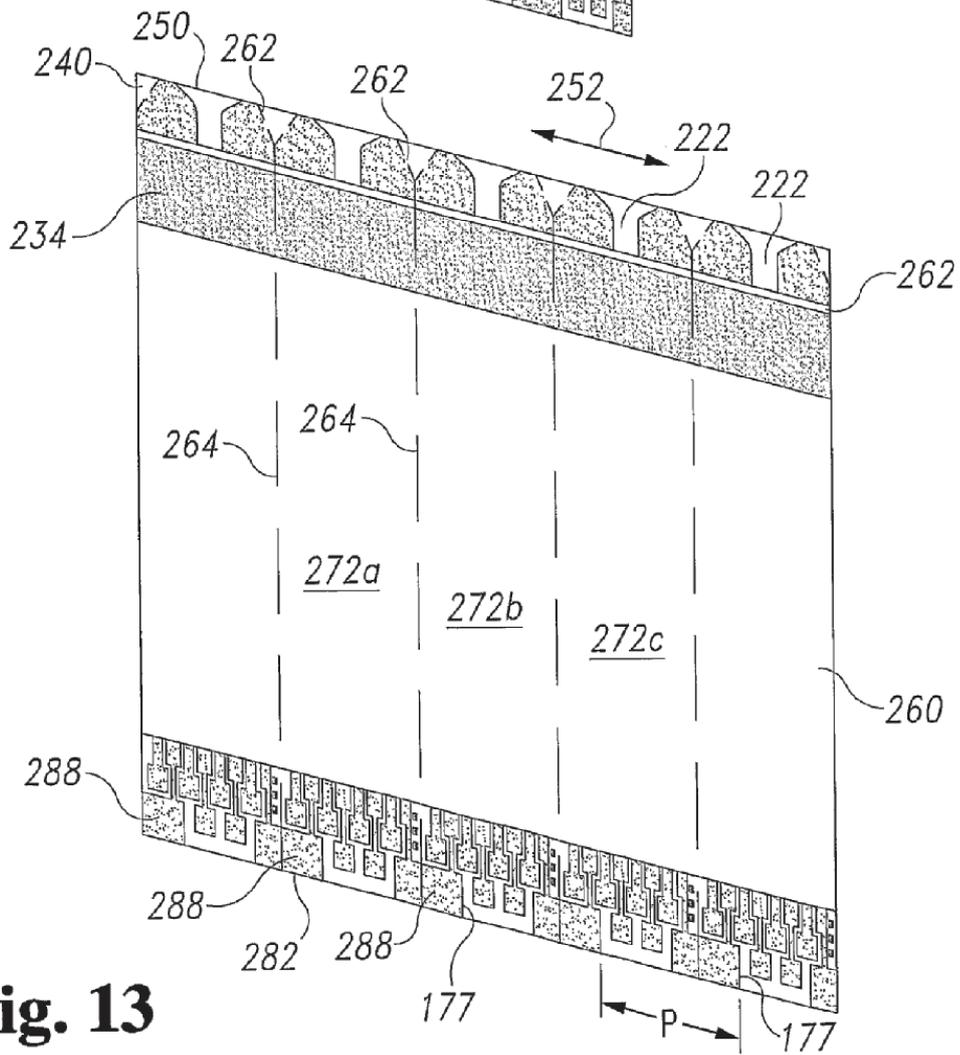
**Fig. 10**



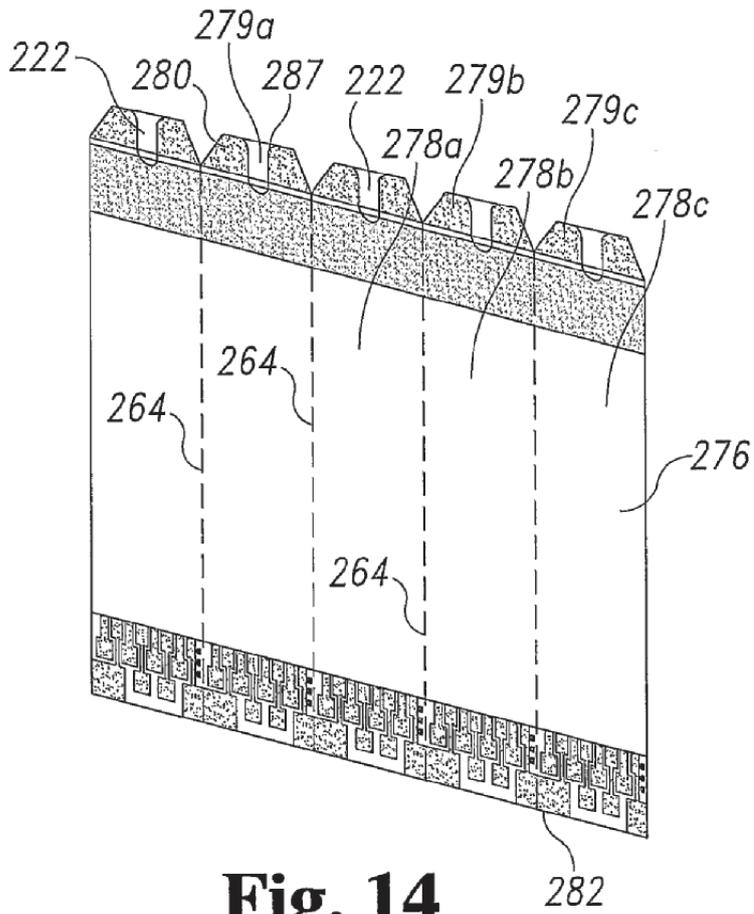
**Fig. 11**



**Fig. 12**

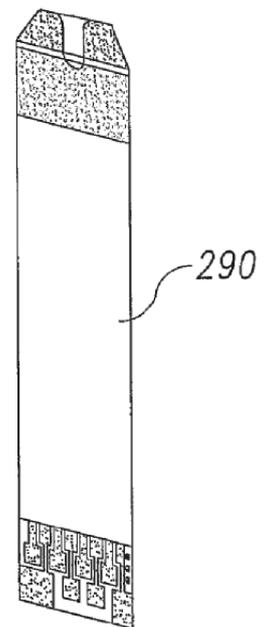


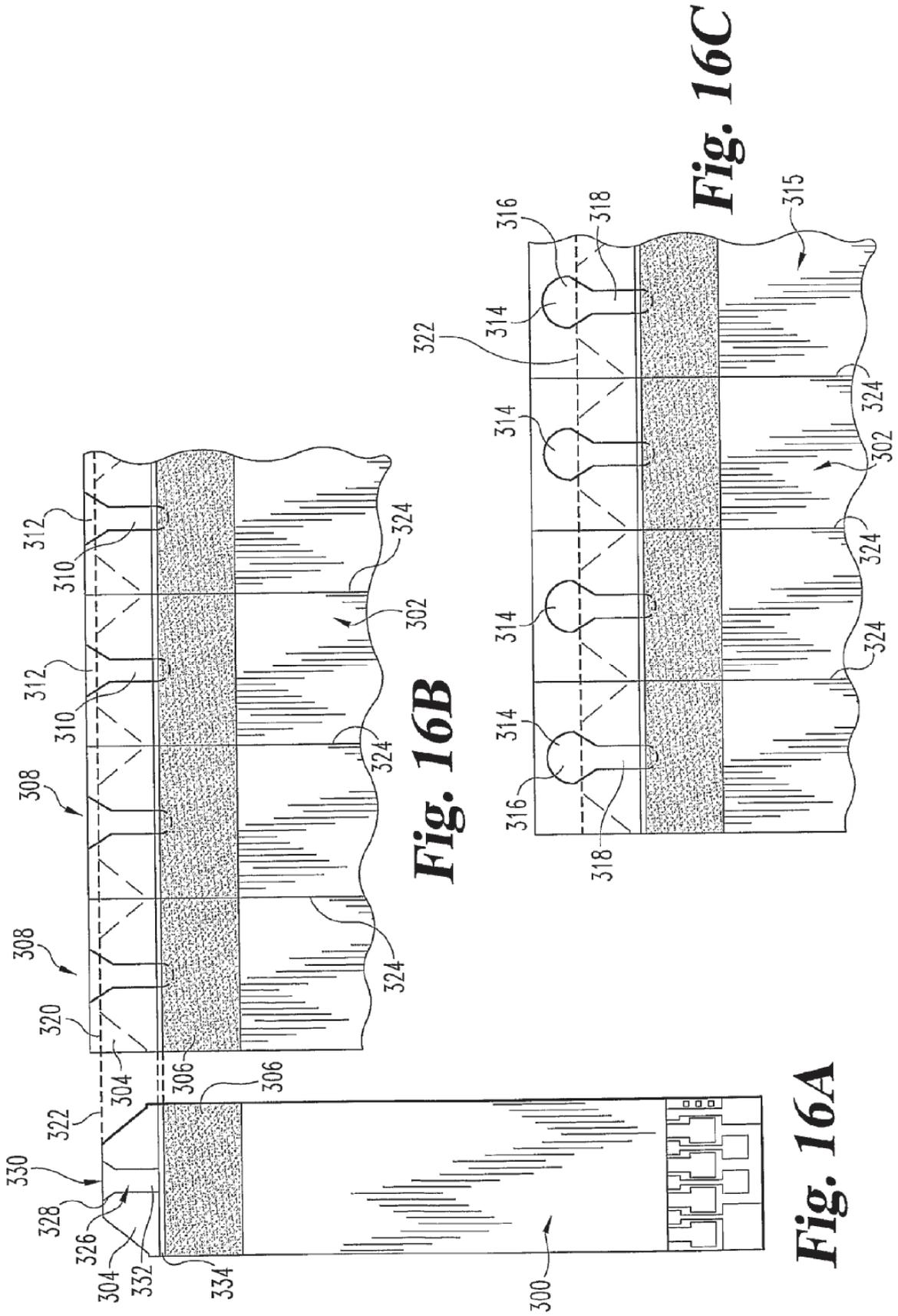
**Fig. 13**



**Fig. 14**

**Fig. 15**

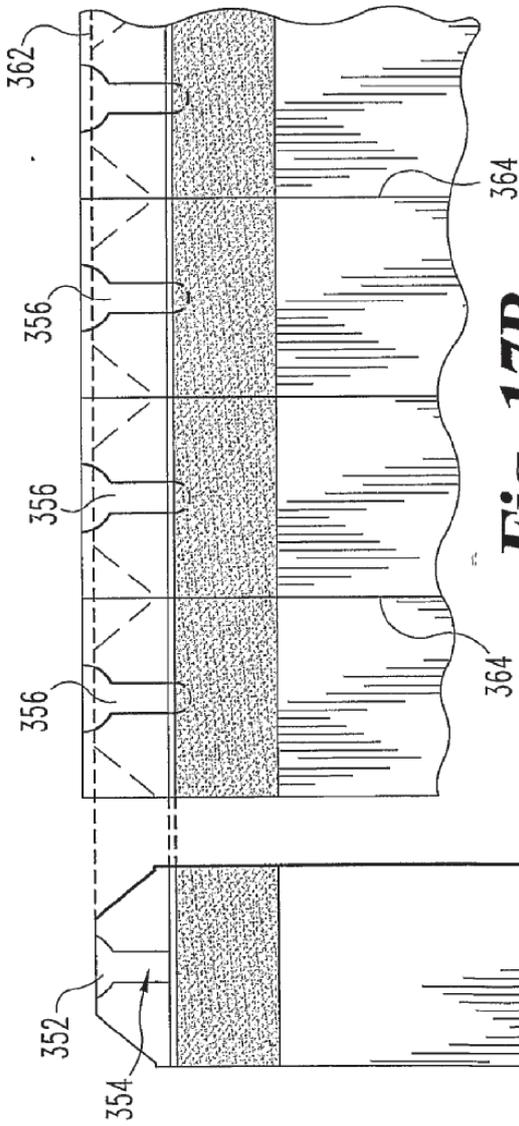




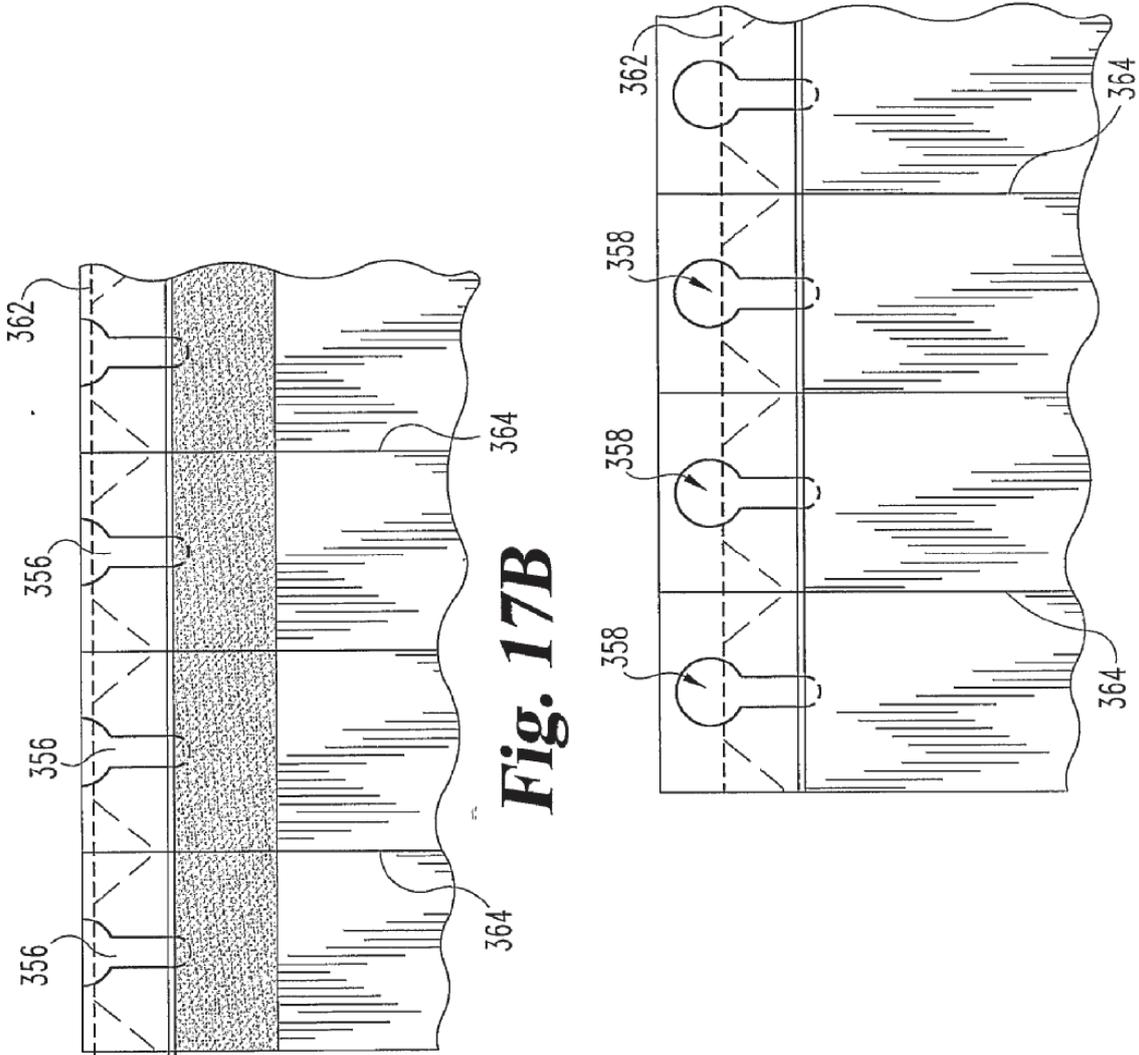
**Fig. 16B**

**Fig. 16A**

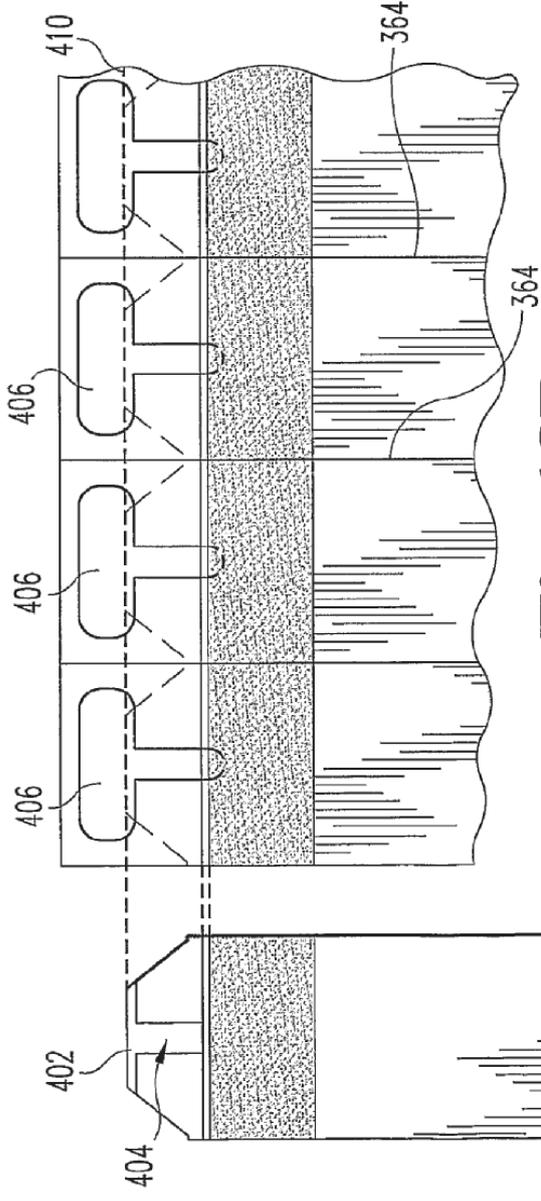
**Fig. 16C**



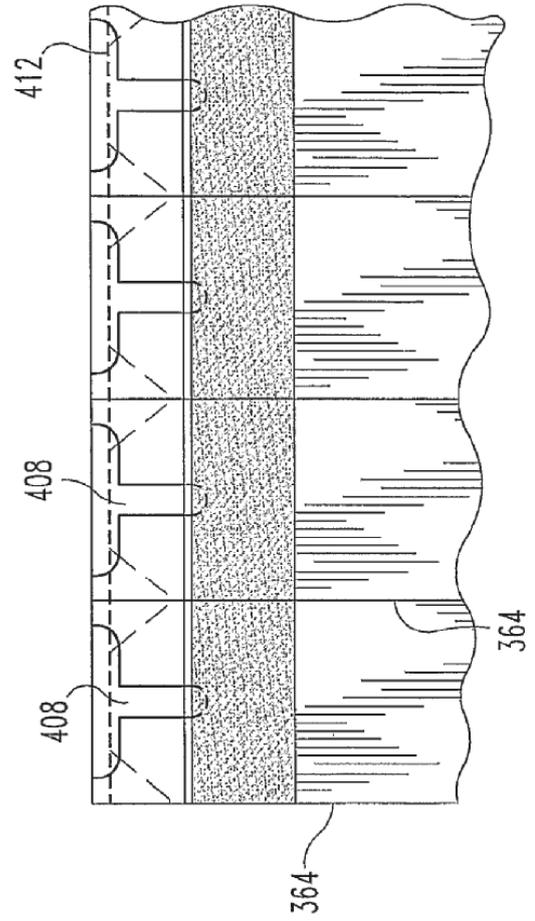
**Fig. 17A**



**Fig. 17C**

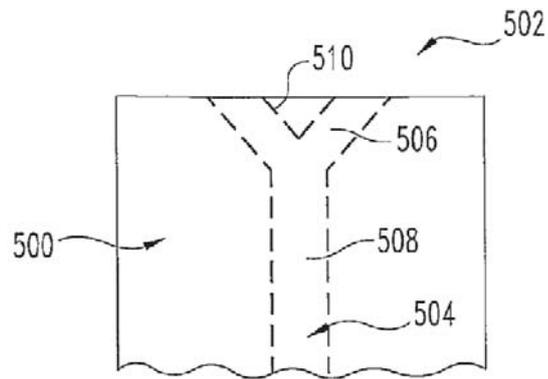


**Fig. 18B**

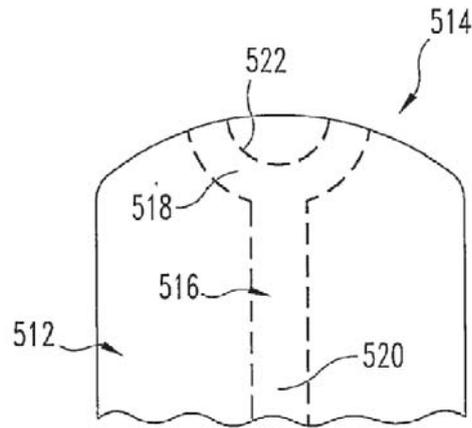


**Fig. 18C**

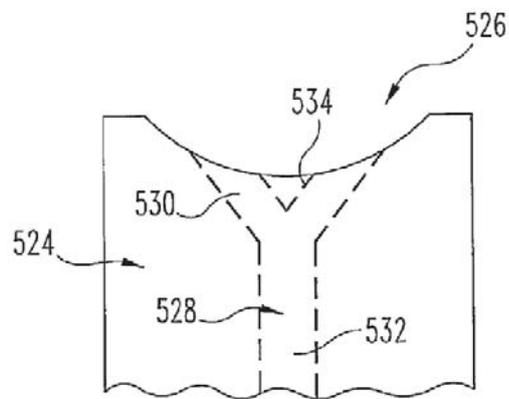
**Fig. 18A**



**Fig. 19A**



**Fig. 19B**



**Fig. 19C**