

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 682 450**

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/US2004/019685**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2004 WO04113901**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2004 E 04755693 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 1639354**

54 Título: **Tira de ensayo con abertura de ventilación de ranura**

30 Prioridad:

**20.06.2003 US 480397 P**

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

**20.09.2018**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)**

**Grenzacherstrasse 124**

**4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**BURKE, DAVID, W. y**

**MARQUANT, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 682 450 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 de ensayo con abertura de ventilación de ranura

## 5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos con 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 al ensayo de fluidos corporales para concentración de analitos y más particularmente a una tira de ensayo o biosensor para un ensayo de ese tipo.

## 15 Antecedentes

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

25 En relación con los volúmenes de muestra más pequeños, se sabe como proporcionar tiras de ensayo que tengan una cámara de reacción lo suficientemente pequeña de modo que el fluido de muestra se recoge en la misma mediante acción capilar, que es un fenómeno que resulta de la tensión superficial del fluido de la muestra y la tendencia termodinámica de un líquido a minimizar su área superficial. Por ejemplo, el documento de patente de Estados Unidos N.º 5.141.868 desvela una tira de ensayo que tiene una cavidad con una dimensión lo suficientemente pequeña como para recoger líquido de la muestra en la misma mediante acción capilar. La cavidad se define mediante dos placas paralelas separadas a una distancia de aproximadamente 1 mm mediante dos tiras de epoxi que se extienden longitudinalmente a lo largo de los lados laterales de las placas. La cavidad está abierta en ambos extremos, uno que recibe la muestra, y el otro de que permite que el aire escape. La cavidad incluye una estructura de electrodo y lleva un revestimiento de un material apropiado para la realización del ensayo mediante la tira de ensayo.

30 Otros diversos diseños de tira de ensayo incluyen cavidades capilares que recogen fluidos de la muestra en las mismas e incluyen aberturas de ventilación para permitir que el aire escape. Por lo general, la abertura de ventilación está perforada o de otro modo se forma en cualquiera de la película de la parte superior o inferior que forma la cavidad que recibe la muestra. Surgen cuestiones de fabricación debido a la necesidad de situar de forma precisa el orificio de ventilación con respecto a la cavidad. Por ejemplo, si la cavidad está colocada centralmente de forma longitudinal dentro de la tira de ensayo, un orificio de ventilación alineado hacia la izquierda o hacia la derecha del centro puede no conectarse o comunicarse con la cavidad. Dado que generalmente las tiras se producen en masa a partir de una tira continua, un error en el alineamiento del orificio de ventilación puede afectar a cientos o incluso miles de tiras de ensayo.

35 Además, la perforación de un orificio para la abertura de ventilación requiere una etapa del proceso separada y un troquel de corte u otro equipo para formar la abertura. Dado que los tamaños de la cavidad cada vez se hacen más pequeños en las tiras de ensayo modernas, la formación de la abertura de ventilación se ha convertido en una etapa del proceso más delicada. Podría ser deseable reducir el potencial de error y reducir los costes asociados con la formación de la abertura de ventilación en tiras de ensayo que requieren la misma.

40 El documento EP 1 260 589 A2 describe un biosensor. El biosensor incluye un sustrato de soporte que tiene primer y segundo extremos, electrodos colocados en el sustrato de soporte, electrodos que colaboran con uno u otro para definir matrices de electrodos situadas de forma adyacente al primer extremo, un sustrato espaciador colocado en el sustrato de soporte, y una tapa colocada en el sustrato espaciador. La tapa coopera con el sustrato de soporte para definir un canal. El canal incluye una entrada adyacente al primer extremo y extremos opuestos. Cada matriz del electrodo se coloca en el canal adyacente a uno de los extremos.

45 El documento WO 02/054055 A describe biosensores que tienen una aplicación de la muestra y propiedades de medición mejoradas y sus usos para detección, preferentemente, medición cuantitativa, de analito en una muestra líquida. En particular, se describe un biosensor que tiene una aplicación de muestra y cámara de reacción que facilita la velocidad y uniformidad de la aplicación de la muestra, especialmente aplicación de muestra de volumen pequeño, mediante flujo por capilaridad. Además, se describen un biosensor que tiene múltiples circuitos que

conducen a consistencia y precisión del ensayo, mejoradas, y métodos para someter a ensayo analitos o enzimas usando los biosensores.

#### Sumario de la invención

5

La presente invención proporciona una tira de ensayo de acuerdo con la reivindicación 1. Una ranura divide la capa de revestimiento en dos partes y proporciona una abertura de ventilación que permite que el aire escape de una cavidad o cámara de recepción de muestra formada en la tira de ensayo a medida que el fluido entra en ella. En realizaciones preferentes, la capa de revestimiento es transparente, de modo que el usuario puede ver a través de ella y la ranura se duplica como una "línea de llenado". El usuario puede observar de ese modo que es la muestra de fluido que entra en la tira de ensayo, avanza a través de la cavidad capilar, y a continuación se detiene en la ranura o línea de llenado. Esto proporciona al usuario una garantía positiva de que el tamaño de la muestra suficiente y la tira de ensayo se ha llenado de forma adecuada. De forma ventajosa, las tiras de ensayo de la invención se pueden producir en masa sin tener que alinear la ranura lateralmente con respecto a la tira de ensayo y sin tener que perforar una abertura de ventilación.

10

15

En una forma de la misma, la presente invención proporciona una tira de ensayo que comprende una capa de revestimiento que cubre un sustrato de base. El sustrato de base tiene una capa de reactivo colocada en el mismo que reacciona con la muestra de fluido y produce una respuesta mensurable que se puede correlacionar con la concentración del analito que se está midiendo. La capa de revestimiento incluye una tapa de cámara y una tapa de cuerpo que tiene una ranura entre las mismas. La ranura se coloca sobre la capa de reactivo. Una cámara de recepción de muestra se coloca entre el sustrato de base y la capa de revestimiento, y la ranura se comunica con la cámara de recepción de muestra. La ranura define una abertura de ventilación en la capa de revestimiento que permite que el aire escape a medida que el fluido entra en la cámara de recepción de muestra. La ranura comprende un espacio que forma un espacio entre la tapa de cuerpo y la tapa de cámara, aunque la capa de revestimiento puede ser de construcción unitaria, con la ranura formando un rebaje o hendidura en la parte inferior del mismo. La ranura es lineal y se extiende a través de la anchura de la capa de revestimiento, orientada esencialmente de forma perpendicular a lo largo fue en el eje longitudinal de la tira de ensayo. Esta configuración de la ranura proporciona ventajas para la producción en masa de las tiras de ensayo, como se describe a continuación.

20

25

30

En otra forma preferente, la tira de ensayo incluye una capa de separación colocada entre la capa de revestimiento y el sustrato de base. La capa de separación incluye un hueco que define adicionalmente la altura, perímetro y longitud de la cámara de recepción de muestra entre el sustrato de base y la capa de revestimiento. Es decir, la cámara de recepción de muestra se une en sus lados por paredes verticales creadas por el hueco, en su parte superior por la capa de revestimiento, y en su parte inferior por una capa de reactivo que preferentemente cubre el sustrato de base. El cuerpo tiene forma de un canal alargado que comienza en una abertura de recepción del fluido en un borde de la tira de ensayo, se extiende a lo largo de la dirección longitudinal de la tira, y termina en una posición que está esencialmente alineada con la abertura de ventilación o ranura.

35

40

La tapa de cámara tiene un tamaño para que preferentemente recubra esencialmente toda la longitud de la cámara de recepción de muestra, cuya longitud se establece por la longitud del hueco en la capa de separación, tal como se acaba de discutir. El extremo interior de la tapa de cámara, que correspondía a la posición de la ranura, está esencialmente alineado con el extremo interior de la cámara de recepción de muestra. En esta configuración, el espacio de aire definido por la ranura el espacio de aire ocupado por el extremo interior de la cámara de recepción de muestra se conectan, o superponen, de modo que la cámara de recepción de muestra está en comunicación con la ranura o abertura de ventilación, y se proporciona un medio para que el aire se escape de la cámara de recepción de muestra. Por lo tanto, la cámara de recepción de muestra comunica el aire ambiental de la abertura que recibe fluido en un extremo y de la abertura de ventilación en su otro extremo. El pequeño tamaño de la cámara de recepción de muestra produce un efecto de capilaridad que atrae rápidamente a la muestra de fluido en la misma, desplazando aire a través de la abertura de ventilación. En realizaciones preferentes, la ranura se forma como un espacio y al menos una parte del aire desplazado sale de la parte superior de la tira de ensayo.

45

50

En el sustrato de base preferentemente se forman electrodos y se colocan en la cámara de recepción de muestra. Como se ha indicado anteriormente, una capa de reactivo se coloca en la cámara de recepción de muestra y cubre al menos uno, y preferentemente ambos, electrodos. Más preferentemente, la capa de reactivo se extiende por debajo de la capa de separación y realmente se intercala entre la capa de separación y el sustrato de base, extendiéndose a los bordes laterales de la tira de ensayo. De ese modo la capa de reactivo define la mayoría o todas las superficies de la parte inferior de la cámara de recepción de muestra. Esta configuración de tira reactiva proporciona ventajas en la fabricación, tal como se describe con detalles adicionales a continuación.

55

60

Otro aspecto preferente de las tiras de ensayo de la invención implica la tapa de cámara que es transparente o translúcida por encima de la cámara de recepción de muestra. El fluido que entra en la cámara de recepción de muestra es visible de ese modo a través de la tapa de cámara. Además, antes de haber usado la tira de ensayo, la cámara de recepción de muestra está vacía y la parte inferior de la misma es visible a través de la tapa de cámara. Si las tiras de ensayo de la invención se usan para análisis de sangre como la muestra de fluido, por ejemplo, es deseable colorear la capa de reactivo con un color que contraste con el color rojo de la sangre.

65

La capa de separación se forma preferentemente con un color opaco que contrasta tanto con el color de la muestra de fluido como con el de la capa de reactivo. Por lo tanto, cuando se visualiza desde la parte superior de la tira de ensayo, el usuario ve a través de la tapa de cámara transparente y ve el color del fondo de la cámara de recepción de muestra unido por el color de contraste de la capa de separación. Como alternativa, el color de contraste se puede proporcionar, por ejemplo, mediante impresión sobre la tapa de cámara transparente. Una muestra de sangre se deposita en la abertura que recibe fluido en el extremo de la tira y se capta rápidamente en la cámara de recepción de muestra. El usuario puede observar fácilmente que la sangre que colorea la tira se mueve en la cámara de recepción de muestra con respecto al fondo de contraste, que proporciona una indicación positiva al usuario de que se proporcionó una muestra de sangre con un tamaño suficiente.

En otro aspecto preferente de la presente invención, al menos el lado inferior de la tapa de cámara es hidrófilo, que facilita el efecto de mecha rápido de la muestra en la cámara alargada al menos tan lejos como la abertura de ventilación. Por el contrario, la tapa de cuerpo es hidrófoba, y dado que la tapa de cuerpo define un borde de la ranura, evita que la muestra de fluido tenga efecto de mecha más allá de la ranura o abertura de ventilación. Estas propiedades de contraste, hidrófobas e hidrófilas, dan como resultado una captación rápida del fluido de muestra en la cámara de recepción de muestra, incluso el movimiento del fluido se detiene rápidamente cuando la muestra alcanza la zona en la cámara que se alinea con la ranura. Cuando la ranura es esencialmente rectilínea, la muestra forma un borde terminal lineal correspondiente alineado en la misma. Cuando se combina con la tapa de cámara transparente y otras características preferentes que se han indicado anteriormente, al usuario se le proporciona de ese modo una "línea de llenado" claramente definida y visible que corresponde a la ranura. El usuario puede observar como la muestra de fluido entra rápidamente en la cámara de recepción de muestra y a continuación se detiene en la línea de llenado, lo que confirma que el tamaño de la muestra era suficiente y que la tira de ensayo se llenó de forma adecuada.

En otra forma preferente, se forman almohadillas de contacto en el sustrato de base en un extremo de inserción del medidor de la tira de ensayo y las marcas de electrodo se extienden a lo largo del sustrato de base y conectan a los electrodos a las almohadillas de contacto. La capa de revestimiento y/o separación que se ha descrito anteriormente cubre preferentemente la mayor parte de la longitud de la tira de ensayo, pero termina poco antes del extremo de inserción del medidor, exponiendo de ese modo las almohadillas de contacto al extremo de inserción del medidor de la tira. Esto permite que las almohadillas de contacto se emparejen con las correspondientes conexiones eléctricas en un medidor que hace la lectura de las tiras de ensayo. La presente invención también proporciona un método para producir en masa las nuevas tiras de ensayo de acuerdo con la reivindicación 17. En este método de la invención, se proporciona una tira de material de sustrato de base. Sobre la tira se forma una pluralidad de conjuntos de electrodos. En realizaciones preferentes, los conjuntos de electrodos se forman mediante ablación con láser, más preferentemente, mediante ablación con láser de campo amplio. En la tira también se forma una serie de cavidades. En una realización preferente, las cavidades se forman proporcionando una tira continua de material de capa de separación que tiene la forma de las cavidades recortadas y separadas de forma equidistante. Cada una de las cavidades se alinea con una respectiva de los conjuntos de electrodos.

Se proporciona una capa de reactivo y cubre al menos un electrodo de cada conjunto de electrodos. En una forma preferente, la capa de reactivo se aplica a la tira antes de que se formen las cavidades, de modo que la capa de reactivo se puede aplicar en una "tira" continua de grosor uniforme. Por último, una capa de revestimiento fabricada preferentemente a partir de dos piezas se coloca sobre y se lamina con respecto a la tira de modo que las dos piezas se separan por un espacio y el espacio se coloca sobre la serie de cavidades. Preferentemente, ambas piezas de la capa de revestimiento se aplican al mismo tiempo. A continuación la tira se corta en la pluralidad de tiras de ensayo.

Como se ha indicado anteriormente, este método de producción en masa evita la necesidad de alinear la abertura de ventilación lateralmente con respecto a las tiras de ensayo. Además, el método de la invención es ventajoso adicionalmente porque evita la necesidad de formar de otro modo una abertura en la capa de revestimiento o capa de base. El método también es muy adecuado para la producción en masa de las tiras de ensayo mediante técnicas de procesamiento con rodillo, como se describe en el presente documento.

En una forma de la misma, la presente invención proporciona una tira de ensayo que comprende una capa de revestimiento que cubre un sustrato de base. El sustrato de base tiene una capa de reactivo colocada en el mismo. La capa de revestimiento incluye una tapa de cámara y una tapa de cuerpo que tiene una ranura entre las mismas. La tapa de cuerpo tiene un grosor superior al de la tapa de cámara. Una cámara de recepción de muestra se coloca entre el sustrato de base y la capa de revestimiento, y la ranura se comunica con la cámara de recepción de muestra. La ranura define una abertura de ventilación en la capa de revestimiento que permite que el aire escape a medida que el fluido entra en la cámara de recepción de muestra.

De forma ventajosa, una tapa de cuerpo gruesa absorbe más de la presión o fuerza impartida a la tira a medida que el montaje se rebobina y se almacena durante el procesamiento. Por lo tanto, si cualquier adhesivo se escurre de la tira a medida que se rebobina, el adhesivo por lo general se descubrirá alrededor de la tapa de cuerpo y no de la tapa de cámara. Esto reduce la posibilidad de que el adhesivo se descubra desde la parte inferior de la tapa de

cámara durante el proceso de enrollado y que entre en la zona capilar en el que se podría degradar o destruir las tiras de ensayo producidas finalmente.

5 La presente invención proporciona una tira de ensayo muy fácil de dosificar y proporciona un proceso de fabricación robusto pero flexible. Las otras diversas características que caracterizan la invención se destacan con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Para una mejor comprensión de la invención, sus ventajas, y objetos obtenidos a partir de la misma, se debería hacer referencia a las figuras y a la descripción adjunta, en las que se ilustran y se describen realizaciones preferentes de la invención.

10 Breve descripción de las figuras

Haciendo referencia ahora a las figuras, en las que los mismos números y letras de referencia indican la correspondiente estructura a través de las varias vistas:

15 La FIG. 1 es una vista en perspectiva de una tira de ensayo o biosensor de acuerdo con la presente invención.  
 La FIG. 1A es una vista en perspectiva fragmentaria ampliada de la tira de ensayo que se muestra en la FIG. 1, que ilustra una realización de la nueva abertura o ranura de ventilación.  
 La FIG. 1B es una vista en perspectiva fragmentaria ampliada que ilustra una realización alternativa de la  
 20 abertura o ranura de ventilación de acuerdo con la presente memoria descriptiva.  
 La FIG. 1C es una vista en perspectiva fragmentaria ampliada ilustra otra realización alternativa de la abertura o ranura de ventilación que también ilustra una configuración alternativa de la abertura a la cámara de recepción de muestra del biosensor de acuerdo con la presente memoria descriptiva.  
 La FIG. 2 es una vista en perspectiva, de las partes del biosensor de la FIG. 1.  
 La FIG. 3 es una vista en sección transversal de una parte del biosensor de la FIG. 1, que ilustra adicionalmente  
 25 capas de adhesivo que se han omitido de las FIGS. 1-2.  
 La FIG. 4 es una vista plana, desde la parte superior de una parte del biosensor de la FIG. 1, con partes separadas para mostrar los detalles subyacentes.  
 Las FIGS. 5 y 5A muestran un diagrama de flujo del proceso para un método para producir un biosensor de acuerdo con la presente invención.  
 30 La FIG. 6 es una vista en perspectiva que muestra el procesamiento de bobina abierta y corte de un material de tira útil para formar el sustrato de la parte inferior del biosensor de la presente invención.  
 La FIG. 7 es una vista en perspectiva de una parte de una tira, 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 parte de la tira de la FIG. 7 y que incluye una composición de reactivo revestida sobre la misma.  
 35 La FIG. 9 es una vista en perspectiva, con las partes despiezadas que muestra una capa de separación y las capas de adhesivo y láminas protectoras asociadas.  
 La FIG. 10 es una vista en perspectiva con las partes despiezadas de una parte de la capa de separación con cámaras pre-capilar separadas y la capa de separación que se alinea para laminado a un sustrato de base que tiene patrones de electrodo sobre el mismo.  
 40 La FIG. 11 es una vista en perspectiva de un montaje del sustrato de base con la capa de separación.  
 La FIG. 12 es una vista en perspectiva, con las partes despiezadas que muestra la combinación del cuerpo y las tapas de cámara para su montaje sobre el sustrato de base y la capa de separación.  
 La FIG. 13 es una vista en perspectiva de una parte de un montaje que incluye las varias capas que comprende el biosensor.  
 45 La FIG. 14 es una vista en perspectiva de una parte de la formación de tira que incluye varios biosensores que se pueden desprender.  
 La FIG. 15 es una vista en perspectiva de un solo biosensor separado de la formación de tira montada.

50 Descripción de las realizaciones preferentes

Para los fines de promover una comprensión de los principios de la invención, a continuación se hará referencia a las realizaciones específicas que se ilustran en el presente documento y se usará un lenguaje específico para describir las mismas. Sin embargo se entenderá que no de ese modo no se pretende ninguna limitación del alcance  
 55 de la invención. Cualquier alteración y modificación adicional en los procesos o dispositivos que se describen, y cualquier aplicación adicional de los principios de la invención tal como se describe en el presente documento, se contemplan tal como podrían producirse normalmente a alguien con experiencia en la materia a la que se refiere la invención.

60 Sistema

Un sistema que es útil para evaluar un analito en una muestra de fluido incluye dispositivos y métodos para evaluar la muestra de fluido para el analito diana. Como se describe más completamente en lo sucesivo, la evaluación puede variar desde la detección de la presencia del analito a la determinación de la concentración del analito. El analito y la muestra de fluido pueden ser cualquiera para los que el sistema de ensayo sea apropiado. Para fines de explicación  
 65

solamente, se describe una realización preferente en la que el analito es glucosa y la muestra de fluido es sangre o fluido intersticial. Sin embargo, el alcance de la presente invención no está limitado claramente de ese modo.

#### Sensor

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

#### Medidor

15 El sensor se usa en combinación con un medidor para la determinación del analito en la muestra de fluido. El medidor incluye de forma convencional una conexión con los electrodos del sensor y sistema de circuitos para evaluar la señal electroquímica que corresponde a la concentración del analito. El medidor también puede incluir medios para determinar que la muestra de fluido ha sido recibida por el sensor, y que la cantidad de muestra de fluido es suficiente para el ensayo. El medidor por lo general almacenará y presentará los resultados del análisis, o como alternativa puede proporcionar los datos a un dispositivo separado.

#### Analito - Características

25 El sistema puede proporcionar una indicación cualitativa o cuantitativa para el analito. En una realización, el sistema indica simplemente la presencia del analito en la muestra de fluido. El sistema también puede proporcionar una lectura de la cantidad o concentración del analito en la muestra de fluido. En una realización preferente, una característica de la presente invención es que se obtiene rápidamente una lectura altamente exacta y precisa de la concentración de analito a partir de un pequeño volumen de muestra de fluido.

#### Analito - Tipo

35 El sistema es útil para la determinación de una gran diversidad de analitos. La tira de ensayo, 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 se configura y se usa para el ensayo de un analito en un fluido biológico. Los analitos de ese tipo pueden incluir, por ejemplo, glucosa, colesterol, colesterol HDL, triglicéridos, lactatos, lactato deshidrogenasa, alcohol, ácido úrico, y ácido 3-hidroxiбутírico (cuerpos cetónicos). Las modificaciones proporcionales al sistema serán evidentes para las personas con experiencia en la materia. Para fines de explicación, y en una realización particularmente preferente, el sistema se describe con respecto a la detección de glucosa en un fluido biológico.

#### Agentes de interferencia

45 Las metodologías de ensayo se pueden ver influidas de formas diversas por la presencia de agentes de interferencia en la muestra de fluido. Por ejemplo, el ensayo de glucosa en una muestra de sangre se puede ver influido por factores tales como oxígeno, bilirrubina, hematocrito, ácido úrico, ascorbato, acetaminofeno, galactosa, maltosa, y lípidos. El presente sistema se puede adaptar para minimizar o eliminar los efectos adversos de agentes de interferencia que también pueden estar presentes en la muestra de fluido. Estos efectos pueden abordarse mediante la selección apropiada de materiales y parámetros de ensayo, tal como mediante la selección de las químicas que se sabe que para influir menos, o en absoluto, con los posibles agentes de interferencia. Como se sabe en la técnica, también se puede adoptar otras etapas para abordar los posibles efectos de interferencia, tales como el uso de revestimientos o películas que evitan que el agente de interferencia entre en la zona de ensayo. Además, se pueden usar modificaciones a las configuraciones de electrodo o métodos de consulta para minimizar los efectos de interferencia.

#### Tipo de Fluido

60 El sistema es útil con una gran diversidad de muestra de fluidos, y se usa preferentemente para la detección de analitos en un fluido biológico. En este contexto, la expresión "fluido biológico" incluye cualquier fluido corporal en el que el analito se puede medir, por ejemplo, fluido intersticial, fluido dérmico, sudor, lágrimas, orina, líquido amniótico, líquido espinal y sangre. El término "sangre" en el contexto de la invención incluye sangre completa de sus componentes sin células, en particular plasma y suero. Además, el sistema es útil en relación con fluidos de control que se usan de una forma convencional para verificar la integridad del sistema para su ensayo.

65 En una realización preferente, el sistema se usa para el ensayo de glucosa. En este caso el fluido de muestra puede incluir de forma específica, por ejemplo, sangre capilar recién recogida obtenida de la punta del dedo o de sitios

alternativos aprobados (por ejemplo, antebrazo, palma, lóbulo de la oreja, brazo, pantorrilla y muslo), sangre venosa recién obtenida y soluciones de control suministradas con o para el sistema

El fluido puede ser adquirido y suministrado a la tira de ensayo de cualquier manera. Por ejemplo, una muestra de sangre se puede obtener de forma convencional mediante una incisión en la piel, tal como con una lanceta, y a continuación poniendo en contacto la tira de ensayo con el fluido que aparece en la superficie de la piel. Un aspecto de la presente invención es que la tira de ensayo es útil con muestras de fluido muy pequeñas. Por lo tanto, es una característica deseable de la invención que solo se requiera una ligera incisión en la piel para producir el volumen de fluido requerido para el ensayo, y el dolor y otras preocupaciones con respecto a un método de este tipo se pueden

También se sabe bien que diferentes ubicaciones en la piel producirán más o menos cantidad de sangre en el momento de la punción. La punta del dedo, por ejemplo, es un sitio usado comúnmente para obtener una muestra de sangre porque produce una cantidad de sangre relativamente grande en el momento de la punción. Sin embargo, también se sabe que las zonas que producen grandes volúmenes de sangre generalmente se asocian con mayores grados de dolor para el usuario. Por lo tanto, una ventaja adicional del presente sistema es que el volumen requerido de muestra de fluido es lo suficientemente pequeño como para que la tira de ensayo sea útil con la cantidad de sangre que se obtiene por lo general al punzar zonas de la piel menos productivas, pero también menos dolorosas, tales como la palma de la mano y la parte superior del brazo. El uso de estos lugares para obtener muestras de fluido para el ensayo en ocasiones se conoce como "ensayo en sitio alternativo". La presente invención es particularmente muy adecuada para su uso con muestras de fluido, por ejemplo, sangre o fluido intersticial, obtenidos en estos sitios alternativos.

#### Tira de Ensayo - General

Introducción.

La tira de ensayo incluye varios componentes básicos. La tira comprende un pequeño cuerpo que define una cámara en la que se recibe la muestra de fluido para el ensayo. Esta "cámara de recepción de muestra" se rellena con la muestra de fluido con medios adecuados, preferentemente mediante acción capilar, pero también opcionalmente ayudada por presión o vacío. La cámara de recepción de muestra incluye electrodos y química adecuados para producir una señal electroquímica que indica que el analito está en la muestra de fluido.

#### Descripción Básica

Haciendo referencia en particular a las figuras, se muestra una realización preferente de una tira de ensayo útil de acuerdo con la presente invención. La tira de ensayo 10 incluye un sustrato de base 12, una capa de separación 14 y una capa de revestimiento 16 que comprende tapa de cuerpo 18 y tapa de cámara 20. La capa de separación 14 incluye una parte vacía 22 para proporcionar una cámara de recepción de muestra 24 que se extiende entre el sustrato de base 12 y la capa de revestimiento 16.

El sustrato de base 12 lleva un sistema de electrodo 26 que incluyen la pluralidad de electrodos 28 y marcas de electrodo 30 que terminan en almohadillas de contacto 32. Los electrodos se definen como las partes de las marcas de electrodo 30 que se colocan dentro de la cámara de recepción de muestra 24. Se pueden salir esas configuraciones del sistema de electrodos 26, tal como se presenta en lo sucesivo. Un sistema de reactivo adecuado 33 cubre al menos una parte de los electrodos o pares de electrodos 28 dentro de la cámara de recepción de muestra.

La tapa de cuerpo 18 y la tapa de cámara 20 que se superpone a la capa de separación 14 define una ranura 34 entre las mismas, ranura que define una abertura de ventilación se comunica con la cámara de recepción de muestra para permitir que el aire de escape de la cámara a medida que una muestra de fluido entra en la cámara desde la abertura del borde o la abertura que recibe el fluido 35. La tira de ensayo por lo tanto incluye un extremo de dosificación 36 y un extremo de inserción del medidor 38. La forma del extremo de dosificación por lo general se puede distinguir del extremo del medidor con el fin de ayudar a los usuarios. Además, se usan preferentemente gráficos de la tira para mejorar adicionalmente la capacidad de intuición del diseño de la tira; por ejemplo, la flecha 31 indica la dirección de la inserción de la tira en el medio.

#### Dimensiones Generales.

La tira de ensayo es un dispositivo relativamente pequeño que se dimensiona para compactibilidad y facilidad de almacenamiento y uso. En una realización habitual, la longitud de la tira es del orden de 20 a 50 mm, preferentemente de aproximadamente 33 a aproximadamente 38 mm, de longitud, y de 5 a 15 mm, preferentemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 9 mm, de ancho. La distancia de la ranura o abertura de ventilación 34 al borde del medidor se dimensiona para proporcionar una "zona de agarre" en la que no hay sangre presente, y para proteger contra la contaminación de la sangre de la zona de contacto del medidor, y por lo tanto puede estar en el intervalo de 5 a 35 preferentemente  $\geq 13$  mm. La longitud de la parte de la tira de ensayo (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 de ensayo.

5 La construcción laminar preferente de la tira de ensayo también proporciona un dispositivo que es relativamente fino. El grosor mínimo de la tira permite una colocación fácil de la tira en recipientes apropiados que son convenientes para el usuario. Por ejemplo, el grosor total de la tira de ensayo puede ser de aproximadamente 500 a 525  $\mu\text{m}$ . El grosor de la parte de la tira de ensayo que se insertan el contacto del medidor puede ser de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ .

#### 10 Sustrato

La tira de ensayo incluye un sustrato de base 12 que comprende un material aislante que soporta el sistema de electrodos y otros componentes. Por lo general, los plásticos tales como polímeros de vinilo, poliimidas, poliésteres, y estirenos proporcionan propiedades eléctricas y estructurales que son necesarias. Además, dado que la tira de ensayo se puede producir preferentemente en masa a partir de rollos de material, es deseable que las propiedades del material sean apropiadas para que tengan una flexibilidad suficiente para el procesamiento con rodillos, a la vez que también proporcionan 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; naftalato de polietileno (PEN); y poliimida, o mezclas de dos o más de estos. Las poliimidas están disponibles en el mercado, por ejemplo con el nombre comercial Kapton®, de E.I. duPont de Nemours and Company of Wilmington, DE (duPont). Un material de sustrato de base particularmente preferente es MELINEX® 329 disponible en duPont.

#### Electrodos

25 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 por medio de reacciones oxidación y de reducción electroquímica dentro del sensor. Estas reacciones se transducen a una señal eléctrica que se puede correlacionar con una cantidad por concentración del analito. La tira de ensayo por lo tanto incluye un sistema de electrodos 26 que comprende un conjunto de electrodos de medición, 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 se configura de modo que la muestra de fluido que entra en la cámara se coloca en contacto electrolítico tanto con el electrodo de trabajo como con el contraelectrodo. Esto permite que la corriente eléctrica fluya entre los electrodos de medición para realizar 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 se electrooxida o se electrorreduce con o sin la intervención de un mediador redox. 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 con una magnitud igual y con un signo opuesto al de la corriente que pasa a través del electrodo de trabajo. El término "contraelectrodo" pretende incluir contraelectrodos que también funcionan como electrodos de referencia (es decir, contraelectrodos/electrodos de referencia).

Material del electrodo.

45 El electrodo de trabajo y el contraelectrodo, y las partes restantes del sistema de electrodos, se pueden formar a partir de una diversidad de materiales, tal como se conoce en la técnica. Los electrodos deberían tener una resistencia eléctrica relativamente baja y deberían ser electroquímicamente inertes con respecto al intervalo de funcionamiento de la tira de ensayo. Los conductores adecuados para el electrodo de trabajo incluyen oro, paladio, platino, carbono, titanio, dióxido de rutenio, y óxido de indio y estaño, e iridio, así como otros. El contraelectrodo se puede realizar con el mismo material o diferentes materiales, por ejemplo, plata/cloruro de plata. En una realización preferente, el electrodo de trabajo y el contraelectrodo son ambos electrodos de oro.

Aplicación del electrodo.

55 Los electrodos se pueden aplicar al sustrato de base de cualquier forma que produzca electrodos de conductividad e integridad adecuadas. En la técnica se conocen bien procesos a modo de ejemplo, e incluyen, por ejemplo, metalizado por bombardeo, impresión, etc. En una realización preferente, se proporcionan electrodos de oro mediante revestimiento del sustrato de base y a continuación eliminación de las partes seleccionadas del revestimiento para producir el sistema de electrodos. Un método de eliminación preferente es la ablación con láser, Las más preferentemente la ablación con láser de campo amplio, tal como se desvela en la Solicitud de Patente de Estados Unidos, N.º de Serie 10/601.144, presentada el 20 de junio de 2003, con el título Método para Fabricar un Biosensor.

65 Las técnicas de ablación con láser por lo general incluye la ablación de una sola capa de metal metálica o de una composición de múltiples capas que incluye un material aislante y un material conductor, por ejemplo, un laminado

metálico de una capa de metal recubierta sobre o laminada con respecto a un material aislante (que se discute a continuación). La capa metálica puede contener metales puros, aleaciones, u otros materiales, que son conductores metálicos. Los ejemplos de metales o conductores similares a metales 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 seleccionan para que sean esencialmente no reactivos con respecto a sistemas biológicos; los materiales de ese tipo incluyen: oro, platino, paladio, iridio, plata, o aleaciones de estos metales u óxido de indio y estaño. La capa metálica puede tener cualquier grosor deseado. En una realización preferente, el grosor es de aproximadamente 500 nm.

#### Configuración.

El sistema de electrodos puede tener una diversidad de configuraciones adecuadas para el funcionamiento de la tira de ensayo y el medidor. Para cualquier realización, los electrodos de trabajo y contraelectrodo preferentemente se colocan y se dimensionan para minimizar el volumen de muestra de fluido requerido para cubrirlos. También es preferente que los electrodos se configuren para mantener un flujo de corriente de una magnitud suficiente como para que se pueda medir usando un medidor de mano relativamente barato.

A modo de ejemplo adicional, una realización preferente incluye un contraelectrodo que se extiende alrededor de ambos lados del electrodo de trabajo. Por lo tanto el contraelectrodo tiene dos elementos, un enfrente del electrodo de trabajo y el otro por detrás del electrodo de trabajo, a medida que la muestra de fluido entra en la cámara de recepción de muestra. De forma más específica, el contraelectrodo incluye los elementos 40 y 42 que se extienden a través de la cámara de recepción de muestra. Cada uno de estos elementos tiene un ancho de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ . El elemento del electrodo de trabajo 44 tiene un ancho de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ , y tiene una separación de cada uno de los dos elementos de contraelectrodo de aproximadamente 255  $\mu\text{m}$ . Se observará que ésta es solamente una de una serie de configuraciones para los electrodos de medición.

Las marcas 30 y las almohadillas de contacto 32 se pueden proporcionar en una diversidad de formas coherentes con su función pretendida con respecto a la tira de ensayo. Estos componentes del sistema de electrodos están formados preferentemente por el mismo material que los electrodos, y se aplican preferentemente al sustrato de base de la misma manera y de forma simultánea con la aplicación de los electrodos. En una realización preferente, las marcas y las almohadillas de contacto son de oro, y se forman mediante ablación con láser, en particular como se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos, N.º de Serie 10/601.144, presentada el 20 de junio de June 20, 2003, con el título Método para Fabricar un Biosensor, cuya divulgación se incorpora por la presente como referencia. Sin embargo, se pueden usar materiales y métodos de aplicación alternativos.

#### Química

##### 40 Composición del Reactivo.

La tira de ensayo incluye un reactivo químico dentro de la cámara de recepción de muestra para que reaccione con el analito de ensayo para producir la señal electroquímica que representa la presencia del analito en la muestra de fluido. La capa de reactivo puede incluir una diversidad de componentes activos seleccionados para determinar la presencia y/o concentración de diversos analitos. La química de ensayo por lo tanto se selecciona con respecto al analito a evaluar. Como se sabe bien la técnica, existen numerosas químicas disponibles para su uso con cada uno de diversos analitos. Por ejemplo, en una realización preferente, la tira de ensayo 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 química apropiada está por lo tanto bien dentro de la experiencia en la materia, y en el presente documento no es necesaria una descripción adicional para permitir la preparación y uso de las tiras de ensayo con diversos analitos.

##### Adyuvantes.

De una forma convencional, la química del reactivo puede incluir una diversidad de adyuvantes para mejorar las propiedades o características del reactivo. Por ejemplo, la química puede incluir materiales para facilitar la colocación de la composición del reactivo sobre la tira de ensayo y para mejorar su adherencia a la tira, o para aumentar la tasa de hidratación de la composición del reactivo con la muestra de fluido. Además, la capa de reactivo puede incluir componentes seleccionados para mejorar las propiedades físicas de la capa de reactivo seca resultante, y la absorción de una muestra de ensayo líquida para análisis. Los ejemplos de materiales adyuvantes a usar con la composición de reactivo incluyen agentes espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizantes, tampones, detergentes, agentes gelificantes, cargas, agentes de apertura de película, agentes colorantes, y agentes que están dotados de tixotropía.

En una realización preferente de la muestra de ensayo, la mayor parte de la cámara está hueca antes de su uso. En la cámara de muestra muy pequeña de las tiras de ensayo de acuerdo con la presente invención, es preferente que

la capa de reactivo sea fina y uniforme. Dado que la cámara de recepción de muestra es muy pequeña, menos de aproximadamente 1  $\mu\text{l}$ , la profundidad o altura vertical de la cámara es pequeña. En consecuencia, la capa de reactivo no debería ocupar la mayor parte de la cavidad interna de la cámara. La capa de reactivo debería ser lo suficientemente fina como para dejar un amplio espacio para la muestra de ensayo en la cámara. Además, la muestra de ensayo líquida hidratará o disolverá la capa de reactivo fina más rápidamente. Tal como se discute en el esquema de reacción mencionado anteriormente, el mediador y los productos redox mediadores se difunden a través de y dentro de la capa/gradiente de reactivo a los electrodos. Los componentes y compuestos intermedios de reactivos tendrán una corta distancia para difundirse a través de un reactivo fino, por lo tanto, la difusión a los electrodos se producirá en menos tiempo. Además, la eficacia de la captura de los productos redox del mediador en un electrodo será mayor para una capa fina de enzima que para una capa gruesa.

Por el contrario, una capa de reactivo gruesa necesitará más tiempo para que la muestra de ensayo líquida se hidrate o se disuelva, y una capa de reactivo gruesa aumentará el tiempo que se necesita para que el mediador/productos redox del mediador se aproximen a los electrodos. Esto puede retrasar el tiempo para determinar la concentración de analito e introduce errores en la determinación.

Es preferente que la capa de reactivo tenga un grosor uniforme. La falta de homogeneidad del grosor puede conducir a variabilidad en la determinación de la concentración del analito. En una realización preferente, la capa de reactivo tiene un grosor uniforme en toda la cámara de recepción de muestra. En esta realización preferente, 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 parte central de la cámara. En consecuencia, la capa de reactivo no presenta un perfil de menisco.

La composición de reactivo se formula como una solución viscosa que se puede depositar en una capa uniforme, fina sobre la capa de base. La composición de reactivo incluye agentes espesantes y agentes tixotrópicos que mejoran las propiedades físicas de la capa de reactivo. Los agentes espesantes se seleccionan para proporcionar una matriz líquida, gruesa que tiene los componentes restantes dispersos de forma homogénea en la misma. Los agentes espesantes y tixotrópicos también inhiben el desplazamiento o dispersión del material líquido o semipastoso sobre la superficie de la capa de base después de que se haya depositado y antes de que se seque. Después de que se haya depositado la composición de reactivo, esta se seca rápidamente hasta una matriz rápidamente hidratable.

La composición de reactivo se proporciona para que se seque rápidamente ya sea con aire secado al aire o secado con calor. Después del secado, la capa de reactivo depositada presenta un grosor entre aproximadamente 1 micrómetro y aproximadamente 20 micrómetros. Más preferentemente, la capa de reactivo seca presenta un grosor entre aproximadamente 2 micrómetros y aproximadamente 6 micrómetros.

La composición de reactivo se puede depositar sobre la superficie de la tira de ensayo usando una diversidad de métodos de revestimiento que incluyen técnicas de revestimiento de cortina, revestimiento en estado fundido caliente, revestimiento con tamiz giratorio, revestimiento con cuchillas rascadoras o cuchillo de aire, revestimiento con barra de Meyer, y revestimiento con rodillo inverso. Estas técnicas son conocidas por los expertos en la materia. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la tira flexible en forma de una composición húmeda con un grosor entre aproximadamente 40  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ . Más preferentemente, la composición de reactivo se deposita en forma de una composición húmeda con un grosor entre aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 80  $\mu\text{m}$ . La composición se puede aplicar como una capa uniformemente fina de un reactivo directamente sobre la parte superior de los electrodos de medición y a lo largo de la longitud de una tira de múltiples tiras de ensayo, como una tira estrecha continua. En realizaciones preferentes, la tira estrecha tiene un ancho entre aproximadamente 7 mm y 8 mm y un grosor en seco entre aproximadamente 3  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 20  $\mu\text{m}$ . La composición también se practica sobre otros electrodos que pueden permanecer en la cámara de recepción de muestra, dependiendo de la funcionalidad deseada de tales electrodos externos.

#### Capa de Separación

Configuración.

La tira de ensayo incluye una capa de separación 14 que cubre el sustrato de base y que en parte define la cámara de recepción de muestra. En particular, la capa de separación 14 incluye una parte vacía 22 que define esencialmente la altura y el perímetro de la cámara de recepción de muestra 24. La parte vacía 22 se coloca de forma conveniente para que tenga una abertura del borde de modo que la muestra de fluido se pone en contacto con la abertura del borde para que entre en la cámara de recepción de muestra. La abertura del borde se sitúa preferentemente en el extremo de la tira de ensayo, aunque se observará que también es útil la colocación en un borde lateral.

## Materiales.

La capa de separación 14 se puede fabricar con cualquier material útil para la fabricación con la tira de ensayo. Dado que la capa de separación define parcialmente la altura de la cámara de recepción de muestra, el material debería tener una resistencia suficiente en grosores apropiados para la altura deseada de la cámara. Otra función de la capa de separación es protegerlas marcas de electrodo que se extienden a lo largo de la superficie superior del sustrato de base 12. El material también se debería unir fácilmente al sustrato de base y los materiales de revestimiento, ya sea mediante adhesivos sensibles al calor o sensibles a la presión, u otros medios tales como soldadura en caliente o láser. Los ejemplos de materiales adecuados incluyen una lámina de PET, PEN de 100  $\mu\text{m}$  recubierta o combinada con adhesivos tales como ARCare 90132 de Adhesives Research Inc.

## Capa de Revestimiento

### Configuración.

Una capa de revestimiento 16 se recibe sobre y se une a la capa de separación 14. Una función de la capa de revestimiento es formar la superficie superior de la cámara de recepción de muestra. Otra función es la provisión de una superficie hidrófila para que ayude en la adquisición de la muestra de ensayo. Además, la capa de revestimiento 16 define una abertura de ventilación 34 que permite que el aire es cárteles del interior de la cámara a medida que la muestra de fluido entra y se desplaza en la cámara de recepción de muestra.

La capa de revestimiento se puede formar como una pieza unitaria con la ranura 34' formada como un rebaje sobre el lado inferior de la misma, tal como se muestra en la FIG. 1B. Para fines de producción en masa, la ranura 34' debería ser esencialmente recta tal como se muestra y debería extenderse a través de todo el ancho de la tira de ensayo, de modo que el aire podría ventilar la cámara de recepción de muestra 24 con respecto a las aberturas de ventilación formadas en lados laterales opuestos de la tira de ensayo. Sin embargo, la ranura podría comprender una hendidura o rebaje que solamente se extendiera desde la cámara 24 a un lado de la tira de ensayo, aunque una configuración de ese tipo no es preferente para fines de producción en masa. En la FIG. 1C, la tapa de cámara 20 se "superpone" a la tapa de cuerpo 18. En esta disposición, una pequeña parte terminal 37 de la capa de revestimiento 20 se dobla hacia arriba y se extiende a través del borde de la tapa de cuerpo 18. De ese modo se forma una ranura 34" que tiene una sección transversal con una forma aproximadamente triangular tal como se puede observar en los bordes de la tira, en la que hay aberturas con forma triangular para permitir que el aire escape. En esta disposición de "superposición", la colocación precisa de la tapa de cámara 20 con respecto a la tapa de cuerpo 18 a lo largo de la dirección longitudinal de la tira no es críticamente importante. Es decir, la cantidad de materia de formación de revestimiento de la cámara que se superpone a la tapa de cuerpo 18 puede variar sin influir en las dimensiones o colocación de of la ranura. Esto tiene ventajas para la fabricación, tal como será evidente con referencia a la discusión que sigue a continuación. De acuerdo con la invención, sin embargo, la tapa de cuerpo 18 y la tapa de cámara 20 separadas para facilitar la fabricación y la formación de la abertura de ventilación. La tapa de cuerpo 18 y la tapa de cámara 20 están ambas colocadas esencialmente en el mismo plano horizontal. La tapa de cámara 20 cubre esencialmente la parte vacía 22 de la capa de separación, informa la parte superior de la cámara de recepción de muestra. La tapa de cámara incluye preferentemente un revestimiento o tratamiento hidrófilo 21 en su lado inferior, tal como se describe con más detalle a continuación. La tapa de cuerpo y la tapa de cámara se colocan de extremo a extremo en la dirección longitudinal a lo largo de la tira de ensayo e incluyen la ranura 34 entre las mismas tal como se muestra en la FIG. 1A. La ranura se coloca adyacente al extremo interior de la parte vacía 22 de la capa de separación, en la realización preferente en la FIG. 1A, forma un pequeño espacio que separa la tapa de cámara 20 de la tapa de cuerpo 18. El espacio constituye la abertura de ventilación 34 en comunicación con la cámara de recepción de muestra. La ranura 34 es esencialmente rectilínea y se extiende a través de la anchura de tira de ensayo 10. La ranura 34 se orienta esencialmente perpendicular aleje longitudinal o a lo largo de la tira de ensayo 10. El fluido de muestra que entra en la cámara de recepción de muestra expulsara el aire a través de la abertura de ventilación definido por la ranura 34. Si la ranura se forma como un espacio, una cierta parte a la mayor parte del aire expulsados al no de la parte superior de la tira de ensayo.

La ranura se sitúa en una posición con respecto a la cámara de recepción de muestra que es interior a la situación del sistema de electrodos 26. La muestra de fluido que entra en la cámara de recepción de muestra avanzará tan lejos como la abertura de ventilación, pero no más allá. Cuando se visualiza desde la parte superior, la ranura proporciona una indicación visual de una "línea de relleno", como se describe en el presente documento. La colocación de la abertura de ventilación por lo tanto asegurar que se puede recibir una muestra de fluido suficiente para cubrir completamente el sistema de electrodos. Al mismo tiempo, la colocación de la abertura de ventilación inhibirá el efecto de mecha continuo de la muestra de fluido más allá de la región del sistema de electrodos.

La formación de la ranura y de la abertura de ventilación mediante la separación de la tapa de cuerpo y la tapa de cámara es ventajosa adicionalmente porque evita la necesidad de formar de otro modo una abertura en la capa de revestimiento o capa de base. En la técnica anterior, se ha realizado una aproximación para formar la abertura de ventilación mediante punción de un orificio en cualquiera de la película superior o inferior que forma la cámara de recepción de muestra, que edita las cuestiones de fabricación debido a la necesidad de situar de forma precisa el orificio con respecto a la cámara de recepción de muestra. Aunque esta aproximación también es adecuada para

una tira de ensayo, el diseño preferente que se describe en el presente documento evita la necesidad de alinear la abertura de ventilación de forma lateral con respecto a la tira de ensayo. Además, el presente diseño es muy adecuado para producción en masa de las tiras de ensayo mediante técnicas de procesamiento con rodillo, como se describe en lo sucesivo en el presente documento.

Al mismo tiempo, la construcción de ventilación se puede realizar de un modo tal que se inhiba el efecto de mecha de la muestra de fluido de forma lateral a lo largo de la ranura más allá la zona de la zona media que cubre la cámara de recepción de muestra 24. Por ejemplo, la tapa de cuerpo se asegura preferentemente a la capa de separación por medio de un adhesivo 46, tal como se muestra en la FIG. 3. El uso de un adhesivo hidrófobo inhibirá el desplazamiento de sangre, fluido intersticial, y otros líquidos acuosos a lo largo de la ranura que se extiende lateralmente mediante acción capilar. Toda la tapa de cuerpo, o partes adyacentes a la abertura de ventilación, también pueden ser hidrófobas para inhibir el efecto de mecha. En la técnica se conocen bien materiales y métodos para proporcionar propiedades hidrófobas a una superficie de un material. La tapa de cámara se puede asegurar a la capa de separación con un adhesivo igual o diferente al adhesivo 46, tal como se explica a continuación.

El adhesivo 49 asegura la capa de separación al sustrato de base 12. El adhesivo 46, así como el adhesivo 49 y el material para la capa de separación 14, todos están formados por material hidrófobo en la realización que se ilustra. Como tal, las paredes verticales de la cámara de capilaridad formada en la tira 10 son hidrófobas. Por el contrario, la parte inferior de la cámara está cubierta con un reactivo hidrófilo y el lado inferior de la capa 20 está recubierto con un revestimiento 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 un buen efecto de mecha de la muestra en la cámara de capilaridad, ya que evita la migración no deseada de la muestra lateralmente desde la cámara, por ejemplo, entre la capa de separación y el sustrato de base.

#### 25 Materiales.

La tapa de cuerpo y la tapa de cámara se pueden preparar con cualquier material útil para la fabricación con la tira de ensayo. Los materiales para la tapa de cuerpo y la tapa de cámara pueden ser iguales o diferentes. Los materiales se deberían unir fácilmente a la capa de separación, ya sea mediante adhesivos sensibles al calor o sensibles a la presión, u otros medios tales como soldadura en caliente o láser. Los ejemplos de materiales adecuados tanto para la tapa de cámara como para la tapa de cuerpo incluyen una lámina de PET con un grosor de aproximadamente 127  $\mu\text{m}$ . La tapa de cámara incluye preferentemente una capa hidrófila 21 tal como se desvela en el documento WO 02/085185, ARFlow® 90191 de Adhesives Research Inc.

La capa de revestimiento 16 también se puede usar para facilitar la visualización de la muestra de fluido a medida que entra en la cámara de recepción de muestra. Esto se consigue mediante la provisión de un contraste de color o sombreado entre la cámara y la zona circundante. Por ejemplo, en una aproximación la parte de la capa de separación 14 que rodea el hueco 22 se proporciona con un color que contrasta con el color de la parte inferior de la cámara de recepción de muestra, por ejemplo, el color de la capa de reactivo química colocada en la parte inferior de la cámara. Este color de contraste se puede proporcionar, por ejemplo, mediante la aplicación de una tinta u otro agente colorante a las partes de la capa de separación adyacentes a la cámara de recepción de muestra. Una sección coloreada 23 de la capa 14 se fotografía en la FIG. 2. A continuación la tapa de cámara 20 se proporciona como un material transparente o translúcido que permite que el usuario visualice la cámara y la capa de separación adyacente. A medida que la muestra de fluido entra desde el borde de la tira de ensayo, el usuario es capaz de observar su avance a medida que se desplaza mediante acción capilar hacia la abertura de ventilación. Este tipo de características se describe adicionalmente en el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.997.817, expedida por Crismore *et al.*, el 7 de diciembre de 1999, y se incorpora por la presente como referencia.

#### 50 Capilar

La cámara de recepción de muestra formada por el sustrato de base, la capa de separación y la tapa de cámara esencialmente comprende varias secciones en las que la muestra de fluido se desplazará. Una primera, sección de entrada 48 se extiende desde la abertura del borde a la zona del sistema de electrodos de medición. Una segunda, sección de ensayo 50 se extiende a través de la zona del sistema de electrodos. Una tercera sección 52 se extiende desde el sistema de electrodos de medición a la abertura de ventilación. Se observará que el ensayo de la muestra de fluido se produce en la zona del sistema de electrodos en la sección de ensayo. Sin embargo, la muestra de fluido también se cargará en las otras secciones de la las en el transcurso de la carga de la tirada de ensayo.

#### 60 Dimensiones.

La altura y la anchura de la cámara de recepción de muestra se seleccionan basándose en una diversidad de consideraciones, incluyendo el fluido que se está sometiendo a ensayo y el analito en cuestión. Por ejemplo, las dimensiones de la cámara se adaptan preferentemente para promover el flujo capilar del fluido de ensayo en la cámara. Las alturas preferentes de la cámara para uso con sangre, por ejemplo, son de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ , y lo más preferentemente de 120 a 180  $\mu\text{m}$ . En una realización preferente, la altura de la cámara es de aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ . La anchura de la cámara se puede seleccionar del mismo modo para que

se empareje con una muestra de fluido y analito deseada. Por ejemplo, la cámara debería tener una anchura suficiente como para exponer una cantidad deseada de los electrodos de trabajo y contraelectrodo, y debería ser lo suficientemente estrecha como para evitar el requisito de una cantidad excesiva de muestra de fluido para el ensayo. La anchura de la cámara de recepción de muestra y la anchura del electrodo de trabajo definen la zona del electrodo de trabajo. La zona representa una consideración de diseño adicional ya que se refiere a una amplitud de señal y un diseño del instrumento.

Volumen.

La cámara de recepción de muestra se proporciona preferentemente con un volumen mínimo, con el fin de reducir la cantidad de muestra de fluido necesaria para realizar un ensayo. La cámara de recepción de muestra global, incluyendo las tres secciones que se extienden desde el borde que se abre a la abertura de ventilación, tiene un volumen total que se puede considerar como un factor del área de la cámara desde el borde a la ventilación, y la altura de la cámara desde el sustrato de base a la tapa de cámara 20. Sin embargo, el "volumen neto de la cámara" comprende el volumen de muestra de fluido necesario para rellenar este espacio. El volumen neto de la cámara de la cámara de recepción de muestra será el equivalente del volumen total de la cámara menos el volumen ocupado por los electrodos, el reactivo, y quizá otros artículos tales como material sorbente, si estuvieran incluidos.

Como se indicaba anteriormente, el volumen de la cámara de recepción de muestra global está comprendido por los volúmenes que se pueden atribuir a las tres secciones de la cámara. Cada una de las secciones generalmente se dimensiona para que sea tan pequeña como práctica para el funcionamiento de la tira de ensayo. Sin embargo, hay consideraciones, y posiblemente otras funciones, influirán en el tamaño de cada sección.

Los volúmenes de la cámara son un factor tanto de altura como de área. La altura es un resultado del grosor de la capa de separación y del grosor de los adhesivos usados para asegurar la capa de separación a las otras capas. Por ejemplo, el sustrato de base y la tapa de cámara se unen en lados opuestos de la capa de separación. Un método de unión es el sellado de los materiales con calor o con láser. Sin embargo, es preferente unir estas capas mediante el uso de adhesivos adecuados, tales como agresivos sensibles al calor o sensibles a la presión. En esta aproximación, la altura de la cámara de recepción de muestra, es decir, la distancia entre las superficies opuestas del sustrato de la parte inferior y la tapa de cámara, estarán influidas por el grosor de las capas de adhesivo. Como se muestra en la FIG. 3, la cámara 24 está unida en su lado inferior mediante la capa de reactivo 33 y su parte superior mediante la tapa de cámara 20. Sin embargo, las capas de adhesivo 46 y 49 así como la capa de separación 14 definen la altura total de la cámara 24.

Además, en una realización preferente, la capa de reactivo 33 se extiende entre el sustrato de base 12 y la capa de separación 14 y ciertamente se extiende hacia toda la anchura de la tira de ensayo, como se describe a continuación. Por lo tanto la altura de la cámara también puede aumentar debido a la presencia de la capa de reactivo que subyace a la capa de separación. En esta realización, si se usa adhesivo, se hay encontrado que el adhesivo se puede combinar con el reactivo de ensayo, al menos en una medida que hace que el adhesivo rellene en cierto modo y alrededor del reactivo. Por lo tanto no es necesario que las alturas de las capas de reactivo y adhesivo sean aditivas en latirá de ensayo final. En su lugar, la altura del espacio resultante entre el sustrato de base and the capa de separación es en cierto modo menor que la combinación de las alturas de las capas separadas de reactivo y adhesivo antes del laminado.

También se ha encontrado que la combinación del adhesivo y del reactivo ayuda de forma ventajosa a crear un sellado a lo largo del borde de la cámara de recepción de muestra. Éste inhibe el efecto de mecha de la muestra de fluido en el material de de reactivo presente en el espacio entre el sustrato de base y la capa de separación en el marco temporal necesario para realizar un ensayo.

La primera sección de entrada está disponible para recibir la muestra de fluido y dirigirla a los electrodos de medición. Esta sección puede tener un tamaño bastante pequeño, y puede comprender solamente un segmento corto de la cámara. La longitud de esta sección es preferentemente inferior a 1200  $\mu\text{m}$ .

La segunda sección de ensayo incluye los electrodos de ensayo o de medición, y también se dimensiona para que necesite un volumen mínimo de muestra de fluido. Un factor principal que controla el tamaño de esta segunda sección será el tipo, número, tamaño, fuerza de la señal, y configuración de los electrodos de medición. La longitud de esta sección es preferentemente de aproximadamente 1260  $\mu\text{m}$ . Un volumen preferente es aproximadamente 0,265  $\mu\text{l}$ , basándose en la altura del capilar de 0,15 mm, y una anchura del capilar de 1,4 mm.

El fluido de muestra se desplaza pasando los electrodos de medición y en la tercera sección. Esto proporciona garantía, y permite preferentemente la confirmación específica, de que los electrodos de medición están soldados de forma apropiada. Esta confirmación se puede realizar mediante observación visual por el usuario, o mediante medios de detección automáticos. Por ejemplo, en esta sección se pueden colocar electrodos de suficiencia de dosis para detectar cuando la muestra de fluido ha evolucionado en esta sección hasta un punto en el que se asegura la humectación de los electrodos de medición. Esto se puede usar como un agente de desencadenamiento para el inicio de la aplicación del potencial de los electrodos. La longitud de esta sección es preferentemente de 50 a

500  $\mu\text{m}$ , y más preferentemente de 255 a 400  $\mu\text{m}$ . El volumen es preferentemente de 0,01 a 0,1  $\mu\text{l}$ , y que más preferentemente de 0,05 a 0,08  $\mu\text{l}$ .

5 En una realización preferente, el volumen neto de la cámara total de la cámara de recepción de muestra es inferior a aproximadamente 1  $\mu\text{l}$ , y es más preferentemente inferior a aproximadamente 0,5  $\mu\text{l}$ . Los intervalos deseables para el volumen neto de la cámara 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

10 La cámara de muestra puede estar de otro modo vacía, que es preferente, o como alternativa puede incluir material sorbente. Los materiales sorbentes adecuados incluyen poliéster, nailon, celulosa, y derivados de celulosa tales como nitrocelulosa. Un material sorbente se podría incluir para facilitar la absorción de la muestra de fluido ayudando en el efecto de mecha del fluido en la cámara. El uso de un material sorbente también podría servir para reducir  
15 adicionalmente el volumen de hueco de la cámara de recepción de muestra para la recepción de la muestra de fluido.

#### Método de Carga

20 El método de carga de la cámara de muestra preferente es mediante acción capilar. Además, la carga de la tira de ensayo puede aumentar con otros medios, tales como aplicación de una presión en la muestra de fluido para empujarla en la cámara de muestra, y/o creación de un vacío en la cámara de muestra para extraer la muestra de fluido en la cámara.

#### Revestimiento hidrófilo

25 Para fines de carga capilar de la cámara de recepción de muestra, diversas aproximaciones están disponibles para facilitar el movimiento de la muestra de fluido en la cámara. Por ejemplo, cualquiera o todas las superficies que definen la cámara se pueden seleccionar o tratar para mejorar la halterofilia. Un tratamiento de ese tipo puede comprender el uso de materiales hidrófilos conocidos, aplicación de un material hidrófilo sobre la superficie, o  
30 tratamiento de las superficies para aumentar la hidrofilia, como se describe a continuación. Además, la composición del reactivo se puede formular para que se hidrate fácilmente y para motivar el llenado de la cámara de recepción de muestra. Como se ha indicado anteriormente, también se puede usar un sorbente.

#### Ensayo de Analito

35 El sensor electroquímico funciona mediante la aplicación de un potencial o serie de potenciales adecuados a través de los electrodos de trabajo y contraelectrodo, 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 contraelectrodo dependerá del mediador redox. Además, el potencial en el electrodo en el que se hace la electrólisis del analito por lo general es lo  
40 suficientemente grande como para dirigir la reacción electroquímica a o casi a la finalización, pero la magnitud del potencial es preferentemente no lo suficientemente grande como para inducir una reacción electroquímica significativa de agentes de interferencia. Para glucosa, por ejemplo, una diferencia de potencial aplicada por lo general está entre aproximadamente +100 mV y aproximadamente +550 mV cuando se usa un potencial de DC. Cuando se usan potenciales de AC éstos pueden ser habitualmente de 5 a 100 mV de RMS.

45 Un potencial se puede aplicar antes o después de que la muestra comience a entrar en la cámara de recepción de muestra. Sin embargo, un potencial se aplica preferentemente después de que la muestra haya entrado en la cámara, y más preferentemente después de que se haya determinado que hay una cantidad suficiente de muestra en la cámara de recepción de muestra para realizar un ensayo. El momento de la aplicación de un potencial se  
50 puede desencadenar en una diversidad de formas, incluyendo la observación visual por el usuario, un retraso del tiempo después de la toma de muestras del fluido a la tira de ensayo, o después de la detección eléctrica u otra detección automatizada de una cantidad suficiente de muestra de fluido en la cámara. Las alternativas visuales y eléctricas también pueden actuar como protecciones superfluas para asegurar el funcionamiento apropiado del dispositivo. Preferentemente, la tira de ensayo y el sistema usan medios de detección separados, tales como  
55 electrodos de suficiencia de dosis, para determinar cuándo la muestra de fluido ha cargado suficientemente la cámara.

60 Cuando se aplica un potencial y la muestra de fluido está en la cámara de recepción de muestra, una corriente eléctrica fluirá entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. La corriente puede ser un resultado de la electrólisis del analito en la muestra de fluido cuando se aplica a un potencial de magnitud suficiente. En este caso, la reacción electroquímica se produce a través del mediador redox, generalmente como se ha descrito anteriormente. En el caso en el que se aplica a un potencial de amplitud pequeña, particularmente en el caso de potenciales de AC, la corriente se produce no necesariamente mediante electrólisis, sino mediante movimiento iónico y respuesta del dieléctrico en la cámara de muestra. Los expertos en la materia reconocerán que existen muchos mecanismos de  
65 reacción diferentes que conseguirán el mismo resultado.

Solución de control

Un ensayo se podía aplicar a la tira de ensayo después de dosificación para confirmar que una solución de control, e incluso que la solución de control correcta, se ha administrado. 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 de ensayo no se han almacenado de forma inadecuada o de otro modo se han maltratado. Las tiras aceptables recuperarán los valores dentro de los intervalos de tolerancia especificados para el lote de la tira en particular que se está sometiendo a ensayo. Los intervalos de tolerancia en cuestión se publicarán para cada lote de tira en la etiqueta del recipiente.

Método para fabricar la tira

En una realización preferente, el sensor comprende una tira de ensayo laminada, de múltiples capas 10. Como se ha descrito anteriormente, el laminado incluye un sustrato de base 12, una capa de separación 14, y que una capa de revestimiento 16. Estos componentes se pueden montar de diversas formas. Por ejemplo, los componentes se pueden ensamblar mediante el uso de adhesivos, sellado con calor, soldadura con láser, y una diversidad de otras técnicas adecuadas apropiadas para asegurar los materiales adyacentes. Las tiras de ensayo se ensamblan preferentemente en un gran número en una sola lámina o tira, y a partir de ese momento las tiras se separan para su almacenamiento y uso.

La tira de ensayo laminada se puede ensamblar de forma secuencial mediante colocación sucesiva de una capa de una vez. Como alternativa, la tira de ensayo se puede preparar mediante el ensamblaje y procesamiento de los componentes o capas individuales, que a continuación se laminan juntos para proporcionar la tira de ensayo funcional. En una forma preferente, dos o más componentes básicos de la tira de ensayo se preparan de forma simultánea. Entonces en una o en una serie de etapas de montaje o laminado, los componentes básicos se combinan para producir la tira de ensayo, que puede requerir o no un procesamiento adicional. En una realización preferente, la tira de ensayo se ensambla a partir de tres componentes básicos: un sustrato metalizado preferentemente con una capa de reactivo recubierto sobre electrodos metálicos definidos sobre el sustrato, una capa de separación que tiene una cavidad preformada en la misma, y una o más capas de acabado o revestimiento.

Con tales dimensiones pequeñas para la cámara de recepción de muestra, las características de la capa de reactivo pueden tener un impacto significativo en el funcionamiento de la tira de ensayo, en particular en vista de características de hidratación y mezcla. Por lo tanto la reproducibilidad de la cantidad, situación, grosor y otras propiedades de la capa de reactivo es importante. Por lo tanto es deseable que la composición incluya materiales que aumenten de forma específica las características físicas, tales como la uniformidad y el estado plano, de la capa aplicada.

En un aspecto particular, la tira de ensayo incluye una manera única de incorporar el reactivo. El reactivo se coloca en la cámara de recepción de muestra al menos en el electrodo de trabajo, y también preferentemente sobre el contraelectrodo. El reactivo se puede aplicar a la tira de ensayo en una diversidad de formas tal como se entiende bien en la técnica. En una realización preferente, la composición de reactivo se aplica como un revestimiento fino sobre los electrodos soportados en el sustrato de base.

Más particularmente, el reactivo se coloca sobre el sustrato de base de una manera que coloca la composición de reactivo entre el sustrato de base y la capa de separación. Esta forma de aplicación ayuda a hacer la capa de reactivo más plana y con un grosor más uniforme. Por el contrario, un procedimiento de la técnica anterior fue preparar primero el pocillo o cavidad de reacción, la continuación llena del reactivo en el pocillo. Sin embargo, esto puede dar como resultado una capa de reactivo más irregular debido a fenómenos tales como la formación de un menisco en el perímetro del pocillo. A su vez esto puede hacer que el reactivo tenga diferentes grosores adyacentes a las paredes laterales del pocillo de reacción en la parte interior, que puede producir inconsistencia en la carga de la cámara, intervalos de disolución prolongados, y mezcla inconsistente del reactivo con la muestra de fluido, y los últimos resultados del ensayo. Colocando el reactivo sobre el sustrato de base antes de añadir la capa de separación, no se produce el efecto de menisco para interrumpir 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 en masa de las tiras de ensayo.

Haciendo referencia a las figuras, se muestra que la tira de ensayo 10 incluye una capa de reactivo 33 que se extiende entre el sustrato de la parte inferior 12 y la capa de separación 14. Más particularmente, el reactivo forma una capa 33 que cubre tanto la superficie de la parte superior del sustrato de la parte inferior 12 como los electrodos 28. El reactivo cubre al menos el electrodo de trabajo, y también preferentemente el contraelectrodo. En la realización más preferente, la capa de reactivo se extiende en toda la anchura de la tira de ensayo. La capa de reactivo también se extiende preferentemente desde el borde final a la abertura de ventilación. La capa de reactivo se extiende de este modo por debajo de la capa de separación y forma capas entre la capa de separación y el sustrato de base.

La composición de reactivo se aplica al sustrato de la parte inferior o sustrato de base en cualquier forma adecuada que proporcione una capa deseada y uniforme que por último se extenderá por debajo de la capa de separación. El reactivo se aplica preferentemente en un revestimiento continuo directamente sobre el sustrato de la parte inferior, y sobre los electrodos recibidos sobre el mismo. Como se describe en lo sucesivo en el presente documento, la composición de reactivo se aplica lo más preferentemente en el transcurso de la producción de una gran cantidad de tiras de ensayo sobre una tira de material. De este modo, el reactivo se puede aplicar en la forma de una tira continua de material que se extiende sobre un rollo de sustrato que posteriormente se separa en tiras de ensayo individuales. Se permite que la composición de reactivo se seque o de otro modo se deposite y la capa de separación se aplica sobre la misma.

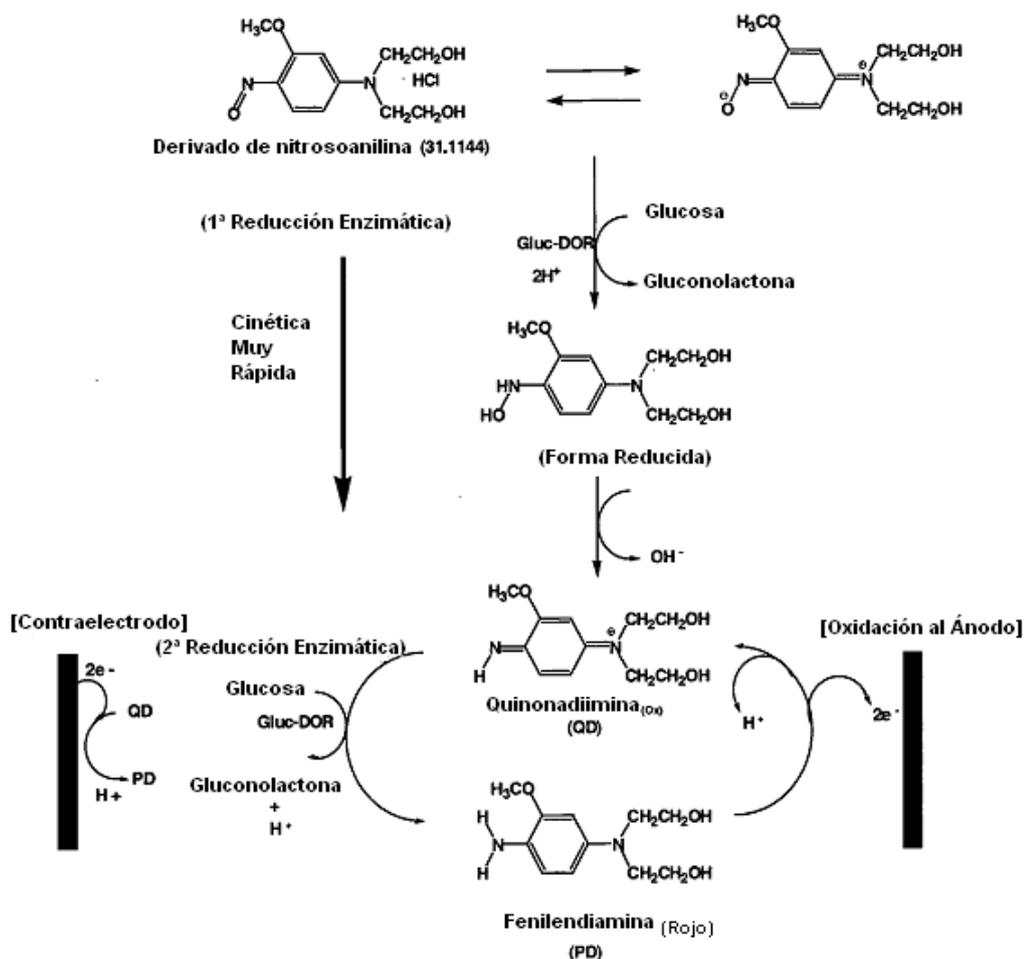
En un aspecto relacionado, una manera preferente de asegurar la capa de separación al sustrato que la parte inferior es el uso de un adhesivo. Además de asegurar las tapas juntas, se ha encontrado que el adhesivo participara lo suficiente con la composición de reactivo con el fin de ayudar al sellado del espacio entre el sustrato de la parte inferior y la capa de separación. Los adhesivos se colocan preferentemente sobre la capa de separación, que se laminan sobre el sustrato de base. De ese modo el adhesivo entra en contacto con la parte del reactivo que se extiende por debajo de la capa de separación.

Aunque la capa de separación de la realización ilustrada se forma a partir de material Melinex® con adhesivos en ambos lados de la misma, también es posible formar la capa de separación 14 como un material adhesivo continuo, tal como una cinta de doble cara.

En un aspecto adicional, se describe una realización preferente en la que el analito es glucosa. En el caso de glucosa, los componentes activos de la composición de reactivo por lo general incluirán una oxidorreductasa, tal como una enzima para glucosa; opcionalmente una coenzima o cofactor; y un mediador redox. Estos componentes generalmente se disuelven o se suspenden en una matriz. La muestra de ensayo líquida hidrata o disuelve la matriz, y el analito se difunde a través de la matriz para reaccionar con uno o más de los componentes activos. Por lo general, la enzima oxida la glucosa en la muestra de ensayo a gluconolactona y/o ácido glucónico. El mediador, a su vez, reacciona con u oxida la enzima reducida, y en consecuencia el mediador se reduce en el proceso. El mediador reducido se puede detectar en uno de los electrodos de la tira de ensayo.

En un ejemplo específico de un esquema de oxidación/reducción útil para detectar glucosa en sangre humana, una muestra de ensayo que contiene glucosa reacciona con una enzima tal como Glucosa-Di-Oxidorreductasa (Gluc-Dor), y que opcionalmente una coenzima o cofactor tal como pirrolo-quinolina-quinona (PQQ), en presencia de un mediador redox. El mediador puede incluir, por ejemplo, benzoquinona, complejos de metales de transición, por ejemplo, ferricianuro potásico, derivados de osmio (por ejemplo, complejos de osmio y bipyridilo tal como se describe en el documento WO 98/35225) y derivados de nitrosoanilina (véase el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.286.362). Esto produce la forma oxidada del analito, gluconolactona, y la forma reducida del mediador redox. A partir de ese momento el mediador transportar el equivalente redox del producto del mediador, el mediador reducido, a la superficie del electrodo por difusión. Ahí el mediador se oxida de forma cuantitativa a un potencial anódico definido, y la corriente resultante se relaciona con la concentración aparente de glucosa.

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



Archivo = Mediator\_311144\_RLN\_Rev\_0602002-Test.CDX

(1)

5 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 ensayo proporciona 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 reducida a continuación se somete a hidrólisis para formar quinonadiimina (QD). En una segunda reacción redox, enzimática, Gluc-Dor reacciona con glucosa para producir otra molécula de Gluc-Dor·2H<sup>+</sup> y gluconolactona. La Gluc-Dor·2H<sup>+</sup> reacciona con (se oxida por) quinonadiimina para regenerar Gluc-Dor, y produce un derivado de fenilendiamina (PD). La PD se oxida a continuación en el electrodo de trabajo para producir una corriente relacionada con la concentración de glucosa. Además, en el contraelectrodo QD se puede reducir a PD.

15 Adyuvantes.

Con tales dimensiones pequeñas para la cámara de recepción de muestra, las características de la capa de reactivo pueden tener un impacto significativo en el funcionamiento de la tira de ensayo, en particular en vista de características de hidratación y mezcla. El control y la reproducibilidad de la cantidad, posición, anchura, grosor, y otras propiedades de la capa de reactivo llegan a ser más importantes a medida que el volumen de la cámara disminuye y el tiempo de ensayo disminuye. Por lo tanto es deseable que la composición incluya materiales y

mejoren de forma específica las características físicas, tales como la uniformidad y el carácter plano, de la capa aplicada. Además, el método de aplicación puede influir en las características físicas, control, y reproducibilidad de la capa de reactivo.

5 La composición de reactivo por lo tanto también puede incluir una diversidad de adyuvantes para mejorar las propiedades o características del reactivo. Por ejemplo, la composición puede incluir material es adyuvantes para facilitar la colocación de la composición de reactivos sobre la tira de ensayo y para mejorar su adherencia a la tira. La composición tamil brinqué materiales para aumentar su tasa de hidratación y/o para aumentar su influencia en la acción capilar para cargar la cámara con la muestra de ensayo. Los ejemplos de materiales adyuvantes a usar con  
10 la composición de reactivo incluyen agentes espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizantes, tampones, detergentes, agentes gelificantes, cargas, agentes de apertura de película, agentes colorantes, y agentes que están dotados de tixotropía.

15 Los materiales o componentes adyuvantes deben influir en la aplicación, reproducibilidad y propiedades físicas de la capa de reactivo. Los materiales adyuvantes prevén incluir uno o más de los siguientes:  
Los agentes espesantes pueden incluir, por ejemplo, (1) almidones, gomas (por ejemplo, pectina, goma guar, goma de algarrobo (semilla de algarroba), goma de konjac, goma de xantano, alginatos, y agar), caseína, gelatina, y ficoloides; (2) celulosa y derivados de celulosa semisintética (carboximetil-celulosa, metil celulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa); (3) alcohol polivinílico y carboxi-vinilatos; y (4)  
20 bentonita, silicatos, y sílice coloidal. Los agentes espesantes preferentes incluyen una combinación de una goma de xantano comercializada con el nombre comercial Keltrol F por CP Kelco US, Inc., y que carboxilmetil celulosa comercializada con el nombre comercial AQUALON® CMC 7F PH por Hercules Inc., Aqualon Division.

25 Los agentes formadores de película y tixotrópicos útiles en la composición de reactivo incluyen polímeros y sílice. Los agentes tixotrópicos preferentes incluyen sílice comercializada con el nombre comercial Kieselsäure Sipernate FK 320 DS por Degussa AG. Los agentes formadores de película preferentes incluyen polivinilpirrolidona, comercializada con el nombre comercial polivinilpirrolidona Kollidon 25, por BASF, y dispersión de propionato de polivinilo.

30 Los estabilizantes para la enzima en el reactivo se pueden seleccionar entre sacáridos y sales de ácido mono-o di-graso. Los estabilizantes preferentes incluyen trehalosa comercializada con el nombre comercial dihidrato de D-(+)-Trehalosa o Sigma Chemical Co. y succinato sódico.

35 Los detergentes se pueden seleccionar entre jabones solubles en agua, así como compuestos de superficie activa sintéticos solubles en agua tales como sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos o sales de amonio opcionalmente sustituido de ácidos grasos superiores, por ejemplo, ácido oleico o esteárico, mezclas de ácidos grasos naturales, por ejemplo, de coco o aceite de sebo, sulfatos grasos, ésteres de ácidos sulfónicos, sales de ácidos alquil sulfónicos, sales de taurina de ácidos grasos, amidas de ácido graso, y amidas de éster. Los detergentes preferentes para la presente invención incluyen una amida de éster, n-octanoil-N-metilglucamida,  
40 comercializada con el nombre comercial Mega-8 por Dojindo Molecular Technologies, Inc., y una sal de ácido graso, la sal sódica de taurato de N-metil oleílo, comercializada con el nombre comercial Geropon T77 por Rhodia HPCII (Home, Personal Care and Industrial Ingredients).

45 Se debería entender que uno o más de los aditivos específicos que se han descrito anteriormente pueden presentar propiedades adicionales en consecuencia se podrían clasificar en una o más de las clases que se han indicado anteriormente.

Mediador.

50 Un mediador para su uso en la composición de reactivo se puede seleccionar como cualquier especie química (generalmente electroactiva) que puede 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. Por lo general, la participación del mediador en la reacción implica un cambio en su estado de oxidación (por ejemplo, una reducción), después de interacción con uno cualquiera del analito, la enzima, o un  
55 cofactor, o una especie que sea un producto de reacción de uno de estos (por ejemplo, un cofactor que reacciona hasta un estado de oxidación diferente). Una variedad de mediadores presentan un comportamiento electroquímico adecuado. Un mediador también puede ser preferentemente estable en su forma oxidada, puede presentar opcionalmente electroquímica redox reversible, puede presentar preferentemente buena solubilidad en soluciones acuosas, y preferentemente reacciona rápidamente para producir un producto de reacción electroactivo. Los ejemplos de mediadores adecuados incluyen benzoquinona, azul meldola, otros complejos de metales de transición, ferricianuro potásico, derivados de osmio (véase el documento WO 98/35225) y mediadores basados en nitrosoanilina (véase el documento de Patente de Estados Unidos N.º 5.286.362). En una realización preferente, la  
60 composición de reactivo usa una química basada en nitrosoanilina.

65 Los mediadores preferentes incluyen N-(2-hidroxietil)-N'-p-nitrosofenil-piperazina, N,N-bis-(2-hidroxietil)-p-nitrosoanilina, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxietil)]-p-nitrosoanilina, p-hidroxinitrosobenceno, N-metil-N'-(4-nitrosofenil)-

5 piperazina, dioxima de *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-  
 10 2-hidroxi-5-nitrosoindolina, N,N-bis-(2-hidroxi-3-cloro-4-nitrosoanilina, 2,4-dimetoxi-nitrosobenceno, N,N-bis-(2-metoxietil)-4-nitrosoanilina, 3-metoxi-4-nitrosfenol, N-(2-hidroxi-6-nitroso-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, N,N-dimetil-3-cloro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-3-fluoro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-3-metil-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-  
 15 N-(2-hidroxi-2-(2-metoxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-3-metoxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-3-(2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-2-(2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-2-(2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina. Los mediadores particularmente preferentes de acuerdo con la presente invención incluyen N,N-bis-(2-hidroxi-  
 20 N-(2-hidroxi-2-(2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina, y N-(2-hidroxi-2-(2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-2-hidroxi-1-propil)-4-nitrosoanilina.

Una composición de reactivo a modo de ejemplo se presenta en el listado que sigue a continuación en la Tabla I.

Tabla I

Componentes	Función	Cantidad Abs.	% de sólidos en p/p.	Nota.
Keltrol F	Espesante	11,60 g	0,24 %	
Carboxi metilcelulosa	Espesante	27,24 g	0,57 %	
Kieselsäure Sipernat 320 DS	Agente de Apertura de Película	97,01 g	2,01 %	
Polivinilpirrolidina PVP K25	Formador de Película	89,33 g	1,85 %	
Propiofan	Formador de Película	257,09	5,34 %	
GlucDOR	Apo-Enzima	19,127 g	0,40 %	0,673 MU/g
pirrolo-quinolina quinina (PQQ)	Co-Factor	0,5329 g	0,01 %	
Succinato de Na	Estabilizante	23,23 g	0,48 %	
Trehalosa	Estabilizante	23,6 g	40,49 %	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Tampón	12,02 g	0,39 %	
K <sub>2</sub> HPO <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 %	

15 Mezcla.

Los componentes de la composición de reactivo se mezclan con agua para proporcionar una suspensión viscosa, homogénea. El orden de adición no es crítico para la invención. Una cantidad suficiente de la solución tampón se  
 20 añade para mantener la composición de reactivos a un pH de aproximadamente 7. Por lo general los componentes seleccionados se mezclan previamente con agua para proporcionar una diversidad de soluciones de reserva que se pueden combinar para producir la composición de reactivo final. Por ejemplo, una solución tampón se prepara por combinación de las sales de fosfato y, opcionalmente, el succinato sódico. Otras soluciones de reserva incluyen: los  
 25 agentes espesantes, es decir, Keltrol F y la carboximetil celulosa; los tensioactivos, es decir, Geropon T77 y Mega 8; la enzima y coenzima o cofactor; y el mediador.

Lo que sigue a continuación proporciona un ejemplo de la preparación de una composición de reactivo. La  
 30 composición de reactivo se puede preparar mezclando en primer lugar las siguientes soluciones de reserva:

ES 2 682 450 T3

Solución 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 Tampón	101,35
Keltrol F	11,60

5

Solución de Carboximetilcelulosa CMC

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	1334,76
CMC Na <sup>1</sup>	27,24
1. CMC Na es una sal sódica de carboximetil celulosa comercializada por Hercules Inc.,	

Aqualon Division

Suspensión de Sílice

	Cantidad (g)
H <sub>2</sub> O	722,99
Sipernat 320 <sup>1</sup>	
Kieselsaure Sipernat 320 DS (Sílice) comercializado por Degussa AG.	

10

Solución de Polivinilpirrolidona (PVP)

	Cantidad (g)
Solución 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 comercializado por Dojindo Molecular Technologies Inc. 2. Geropon T77 es sal sódica de taurato de N-metil oleílo comercializado por Rhodia HPCII. 3. PVP es Polivinilpirrolidona K25 comercializada por BASF.	

## ES 2 682 450 T3

Solución de Trehalosa<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup> Esta solución de trehalosa se usa solo para preparar la " Solución Enzimática" enumerada a continuación.

Solución de PQQ

	Cantidad (g)
Solución Tampón 1ª adición	101,59
PQQ	0,533
Solución Tampón 2ª adición	30,0

5

Solución Enzimática

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

Solución de Mediador

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

10

La solución tampón, la solución de Keltrol F, la solución de CMC, y la suspensión de sílice se prepararon un día antes. Estas soluciones se pueden combinar a continuación tal como se enumeran a continuación para preparar la composición de reactivo.

Composición de Reactivo Final

Espesante (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 Enzimática	196,65 g
KOH 5 N	como se requiere para conseguir un pH final de 6,9 a 7,1
Agua (bidestilada)	518,69 g

15

Para este reactivo antes del revestimiento, el pH final era de 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 revestimiento de 105 a 115 mPas.

Las FIGS. 5 y 5A presentan un diagrama de flujo que ilustra un proceso preferente 100 para preparar una tira de ensayo útil de acuerdo con la presente invención. El proceso 100 comienza 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 preferente, la película se proporciona como un rollo continuo que tiene una anchura y longitud adecuadas para la fabricación de un gran número de tiras de ensayo. En las etapas de acabado posteriores, la película procesada se puede subdividir para proporcionar una sola tira o tira que tiene una anchura que se aproxima a la longitud de la tira de ensayo e incluye una serie de tiras de ensayo, o se puede cortar con toque de para proporcionar sensores de ensayo individuales.

A partir de la etapa 102, la película avanza a la etapa 104 en la que se trata previamente para recibir un revestimiento de metal y se cubre con el metal en un proceso continuo. El tratamiento previo se puede usar para limpiar o modificar la superficie para proporcionar un grosor de revestimiento uniforme y mejor adhesión de la posterior capa metalizada. El tratamiento previo puede incluir someter la película a descarga de corona o plasma de argón. Inmediatamente después de este tratamiento previo, un revestimiento conductor uniforme se aplica a la película tal como se muestra en 106. Como alternativa, los estratos adecuados con revestimientos de metal se pueden obtener en el mercado.

La capa metálica puede contener metales puros, aleaciones, u otros materiales, que son conductores metálicos. Los ejemplos de metales o conductores similares 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 seleccionan para que sean esencialmente no reactivos con respecto a sistemas biológicos; los materiales de ese tipo incluyen: oro, platino, paladio, iridio, plata, o aleaciones de estos metales. La capa metálica puede tener cualquier grosor deseado.

El revestimiento conductor es preferentemente una capa de metal que se aplica mediante una diversidad de métodos, que incluyen, pero no se limitan a, metalizado por bombardeo, deposición física de vapor (PVD), deposición de vapor asistida por plasma (PAVD), deposición química de vapor (CVD), deposición física de vapor por haz electrónico (EBPVD), y/o deposición química de vapor metal-orgánica (MOCVD). La deposición de vapor se realiza por lo general al vacío. Estas técnicas se conocen bien en la técnica y se pueden usar para proporcionar de forma selectiva un revestimiento uniformemente fino de metal sobre un sustrato. La película metalizada resultante se puede inspeccionar para asegurar que el revestimiento de metal es uniforme y está libre de defectos de material.

El rollo de película metalizada a continuación se encuentra en la etapa 108 en la que se subdivide y/o dimensiona para proporcionar tiras que tienen una anchura que se aproxima a la longitud final de una tira de ensayo individual. El troceado se puede realizar usando un equipo de corte de cuchillo fijo bien conocido en la técnica.

Una sola tira se dirige a la etapa 110 a la formación de patrones de los electrodos, marcas, y contactos o almohadillas. En esta etapa, los electrodos, marcas, y almohadillas de contacto se forman eliminando metal de la superficie de la tira de la tira. Este exceso de metal se puede eliminar usando una diversidad de técnicas bien conocidas en la técnica. En esta etapa, se pueden formar una o más marcas de señalización o registro en un primer borde cerca de los electrodos, el segundo borde opuesto cerca de la almohadilla del electrodo, en ambos bordes o en cualquier parte entre los mismos. Las marcas de señalización, en particular las que se encuentran en un borde, se pueden usar en operaciones posteriores para alinear los componentes de capas prefabricados en operaciones separadas.

En un método preferente, el metal se somete a ablación con láser para eliminar las partes no deseadas del metal y dejar los componentes eléctricos deseados. De acuerdo con este método, las zonas seleccionadas se atacan químicamente con láser de forma simultánea, en un "campo amplio", en oposición al uso de movimiento lineal en un haz láser centrado. Este método de ablación con láser de campo amplio proporciona un patrón de metal preciso rápidamente y con un coste reducido en comparación con otras aproximaciones. El tratamiento de corona del sustrato del que se han formado patrones se realiza a continuación en la etapa 111.

La tira de la que se han formado patrones avanza a la etapa 112, en la que una capa de reactivo se deposita sobre los electrodos. En una realización preferente, la capa de reactivo se deposita como una tira alargada continua que se extiende adyacente o cerca del primer borde, y que cubre los electrodos de medición formados en la tira de la que se han formado patrones. Como se ha indicado anteriormente, el reactivo se sitúa posteriormente a través de todo el ancho de la tira de ensayo, incluyendo la zona lateralmente fuera de la cámara de recepción de muestra y entre el sustrato de base y la capa de separación. Como también se ha indicado, esto facilitará el secado del reactivo sin discontinuidades, efectos de borde, u otras variaciones que podrían quitarle valor a la provisión de una capa de reactivo uniforme, plana, fina dentro de la cámara de recepción de muestra. El reactivo incluye una combinación de componentes se formula para que se sé que rápidamente con una deposición mínima o sin desplazamiento después de la deposición.

Esta tira se puede aplicar de cualquier manera adecuada que proporcione el alcance y la uniformidad de grosor deseados, precisión del borde de la tira, homogeneidad, y similares. Los métodos preferentes son capaces de aplicar el revestimiento deseado a una velocidad relativamente elevada y un tamaño del lote elevado. Los métodos adecuados de aplicación se conocen bien en la técnica y por lo tanto no se detallan en el presente documento.

5

#### Preparación de la Capa de Separación

Haciendo referencia ahora a la línea de proceso 114, se ilustra un flujo de proceso para preparar la capa de separación. Comenzando en la etapa 116, se selecciona un material para preparar una capa de separación para laminado sobre la parte superior de la tira revestida con reactivo preparada en la etapa 112. La película de base para el sustrato se puede seleccionar a partir de una diversidad de materiales. El material de la capa de separación, similar a la capa de base, se puede proporcionar como un rollo alargado que se puede procesar de forma conveniente rápidamente con una eficacia elevada. Los materiales preferentes 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 de separación tiene un grosor seleccionado de forma específica para proporcionar una profundidad (o altura) de la cámara deseada en cada una de las tiras de ensayo cuando se combina con el grosor de cualquier capa de unión que se usa para laminar el espaciador de los otros componentes de la tira. En realizaciones preferentes, la capa de separación se selecciona para que tenga un grosor entre aproximadamente 75  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ , más preferentemente de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 125  $\mu\text{m}$ . Como se ha indicado anteriormente, la capa de separación se puede formar con un adhesivo de doble cara.

10

15

20

25

30

La capa de separación se forma preferentemente como una película continua que tiene una serie de espacios que se alinearán con los electrodos en la tira de sustrato de la parte inferior. La forma de unión de la capa de separación y el sustrato de la parte inferior influirán en el método para la preparación de la capa de separación. Por ejemplo, si la capa de separación se va a tratar con soldadura en caliente al sustrato de la parte inferior, entonces la capa de separación se puede cortar simplemente con troquel para proporcionar los huecos de la cámara separados de forma apropiada. Sin embargo, un método preferente es el uso de adhesivos de no interferencia, finos que unen las capas adyacentes. De acuerdo con este método preferente, una capa de separación se prepara para combinación con la tira de sustrato que se ha descrito anteriormente tal como se presenta en lo sucesivo en el presente documento.

35

La película de la capa de separación se prepara con la anchura deseada para combinación con el resto de los componentes de la tira de ensayo. La película de la capa de separación puede incluir una parte opaca, por ejemplo, una sección 23 de la cual está impresa de color azul u otro color para su uso en la visualización de la cámara de recepción de muestra, tal como se describe en cualquier parte. La película de la capa de separación se lamina sobre el lado de la parte inferior con un adhesivo de combinación y una lámina protectora, y sobre el lado de la parte superior con un adhesivo de combinación y revestimiento similares.

40

45

50

En la etapa 118, dos adhesivos de transferencia se laminan al material de la capa de separación: el primer adhesivo de transferencia se lamina a la superficie superior de la capa de separación, y el segundo adhesivo de transferencia se lamina a la superficie inferior de la capa de separación. 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 preferentes, los adhesivos de transferencia se seleccionan entre los usados comúnmente como adhesivos conocidos, incluyendo adhesivos sensibles a la presión. Los adhesivos preferentes presentan una hidrofobia suficiente como para prevenir o evitar que la muestra de ensayo en la cámara escape por efecto de mecha entre la capa de separación y la capa de reactivo o sustrato de base. Un ejemplo de un adhesivo sensible a la presión es ARCare 90132 de Adhesives Research Inc. Los adhesivos se proporcionan con una lámina protectora para evitar una adhesión prematura de la capa de separación durante el procesamiento. Las láminas protectoras se colocan en la superficie exterior del primer y segundo adhesivos de transferencia, con las caras hacia fuera del material de la capa de separación.

55

60

La capa de separación con las láminas protectoras adhesivas en las superficies superior e inferior avanzan a la etapa 120. En la etapa 120, la cavidad que formará la cámara de recepción de muestra se perfora en la capa de separación. En una realización, la cavidad se perfora usando un método de "troquelado de precisión". El método de troquelado de precisión a través de la lámina protectora superior, el adhesivo superior, la capa de separación, y el adhesivo inferior, pero no a través de la lámina protectora inferior. En operaciones posteriores, la simple eliminación de la lámina protectora inferior eliminará a continuación las partes perforadas del adhesivo inferior, la capa de separación, el adhesivo superior, y la lámina protectora superior de la capa de separación perforada. En otras realizaciones, la cavidad se puede perforar con un troquel hueco. El troquel hueco perfora completamente o corta a través de la capa de separación, los dos adhesivos, y las dos láminas protectoras, con la parte perforada eliminada posteriormente en el troquel hueco. La separación o distancia entre cada cavidad se determina y se controla de forma precisa para permitir el emparejamiento preciso de la capa de separación perforada sobre los electrodos usando una o ambas de las marcas de señalización de las que se forman patrones en la tira recubierta con reactivo.

65

En la etapa 122, la lámina protectora inferior sobre la capa de separación se retira, llevándose con ella las partes de troquelado de precisión y exponiendo el adhesivo en la superficie del lado inferior de la capa de separación.

Avanzando a la etapa 124 en la línea de proceso 101, la capa de separación se lamina sobre la tira revestida con reactivo usando una o más de las marcas de señalización de las que previamente se han formado patrones sobre la tira para alinear de forma correcta cada cavidad formada en la capa de separación perforada directamente sobre la parte superior de un conjunto de electrodos para proporcionar un laminado de tira-capa de separación. En la etapa 126 en la línea del proceso central 101, la lámina protectora superior que cubre el adhesivo superior en el laminado de tira-capa de separación se retira en preparación para unirse a la capa de revestimiento.

#### Laminado sobre las Partes de Tapa

En la etapa 128, un material para una tapa de cuerpo se introduce en el proceso. En los ejemplos preferentes, el material es un material polimérico flexible y se puede seleccionar, por ejemplo, entre MELINEX 454 o MELINEX 339 de du Pont. El material para la tapa de cuerpo se dimensiona para que tenga una anchura suficiente para cubrir al menos una parte de las marcas de electrodo en la cámara de recepción de muestra de la tira de ensayo.

Haciendo referencia ahora a la línea de proceso 130, comenzando en la etapa 131, un material de película se selecciona para proporcionar una tapa de cámara sobre la cavidad, reactivo, y electrodos de medición sobre el laminado de tira-capa de separación. En realizaciones preferentes, el material de tapa de cámara se proporcionan como una película de poli(tereftalato de etileno) (PET) o poli(naftalato de etileno) (PEN) transparente que tiene un grosor entre aproximadamente 100 µm y aproximadamente 200 µm. El revestimiento puede incluir preferentemente una lámina protectora, que se puede eliminar inmediatamente antes del laminado sobre la tira-capa de separación. La tapa de cámara se fabrica preferentemente a partir de un material hidrófilo o la superficie inferior de la tapa de cámara se puede tratar de cubrir para hacer la hidrófila tal como se indica en 134. En la etapa 138, el material de película se puede dimensionar hasta una anchura suficiente como para formar la tapa de cámara para que cubra la cavidad y electrodos.

Avanzando a la etapa 140, la tapa de cuerpo de la etapa 128 y la tapa de cámara de la etapa 138 se laminan al laminado de tira-capa de separación. En realizaciones preferentes, la tapa de cuerpo y la tapa de cámara se laminan de forma simultánea con el laminado de tira-capa de separación. La tapa de cuerpo se coloca sobre una parte de las marcas de electrodo cerca de los electrodos formados sobre el sustrato de base. La tapa de cámara se coloca sobre la cavidad, reactivo, y electrodos de medición sobre el laminado de tira-capa de separación. La tapa de cuerpo y la tapa de cámara se separan mediante un espacio para formar una ventilación en el extremo interior de la cavidad formada en la tira de ensayo.

Como se describe, la tapa de cámara se coloca cerca del borde de la tira para cubrir la parte troquelada de la capa de separación, dejando la parte más interna del troquel sin cubrir. Como ya se ha descrito, esta tapa de cámara incluye preferentemente un lado inferior hidrófilo para promover el efecto de mecha del fluido en la cámara de reactivo. La tapa de cámara se separa ligeramente de la tapa de cuerpo para formar un espacio que de ese modo se comunica con la cámara de recepción de muestra y sirve como una abertura de ventilación para que el aire de escape a medida que el fluido entra en la cámara, como se ha descrito anteriormente.

La opacidad de la capa de separación y la transparencia de la tapa de cámara colaboran para permitir que un usuario de la tira de ensayo final visualice mejor la evolución de un ensayo. Tal como se construye, el sustrato de la parte inferior o capa de reactivo revestida sobre el mismo es visible a través del troquel en la capa de separación Y a través de la tapa de cámara transparente. El sustrato y/o reactivo de la parte inferior tiene un color claro, por ejemplo, amarillo brillante, que contrasta con el color opaco de la capa de separación. Por lo tanto, el avance de un fluido a través del canal capilar no puede controlar fácilmente la persona que usa el ensayo. Además, dado que la ranura 34 se configura para que sea hidrófoba sobre el lado de la tapa de cuerpo hidrófila sobre el lado de la tapa de cámara, el fluido se parará bruscamente cuando alcance la ranura, presentando de ese modo una línea de carga claramente definida que a su vez proporciona una clara indicación al usuario de que se ha recibido una muestra suficiente de fluido en la cámara.

#### Separación de las Tiras de Ensayo

A partir de la etapa 140, se realizan las etapas de procesamiento de acabado para la fabricación de tiras de ensayo. En la etapa 142, se toma una decisión sobre cómo fabricar una tira de ensayo de corte con troquel, individual similar a la tira de ensayo individual 10 que se ha discutido anteriormente. Si fuera así, entonces el laminado de múltiples capas de la etapa 142 avanza a la etapa 144 para su corte con troquel tiras de ensayo individuales.

Como alternativa, el laminado de múltiples capas de la etapa 142 avanza a la etapa 148, en la que se troquela con precisión a redefinir tiras de ensayo individuales y para perforar o debilitar los límites entre tiras de ensayo adyacentes en la cinta. Además, en la etapa 149 los extremos de las tiras de ensayo se cortan con troquel a lo largo de la cinta laminada. Un extremo de la tira corta para formar el extremo que recibe fluido del sensor de ensayo con una abertura en forma de Y que conduce a la cavidad. Las tiras de ensayo se pueden dividir en tarjetas que comprenden un número, por ejemplo, 25, de tiras que solamente se cortan en su perímetro y a continuación se pliegan para apilarlas en un vial o dispensador.

Avanzando a partir de cualquiera de las etapas 144 o 149, las tiras o cintas de tiradas procesadas se inspeccionan y por último se embalan para uso por el consumidor en la etapa 146 o 150, respectivamente.

5 Las FIGS. 6-16 ilustran con mayor detalle algunos de los componentes y/o etapas del proceso que se han descrito anteriormente con respecto a las FIGS. 5 y 5A. La FIG. 6 ilustra una vista en perspectiva de una realización de una película de base para su uso en la formación de la tira de ensayo. La película de base 160 se proporciona preferentemente como una película o material de tira flexible que se enrolla sobre uno o más rodillos 162 con los procesos 164, 166 que avanzan sobre el material entre los rodillos.

10 La superficie superior de la película tratada previamente se metaliza usando un metalizado por bombardeo, PVD, CVD, EBPVD, MOCVD u otro proceso adecuado, ilustrado con el número de referencia 166 y que anteriormente se ha descrito más completamente, para depositar un revestimiento uniforme de un metal o aleación metálica. Los procesos pueden usar una fuente de día en la individual o múltiple para la capa metálica. La película metalizada 168 a continuación se puede seccionar o se puede subdividir en una pluralidad de películas metalizadas, por ejemplo, 15 170a, 170b, y 170c, mediante corte o troceado de la película como se ilustra con el número de referencia 172. Cada rollo separado de la película metalizada, conductora 170 se puede enrollar a continuación sobre un solo núcleo o sobre una pluralidad de diferentes núcleos según se desee preferentemente.

20 Los componentes eléctricos se forman a partir de la película conductora, tal como se muestra en una realización en la FIG. 7. La superficie metálica de la película 170 se trata para retirar cualquier componente metálico que no se desee para formar los electrodos, marcas, almohadillas de contacto, u otras características pretendidas. Este proceso se puede controlar de forma precisa usando ablación con láser u otra tecnología. El proceso proporciona una pluralidad de conjuntos de electrodos 182, marcas 184, y almohadillas de contacto 186. El proceso también que le proporcionan una pluralidad de marcas de señalización o registro 176 a lo largo de un primer borde 178 y/o 25 marcas de registro similares 177 a lo largo del borde opuesto 180. Como se muestra en la FIG. 7, las características de repetición del patrón de electrodos forman las marcas de registro 177. Preferentemente, cada conjunto de electrodos y/o contactos se asocia con al menos una marca de señalización o registro, 176 y 177, respectivamente.

30 La FIG. 8 ilustra una parte de una tira revestida con reactivo 188. La composición de reactivo se deposita sobre la superficie del material de tira flexible. La capa de reactivo 190 se deposita usando una diversidad de métodos de revestimiento incluyendo revestimiento de cortina, revestimiento de cortina, revestimiento en estado fundido caliente, revestimiento con tamiz giratorio, revestimiento con cuchillas rascadoras o cuchillo de aire, revestimiento con barra de Meyer, y revestimiento con rodillo inverso. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la tira flexible en forma de una composición húmeda con un grosor entre aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  Y aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , 35 más preferentemente, entre aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 80  $\mu\text{m}$ . La tira 188 se puede proporcionar mediante revestimiento de una capa uniformemente fina de reactivo 190 directamente sobre la parte superior de los conjuntos de electrodos 182 y a lo largo de la longitud de la tira 188 como una banda estrecha continua 192. En realizaciones preferentes, la banda estrecha 192 tiene una anchura entre aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  y 9  $\mu\text{m}$  y un grosor seco entre aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . Como se representa en la FIG. 8, la capa de reactivo 40 190 es translúcida.

La FIG. 9 es una vista de las partes despiezadas de un conjunto de capas de separación 194, que se pueden montar de acuerdo con la presente invención. El montaje de la capa de separación 194 comprende una capa de separación 196 formada preferentemente con un material polimérico. La capa de separación 196 incluye una banda o sección 45 197 que está coloreada (que corresponde a la sección 23, FIG. 2). En el proceso de fabricación, se proporciona la capa de separación 196 en un rollo 198 y a continuación se recubre con adhesivos en la parte superior y en la parte inferior.

50 El adhesivo de la parte superior se proporciona en un rollo 200 que comprende adicionalmente una lámina protectora superior o "firme" 202, que se adapta para resistir un procesamiento adicional, un adhesivo 204, y una lámina protectora inferior "fácil" 206. Los adhesivos preferentes 204 para 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 montaje, la lámina protectora inferior 206 se retira y el adhesivo resultante 208 que tiene la lámina protectora superior 202 todavía presente se adhiere a la capa de separación 196 tal como se indica en la parte 55 superior de la FIG. 9.

60 De forma análoga, el adhesivo de la parte inferior se proporciona en un rollo 210 que comprende adicionalmente una lámina protectora superior o "firme" 212, que se adapta para resistir un procesamiento adicional, un adhesivo 214, y una lámina protectora inferior "fácil" 216. Los adhesivos preferentes 214 para uso en la presente invención incluyen para 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 montaje, la lámina protectora inferior 216 se retira y el adhesivo resultante 218 que tiene su lámina protectora superior 212 colocado de forma alejada de la capa de separación 196 se adhiere a la capa de separación 196 tal como se indica en la FIG. 9. Se debería entender que el adhesivo 204 puede ser el mismo o diferente del adhesivo 214.

65

La FIG. 10 ilustra una capa de separación 196 que se ha cortado con troquel para formar pre-capilares 220a, 220b, 220c, etc., y que está lista para su laminado a una tira de material de sustrato de base 188 tal como se describe con referencia a la FIG. 8. Los pre-capilares 220 se pueden formar usando una técnica de "troquelado de precisión" en la que un troquel corta a través de la lámina protectora superior 202, adhesivo 204, capa de separación 196, un adhesivo 214, pero no la lámina protectora 212, que, como se ha indicado anteriormente, se enfrenta a la capa de separación 196. La lámina protectora 212 se elimina a continuación junto con partes de la lámina protectora superior 202, adhesivo 204, capa de separación 196, y adhesivo 214 que se han cortado. Estas partes que se cortan comprenden "reducción capilar", es decir, un intercalado de capas con formas similares a los pre-capilares 220. Esta "reducción" se retira junto con la lámina protectora 212, dejando las cavidades 220 desprovistas de cualquier material. A medida que la lámina protectora 212 se retira, se puede inspeccionar para asegurar que siempre contiene la reducción capilar que se acaba de describir. La serie de cavidades resultantes 220 se separan entre sí a una distancia deseada seleccionada para colocar cada uno de los canales de la serie de canales 220 directamente sobre un conjunto de electrodos de medición en la tira de ensayo. La capa de separación 196 que tienen su adhesivo inferior expuesto a continuación se puede alinear con la tira 188 por medio de marcas de señalización 176 y laminada a la misma. Cada canal capilar de la serie de canales 220 cubre un conjunto de electrodos de medición 182.

La FIG. 11 ilustra un montaje 230 formado por el laminado de la capa de separación 196 a la tira 188. En la FIG. 11, la lámina protectora superior 202 se ha eliminado del adhesivo superior 208, que hace que el montaje 230 esté listo para el montaje de material adicional al mismo. Como se muestra en la FIG. 12, una tira 240 de material de capa de revestimiento de cámara y una tira 234 de material de tapa de cuerpo se alinean sobre el adhesivo superior expuesto 208 del montaje 230 y están listas para su adhesión al mismo. Como se representa en la FIG. 12, la capa de revestimiento de cámara 240 es transparente e incluye un revestimiento hidrófilo (véase el revestimiento 21, FIG. 2) en al menos el lado que enfrenta a las cavidades 220. Esto facilita el efecto de mecha o transporte de la muestra líquida en la cámara de recepción de muestra y sobre los electrodos y capa de reactivo. La tapa de cuerpo 234 es opaca, se colorea como se muestra, y es preferentemente hidrófoba. La capa de revestimiento 240 y la tapa de cuerpo 234 se pueden proporcionar en carretes tales como los que se han descrito anteriormente con referencia a la FIG. 9.

Preferentemente, el material de tapa de cámara 240 es ligeramente más fino que el material de tapa de 234. Después de laminar el material de tapa de cámara 240 y el material de tapa de cuerpo 234 a las otras capas (que se describen a continuación), el montaje se rebobina para esperar las etapas de procesamiento final. Si el material de tapa de cuerpo 234 es más grueso que el material de tapa de cámara 240, entonces el material de tapa de cuerpo 234 absorberá más de la presión o fuerza impartida a la tira a medida que se rebobina y almacena. Por lo tanto, si cualquier adhesivo se expulsa de la tira a medida que se rebobina, el adhesivo se expulsará alrededor del material de tapa de cuerpo 234 y no del material de tapa de cámara 240. De forma ventajosa, la tapa de cámara más fina reduce de ese modo la posibilidad de que el adhesivo se expulse desde abajo durante el procesamiento de enrollado y que entre en la zona capilar en la que podría degradar o destruir las tiras de ensayo producidas por último.

El montaje 260 que se muestra en la FIG. 13 se produce mediante el laminado de las tiras 234 y 240 con respecto al montaje 230 que se muestra en la FIG. 12 y a continuación recortando el extremo de la tira para formar un borde de dosificación 250. El borde de dosificación 250 se forma preferentemente mediante un corte con cizalla en el que la cuchilla de corte se mueve a través del extremo de la tira tal como se indica mediante la flecha 252. Por el contrario, es más difícil usar una técnica de perforación con troquel sin dañar los capilares. El corte con cizalla a lo largo del borde de dosificación 250 también separan mediante corte una parte de los pre-capilares 220 y define el volumen final de los capilares 222. Los capilares 222 incluyen preferentemente una abertura en forma de campana o de Y como se muestra. Preferentemente, un espacio 262 se forma entre la tira de la tapa de cámara y la tira de la tapa de cuerpo y este espacio proporcionará por último una abertura de ventilación en las tiras de ensayo individuales. En realizaciones preferentes, el espacio tiene una anchura entre 1,0 mm y aproximadamente 1,6 mm. Como se ha indicado anteriormente, sin embargo, el espacio se podría sustituir usando una capa de revestimiento unitaria que tiene una muestra formada en su lado inferior (FIG. 1B) o que tiene la tapa de cámara que cubre la tapa de cuerpo o viceversa. (FIG. 1C).

Con referencia adicional a la FIG. 13, el montaje 260 está listo para su procesamiento adicional tal como se indica mediante las líneas discontinuas 262 y 264. En la FIG. 14 se muestra la tira de troquelado de precisión 276 que tiene una pluralidad de tiras de ensayo individuales, por ejemplo, 278a, 278b, y 278c, conectadas en conjunto de forma separable. Se puede observar que la tira de troquelado de precisión 276 se ha recortado o cortado en su extremo superior a lo largo de las líneas 262 en la FIG. 13 para que tengan un perfil y/o configuración adecuada para facilitar la captura de una muestra de fluido muy pequeña en cada una de las series de canales de capilares 222. En la realización que se ilustra, la actividad de troquelado de precisión 276 tiene un extremo de trabajo plano 280 que expone el extremo de los conjuntos de canales de capilares de corte en forma de Y 222. La configuración resultante del segundo borde 282 se puede proporcionar para facilitar la inserción de una sola tira en un medidor (no se muestra). Por ejemplo, el segundo borde 282 puede tener una marca y/o etiquetas de registro, ranuras de corte, u otras configuraciones diseñadas para permitir la inserción de una sola tira en el medidor solamente en una dirección (véase la flecha 31, FIG. 1).

Con referencia a la FIG. 13, los bordes 177 de las almohadillas de contacto 288 se separan mediante un cabeceo constante, "P" tal como se muestra, y por lo tanto los bordes 177 se pueden usar como marcas de registro. Al igual que en otras etapas de procesamiento, las marcas de señalización o registro 176 y 177 en cualquiera del primer borde y/o el segundo borde se pueden usar para "troquelado de precisión" de forma precisa y recorte de las tiras de ensayo individuales de la estructura laminada 260.

La FIG. 15 es una vista en perspectiva de una realización de una tira de ensayo cortada y perforada 290 formada mediante el corte a través de las líneas discontinuas 264 que se muestran en las Figs. 13 y 14. La tira 290 que se ilustra en la FIG. 15 esencialmente se ha descrito anteriormente como la tira de ensayo 10. La tira 290 se proporciona como una tira de ensayo individual separada de cualquier otra tira de ensayo.

### Ejemplo

A modo de ejemplo específico, una tira de ensayo se forma basándose en el método que se ha descrito y usando materiales como sigue a continuación. La superficie del sustrato de la parte inferior se cubre con una capa de oro de 50 nm, y se hacen hendiduras con anchos de 43-45 mm. La ablación con la ser (308 nm) se realiza usando un tamaño de campo de aproximadamente 40 mm x 10 mm. El montaje de capa de separación incluye una película de capa de separación de Melinex™ 339 de color blanco, y un grosor de 0,1016 o 0,127 mm (4 o 5 mil). Los adhesivos de la parte inferior y superior son un adhesivo 90132 de Adhesive Research Arcare a 0,0254 o 0,0127 mm (1 o 1/2 mil), formando capas entre láminas protectoras que tienen un grosor de 0,0508 mm (2 mil). Los canales de capilares se forman con una anchura de 1,500 mm, +/- 0,050 mm, y un cabeceo (separación) de 9 mm, +/- 0,150 mm.

La tapa de cuerpo 18 comprende una tira de material de Melinex 454, 453 o 339, 0,127 mm (5 mil) de grosor. La tapa de cámara 20 comprende un material de poliéster o de naftato de polietileno formado, por ejemplo, a partir de Melinex 454 o 453, con un grosor de 0,1016 mm (4 mil). Como se ha indicado, la tapa de cámara tiras se puede tratar por recubrir preferentemente para que tenga un lado inferior hidrófilo adyacente al canal capilar para promover el efecto de mecha de la muestra de ensayo de sangre en el canal. En una realización preferente, una lámina de Melinex 453 (4 mil) para la tapa de cámara 20 se cubre en su lado inferior con un material hidrófilo 21, ARCare 90037 de Adhesives Research Inc. Preferentemente el material de tapa de cámara se forma inicialmente como un material más ancho, y se hace una ranura con la anchura deseada después de la preparación.

### Ejemplos de Tira de Ensayo

En la tira se usarán los siguientes materiales:

Capa de sustrato de base 12	Melinex 329-9 mil o 329 - 10 mil
Capa conductora 26	Metalizada con oro - 50 nm
Capa de adhesivo inferior 49	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 mil
Capa de separación 14	Melinex 329 o 339 - 4 a 5 mil
Capa de adhesivo 46	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 mil
Tapa de cuerpo 18	Melinex 339 o 329 o 454 - 5 mil
Tapa de cámara 20	Melinex 339 o 329 o 454 - 4 mil
Lámina hidrófila 21	ARCare 90037

### Almacenamiento de las tiras

Las tiras se pueden embalar en una diversidad de formas. Por ejemplo, las tiras se pueden embalar en viales de plástico de cierre con tapa levadiza (por ejemplo, recuento de 10, 25 o 50). Todos los embalajes incluyen materiales de SEC antes necesarios para asegurar un periodo de almacenamiento aceptable. Las tiras de ensayo presentan preferentemente un periodo de almacenamiento mínimo de 18 meses cuando se almacenan entre 4° - 32 °C en recipientes muy cerrados tal como se proporciona.

Aunque las realizaciones preferentes que incorporan los principios de la presente invención se han desvelado anteriormente en el presente documento, la presente invención no se limita a las realizaciones que se desvelan. En su lugar, la presente solicitud pretende cubrir tales desviaciones de la presente divulgación como parte de la práctica conocida o habitual en la técnica a la que pertenece la presente invención y que entra dentro de los límites de las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Una tira de ensayo (10, 290), que comprende:

5 un sustrato de base (12) que tiene una capa de reactivo colocada sobre el mismo;  
una capa de revestimiento (16) que cubre el sustrato de base (12) y que comprende una tapa de cámara (20) y una tapa de cuerpo (18) que tiene una ranura (34) entre las mismas, ranura (34) que se coloca sobre la capa de reactivo, en la que la tapa de cámara (20) y la tapa de cuerpo (18) se colocan esencialmente en el mismo plano horizontal;

10 y  
una cámara de recepción de muestra (24) colocada entre el sustrato de base (12) y la capa de revestimiento (16), en la que la tapa de cámara (20) cubre la cámara de recepción de muestra (24),  
ranura (34) que está en comunicación con la cámara de recepción de muestra (24) y que define una abertura de ventilación en la capa de revestimiento (16) que permite que el aire escape a medida que el fluido entra en la  
15 cámara de recepción de muestra (24), en la que la ranura (34) comprende un espacio que separa la tapa de cuerpo de la tapa de cámara, en la que el espacio se extiende a través de la anchura de la capa de revestimiento (16), en la que la ranura (34) es esencialmente rectilínea, en la que la ranura (34) se orienta esencialmente perpendicular a un eje longitudinal de la tira de ensayo (10, 290).

20 2. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la ranura (34) comprende una línea de llenado.

3. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la tapa de cámara (20) y la tapa de cuerpo (18) se colocan de extremo a extremo en una dirección longitudinal a lo largo de la tira de ensayo (10, 290).

25 4. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un electrodo (28) colocado en la cámara de recepción de muestra (24), electrodo (28) que está cubierto con la capa de reactivo.

5. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la ranura comprende un lado hidrófobo adyacente a la  
30 tapa de cuerpo (18), además en la que el fluido de muestra que entra en la cámara de recepción de muestra (24) avanzará hacia la ranura (34) pero sin superarla, por lo que la ranura (34) comprende una línea de llenado.

6. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 5, en la que la tapa de cámara (20) es transparente o translúcida, por lo que el avance del fluido de muestra en la cámara de recepción de muestra (24) a la línea de llenado es visible.

35 7. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 5, en la que la tapa de cámara (20) comprende una superficie hidrófila en un lado inferior de la misma, por lo que se facilita el efecto de mecha en la cámara de recepción de muestra (24) hacia la ranura (34).

8. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la tapa de cuerpo (18) se adhiere a la tira de ensayo  
40 (10, 290) con un adhesivo hidrófobo.

9. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que el lado inferior de la tapa de cámara (20) es hidrófilo.

45 10. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 9, en la que el lado inferior de la tapa de cámara (20) está revestido con una sustancia hidrófila.

11. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente:  
electrodos (28) colocados en la cámara de recepción de muestra (24); almohadillas de contacto (32) formadas sobre el sustrato de base (12) en un extremo de inserción del medidor de la tira de ensayo (10, 290); y marcas de electrodo (30) que se extienden a lo largo del sustrato de base (12) y que conectan los electrodos (28) a las almohadillas de contacto (32), capa de revestimiento (16) que cubre las marcas de electrodo (30) y que expone las almohadillas de contacto (32).  
50

12. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un electrodo de trabajo y;  
55 un contraelectrodo colocado en el interior de la cámara de recepción de muestra (24), ranura (34) que se coloca corriente abajo del electrodo de trabajo y del contraelectrodo.

13. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la tapa de cámara (20) cubre la cámara de recepción de muestra (24) y la tapa de cámara (20) es transparente o translúcida.  
60

14. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, en la que la ranura (34) está esencialmente alineada con un extremo interior de la cámara de recepción de muestra (24).

65 15. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente una capa de separación (14) colocada entre la capa de revestimiento (16) y el sustrato de base (12), capa de separación (14) que define una

parte vacía que define además la altura y el perímetro de la cámara de recepción de muestra (24) entre la base y la capa de revestimiento (12,16).

5 16. La tira de ensayo (10, 290) de la reivindicación 15, en la que la parte vacía forma un canal que comienza en una abertura en un borde de la tira de ensayo (10, 290), abertura que está en comunicación con la cámara de recepción de muestra (24), en la que la parte vacía termina en una posición esencialmente alineada con la ranura (24).

17. Un método para fabricar una pluralidad de tiras de ensayo (10, 290), dicho método comprendiendo:

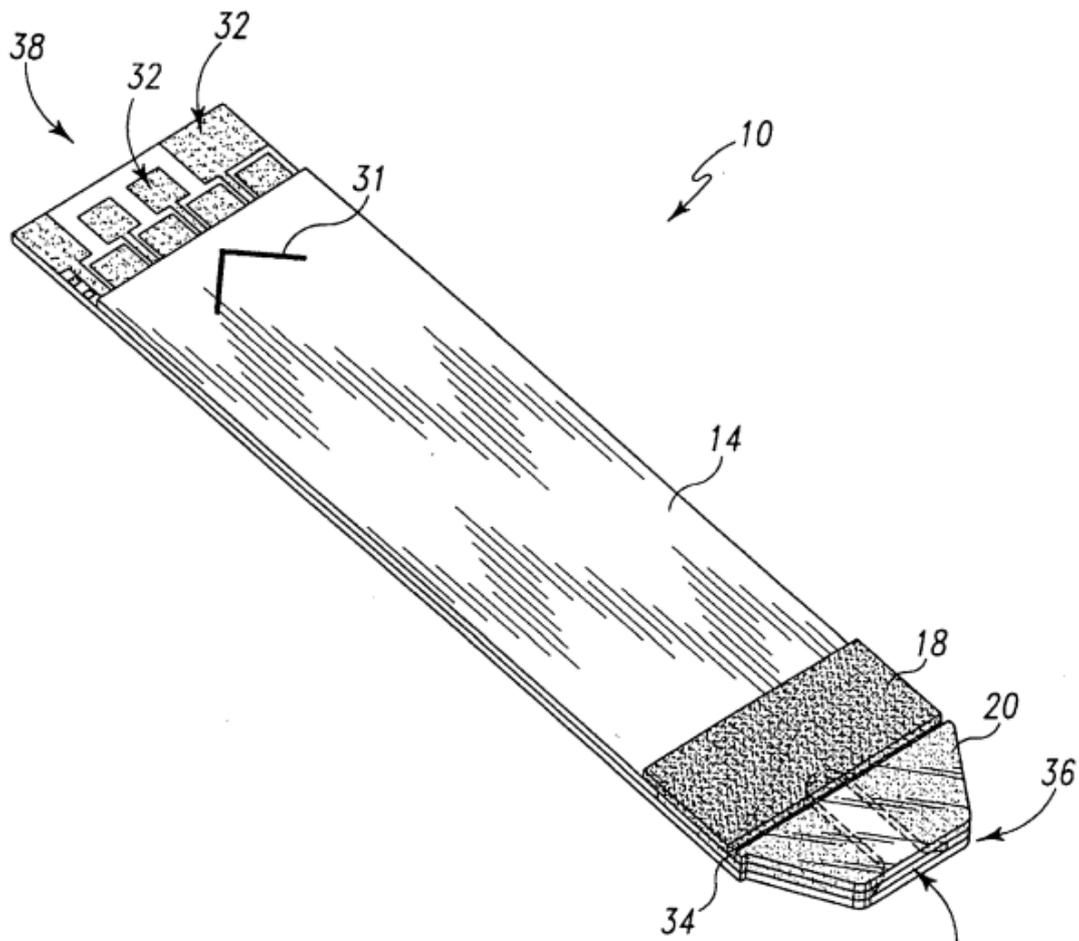
- 10 (a) proporcionar una tira de material de sustrato de base (188);  
(b) formar una pluralidad de conjuntos de electrodos (182) en la tira;  
(c) proporcionar una capa de reactivo que cubre al menos un electrodo de cada conjunto de electrodos (182); a continuación
- 15 (d) proporcionar una tira continua de material de separación que tiene una serie de cavidades formadas en la misma y laminar la tira de material de separación sobre la tira de material de sustrato de base (188) de modo que cada una de las cavidades se alinea con una respectiva de los conjuntos de electrodos (182);  
(e) proporcionar una tira de capa de revestimiento fabricada a partir de dos piezas y laminarla sobre la tira de material de separación de modo que las dos piezas se separan mediante un espacio y el espacio se coloca sobre la serie de cavidades, en la que cada una de las dos piezas de revestimiento comprende una tira continua
- 20 alargada; y  
(f) cortar la tira en la pluralidad de tiras de ensayo (10, 290);

método que además comprende realizar una serie de cortes esencialmente equidistantes entre los conjuntos de electrodos (182), cortes que son esencialmente perpendiculares al espacio, por lo que cada tira de ensayo (10, 290) individual formada de ese modo tiene un espacio que se extiende a través de su capa de revestimiento, espacios individuales que forman aberturas de ventilación que se comunican con las cavidades respectivas.

25

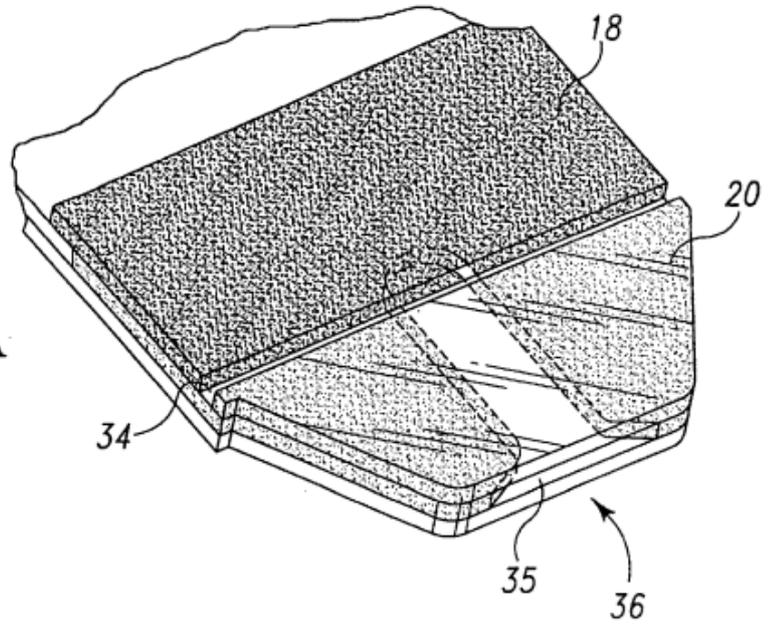
18. El método de la reivindicación 17, en el que la capa de reactivo se aplica con un grosor uniforme como una tira continua a lo largo de la tira de material de sustrato de base.

30

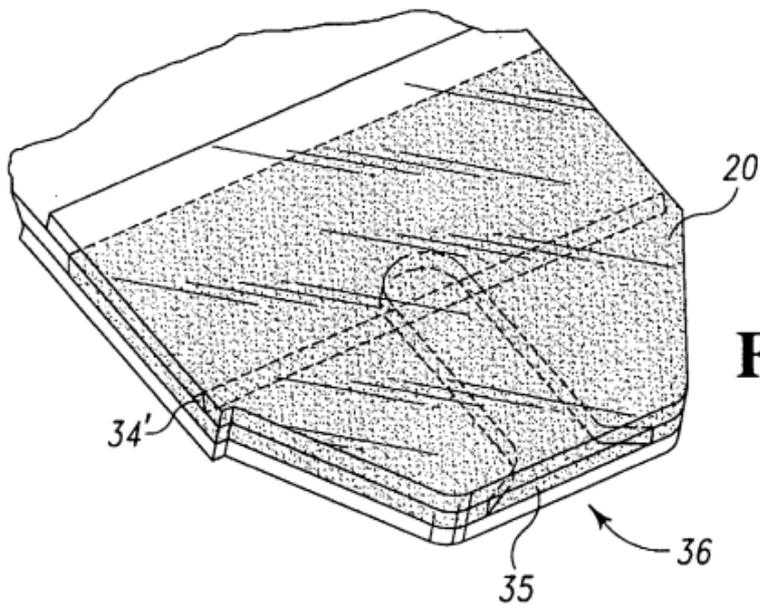


**Fig. 1**

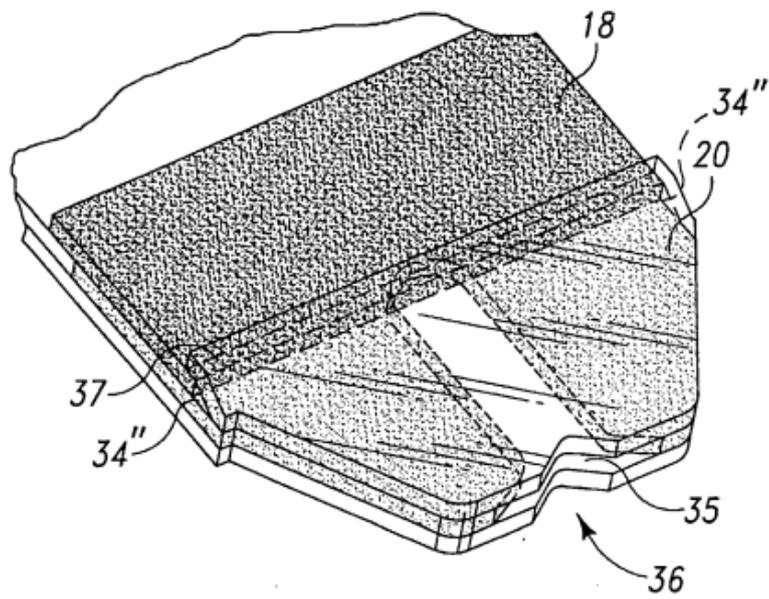
**Fig. 1A**

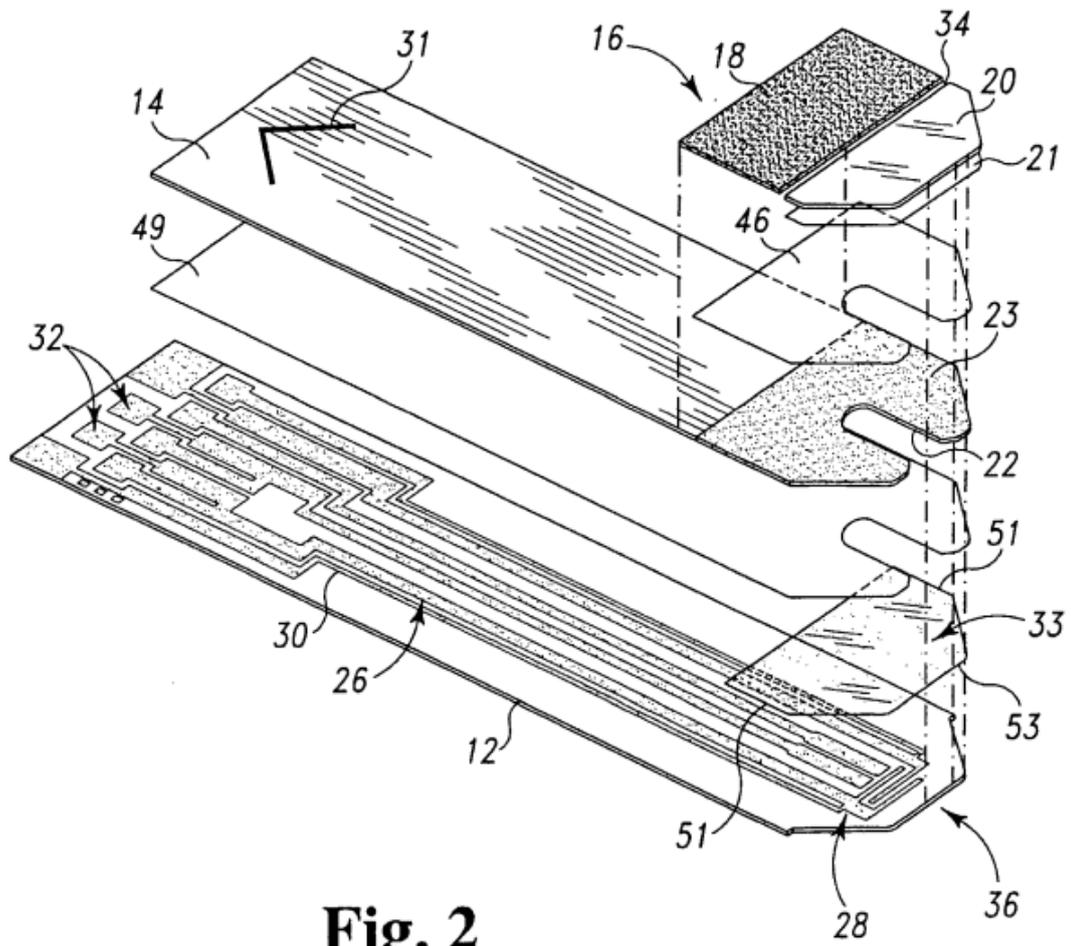


**Fig. 1B**

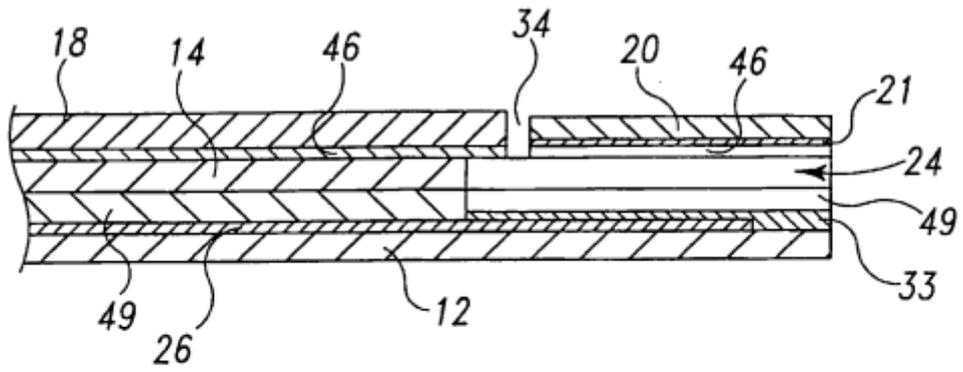


**Fig. 1C**

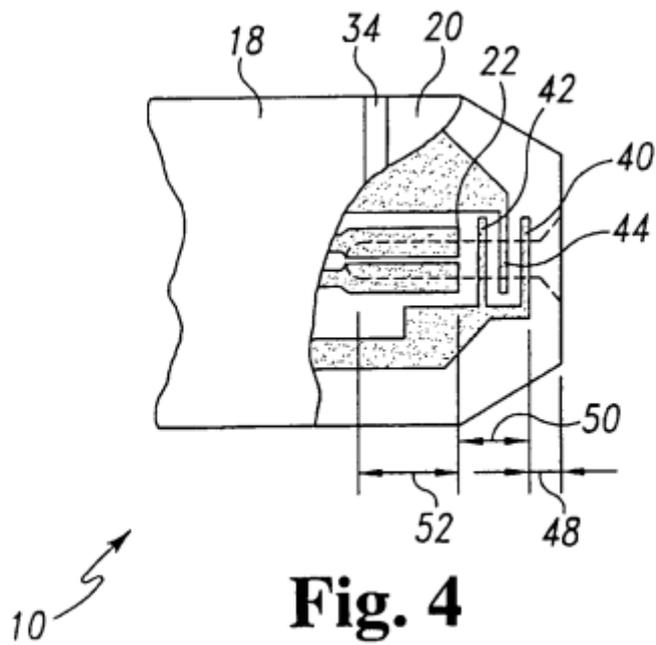




**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**

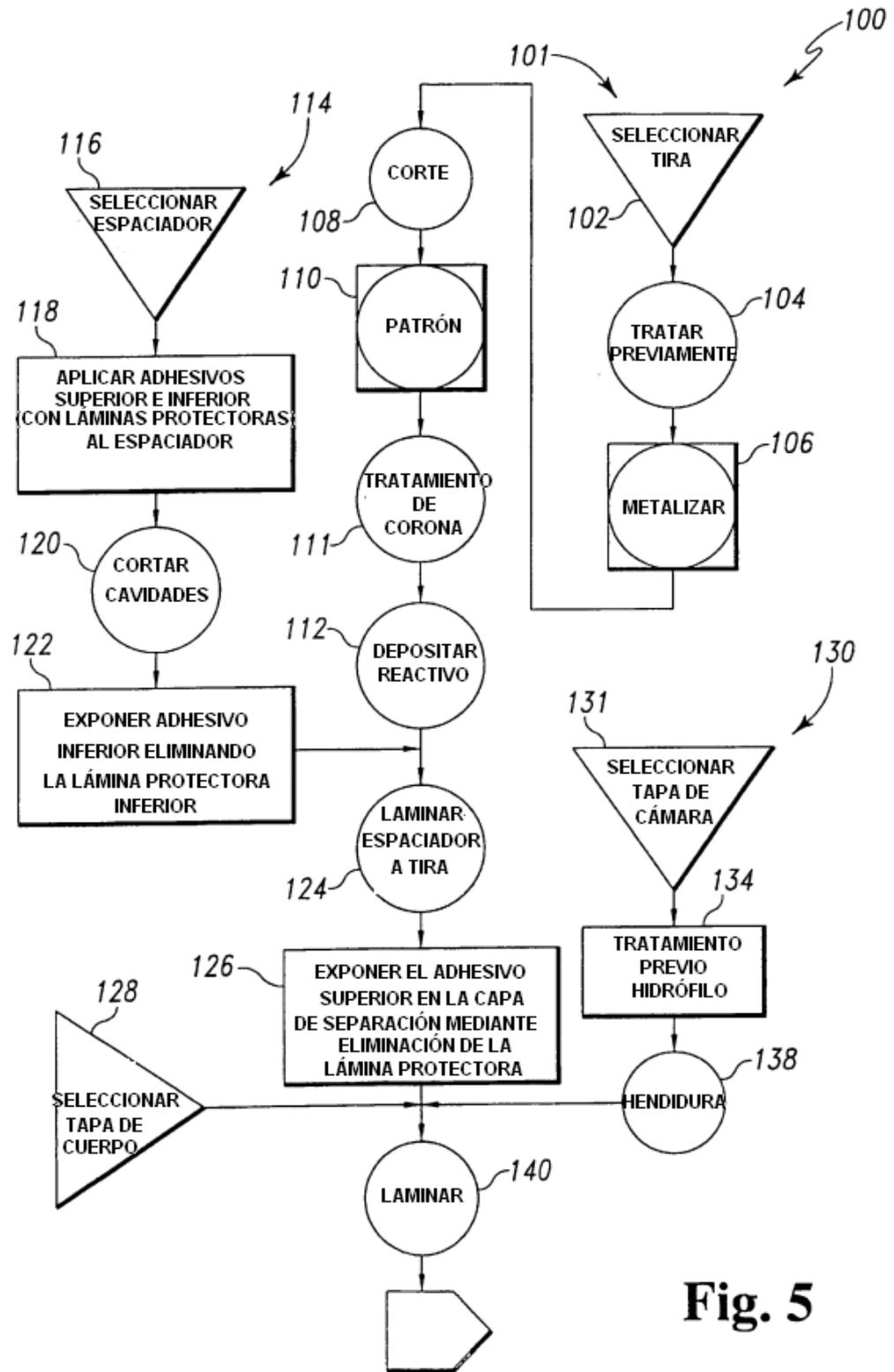
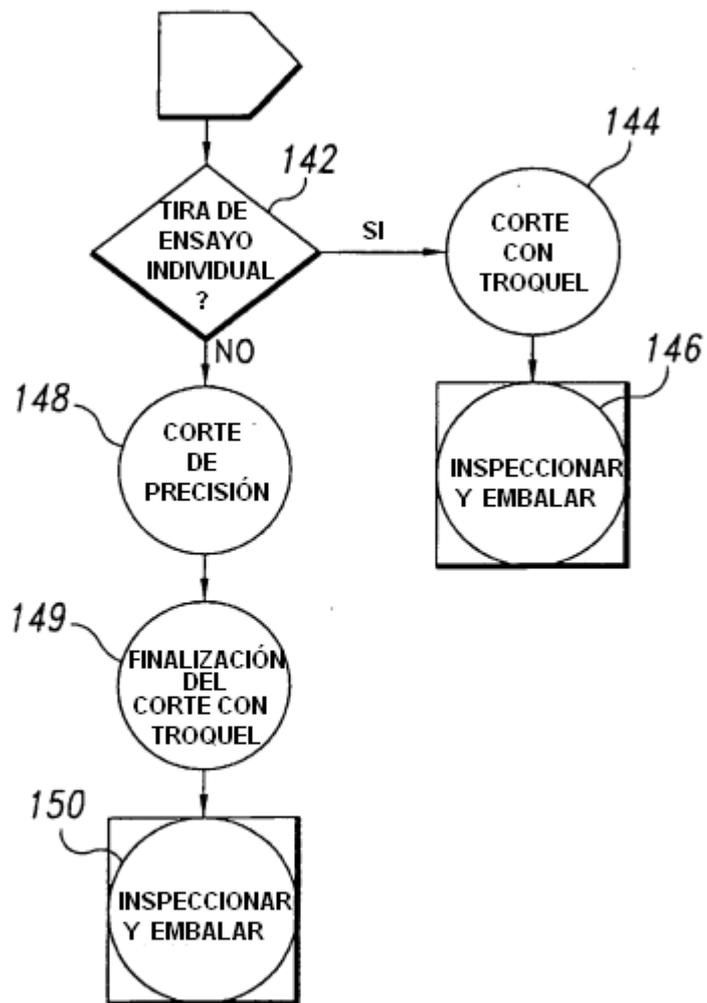
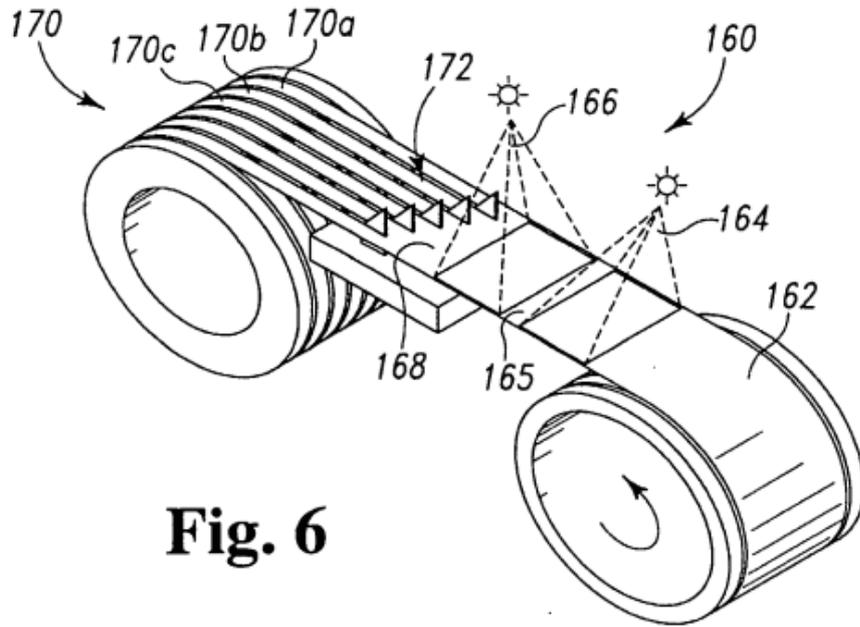


Fig. 5

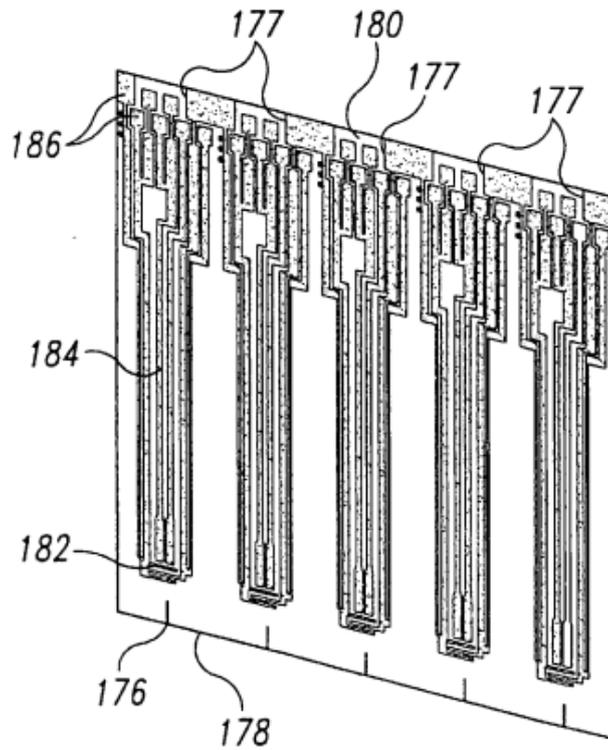
100 (cont.)



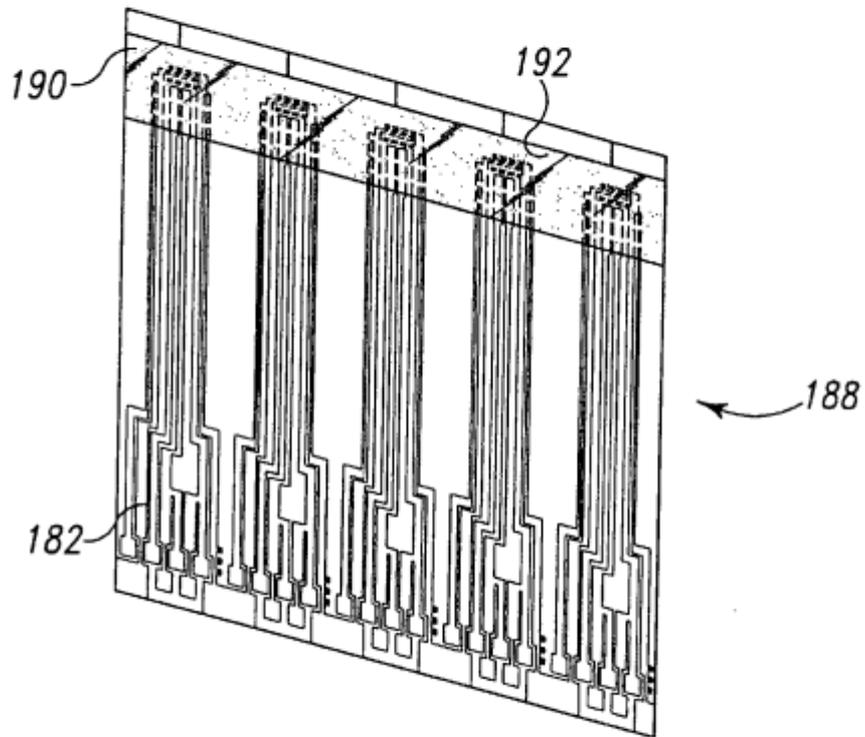
**Fig. 5A**



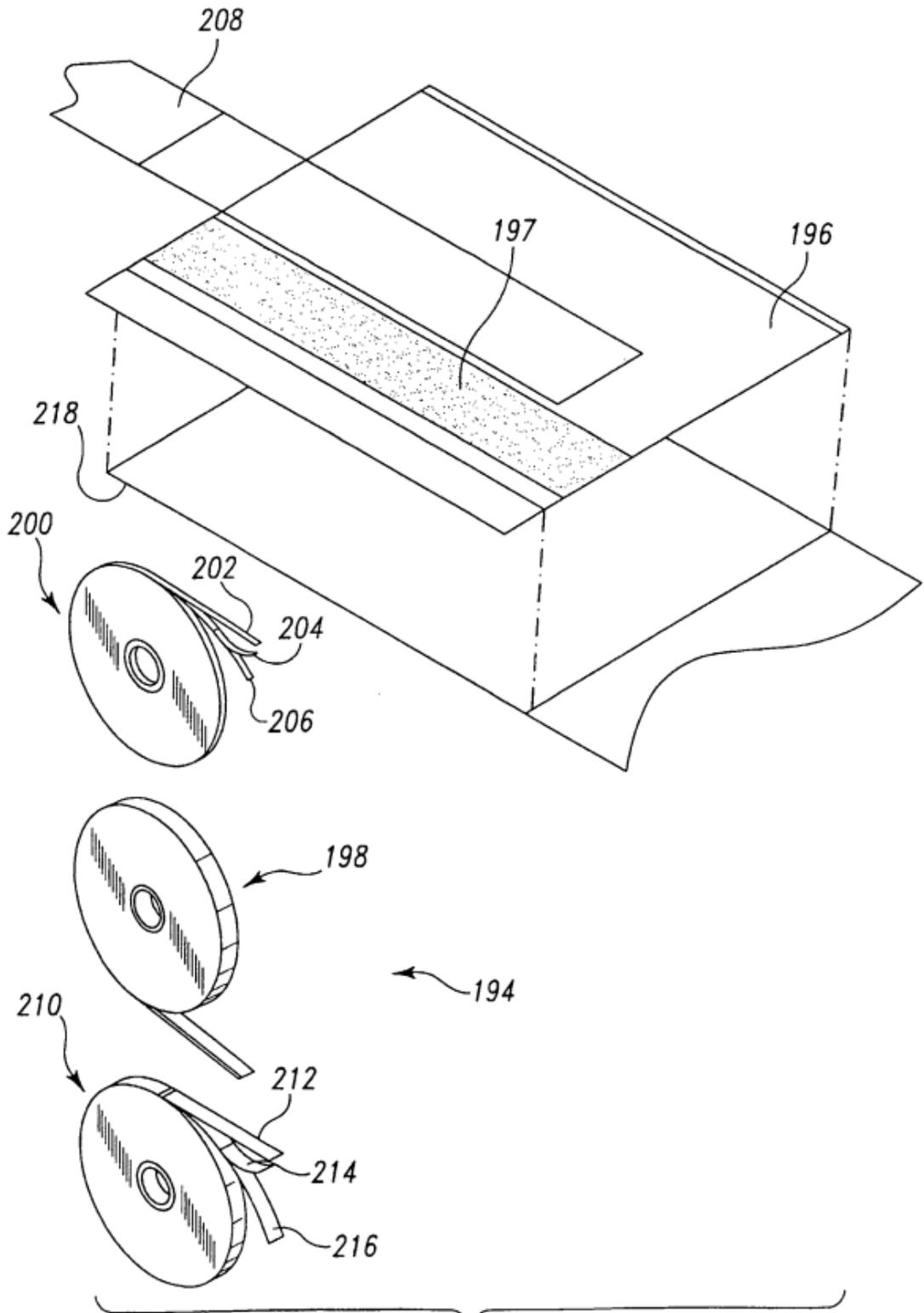
**Fig. 6**



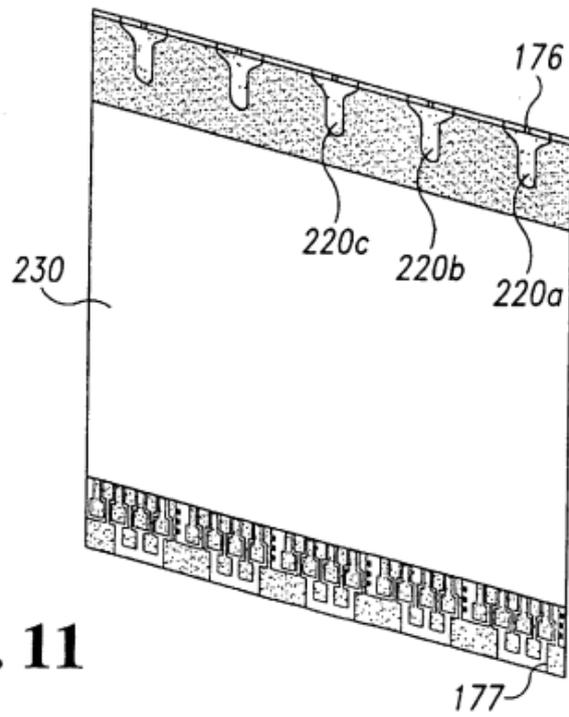
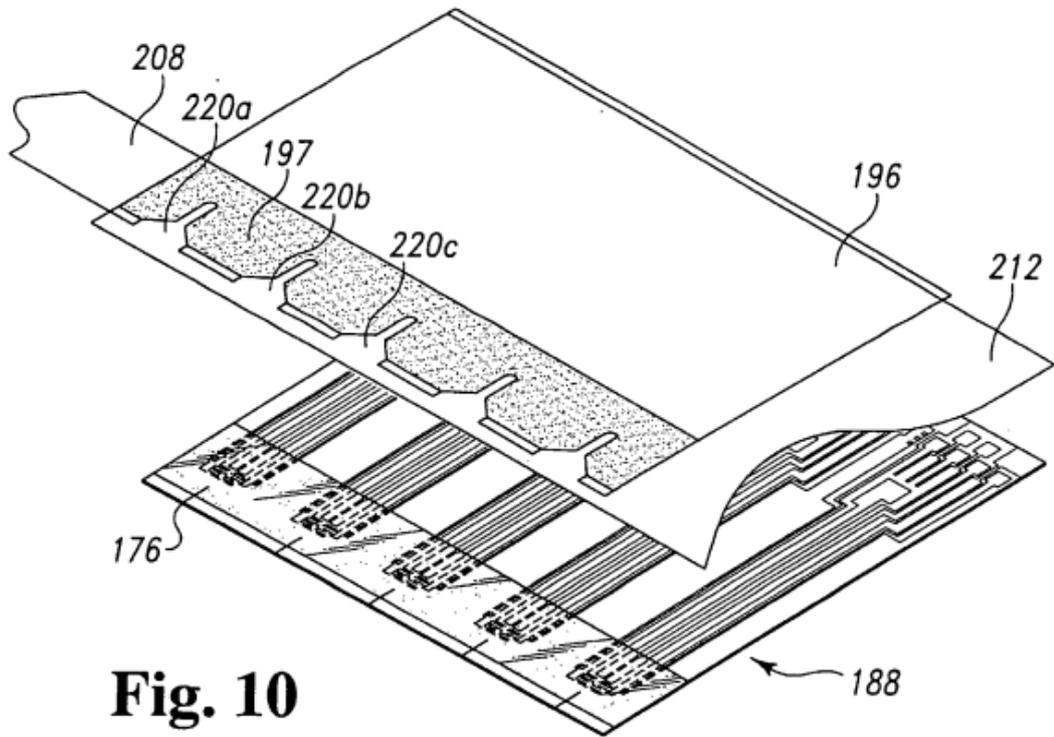
**Fig. 7**

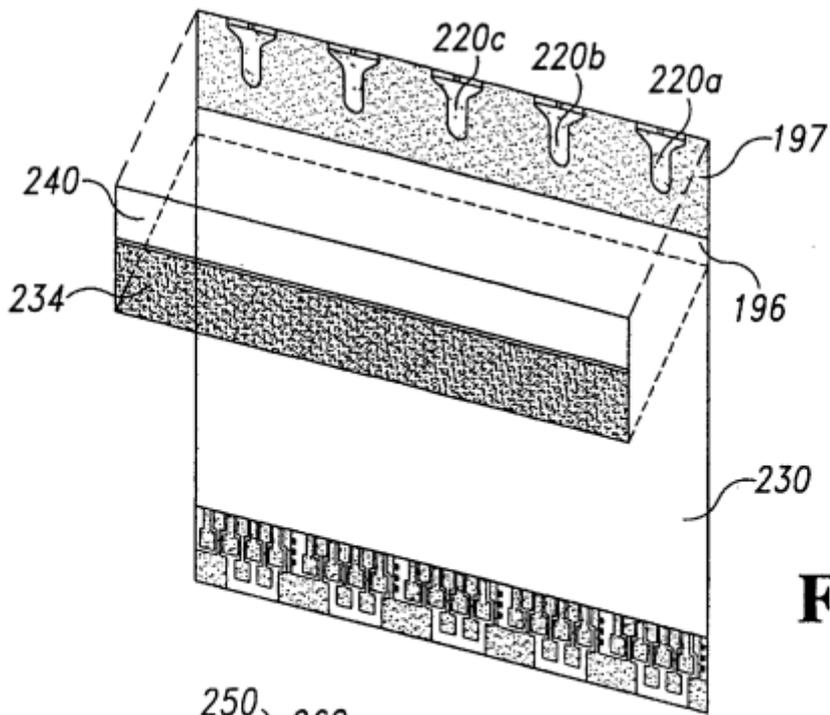


**Fig. 8**

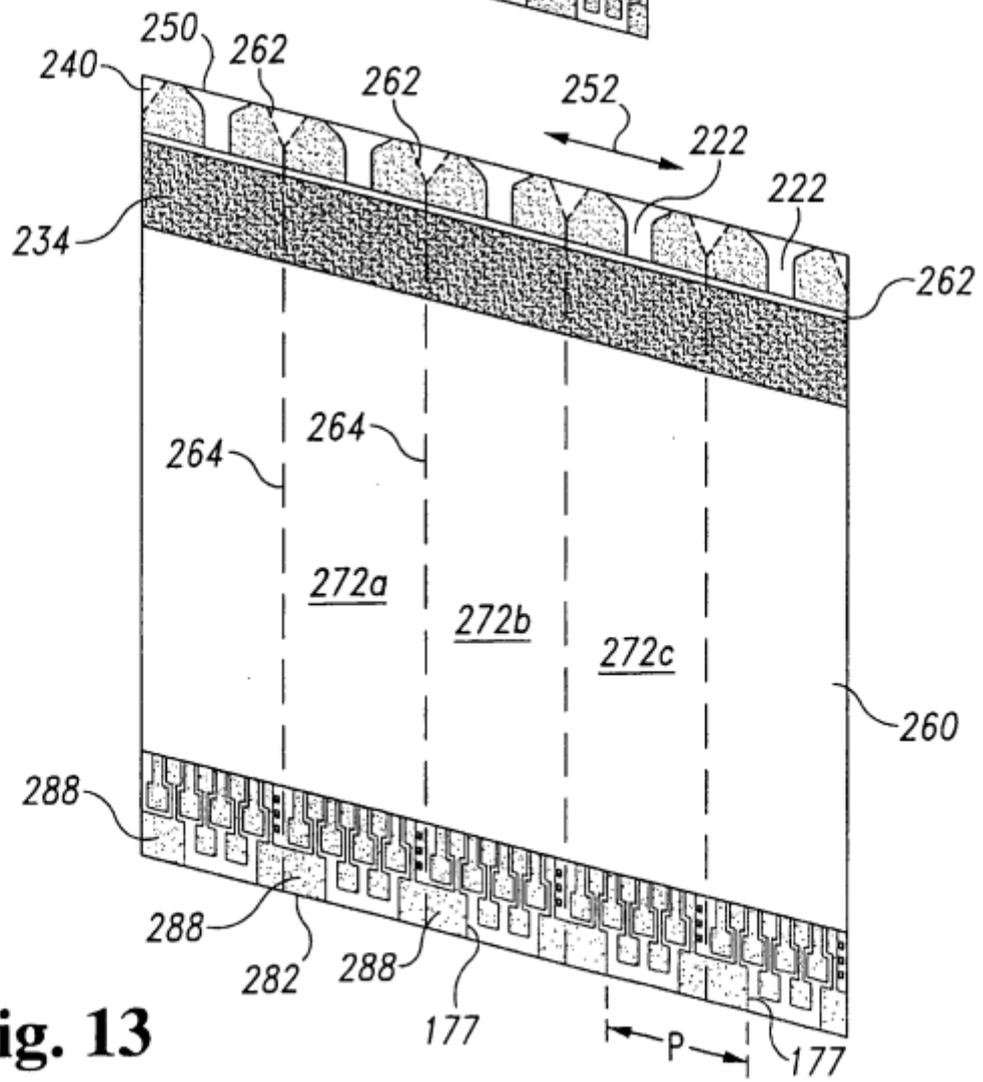


**Fig. 9**

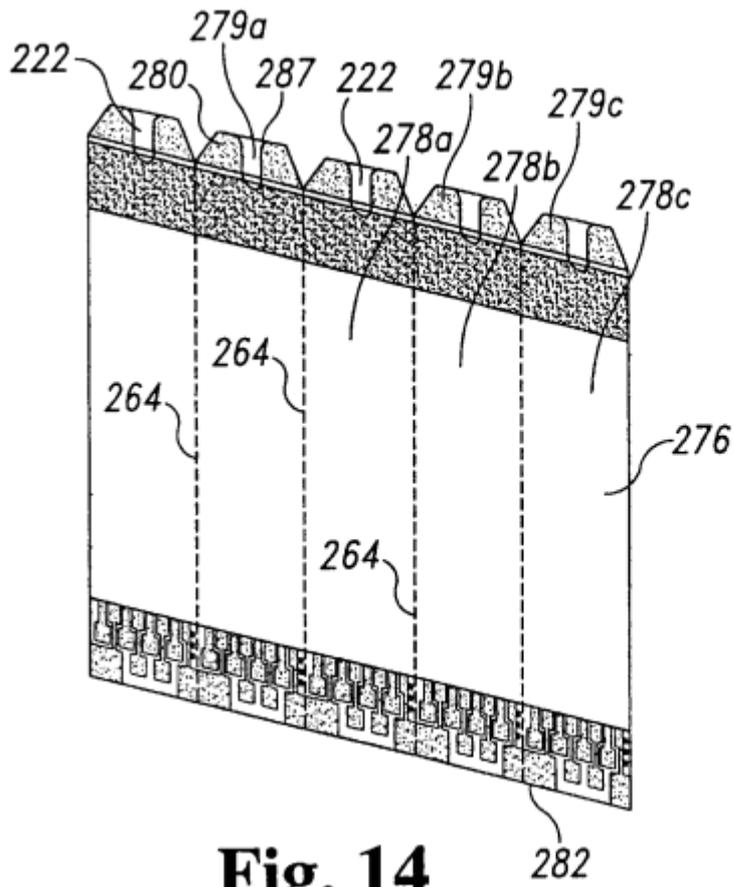




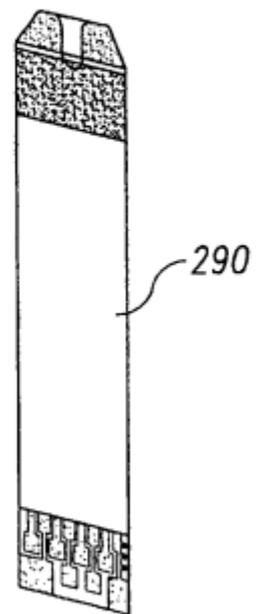
**Fig. 12**



**Fig. 13**



**Fig. 14**



**Fig. 15**