

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 683 013**

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/US2004/019687**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2004** **WO04113902**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2004** **E 04755695 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018** **EP 1642117**

54 Título: **Banda de reactivo para tira de ensayo**

30 Prioridad:

20.06.2003 US 480397 P

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

24.09.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

BURKE, DAVID, W.;
MARQUANT, MICHAEL;
ZAPF, UDO;
FRITZ, MICHAEL;
MOSOIU, DAN y
WILSEY, CHRISTOPHER, D.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 683 013 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

Banda de reactivo para tira de ensayo

5 SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de patente nº US 60/480.397, presentada el 20 de junio de 2003. La presente solicitud se refiere a una titulación asignada a un mismo titular, titulada "Method and Reagent for Producing Narrow, Homogeneous Reagent Stripes" (en lo sucesivo, "Homogeneous Reagent Stripes application"), presentada la misma fecha que la presente.

10 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere de manera general al ensayo de líquidos corporales para la concentración de analitos y, más particularmente, a una tira de ensayo o biosensor para dicho ensayo.

15 ANTECEDENTES

Las tiras de ensayo se utilizan con frecuencia para medir la presencia y/o las concentraciones de analitos seleccionados en muestras de ensayo. Por ejemplo, se utiliza una diversidad de tiras de ensayo para medir las concentraciones de glucosa en sangre para el seguimiento del nivel de azúcar en la sangre de las personas diabéticas. Entre dichas tiras de ensayo se incluye una cámara de reacción en la que se deposita una composición de reactivo. Las tendencias actuales en las tiras de ensayo requieren muestras de ensayo más pequeñas y tiempos de análisis más cortos. Esto proporciona un beneficio significativo para el paciente, permitiendo la utilización de muestras de sangre más pequeñas que pueden obtenerse de zonas menos sensibles del cuerpo. Además, los tiempos de ensayo más cortos y resultados más exactos permiten al paciente un mejor control del nivel de azúcar en sangre.

En relación a los volúmenes de muestra más pequeños, es conocida la provisión de tiras de ensayo con una cámara de reacción suficientemente pequeña para que el líquido de la muestra resulte aspirado de la misma por acción capilar, que es un fenómeno que resulta de la tensión superficial del líquido de la muestra y la tendencia termodinámica de un líquido a minimizar su superficie. Por ejemplo, la patente US nº 5.141.868 da a conocer una tira de ensayo que presenta una cavidad de tamaño suficientemente pequeño para aspirar líquido de muestra por acción capilar. La cavidad está definida por dos placas paralelas espaciadas aproximadamente 1 mm por dos tiras epoxi que se extienden longitudinalmente a lo largo de las caras laterales de las placas. La cavidad se encuentra abierta en ambos extremos, uno de los cuales recibe la muestra y el otro permite que el aire escape. La cavidad incluye una estructura de electrodo y porta un recubrimiento de un material apropiado para el ensayo que debe ser llevado a cabo por la tira de ensayo.

Resultan posibles numerosas variaciones del recubrimiento de reactivo dependiendo del analito o analitos específicos que deben someterse a ensayo y típicamente son numerosas reacciones químicas disponibles para la utilización con cada uno de los diversos analitos. Sin embargo, en términos generales, resulta deseable formar la capa de reactivo en la tira de ensayo o biosensor de la manera más delgada y uniforme posible. Por ejemplo, a medida que los volúmenes de muestra y, de esta manera, el tamaño de la cámara receptora de muestras continúa reduciéndose, las variaciones de grosor de la capa de reactivo afectan de manera creciente a la precisión del resultado del ensayo. Además, en tiras de ensayo que presentan cavidades más pequeñas, la capa de reactivo debe ser más delgada para dejar un espacio amplio en la cámara para recibir la muestra. Además, una capa más delgada se hidratará más rápidamente y, por lo tanto, producirá un resultado de ensayo más rápido.

Aunque la formación de una capa de reactivo delgada y uniforme que se hidrata rápidamente en un volumen extremadamente pequeño resulta deseable, no se obtiene con facilidad debido a las dificultades de trabajar con volúmenes muy pequeños de reactivo líquido. Por ejemplo, un enfoque de la técnica anterior para formar la capa de reactivo es depositarla en la cámara receptora de muestras después de formarse en la tira de ensayo. Sin embargo, lo anterior puede resultar en una capa de reactivo más desigual debido a fenómenos tales como la formación de un menisco en el perímetro de la cámara, que a su vez resulta en que el reactivo presente un grosor diferente contiguo a las paredes laterales de la cámara que en la parte interior. Esto puede provocar inconsistencia en el llenado de la cámara, intervalos de disolución prolongados y una mezcla inconsistente del reactivo con el líquido de muestra y eventualmente resultados de ensayo pobres.

Es conocido proporcionar mallas alargadas de material de tira de ensayo sobre las que se deposita una tira continua de reactivo. A continuación, las tiras de ensayo se cortan a partir de la malla alargada, extendiendo los cortes a través de la capa de reactivo. Típicamente, en dichas tiras de ensayo formadas de esta manera, la cámara receptora de muestra presenta un suelo con dos niveles diferentes: un nivel inferior proporcionado por un material de sustrato de base y un nivel elevado proporcionado por la capa de reactivo. Las discontinuidades en el suelo de la cámara pueden resultar problemáticas. En primer lugar, debido a que la parte superior de la capa de reactivo debe espaciarse típicamente una distancia mínima desde el techo o parte superior de la cámara para permitir un espacio

amplio para la muestra, la menor altura del sustrato de base crea indeseablemente un espacio de cámara malgastado.

En segundo lugar, los bordes de la capa de reactivo que están formados por la tira de reactivo probablemente presentarán un grosor y anchura desiguales. Por ejemplo, la anchura de la tira de reactivo puede variar sustancialmente al aplicarla a una malla larga de material, lo que a su vez resulta en que algunas tiras presenten más reactivo que otras después de recortar las tiras a partir de la malla. Además, la calidad del borde de la tira de reactivo es altamente variable, al ser dependiente de muchos factores, tales como los medios utilizados para aplicar la tira, la viscosidad y similares. Estas heterogeneidades pueden conducir a imprecisiones en la determinación de la concentración de analito.

Es un objetivo de la presente invención formar una tira e ensayo que presente una cámara receptora de muestras pequeña pero que incluye una capa de reactivo en la misma que evita las desventajas comentadas anteriormente.

El documento nº EP 1 260 589 A2 describe un biosensor. El biosensor incluye un sustrato de soporte que presenta primer y segundos extremos, electrodos situados en el sustrato de soporte, los cuales cooperan entre sí definiendo matrices de electrodos situados contiguamente al primer extremo, un sustrato espaciador situado en el sustrato de soporte y una cubierta situada sobre el sustrato espaciador. La cubierta coopera con el sustrato de soporte definiendo un canal. El canal incluye una entrada contigua al primer extremo y extremos opuestos. Cada matriz de electrodos se encuentra situada en el canal contiguo a uno de los extremos.

El documento nº US 2003/024811 A1 describe sensores formados a partir de un sustrato, una capa de electrodo y por lo menos una primera capa de reactivo fabricados mediante el transporte de una malla continua del sustrato pasado por lo menos dos estaciones de impresión, y la impresión de la capa de electrodo y la primera capa de reactivo sobre el sustrato. Una de las estaciones de impresión imprime la capa de electrodo sobre la malla continua de sustrato y la otra de las estaciones de impresión imprime la primera capa de reactivo sobre la malla continua de sustrato a medida que es transportada pasado las estaciones de impresión. Pueden incluirse estaciones de impresión adicionales para la impresión de capas de aislamiento, impresiones de adhesivo y similares. El orden de la impresión dependerá de la estructura deseada del sensor, aunque la capa o capas de electrodo con frecuencia se depositarán antes de la capa o capas de reactivo.

El documento nº US 2003/046811 A1 describe un método formador de espaciador para un biosensor que presenta un biosensor que posee un canal de muestreo capilar y pistas de conexión eléctrica para la utilización de un medidor portátil específico. Una pareja de electrodos se imprime sobre una placa base aislante que será el transductor del biosensor electroquímico mediante tecnología de serigrafado. Además, la placa conmutadora incluida en el biosensor se introduce en lugar de un microconmutador en un conector del medidor portátil.

El documento nº EP 1 281 955 A1 describe que en un biosensor que detecta la introducción de un líquido de muestra en un camino de suministro de especímenes que utiliza un electrodo, se proporcionan medios para mejorar la precisión de la detección. El biosensor presenta: un sistema de electrodos que incluye un electrodo medidor, contraelectrodo y electrodo de detección en un primer soporte eléctricamente aislante, un camino de suministro de especímenes para introducir el líquido de muestra y una capa de reactivo utilizada para cuantificar un sustrato contenido en el líquido de muestra. Los medios se caracterizan porque el electrodo de detección está espaciado del electrodo de medición por una distancia suficiente para que el líquido de muestra cubra suficientemente el electrodo de medición antes de que el líquido de muestra alcance el electrodo de detección.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una tira de ensayo según la reivindicación 1. La cámara receptora de muestras incluye una capa de reactivo uniforme que evita los indeseables efectos de borde y de menisco. La presente invención proporciona además un método de buena relación costes-efectividad para producir en masa dichas tiras de ensayo inventivas, según la reivindicación 16. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente invención proporciona una tira de ensayo que presenta extremos de inserción de medidor y de recepción de muestra, primera y segundo lados, y un eje longitudinal central que se encuentra orientado de manera sustancialmente paralela a los dos lados. La tira de ensayo define una dirección de bajada desde el extremo receptor de muestras hasta el extremo de inserción de medidor. La tira de ensayo incluye un sustrato base que presenta un electrodo formado sobre el mismo. Una capa de espaciado se encuentra sobre el sustrato base y presenta un hueco o cavidad que define por lo menos parcialmente la cámara receptora de muestras. La capa de reactivo se encuentra dispuesta en la cámara receptora de muestras y cubre una parte del sustrato de base y el electrodo. La capa de reactivo se encuentra interpuesta entre la capa de espaciado y el sustrato base y se extiende hasta el primer y segundo lados del sustrato base y se extiende además hasta el extremo receptor de muestras de la tira de ensayo.

En una forma preferente, la cámara receptora de muestras define un canal alineado con el eje longitudinal y presenta una abertura receptora de muestras dispuesta en el extremo receptor de muestras. De esta manera, la capa de reactivo se extiende a la abertura receptora de muestras. La ventaja de esta disposición es que una capa de reactivo uniforme y lisa recubre la mayor parte o la totalidad del suelo de la cámara receptora de muestras, evitando

de esta manera discontinuidades del borde, efectos de menisco y otras heterogeneidades en la capa de reactivo. Por el contrario, la presente invención proporciona una capa de reactivo con una superficie uniforme delgada que se extiende en todo el suelo de la cámara receptora de muestras, proporcionando una tira de ensayo altamente precisa.

La tira de ensayo preferentemente incluye una capa de cubierta suprayacente a la capa de espaciado. La capa de cubierta incluye una abertura de ventilación que comunica con la cámara receptora de muestras, permitiendo de esta manera la salida de aire de la cámara a medida que entra líquido en la misma. Más preferentemente, la capa de reactivo se extiende en dirección hacia abajo todo el camino hasta la abertura de ventilación, incluso ligeramente después de ella. De esta manera, se apreciará que el líquido de muestra es aspirado hacia el interior de la cámara receptora de muestras por acción capilar, experimenta una capa de reactivo uniforme y delgada hasta que se detiene en la abertura de ventilación, que se proporciona en forma de ranura siendo un lado de la misma hidrofóbico, deteniendo eficazmente de esta manera el movimiento de la muestra más allá de la misma.

En otra forma preferente, los electrodos sobre el sustrato base incluyen un electrodo de trabajo y un contraelectrodo, ambos cubiertos por la capa de reactivo. La capa de reactivo se extiende en dirección de bajada de flujo más allá de los electrodos.

La capa de reactivo preferentemente define primer y segundo bordes laterales de la capa de reactivo que se alinean sustancialmente con el primer y segundo lados de la tira de ensayo. La capa de reactivo forma además un borde terminal de la capa de reactivo que está alineada con el extremo receptor de muestras de la tira de ensayo. Tal como se indica posteriormente, los bordes de la capa de reactivo se forman como parte del procedimiento de troquelado que forma las tiras de ensayo individuales a partir de una malla de mayor tamaño, lo que proporciona un borde liso y uniforme que evita los efectos de borde no deseables indicados anteriormente.

En otra forma preferente, la tira de ensayo incluye una capa adhesiva interpuesta entre la capa de espaciado y el sustrato base. Tal como se indica en la presente memoria, como parte del procedimiento de producción en masa, se forma la capa adhesiva con un perfil del borde que está alineado con el borde periférico de la cámara receptora de muestras. En realizaciones preferentes, el adhesivo forma un sello en torno a la periferia de la cámara receptora de muestras, evitando de esta manera que el líquido de muestra se disperse lateralmente fuera de la cámara y se extienda bajo la capa de espaciado.

En otra forma de la misma, la presente invención proporciona un método de producción en masa de las nuevas tiras de ensayo descritas anteriormente. En el presente método inventivo, se proporciona una malla del material de sustrato base que presenta primer y segundo bordes de malla. Se forma en la malla una pluralidad de juegos de electrodos espaciados. Se aplica una tira de material de reactivo en la malla y cubre por lo menos un electrodo de los juegos de electrodos. La tira se orienta sustancialmente en paralelo al primer borde de malla. Las tiras de ensayo inventivas seguidamente se cortan a partir de la malla. Los cortes realizados en la malla definir el primer y segundo lados y el extremo receptor de muestras de la tira de ensayo. Además, durante el procedimiento de corte, se corta una parte de la banda de reactivo y se separa del extremo receptor de muestras de la tira de ensayo. Esto resulta en tiras de ensayo con capas de reactivos que se extienden hasta el extremo receptor de muestras, así como el primer y segundo lados de las tiras de ensayo. Debido a que el reactivo es hidrofílico, haciendo que se extienda hasta el extremo de administración de la tira promueve ventajosamente la subida de la muestra de sangre hacia el interior de la cámara capilar y evita las pausas en la administración. Según la invención, antes de cortar las tiras de ensayo se proporciona una malla de material de espaciado que presenta una serie de cavidades espaciadas. Las cavidades se alinean con los ejes longitudinales de las tiras de ensayo que se recortan a partir de la malla y después se lamina el material de espaciado contra la malla. Preferentemente, el material de espaciado incluye un adhesivo sobre la cara inferior del mismo que sirve para adherir la malla del material de la capa de espaciado a la malla del sustrato base. Tras laminar la malla de material de capa de espaciado, se alinea una malla de material de capa de cobertura y después se lamina sobre la malla de material de capa de espaciado. De esta manera, cada cavidad define una cámara receptora de muestras.

La capa de reactivos inventiva formada mediante dicho método presenta varias ventajas. Debido a que es muy delgada, la capa de reactivos puede realizarse de grosor homogéneo. Además, las capas delgadas de reactivos contienen sólo cantidades pequeñas de reactivos que, a su vez, conducen a tiempos de reacción rápidos. Las reacciones sólo presentan tiempos de difusión cortos y las capas delgadas de reactivos son rápidamente solubles y, por lo tanto, conducen a una rápida disponibilidad del reactivo y a un rápido equilibrado de a matriz después de la rehidratación de las muestras de la tira de reactivo, lo que a su vez conduce a mediciones rápidas.

Las capas de reactivos inventivos no sólo pueden hacerse muy delgadas sino que también muestran una homogeneidad elevada en toda la malla del área de reacción. La capa de reactivo en la zona de ensayo o cámara receptora de muestras es plana y de grosor uniforme. Las variaciones del grosor en la tira recubierta se encuentran preferentemente únicamente en a los bordes externos de 0,2 cm (o menos) de la tira. Sin embargo, en realizaciones preferentes, dichas áreas ventajosamente se cubren con la capa de espaciado o se recortan a partir del extremo de administración de la tira en el procedimiento de ensamblaje final.

Además, debido a que la capa de reactivo se aplica en húmedo y después se seca antes de laminar la capa de espaciado sobre la tira de ensayo, la capa de reactivo puede formarse de esta manera para que resulte suave, delgada y de grosor uniforme, cubriendo sustancialmente todo el suelo de la cámara receptora de muestras. Dicho procedimiento inventivo ayuda a mejorar la reproducibilidad de la cantidad, localización, grosor y otras propiedades de la capa de reactivo, que a su vez mejora la precisión del resultado de ensayo.

La presente invención proporciona una tira de ensayo fácil de administrar y proporciona un procedimiento de fabricación robusto aunque flexible. Las diversas otras características que caracterizan la invención se señalan particularmente en las reivindicaciones adjuntas. Para una mejor comprensión de la invención, las ventajas y objetivos obtenidos de ella, debe hacerse referencia a los dibujos y a la descripción acompañante, en la que se ilustran y describen realizaciones preferentes de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Haciendo referencia a continuación a los dibujos, en los que los números y letras de referencia indican la estructura correspondiente a lo largo de varias vistas.

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

FIG. 2 es una vista en perspectiva de despiece 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 además capas adhesivas que han sido omitidas de las FIGS. 1-2.

La FIG. 4 es una vista en planta superior de una parte del biosensor de la FIG. 1, con despiece de partes para mostrar detalles subyacentes.

Las FIGS. 5 y 5A muestran un diagrama de flujo del procedimiento para un método de producción de un biosensor según la presente invención.

La FIG. 6 es una vista en perspectiva que muestra el procesamiento rollo a rollo y el corte de un material de malla útil para formar el sustrato de fondo del biosensor de la presente invención.

La FIG. 7 es una vista en perspectiva de una parte de una malla, que muestra un patrón ejemplar de componentes eléctricos en el sustrato de base.

La FIG. 8 es una vista en perspectiva de una parte de la malla de la FIG. 7 e incluye una composición de reactivo recubierta sobre la misma.

La FIG. 8A es una vista diagramática que ilustra el procedimiento de recubrimiento con boquilla de ranura que produce el reactivo ilustrado en la FIG. 8.

La FIG. 9 es una vista en perspectiva de despiece que muestra una capa de espaciado y las capas adhesivas asociadas y papeles antiadherentes.

La FIG. 10 es una vista en perspectiva de despiece de una parte de la capa de espaciado con cámaras precapilares excavadas y con la capa de espaciado alineada para la laminación con un sustrato de base sobre el que se encuentran los patrones de electrodos.

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

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

La FIG. es una vista en perspectiva de una parte de un ensamblaje que incluye las varias capas que comprende el biosensor.

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

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

DESCRIPCIÓN DE LAS REALIZACIONES PREFERENTES

Con el propósito de facilitar nuestra comprensión de los principios de la invención, a continuación se hace referencia a las realizaciones específicas ilustradas en la presente memoria y se utilizarán términos y expresiones específicas para describirla. Sin embargo, se entenderá que de esta manera no se pretende ninguna limitación del alcance de la invención. Cualesquiera alteraciones y modificaciones adicionales en los procedimientos o dispositivos descritos, y cualesquiera aplicaciones adicionales de los principios de la invención tal como se describen en la presente memoria, se encuentran contempladas tal como las concebiría normalmente el experto en la materia a la que se refiere la invención.

Sistema

Un sistema que resulte útil para evaluar un analito en un líquido de muestra incluye dispositivos y métodos para evaluar el líquido de muestra para el analito diana. Tal como se indica en mayor detalle posteriormente, la evaluación puede ir desde la detección de la presencia del analito hasta la determinación de la concentración del analito. El analito y el líquido de muestra puede ser cualquiera para el que resulte apropiado el sistema de ensayo. Para los fines de explicación exclusivamente, se describe una realización preferente en la que el analito es glucosa y el líquido de muestra es sangre o líquido intersticial. Sin embargo, el alcance de la presente invención claramente no se encuentra limitado de esta manera.

Sensor

Un componente del sistema es un sensor electroquímico que incluye una cámara receptora de muestras para el líquido de muestra y un reactivo adecuado para producir una señal electroquímica en presencia del analito de ensayo. El sensor preferentemente comprende una tira de ensayo desechable, en particular una que presenta una construcción laminar que proporciona una abertura en el borde que comunica con la cámara receptora de muestras. El reactivo se dispone dentro de la cámara receptora de muestras en posición para proporcionar la señal electroquímica a un electrodo de trabajo también posicionado dentro de la cámara. Bajo circunstancias apropiadas, tal como para la detección de glucosa, el reactivo puede contener un enzima y opcionalmente un mediador.

Medidor

El sensor se utiliza en combinación con un medidor para la determinación del analito en el líquido de muestra. El medidor incluye convencionalmente una conexión con los electrodos del sensor y circuitos para evaluar la señal electroquímica correspondiente a la concentración del analito. El medidor puede incluir además medios para determinar que el líquido de muestra ha sido recibido por el sensor y que la cantidad de líquido de muestra resulta suficiente para el ensayo. El medidor puede almacenar y mostrar los resultados del análisis, o alternativamente puede proporcionar los datos a un dispositivo separado.

Analito - características

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

Analito - tipo

El sistema resulta útil para la determinación de una amplia diversidad de analitos. La tira de ensayo, por ejemplo, se adapta fácilmente a la utilización con cualquier reacción química adecuada que puede utilizarse para evaluar la presencia del analito. Lo más preferentemente, el sistema se configura y utiliza para el ensayo de un analito en un líquido biológico. Entre dichos analitos puede incluirse, por ejemplo, la glucosa, el colesterol, el colesterol-HDL, los triglicéridos, los lactatos, la lactato deshidrogenasa, el alcohol, el ácido úrico y el ácido 3-hidroxibutírico (cuerpos cetónicos). Resultarán evidentes para el experto en la materia modificaciones correspondientes del sistema. Con fines explicativos, y en una realización particularmente preferente, el sistema se describe con respecto a la detección de glucosa en un líquido biológico.

Interferentes

Las metodologías de ensayo pueden resultar afectadas de diversas maneras por la presencia de interferentes en el líquido de muestra. Por ejemplo, el ensayo para glucosa en una muestra de sangre puede verse impactado por factores tales como el oxígeno, la bilirrubina, el hematócrito, el ácido úrico, el ascorbato, el acetaminofeno, la galactosa, la maltosa y los lípidos. El presente sistema es adaptable para minimizar o eliminar los efectos adversos de los interferentes que también pueden encontrarse presentes en el líquido de muestra. Dichos efectos pueden resolverse mediante la selección apropiada de materiales y parámetros de ensayo, tal como mediante la selección de reacciones químicas que es conocido que resultan menos impactadas, o no impactadas en absoluto, por posibles interferentes. Tal como es conocido en el estado de la técnica, también pueden adoptarse otras medidas para resolver posibles efectos de interferencia, tales como la utilización de recubrimientos o películas que evitan que el interferente entre en la zona de ensayo. Además, pueden utilizarse modificaciones de las configuraciones de los electrodos o de los métodos de interrogación a fin de minimizar el efecto de los interferentes.

Tipo de líquido

El sistema resulta útil con una amplia diversidad de líquidos de muestra y preferentemente se utiliza para la detección de analitos en un líquido de muestra. En el presente contexto, la expresión "líquido biológico" incluye cualquier líquido corporal en el que puede medirse el analito, por ejemplo, líquido intersticial, líquido dérmico, sudor, lágrimas, orina, líquido amniótico, líquido espinal y sangre. El término "sangre" en el contexto de la invención incluye sangre completa y sus componentes libres de células, es decir, plasma y suero. Además, el sistema resulta útil en relación a líquidos de control que se utilizan de manera convencional para verificar la integridad del sistema para el ensayo.

En una realización preferente, el sistema se utiliza para el ensayo de la glucosa. El líquido de muestra en este caso puede incluir específicamente, por ejemplo, sangre capilar reciente, obtenida de la punta del dedo o sitios alternativos aprobados (p.ej., el antebrazo, la palma de la mano, el lóbulo de la oreja, el brazo, pantorrilla y muslo), sangre venosa reciente y soluciones de control suministradas con el sistema o para el sistema.

El líquido puede obtenerse y enviarse a la tira de ensayo de cualquier manera. Por ejemplo, puede obtenerse una muestra de sangre de manera convencional mediante incisión en la piel, tal como con una lanceta, poniendo en contacto seguidamente la tira de ensayo con líquido que aparece en la superficie de la piel. Es un aspecto de la presente invención que la tira de ensayo resulta útil con muestras de líquido muy pequeñas. Por lo tanto, es una característica deseable de la invención que sólo una ligera incisión en la piel resulta necesaria para producir el volumen de líquido requerido para el ensayo, y el dolor y otras molestias con dicho método pueden minimizarse o eliminarse.

También es bien conocido que diferentes sitios en la piel producirán mayores o menores cantidades de sangre con la incisión con una lanceta. La punta del dedo, por ejemplo, es un sitio utilizado comúnmente para obtener una muestra de sangre porque produce una cantidad relativamente grande de sangre con la punción con lanceta. Sin embargo, también es conocido que las zonas que producen volúmenes más grandes de sangre se asocian generalmente a mayores grados de dolor para el usuario. Por lo tanto, es una ventaja del presente sistema que el volumen requerido de líquido de muestra es suficientemente pequeño para que la tira de ensayo resulte útil con la cantidad de sangre típicamente obtenida mediante punción con lanceta de zonas menos productivas, aunque también menos dolorosas, de la piel, tales como la palma de la mano y la parte superior del brazo. La utilización de dichas localizaciones para obtener líquidos de muestra para el ensayo en ocasiones se denomina "ensayo de sitios alternativos". La presente invención resulta particularmente adecuada para la utilización con líquidos de muestra, p.ej. sangre o líquido intersticial, obtenido en dichos sitios alternativos.

Tira de ensayo - general

Introducción.

La tira de ensayo incluye varios componentes básicos. La tira comprende un cuerpo pequeño que define una cámara en la que se recibe el líquido de muestra para el ensayo. La "cámara receptora de muestras" puede llenarse con el líquido de muestra por medios adecuados, preferentemente mediante acción capilar, aunque también opcionalmente de manera asistida por presión o vacío. La cámara receptora de muestras incluye electrodos y unas reacciones químicas adecuadas para producir una señal electroquímica indicativa del analito en el líquido de muestra. Descripción básica.

En referencia en particular a los dibujos, se muestra una realización preferente de una tira de ensayo útil según la presente invención. La tira de ensayo 10 incluye un sustrato de base 12, una capa de espaciado 14 y una capa de cobertura 16 que comprende una cubierta de cuerpo 18 y una cubierta de cámara 20. La capa de espaciado 14 incluye una parte vacía 22 para proporcionar una cámara receptora de muestras 24 que se extiende entre el sustrato de base 12 y la capa de cobertura 16.

El sustrato de base 12 porta un sistema de electrodos 26 que incluye una pluralidad de electrodos 28 y trazas de electrodos 30 que finalizan en placas de contacto 32. Los electrodos están definidos por aquellas partes de los trazos de electrodo 30 que se sitúan dentro de la cámara receptora de muestras 24. Pueden utilizarse diversas configuraciones del sistema de electrodos 26, tal como se indica después en la presente memoria. Un sistema de reactivos 33 adecuado se encuentra en la parte superior de por lo menos una parte de los electrodos o parejas de electrodos 28 en la cámara receptora de muestras.

La cubierta del cuerpo 18 y la cubierta de la cámara 20 sobre la capa de espaciado 14 definen una ranura 34 entre ellas, definiendo la ranura una abertura de ventilación que comunica con la cámara receptora de muestras para permitir que el aire escape de la cámara a medida que el líquido de muestra entra en la cámara desde la abertura de borde o la abertura receptora de líquidos 35. Por lo tanto, la tira de ensayo incluye un extremo dosificador 36 y un extremo de inserción de medidor 38. La forma del extremo dosificador típicamente es distinguible del extremo medidor de manera que ayuda al usuario. Además, preferentemente se utiliza una representación gráfica de la tira para mejorar adicionalmente la intuición del diseño de la tira, p.ej., la flecha 31 indica la inserción de la tira en el medidor.

Dimensiones generales.

La tira de ensayo es un dispositivo relativamente pequeño que se dimensiona para ser compacto y fácil de almacenar y utilizar. En una realización típica, la longitud de la tira es del orden de 20 a 50 mm, preferentemente de aproximadamente 33 mm a aproximadamente 38 mm, y de una anchura de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 mm, preferentemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 9 mm. La distancia entre la ranura o abertura de ventilación 34 y el borde del medidor se dimensiona para proporcionar una "zona de agarrado", en donde no se encuentra sangre y para la protección frente a la contaminación de la sangre de la zona de contacto del medidor y, por lo tanto, puede encontrarse comprendida en el intervalo de 5 a 35, preferentemente ≥ 13 mm. La longitud de la parte de tira de ensayo (desde el extremo de inserción del medidor 38) que se inserta en el medidor se encuentra preferentemente a $\leq 6,0$ mm a lo largo del eje largo de la tira de ensayo.

La construcción laminar preferente de la tira de ensayo proporciona además un dispositivo que es relativamente delgado. El grosor mínimo de la tira permite un fácil empaquetamiento de la tira en recipientes apropiados que resultan cómodos para el usuario. Por ejemplo, el grosor global de la tira de ensayo puede ser de aproximadamente 500 a 525 μm . El grosor de la parte de tira de ensayo que se inserta en el contacto del medidor puede ser de aproximadamente 250 μm .

Sustrato

La tira de ensayo incluye un sustrato de base 12 que comprende un material de aislamiento que soporta el sistema de electrodos y otros componentes. Típicamente, plásticos tales como polímeros de vinilo, poliimidas, poliésteres y estirenos proporcionan las propiedades eléctricas y estructurales que resultan necesarias. Además, debido a que la tira de ensayo es preferentemente producible en masa a partir de rollos de material, resulta deseable que las propiedades del material resulten apropiadas para presentar suficiente flexibilidad para el procesamiento de los rollos, proporcionando simultáneamente una rigidez útil para la tira acabada. El sustrato de base puede seleccionarse como 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 los anteriormente indicados. Se encuentran disponibles comercialmente poliimidas adecuados por ejemplo bajo 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 de duPont.

Electrodos

Tipo.

La invención se refiere a un "sensor electroquímico", que es un dispositivo configurado para detectar la presencia y/o medir la concentración de un analito mediante las reacciones electroquímicas de oxidación y reducción dentro del sensor. Dichas reacciones se transducen en una señal eléctrica que puede correlacionarse con la cantidad o concentración del analito. Por lo tanto, la tira de ensayo incluye un sistema de electrodos 26 que comprende un grupo de electrodos de medición, por ejemplo, por lo menos un electrodo de trabajo y un contraelectrodo, dentro de la cámara receptora de muestras. La cámara receptora de muestras está configurada de manera que el líquido de muestra que entra en la cámara se ponga en contacto electrolítico tanto con el electrodo de trabajo como con el contraelectrodo. Lo anterior permite que fluya una corriente eléctrica entre los electrodos medidores, realizando 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 electrorreduce con o sin la intervención de un mediador redox. El término "contraelectrodo" se refiere en la presente memoria a un electrodo que se empareja con el electrodo de trabajo y a través del cual pasa una corriente electroquímica igual en magnitud y de signo contrario a la corriente que pasa a través del electrodo de trabajo. El término "contraelectrodo" pretende incluir de manera general contraelectrodos que también funcionan como electrodos de referencia (es decir, contraelectrodos/electrodos de referencia).

Material de los electrodos.

El electrodo de trabajo y el contraelectrodo, y las partes restantes del sistema de electrodos, pueden estar formados de una diversidad de materiales, tal como es conocido en la técnica. Los electrodos deben presentar una resistencia eléctrica relativamente baja y deben ser electroquímicamente inertes en el intervalo operativo de la tira de ensayo. Entre los conductores adecuados para el electrodo de trabajo se incluyen oro, paladio, platino, carbono, titanio, dióxido de rutenio y óxido de indio-estaño, e iridio, así como otros. El contraelectrodo puede prepararse de los mismos materiales o de materiales diferentes, por ejemplo, plata/cloruro de plata. En una realización preferente, el electrodo de trabajo y el contraelectrodo son ambos electrodos de oro.

Aplicación de los electrodos.

Los electrodos pueden aplicarse al sustrato base de cualquier manera que rinda electrodos de conductividad e integridad adecuadas. Los procedimientos ejemplares son bien conocidos de la técnica y entre ellos se incluyen, por ejemplo, la pulverización, la impresión, etc. En una realización preferente, se proporcionan electrodos de oro mediante recubrimiento del sustrato base seguido de la eliminación selectiva de partes del recubrimiento para rendir el sistema de electrodos. Un método de eliminación preferente es la ablación por láser, y más preferentemente, la ablación láser de campo amplio, tal como se da a conocer en la solicitud de patente estadounidense nº de serie 10/601.144, presentada el 20 de junio de 2003, titulada 'Method of Making a Biosensor', la exposición de la cual se incorpora como referencia en la presente memoria.

Las técnicas de ablación láser típicamente incluyen la ablación de una composición de única capa metálica o multicapa que incluye un material de aislamiento y un material conductor, p.ej., un laminado metálico de una capa metálica recubierta o laminada en un material aislante (comentado posteriormente). La capa metálica puede contener metales puros, aleaciones u otros materiales, que son conductores metálicos. Entre los ejemplos de

conductores metálicos o de tipo metálico se incluyen: aluminio, carbono (tal como grafito), cobalto, cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (en forma de 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 dichos materiales. Preferentemente, los materiales se seleccionan para que resulten esencialmente no reactivos con los sistemas biológicos; entre dichos materiales se incluyen oro, platino, paladio, iridio, plata o aleaciones de dichos metales o óxido de indio-estaño. La capa metálica puede presentar cualquier grosor deseado. En una realización preferente, el grosor es de aproximadamente 500 nm.

10 Configuración.

El sistema de electrodos puede presentar una diversidad de configuraciones adecuadas al funcionamiento de la tira de ensayo y el medidor. Para cualquier realización, el electrodo de trabajo y el contraelectrodo pueden posicionarse y dimensionarse para minimizar el volumen de líquido de muestra requerido para cubrirlos. También resulta preferible que los electrodos se configuren para mantener un flujo de corriente de suficiente magnitud para que resulte medible utilizando un medidor manual relativamente económico.

A título de ejemplo adicional, una realización preferente incluye un contraelectrodo que se extiende en torno a ambos lados del electrodo de trabajo. Por lo tanto, el contraelectrodo presenta dos elementos, uno delante del electrodo de trabajo y el otro, detrás del electrodo de trabajo, ya que el líquido de muestra entra en la cámara receptora de muestras. Más específicamente, el contraelectrodo incluye elementos 40 y 42 que se extienden a través de la cámara receptora de muestras. Cada uno de dichos elementos presenta una anchura de aproximadamente 250 μm . El elemento electrodo de trabajo 44 presenta una anchura de aproximadamente 250 μm y está espaciado de cada uno de los dos elementos contraelectrodos por aproximadamente 255 μm . Se apreciará que ésta es sólo una de entre varias configuraciones para los electrodos de medición.

Los trazos 30 y las placas de contacto 32 pueden proporcionarse de diversas maneras consistentes con su función deseada respecto a la tira de ensayo. Dichos componentes del sistema de electrodos pueden estar compuestos preferentemente del mismo material que los electrodos y pueden aplicarse preferentemente en el sustrato base de la misma manera y simultáneamente a la aplicación de los electrodos. En realizaciones preferentes, los trazos y las placas de contacto son de oro y se forman mediante ablación láser, en particular tal como se describen en la solicitud de patente estadounidense n° de serie 10/601.144, que se incorpora como referencia en la presente memoria. Sin embargo, pueden utilizarse materiales y métodos de aplicación alternativos.

35 Reacciones químicas

Composición de reactivo.

La tira de ensayo incluye un reactivo químico dentro de la cámara receptora de muestras para la reacción con el analito de ensayo para producir la señal electroquímica que representa la presencia del analito en el líquido de muestra. La capa de reactivo puede incluir una diversidad de componentes activos seleccionados para determinar la presencia y/o la concentración de diversos analitos. Por lo tanto, la química del ensayo se selecciona con respecto al analito que debe evaluarse. Tal como es bien conocido de la técnica, existen numerosas reacciones disponibles para la utilización con cada uno de los diversos analitos. Por ejemplo, en una realización preferente, la tira de ensayo de la presente invención puede incluir uno o más enzimas, coenzimas y cofactores, que pueden seleccionarse para determinar la presencia de glucosa en la sangre. Por lo tanto, la selección de una reacción apropiada se encuentra perfectamente dentro de los conocimientos del experto en la materia, y no se requiere una descripción adicional en la presente memoria que permita la preparación y utilización de las tiras de ensayo con diversos analitos. Adyuvantes.

De manera convencional, el abanico de reactivos puede incluir además una diversidad de adyuvantes para potenciar las propiedades o características del reactivo. Por ejemplo, la química puede incluir materiales para facilitar la aplicación de la composición de reactivo sobre la tira de ensayo y mejorar su adherencia a la tira o para incrementar la tasa de hidratación de la composición de reactivo por el líquido de muestra. Además, la capa de reactivo puede incluir componentes seleccionados para potenciar las propiedades físicas de la capa de reactivo resultante y la incorporación de una muestra de ensayo líquida para el análisis. Entre los ejemplos de materiales adyuvantes para la utilización con la composición de reactivo se incluyen espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizadores, tampones, detergentes, agentes gelificantes, rellenos, agentes de apertura de película, agentes colorantes y agentes que proporcionan tixotropía.

En una realización preferente de la muestra de ensayo, la mayor parte de la cámara es hueca antes de la utilización. En la cámara de muestras muy pequeñas de las tiras de ensayo según la presente invención, resulta preferente que la capa de reactivo sea delgada y uniforme. Debido a que la cámara receptora de muestras es muy pequeña, de capacidad inferior a aproximadamente 1 μl , la profundidad o altura vertical de la cámara es muy pequeña. En consecuencia, la capa de reactivo puede no ocupar la mayor parte de la cavidad interna de la cámara. La capa de reactivo puede ser suficientemente delgada para dejar un espacio amplio para la muestra de ensayo en la cámara.

Además, la muestra de ensayo líquida hidratará o disolverá la capa delgada de reactivo más rápidamente. Tal como se ha comentado en el esquema de reacción anterior, el mediador y los productos redox del mediador se difunden a través de la capa/gradiente de reactivo y en el interior de la misma hasta los electrodos. Los componentes reactivos e intermediarios presentarán una distancia corta de difusión a través de una capa delgada de reactivo; por lo tanto, la difusión hasta los electrodos se producirá en menos tiempo. Además, la eficiencia de captura de los productos redox mediadores en un electrodo será mayor para una capa delgada de enzima que para una capa gruesa.

A la inversa, una capa de reactivo gruesa requerirá más tiempo para que la muestra de ensayo líquida se hidrate o se disuelva, y una capa de reactivo gruesa incrementará el tiempo que se requiere para que el mediador/productos redox mediadores alcancen los electrodos. Este tiempo incrementado puede retrasar el tiempo de determinación de la concentración del analito e introducirá errores en la determinación.

Resulta preferente que la capa de reactivo presente un grosor uniforme. Estas heterogeneidades de grosor pueden conducir a variabilidad en la determinación de la concentración de analito. En una realización preferente, la capa de reactivo presenta un grosor uniforme en toda la cámara receptora de muestras. En esta realización preferente, la capa de reactivo no es más gruesa en el perímetro de la cámara receptora de muestras contigua a las paredes laterales verticales que definen la cámara que en la parte central de la cámara. En consecuencia, la capa de reactivo no muestra un perfil de menisco.

La composición de reactivo se formula como solución viscosa que puede depositarse como una capa uniforme delgada sobre la capa base. La composición de reactivo incluye espesantes y agentes tixotrópicos que potencian las propiedades físicas de la capa de reactivo. Los espesantes se seleccionan para proporcionar una matriz líquida espesa que presenta los componentes restantes dispersados homogéneamente en la misma. Los agentes espesantes y tixotrópicos inhiben además que el material líquido o semipastoso se deslice o se extienda sobre la superficie de la capa base después de depositarlo y antes de que se seque. Tras depositar la composición de reactivo, se seca rápidamente hasta formar una matriz fácilmente hidratable.

La composición de reactivo se proporciona para secarse con rapidez secando al aire o por calor. Tras el secado, la capa de reactivo depositada muestra un grosor de entre aproximadamente 1 micrómetro y aproximadamente 20 micrómetros. Más preferentemente, la capa de reactivo seca muestra un grosor de entre aproximadamente 2 micrómetros y aproximadamente 6 micrómetros.

La composición de reactivo puede depositarse sobre la superficie de la tira de ensayo utilizando una diversidad de métodos de recubrimiento, incluyendo las técnicas de recubrimiento por cortina, el recubrimiento de fundido en caliente, el recubrimiento de pantalla giratoria, cuchilla 'Doctor Blade' o recubrimiento por cuchilla al aire, recubrimiento con barra de Meyer y recubrimiento de rodillo inverso. Dichas técnicas son conocidas por el experto en la materia. Preferentemente, la composición de reactivo se aplica a la malla mediante un procedimiento de recubrimiento con boquilla ranurada que se describe en mayor detalle posteriormente. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la malla flexible en forma de una composición húmeda de un grosor entre aproximadamente 40 μm y aproximadamente 100 μm . Más preferentemente, la composición de reactivo se deposita en forma de una composición húmeda a un grosor de entre aproximadamente 60 μm y aproximadamente 80 μm . La composición puede aplicarse como una capa uniformemente delgada de un reactivo directamente sobre la parte superior de los electrodos de medición y a lo largo de la longitud de una malla de múltiples tiras de ensayo, en forma de una banda estrecha continua. En realizaciones preferentes, la banda estrecha presenta una anchura de entre aproximadamente 7 mm y 8 mm y un grosor en seco de entre aproximadamente 3 μm y aproximadamente 20 μm . La composición también puede aplicarse sobre otros electrodos que pueden residir en la cámara receptora de muestras, dependiendo de la funcionalidad deseada de dichos electrodos externos.

Capa de espaciado

Configuración.

La tira de ensayo incluye una capa de espaciado 14 que es suprayacente al sustrato de base y que define en parte la cámara receptora de muestras. En particular, la capa de espaciado 14 incluye una parte hueca 22 que define sustancialmente la altura y el perímetro de la cámara receptora de muestras 24. La parte hueca 22 se sitúa convenientemente para que presente una abertura de borde de manera que el líquido de muestra se ponga en contacto con la abertura de borde para entrar en la cámara receptora de muestras. La abertura de borde preferentemente se encuentra situada al final de la tira de ensayo, aunque se apreciará que la localización en un borde lateral también resulta útil.

Materiales.

La capa de espaciado 14 puede realizarse en cualquier material útil para la fabricación con la tira de ensayo. Debido a que la capa de espaciado define parcialmente la altura de la cámara receptora de muestras, el material debe presentar suficiente resistencia a grosores apropiados a la altura deseada de la cámara. Otra función de la capa de espaciado es proteger los trazos de electrodo que se extienden a lo largo de la superficie superior de sustrato de

base 14. El material también debe unirse fácilmente al sustrato de base y a los materiales de cubierta, mediante adhesivos termosensibles o sensibles a la presión u otros medios, tales como la soldadura térmica o láser. Entre los ejemplos de materiales adecuados se incluyen una lámina PEN de 100 μm de PET recubierta o combinada con adhesivos tales como ARCare 90132 de Adhesives Research Inc.

Capa de cobertura

Configuración.

Sobre la capa de espaciado 14 se recibe una capa de cobertura 16, uniéndose a ella. Una función de la capa de cobertura es formar la superficie superior de la cámara receptora de muestras. Otra función es la provisión de una superficie hidrofílica para ayudar en la adquisición de la muestra de ensayo. Además, la capa de cobertura 16 preferentemente define una abertura de ventilación 34 que permite que escape el aire del interior de la cámara a medida que entra el líquido de muestra y entra en la cámara receptora de muestras.

Preferentemente, la cubierta del cuerpo 18 y la cubierta de la cámara 20 comprenden dos elementos separados para facilitar la fabricación y la formación de la abertura de ventilación. La cubierta del cuerpo 18 y la cubierta de la cámara 20 están ambas dispuestas en sustancialmente el mismo plano horizontal. La cubierta de la cámara 20 cubre sustancialmente la parte de hueco 22 de la capa de espaciado y forma la parte superior de la cámara receptora de muestras. La cubierta de la cámara preferentemente incluye un recubrimiento o tratamiento hidrofílico 21 sobre su cara inferior, tal como se indica en mayor detalle posteriormente. La cubierta del cuerpo y la cubierta de la cámara se encuentran situadas extremo a extremo en la dirección longitudinal a lo largo de la tira de ensayo e incluyen una ranura 34 entre ellas tal como se muestra en la FIG. 1. La ranura se encuentra situada en posición contigua al extremo interior de la parte de hueco 22 de la capa de espaciado y forma un pequeño hueco que separa la cubierta de la cámara 20 de la cubierta del cuerpo 18.

La ranura se encuentra situada en una posición respecto a la cámara receptora de muestras que es interior respecto a la localización del sistema de electrodos 26. El líquido de muestras que entra en la cámara receptora de muestras avanzará hasta la abertura de ventilación, pero no más. En una vista en planta, la ranura proporciona una indicación visual de un "nivel de llenado", tal como se indica en la presente memoria. Por lo tanto, la situación de la abertura de ventilación garantiza que puede recibirse suficiente líquido de muestra para cubrir por completo el sistema de electrodos. Simultáneamente, la situación de la abertura de ventilación inhibirá el efecto 'mecha' continuo del líquido de muestra más allá de la región del sistema de electrodos.

Simultáneamente, la construcción de la abertura de ventilación puede llevarse a cabo de manera que se inhiba la evacuación del líquido de muestra lateralmente a lo largo de la ranura más allá de la zona intermedia suprayacente a la cámara receptora de muestras 24. Por ejemplo, la cubierta del cuerpo preferentemente se fija a la capa de espaciado mediante un adhesivo 46, tal como se muestra en la FIG. 3. La utilización de un adhesivo hidrofóbico inhibirá que la sangre, el líquido intersticial y otros líquidos acuosos se muevan por acción capilar a lo largo de la ranura que corre lateralmente. Toda la cubierta del cuerpo, o partes contiguas a la abertura de ventilación, también pueden ser hidrofóbicas a fin de inhibir la evacuación por efecto 'mecha'. Los materiales y métodos para proporcionar propiedades hidrofóbicas para una superficie de un material son bien conocidos de la técnica. La cubierta de la cámara puede fijarse a la capa de espaciado con un adhesivo igual o diferente al adhesivo 46, tal como se explica posteriormente.

El adhesivo 49 fija la capa de espaciado al sustrato de base 12. El adhesivo 46, así como el adhesivo 49 y el material para la capa de espaciado 14, están todos formados de material hidrofóbico en la realización ilustrada. De esta manera, las paredes verticales de la cámara capilar formada en la tira 10 son hidrofóbicas. En contraste, el suelo de la cámara está cubierto con un reactivo hidrofílico y la cara inferior de la capa 20 se encuentra recubierta con un recubrimiento hidrofílico 21 (FIG. 2). En otras palabras, las superficies horizontales en el capilar son hidrofílicas, mientras que las superficies verticales son hidrofóbicas. Se ha encontrado que lo anterior estimula una buena evacuación por efecto 'mecha' de la muestra hacia el interior de la cámara capilar, aunque evita la migración no deseada de la muestra lateralmente desde la cámara, p.ej. entre la capa de espaciado y el sustrato de base.

Materiales.

La cubierta del cuerpo y la cubierta de la cámara pueden realizarse en cualesquiera materiales útiles para la fabricación con la tira de ensayo. Los materiales para la cubierta del cuerpo y la cubierta de la cámara pueden ser iguales o diferentes. Los materiales también deben unirse fácilmente a la capa de espaciado, mediante adhesivos termosensibles o sensibles a la presión u otros medios, tales como la soldadura térmica o láser. Entre los ejemplos de materiales adecuados para tanto la cubierta de la cámara como la cubierta del cuerpo se incluye hoja de PET de aproximadamente 127 μm de grosor. La cubierta de la cámara preferentemente incluye una capa hidrofílica 21 tal como se da a conocer en el documento nº WO 02/085185, ARFlow® 90191 de Adhesives Research Inc.

La capa de cobertura 16 puede utilizarse además para facilitar la visión del líquido de muestra a medida que entra en la cámara receptora de muestras. Lo anterior se consigue proporcionando un contraste de color o de tono entre la

cámara y la zona circundante. Por ejemplo, en un enfoque, la parte de la capa de espaciado 14 que circunda el hueco 22 se proporciona con un color que contrasta con el color del fondo de la cámara receptora de muestras, p.ej., el color de la capa de reactivo químico situada en el fondo de la cámara. Dicho color contrastante puede proporcionarse, por ejemplo, mediante la aplicación de una tinta u otro agente colorante a las partes de la capa de espaciado contiguas a la cámara receptora de muestras. Se ilustra una sección coloreada 23 de la capa 14 en la FIG. 2. La cubierta de la cámara 20 se proporciona en este caso como un material transparente o translúcido que permite al usuario ver la cámara y la capa de espaciado contigua. A medida que el líquido de muestra entra desde el borde de la tira de ensayo, el usuario puede observar cómo avanza a medida que se mueva por acción capilar hacia la abertura de ventilación. Este tipo de característica se describe adicionalmente en la patente US nº 5.997.817, concedida a Crismore et al. el 7 de diciembre de 1999.

Capilares

La cámara receptora de muestras formada por el sustrato de base, capa de espaciado y cubierta de la cámara comprenden esencialmente varias secciones dentro de las cuales se desplazará el líquido de muestra. En primer lugar, la sección de entrada 48 se extiende desde la abertura de borde hasta la zona del sistema de electrodos de medición. En segundo lugar, la 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 hasta la abertura de ventilación. Se apreciará que el ensayo del líquido de muestra se produce en la zona del sistema de electrodos en la sección de ensayo. Sin embargo, el líquido de muestra también rellenará las otras secciones de la cámara durante el curso del llenado de la tira de ensayo.

Dimensiones.

La altura y la anchura de la cámara receptora de muestras se seleccionan basándose en una diversidad de consideraciones, entre ellas el líquido que se somete a ensayo y el analito en cuestión. Por ejemplo, las dimensiones de la cámara preferentemente se dimensionan para promover el flujo capilar del líquido de ensayo hacia el interior de la cámara. Las alturas de cámara preferentes para la utilización con sangre, por ejemplo, son de entre aproximadamente 50 μm y aproximadamente 200 μm , y lo más preferentemente, de entre 120 y 180 μm . En una realización preferente, la altura de la cámara es de aproximadamente 150 μm . La anchura de la cámara de manera similar puede seleccionarse para que corresponda con un líquido de muestra y analito deseados. Por ejemplo, la cámara debería ser suficientemente ancha para exponer una cantidad deseada del electrodo de trabajo y contraelectrodo, y debería ser suficientemente estrecha para evitar la necesidad de una cantidad indebida de líquido de muestra para el ensayo. La anchura de la cámara receptora de muestras y la anchura del electrodo de trabajo definen la superficie del electrodo de trabajo. La superficie representa una consideración de diseño adicional ya que está relacionada con la amplitud de la señal y el diseño de la instrumentación. Volumen.

La cámara receptora de muestras preferentemente se proporciona con un volumen mínimo con el fin de reducir la cantidad de líquido de muestra necesaria para llevar a cabo el ensayo. La cámara receptora de muestras global, incluyendo la totalidad de las tres secciones que se extienden desde la abertura de borde hasta la abertura de ventilación, presenta un volumen total que puede considerarse un factor de la superficie de la cámara desde el borde hasta la abertura de ventilación, y la altura de la cámara desde el sustrato de base hasta la cubierta de la cámara 20. Sin embargo, el "volumen neto de la cámara" comprende el volumen de líquido de muestra requerido para llevar dicho espacio. El volumen neto de cámara de la cámara receptora de muestras será equivalente al volumen total de la cámara menos el volumen ocupado por los electrodos, el reactivo y quizás otros elementos, tales como el material absorbente, en caso de incluirse.

Tal como se ha indicado anteriormente, el volumen de la cámara receptora de muestras global comprende los volúmenes atribuibles a las tres secciones de la cámara. Cada una de las secciones se dimensiona generalmente para ser tan pequeño como resulte práctico para el funcionamiento de la tira de ensayo. Sin embargo, existen consideraciones, y posiblemente otras funciones, que impactarán sobre el tamaño de cada sección.

Los volúmenes de las cámaras son un factor de tanto la altura como la superficie. La altura es el resultado del grosor de la capa de espaciado y el grosor de los adhesivos utilizados para fijar la capa de espaciado a las demás capas. Por ejemplo, el sustrato de base y la cubierta de la cámara se fijan a caras opuestas de la capa de espaciado. Un método de fijación es el sellado por calor o láser de los materiales. Sin embargo, resulta preferente fijar dichas capas mediante la utilización de adhesivos adecuados, tales como adhesivos termosensibles o sensibles a la presión. En dicho enfoque, la altura de la cámara receptora de muestras, es decir, la distancia entre las superficies opuestas del sustrato del fondo y la cubierta de la cámara resultará impactada por el grosor de las capas adhesivas. Tal como se muestra en la FIG. 3, la cámara 24 se encuentra unida en su cara inferior a la capa de reactivo 33 y en su cara superior, a la cubierta de la cámara 20. Sin embargo, las capas adhesivas 46 y 49, así como la capa de espaciado 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 espaciado 14 y, en efecto, se extiende en toda la anchura de la tira de ensayo, tal como se indica posteriormente.

Por lo tanto, la altura de la cámara también puede incrementarse debido a la presencia de la capa de reactivo subyacente a la capa de espaciado. En esta realización, y en el caso de que se utilice adhesivo, se ha encontrado que el adhesivo puede combinarse con el reactivo de ensayo, por lo menos en la medida que causa que el adhesivo rellene en cierta medida el interior y el exterior del reactivo. Por lo tanto, las alturas de las capas de reactivo y adhesivo no son necesariamente aditivas en la tira de ensayo final. Por el contrario, la altura del espacio resultante entre el sustrato de base y la capa de espaciado es algo menos que la combinación de las alturas de las capas separadas de reactivo y adhesivo antes de la laminación.

También se ha encontrado que la combinación del adhesivo y el reactivo ventajosamente ayuda a crear un sello a lo largo del borde de la cámara receptora de muestras. Ello inhibe que el líquido de muestra sea evacuado por efecto 'mecha' hacia dentro del material de reactivo presente en el espacio entre el sustrato de base y la capa de espaciado en el marco temporal necesario para llevar a cabo un ensayo.

La primera sección de entrada se encuentra disponible para recibir el líquido de muestra y dirigirlo a los electrodos de medición. Dicha sección puede ser de tamaño bastante reducido y puede comprender únicamente un corto segmento de la cámara. La longitud de dicha sección preferentemente es inferior a 1.200 μm .

La segunda sección de ensayo incluye los electrodos de ensayo o de medición y también está dimensionada para requerir un volumen mínimo de líquido de muestra. Un factor principal que controla el tamaño de dicha segunda sección es el tipo, número, tamaño, intensidad de señal y configuración de los electrodos de medición. La longitud de dicha sección preferentemente es de aproximadamente 1.260 μm . Un volumen preferente es aproximadamente 0,265 μl , basado en una altura de capilar de 0,15 mm, y una anchura de capilar de 1,4 mm.

El líquido de muestra se desplaza pasado los electrodos de medición y entra en la tercera sección. Ello proporciona una garantía, y preferentemente permite una confirmación específica, de que los electrodos de medición han sido correctamente humectados. Esta confirmación puede ser mediante observación visual por parte del usuario o por medios de detección automática. Por ejemplo, pueden situarse electrodos de suficiencia de la dosis en esta sección para detectar en qué momento el líquido de muestra ha avanzado hasta entrar en dicha sección hasta el punto en que se garantiza la humectación de los electrodos de medición. Lo anterior puede utilizarse como inductor para iniciar la aplicación del potencial a los electrodos. La longitud de esta sección preferentemente es de 50 a 500 μm y más preferentemente de 255 a 400 μm . El volumen preferentemente es de 0,01 a 0,1 μl y más preferentemente de 0,05 a 0,08 μl .

En una realización preferente, el volumen neto global de cámara de la cámara receptora de muestras es inferior a aproximadamente 1 μl y más preferentemente es inferior a aproximadamente 0,5 μl . Los intervalos deseables para el volumen neto de cámara de la cámara receptora de muestras incluyen volúmenes de aproximadamente 0,15 μl a aproximadamente 1,4 μl , más preferentemente de aproximadamente 0,4 μl a aproximadamente 0,7 μl .

Absorbente.

La cámara para muestras en caso contrario puede encontrarse vacía, lo que resulta preferente, o alternativamente puede incluir un material absorbente. Entre los materiales absorbentes adecuados se incluyen poliéster, nilón, celulosa y derivados de celulosa tales como nitrocelulosa. Puede incluirse un material absorbente para facilitar la captación de líquido de muestra al ayudar a conducir por efecto 'mecha' el líquido hacia el interior de la cámara. La utilización de un material absorbente también sirve para reducir adicionalmente el volumen hueco de la cámara receptora de muestras para la recepción del líquido de muestra.

Método de rellenado.

El método preferente de rellenado de la cámara para muestras es por acción capilar. Además, el rellenado de la tira de ensayo puede incrementarse por otros medios, tales como la aplicación de una presión al líquido de muestra para empujarlo hacia el interior de la cámara de muestra y/o la creación de un vacío en la cámara de muestra para aspirar el líquido de muestra hacia el interior de la cámara. Recubrimiento hidrofílico.

Para el rellenado capilar de la cámara receptora de muestras se dispone de diversos enfoques que facilitan el desplazamiento del líquido de muestra hacia el interior de la cámara. Por ejemplo, puede seleccionarse o tratarse todas o cada una de las superficies que definen la cámara a fin de mejorar la hidrofiliidad. Dicho tratamiento puede comprender la utilización de materiales hidrofílicos conocidos, la aplicación de un material hidrofílico sobre la superficie, o el tratamiento de las superficies para incrementar la hidrofiliidad, tal como se indica posteriormente. Además, la composición de reactivo puede formularse para la fácil hidratación y para potenciar el rellenado de la cámara receptora de muestras. Tal como se ha indicado anteriormente, también puede utilizarse un absorbente.

Ensayo para un analito

El sensor electroquímico se opera mediante la aplicación de un potencial o serie de potenciales adecuado a través de electrodo de trabajo y contraelectrodo, y a través de los electrodos de suficiencia de dosis. Al utilizar un

mediador, la magnitud del potencial requerido a través del electrodo de trabajo y contraelectrodo dependerá del mediador redox. Además, el potencial en el electrodo en el que se electroliza el analito típicamente es suficientemente grande para llevar la reacción electroquímica hasta el final o prácticamente el final, aunque la magnitud del potencial preferentemente no es suficientemente grande para inducir una reacción electroquímica significativa de los interferentes. Para la glucosa, por ejemplo, una diferencia de potencial aplicada típicamente es de entre aproximadamente +100 mV y aproximadamente +550 mV al utilizar un potencial de DC. Al utilizar potenciales de AC, estos típicamente son de 5 a 100 mV RMS.

Puede aplicarse un potencial antes o después de que la muestra empiece a entrar en la cámara receptora de muestras. Sin embargo, preferentemente se aplica un potencial después de que la muestra haya entrado en la cámara y más preferentemente después de que se haya determinado que hay suficiente cantidad de muestra en la cámara receptora de muestras para llevar a cabo un ensayo. El momento de la aplicación de un potencial puede ser inducido de una diversidad de maneras, entre ellas la observación visual por el usuario, un retardo temporal después del muestreo del líquido en la tira de ensayo o mediante la detección eléctrica o automática de otro tipo de una cantidad suficiente de líquido de muestra en la cámara. Las alternativas visual y eléctrica también pueden actuar como mecanismos de seguridad redundantes para garantizar el funcionamiento correcto del dispositivo. Preferentemente, la tira y sistema de ensayo utilizando medios de detección separados, tales como los electrodos de suficiencia de dosis, para determinar en qué momento la muestra de líquido ha llenado suficientemente la cámara.

En el momento en que se ha aplicado un potencial y el líquido de muestra se encuentra en la cámara receptora de muestras, fluye una corriente eléctrica entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. La corriente puede ser un resultado de la electrolisis del analito en el líquido de muestra al aplicar un potencial de suficiente magnitud. En este caso, la reacción electroquímica se produce mediante el mediador redox, generalmente tal como se ha indicado anteriormente. En el caso de que se aplique un potencial de amplitud pequeña, en particular en el caso de potenciales de AC, la corriente no se produce necesariamente por electrolisis, sino debido al movimiento y respuesta iónicos del dieléctrico en la cámara de muestra. El experto en la materia reconocerá que existen muchos mecanismos de reacción diferentes que conseguirán el mismo resultado.

Solución de control

Puede aplicarse un ensayo a la tira de ensayo después de la dosificación a fin de confirmar que se ha administrado una solución de control, e incluso que se ha administrado la solución de control correcta. Las soluciones de control ayudan al usuario a confirmar que todo el sistema funciona dentro de las especificaciones de diseño y que las tiras de ensayo no han sido almacenadas incorrectamente o bien tratadas inadecuadamente. Las tiras aceptables recuperarán valores dentro de los intervalos de tolerancia especificados para el lote de tiras particular sometido a ensayo. Los intervalos de tolerancia en cuestión estarán publicados para cada lote de tiras en la etiqueta del recipiente.

Método de fabricación de tiras

En una realización preferente, el sensor comprende una tira de ensayo laminada multicapa 10. Tal como se ha indicado anteriormente, el laminado incluye un sustrato de base 12, una capa de espaciado 14 y una capa de cobertura 16. Dichos componentes pueden ensamblarse de diversas maneras. Por ejemplo, los componentes pueden ensamblarse mediante la utilización de adhesivos, termosellado, soldadura láser y una diversidad de otras técnicas adecuadas apropiadas para fijar los materiales contiguos. Las tiras de ensayo preferentemente se ensamblan en gran número en una única hoja o malla y las tiras se separan después para el almacenamiento y utilización.

La tira de ensayo laminada puede ensamblarse secuencialmente mediante la aplicación sucesiva de una capa cada vez. Alternativamente, la tira de ensayo puede prepararse mediante el ensamblado y procesamiento de componentes o capas individuales, que seguidamente se laminan juntas para proporcionar la tira de ensayo funcional. En una forma preferente, se preparan simultáneamente dos o más componentes básicos de la tira de ensayo. A continuación, en una o en una serie de etapas de ensamblaje o laminado, se combinan los componentes básicos para producir la tira de ensayo, que puede requerir o no un procesamiento posterior. 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 recubierta sobre electrodos metálicos definidos sobre el sustrato, una capa de espaciado que presenta una cavidad preformada en la misma, y una o más capas superiores o de cobertura.

Con estas pequeñas dimensiones de la cámara receptora de muestras, las características de la capa de reactivos pueden presentar un impacto significativo sobre el funcionamiento de la tira de ensayo, en particular en vista de las características de hidratación y mezcla. Por lo tanto, la reproducibilidad de la cantidad, localización, grosor y otras propiedades de la capa de reactivo resultan importantes. Por lo tanto, resulta deseable que la composición incluya materiales que potencien específicamente las características físicas, tales como la uniformidad y planicidad de la capa aplicada.

En un aspecto particular, la tira de ensayo incluye un modo único de incorporar el reactivo. El reactivo se aplica en la cámara receptora de muestras por lo menos sobre el electrodo de trabajo y preferentemente también sobre el contraelectrodo. El reactivo puede aplicarse en la tira de ensayo de una diversidad de maneras, tal como se entiende bien en la técnica. En una realización preferente, la composición de reactivo se aplica en forma de un recubrimiento delgado sobre los electrodos soportados sobre el sustrato de base.

Más particularmente, el reactivo se aplica sobre el sustrato de base de manera que sitúa la composición de reactivo entre el sustrato de base y la capa de espaciado. Esta manera de aplicación ayuda a que la capa de reactivo sea más plana y de grosor más uniforme. En contraste, un procedimiento de la técnica anterior ha sido preparar en primer lugar el pocillo o cavidad de reacción y después rellenar el pocillo con el reactivo. Sin embargo, ello puede resultar en una capa de reactivo más desigual debido a fenómenos tales como la formación de un menisco en el perímetro del pocillo. Lo anterior puede provocar a su vez que el reactivo presente un grosor junto a las paredes laterales del pocillo de reacción diferente del grosor en la parte interior, lo que puede causar una inconsistencia en el rellenado de la cámara, intervalos de disolución prolongados y mezcla inconsistente del reactivo con el líquido de muestra y los resultados de ensayo finales. Mediante la aplicación del reactivo sobre el sustrato de base antes de la adición de la capa de espaciado, no se produce un efecto de menisco que perturbe la aplicación uniforme en una capa del reactivo a medida que se seca sobre el sustrato de base. Además, dicho método de aplicación facilita la producción en masa de las tiras de ensayo.

En referencia a los dibujos, se muestra la tira de ensayo 10 como incluyendo una capa de reactivo 33 que se extiende entre el sustrato de fondo 12 y la capa de espaciado 1. Más particularmente, el reactivo forma una capa 33 que cubre tanto la superficie superior del sustrato del fondo 12 como los electrodos 28. El reactivo cubre por lo menos el electrodo de trabajo y preferentemente también el contraelectrodo. En la realización más preferente, la capa de reactivo se extiende a través del grosor completo de la tira de ensayo. La capa de reactivo también se extiende preferentemente desde el borde en el extremo hasta la abertura de ventilación. La capa de reactivo se extiende de esta manera bajo la capa de espaciado y se encuentra interpuesta entre la capa de espaciado y el sustrato de base. En la realización ilustrada, la capa de reactivo se extiende en ambos bordes laterales y el borde de dosificación de la tira de ensayo 10.

Tal como se describe en mayor detalle posteriormente, durante el procedimiento de fabricación, se recortan las tiras de ensayo 10 a partir de una malla de material que presenta una "banda de reactivo" continua alargada. El procedimiento de recortado corta a través de la capa de reactivo en dos caras y en su extremo, de manera que cada tira de ensayo formada de esta manera presenta una capa de reactivo que define bordes laterales de la capa de reactivo y un borde de extremo. Los bordes laterales de la capa de reactivo se alinean con los bordes laterales de la tira de ensayo, mientras que el borde de extremo de la capa de reactivo se alinea con el borde de extremo de la tira de ensayo. En otras palabras, los bordes de la capa de reactivo son coextensivos con los bordes de la tira de ensayo. La extensión de la capa de reactivo hasta el borde de dosificación (que puede ser un borde lateral o terminal de la tira) ayuda a promover el aspirado por efecto 'mecha' del líquido de muestra hacia el interior de la cámara receptora de muestras, ya que el reactivo es hidrofílico. La extensión de la capa de reactivo a los lados de la tira proporciona ventajosamente un sustrato liso sobre el que se lamina la capa de espaciado.

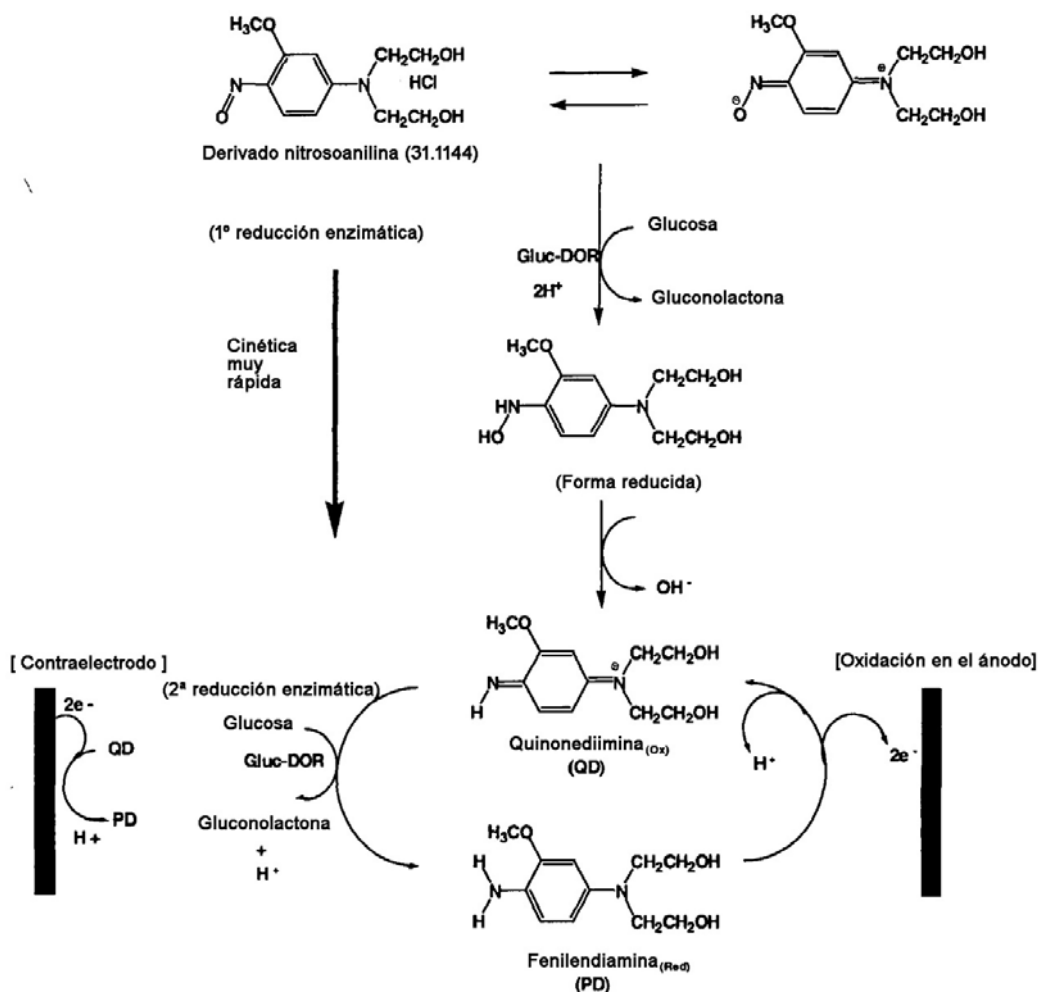
La composición de reactivo se aplica en el fondo o sustrato de base de cualquier manera adecuada que proporcione una capa deseada y uniforme que finalmente se extenderá bajo la capa de espaciado. El reactivo se aplica preferentemente en un recubrimiento continuo directamente sobre el sustrato del fondo y sobre los electrodos recibidos sobre el mismo. Tal como se indica después en la presente memoria, la composición de reactivo se aplica más preferentemente durante el curso de producción de una gran cantidad de tiras de ensayo sobre una malla de material. De esta manera, el reactivo puede aplicarse en forma de una banda continua de material que se extiende sobre un rollo de sustrato que después se separa en tiras de ensayo individuales. Se deja que la composición de reactivo se seque o que de otro modo se prepare y se aplica la capa de espaciado sobre la misma.

En un aspecto relacionado, un modo preferente de fijar la capa de espaciado al sustrato de fondo es la utilización de un adhesivo. Además de fijar las capas entre sí, se ha encontrado que el adhesivo se acoplará suficientemente con la composición de reactivo para ayudar a sellar el espacio entre el sustrato de fondo y la capa de espaciado. Los adhesivos se aplican preferentemente sobre la capa de espaciado, que se lamina sobre el sustrato de base. De esta manera, el adhesivo se pone en contacto con la parte del reactivo que se extiende bajo la capa de espaciado.

En un aspecto adicional, se describe una realización preferente en la que el analito es glucosa. En el caso de la glucosa, los componentes activos de la composición de reactivo típicamente incluyen una oxidoreductasa, tal como un enzima para la glucosa; opcionalmente un coenzima o cofactor, y un mediador redox. Dichos componentes típicamente 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, reaccionando con uno o más de los componentes activos. Típicamente, el enzima oxida la glucosa en la muestra de ensayo en gluconolactona y/o ácido glucónico. El mediador, a su vez, reacciona u oxida el enzima reducido y, en consecuencia, el mediador resulta reducido durante el procedimiento. El mediador reducido puede detectarse en uno de los electrodos en la tira de ensayo.

En un ejemplo específico de un esquema de reacción de oxidación/reducción útil para detectar glucosa en sangre humana, una muestra de ensayo que contiene glucosa reacciona con un enzima, tal como glucosa-dioxidorreductasa (Gluc-Dor), y opcionalmente un coenzima o cofactor, tal como pirroloquinonolina quinona (PQQ), en presencia de un mediador redox. El mediador puede incluir, por ejemplo, benzoquinona, complejos de metal de transición, p.ej. ferricianuro de potasio, derivados de osmio (p.ej., complejos de bipyridilo de osmio, tales como los indicados en el documento nº WO 98/35225) y derivados de nitrosoanilina (ver la patente US nº 5.286.362). Ello produce la forma oxidada del analito, la gluconolactona, y la forma reducida del mediador redox. A continuación, el mediador envía el equivalente redox del producto mediador, el mediador reducido, a la superficie del electrodo mediante difusión. Ahí, el mediador es oxidado cuantitativamente a un potencial anódico definido y la corriente resultante se relaciona con la concentración de glucosa aparente.

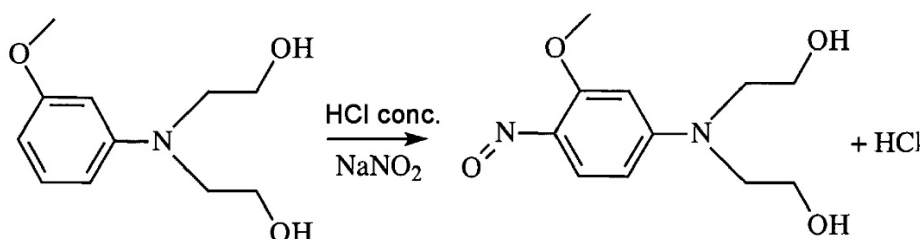
Una representación de las secuencias de reacción para dicho sistema de reacción utilizando un derivado de nitrosoanilina se proporciona posteriormente, en la Ecuación 1.



El compuesto es sintetizado mediante métodos conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.286.362). Con el fin de sintetizar el intermediario m-metoxi (N,N-bis(2-hidroxietil)]anilina mostrado anteriormente, se disolvió m-metoxi-anilina en 500 ml de ácido acético 4 N. La mezcla se enfrió con un baño frío a 0°C bajo agitación y se añadieron gota a gota 70,5 g, es decir, aprox. 79 ml (1,6 moles) de óxido de etileno dentro de cinco minutos a una temperatura de 0°C a 10°C. Tras dejar la mezcla en reposo durante 12 horas a temperatura ambiente, se añadieron 500 ml de agua y la solución se neutralizó mediante agitación y adición cuidadosa de un total de 200 g de NaHCO₃ en partes pequeñas.

Después, la base liberada se extrajo con 500 ml de cloruro de metileno y se agitó nuevamente tres veces con 250 ml de cloruro de metileno cada vez. Se agruparon las fases orgánicas, se secaron sobre sulfato sódico, se aspiraron y se concentraron al vacío. El intermediario se obtuvo mediante cromatografía de capa fina (CCF) en una placa de gel de sílice 60 de Merck. La fase móvil era tolueno/acetona en una proporción de 5:2.

Síntesis y recuperación del producto final



A continuación, en un matraz de tres cuellos de 2 l dotado de agitador, embudo de introducción y termómetro se introdujeron 140 ml de ácido clorhídrico concentrado y 140 ml de agua. El matraz y el contenido se enfriaron a aproximadamente -5°C con un baño de hielo seco y a continuación se añadieron aproximadamente 0,8 moles del intermediario al matraz gota a gota. El intermediario (m-metoxi[N,N-bis-(2-hidroxietil)]anilina) se añadió en un periodo de 10 minutos y la temperatura se mantuvo constante durante todo el periodo. La mezcla se agitó durante 15 minutos adicionales. A continuación, una solución de aproximadamente 0,87 moles de nitrito sódico en un volumen de 120 ml se agita se añadió a la mezcla a 0°C.

La mezcla se agitó durante 30 minutos adicionales a 0°C. A continuación, la mezcla se diluyó mediante la adición de 500 ml de agua; después, se añadieron 218 ml de solución acuosa concentrada de amonio gota a gota bajo enfriamiento sobre hielo. No se permitió que la temperatura de la mezcla se elevase a más de 15°C, mientras se añadía amonio. La base nitroso liberada se extrajo cinco veces con 400 ml de n-butanol y se eliminó el solvente mediante destilación en un evaporador giratorio hasta obtener un compuesto aceitoso.

Se mezcló el aceite con una mezcla de 250 ml de tolueno/acetona=1:1 con el fin de eliminar los productos inorgánicos. La parte insoluble se aspiró y se lavó con 50 ml de tolueno/acetona=1:1. Quedó el material inorgánico en forma de un residuo. El filtrado se purificó cromatográficamente en una columna de gel de sílice 60 (7,5 cm de diámetro, nivel de llenado: 90 cm, líquido de separación tolueno/acetona=1:1). Se obtuvo una base nitroso en forma de un aceite. Ello se disolvió en 600 ml de acetona y se hizo reaccionar gota a gota con 250 ml de ácido clorhídrico etéreo saturado. Tras agitar durante 30 minutos bajo enfriamiento sobre hielo, los cristales formados se aspiraron, se lavaron tres veces con 100 ml de acetona y se secaron al vacío a temperatura ambiente sobre pentaóxido de difósforo.

La pureza del compuesto indicado se determinó mediante CCF utilizando una placa de gel de sílice 60 de Merck. La fase móvil era tolueno/acetona (1:1). El producto final también puede purificarse adicionalmente hasta pureza de reactivo analítica mediante recristalización a partir de una pequeña cantidad de solución en agua de ácido clorhídrico a baja temperatura.

Tal como se muestra, el derivado de nitrosoanilina, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxietil)]-p-nitrosoanilina, existe inicialmente en forma de una mezcla de dos isómeros, o tautómeros, en equilibrio entre sí. La reacción de Gluc-Dor con glucosa en la muestra de ensayo rinde gluconolactona y la forma reducida de Gluc-Dor (Gluc-Dor·2H⁺). La forma reducida de Gluc-Dor (Gluc-Dor·2H⁺) reacciona rápidamente con el derivado de nitrosoanilina, que está reducido y que regenera Gluc-Dor. El derivado de nitrosoanilina reducida seguidamente experimenta hidrólisis, formando quinoedimina (QD). En una segunda reacción redox enzimática, Gluc-Dor reacciona con glucosa, rindiendo otra molécula de Gluc-Dor·2H⁺ y gluconolactona. Gluc-Dor·2H⁺ reacciona con (es oxidada por) quinoedimina, regenerando Gluc-Dor, y produce un derivado de diamina de fenileno (PD). A continuación, PD es oxidado en el electrodo de trabajo para producir una corriente relacionada con la concentración de glucosa. Además, en el contraelectrodo, QD puede reducirse a PD.

Adyuvantes.

Con estas pequeñas dimensiones de la cámara receptora de muestras, las características de la capa de reactivo pueden presentar un impacto significativo sobre el funcionamiento de la tira de ensayo, en particular en vista de las características de hidratación y mezcla. El control y reproducibilidad de la cantidad, localización, anchura, grosor y otras propiedades de la capa de reactivo se tornan más importantes a medida que se reduce el volumen de la cámara y disminuye el tiempo de ensayo. Por lo tanto, resulta deseable que la composición incluya materiales que potencien específicamente las características físicas, tales como la uniformidad y planicidad de la capa aplicada. Además, el método de aplicación puede impactar sobre las características físicas, control y reproducibilidad de la capa de reactivo.

Por lo tanto, la composición de reactivo puede incluir además una diversidad de adyuvantes para incrementar las propiedades o características del reactivo. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales complementarios para facilitar la aplicación de la composición de reactivos sobre la tira de ensayo y para mejorar su adherencia a la tira. La composición puede incluir además materiales que incrementen su tasa de hidratación y/o que incrementen su influencia sobre la acción capilar para llenar la cámara con la muestra de ensayo. Entre los ejemplos de materiales adyuvantes para la utilización con la composición de reactivo se incluyen espesantes, moduladores de la viscosidad, formadores de película, estabilizadores, tampones, detergentes, agentes gelificantes, rellenos, agentes de apertura de película, agentes colorantes y agentes que proporcionan tixotropía.

Los materiales o componentes adyuvantes pueden impactar sobre la aplicación, reproducibilidad y propiedades físicas de la capa de reactivo. Entre los materiales adyuvantes puede incluirse uno o más de los siguientes: Entre los espesantes pueden incluirse, por ejemplo, (1) almidones, gomas (p.ej., pectina, goma guar, goma garrofín (semilla de algarrobo), goma konjac, goma xantano, alginatos y agar), caseína, gelatina y ficocoloides, (2) celulosa y derivados semisintéticos de celulosa (carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa), (3) alcohol polivinílico y carboxivinilatos, y (4) bentonita, silicatos y sílice coloidal. Entre los espesantes preferentes se incluyen una combinación de una goma xantano comercializado bajo el nombre comercial Keltrol F by CP Kelco US, Inc. y carboximetilcelulosa comercializado bajo el nombre comercial AQUALON® CMC 7F PH de Hercules Inc., Aqualon Division.

Entre los agentes formadores de película y tixotrópicos útiles en la composición de reactivo se incluyen polímeros y sílice. Entre los agentes tixotrópicos preferentes se incluye sílice comercializado bajo el nombre comercial Kieselsäure Sipernate FK 320 DS de Degussa AG. Entre los agentes formadores de película preferentes se incluyen polivinilpirrolidona, comercializada bajo la marca comercial polyvinylpyrrolidon Kollidon 25, de BASF, y dispersión de propionato de polivinilo.

Los estabilizantes para el enzima en el reactivo pueden seleccionarse de entre sacáridos y sales mon- o di-ácido graso. Entre los estabilizantes preferentes se incluye la trehalosa comercializada bajo el nombre comercial D-(+)-trehalosa dihidrato por Sigma Chemical Co. y el succinato sódico.

Los detergentes pueden seleccionarse de entre jabones solubles en agua, así como compuestos activos en superficie sintéticos solubles en agua, tales como álcali, alcalino-térreos o sales amónicos sustituidos opcionalmente de ácidos grasos superiores, por ejemplo ácido oleico o esteárico, mezclas de ácidos grasos naturales, por ejemplo de aceite de coco o de sebo, sulfatos grasos, ésteres de ácidos sulfónicos, sales de ácidos alquilsulfónicos, sales de taurina de ácidos grasos, amidas de ácidos grasos y esteramidas. Entre los detergentes preferentes para la presente invención se incluyen una esteramida, n-octanoil-N-metilglucamida, comercializados bajo el nombre comercial Mega-8 por Dojindo Molecular Technologies, Inc., y una sal de ácido graso, sal sódica de N-metil-oleil-aurato, comercializada bajo el nombre comercial Geropon T77 por Rhodia HPCII (Home, Personal Care and Industrial Ingredients).

Debe entenderse que uno o más de los aditivos específicos indicados anteriormente puede mostrar propiedades adicionales y en consecuencia puede clasificarse en una o más de las clases indicadas anteriormente.

Mediador.

Puede seleccionarse un mediador para la utilización en la composición de reactivo de cualquier especie química (generalmente electroactiva) que pueda participar en un esquema de reacción que implique un enzima, un analito, y opcionalmente un cofactor, y productos de reacción de los mismos, para producir un producto de reacción electroactivo detectable. Típicamente, la participación del mediador en la reacción implica un cambio en su estado de oxidación (p.ej., una reducción) tras la interacción con cualquiera de entre el analito, el enzima, un cofactor, o una especie que es un producto de reacción de uno de ellos (p.ej., un cofactor que reacciona a un estado de oxidación diferente). Una diversidad de mediadores muestra un comportamiento electroquímico adecuado. Un mediador también puede ser preferentemente estable en su forma oxidada, puede mostrar opcionalmente una electroquímica redox reversible, puede mostrar preferentemente una buena solubilidad en soluciones acuosas y preferentemente reacciona rápidamente para producir un producto de reacción electroactivo. Entre los ejemplos de mediadores adecuados se incluyen benzoquinona, azul meldola, complejos de metal de transición, ferricianuro de potasio,

derivados de osmio (ver el documento n° WO 98/35225) y mediadores basados en nitrosoanilina (ver la patente US n° 5.286.362). En una realización preferente, la composición de reactivo utiliza una reacción química basada en la nitrosoanilina.

- 5 Entre los mediadores preferentes se 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)-piperazina, p-quinona dioxima, N,N-dimetil-p-nitrosoanilina, N,N-diethyl-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-hidroxietil)-5-nitrosoindolina, N,N-bis-(2-hidroxietil)-3-cloro-4-nitrosoanilina, 2,4-dimetoxi-nitrosobenceno, N,N-bis-(2-metoxietil)-4-nitrosoanilina, 3-metoxi-4-nitrosfenol, N-(2-hidroxietil)-6-nitroso-1,2,3, tetrahidroquinolina, N,N-dimetil-3-cloro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxietil)-3-fluoro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxietil)-3-metiltio-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxietil)-N-(2-(2-metoxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxietil)-N-(3-metoxi-2-hidrox-1-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxietil)-N-(3-(2-hidroxietoxi)-2-hidrox-1-propil)-4-nitrosoanilina y N-(2-hidroxietil)-N-(2-(2-hidroxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina. Entre los mediadores particularmente preferentes según la presente invención se incluyen N,N-bis-(2-hidroxietil)-p-nitrosoanilina, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hidroxietil)]-p-nitrosoanilina y N-(2-hidroxietil)-N-(2-(2-hidroxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina.

Una composición de reactivo ejemplar se proporciona a continuación, en la Tabla I. Se dan a conocer otras composiciones ejemplares en la solicitud titulada 'Homogeneous Reagent Stripes', que ha sido incorporada como referencia anteriormente.

Tabla 1

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

Mezcla:

- 25 Los componentes de la composición de reactivo se mezclaron con agua, proporcionando una suspensión viscosa homogénea. El orden de adición no resulta crítico para la invención. Se añaden una cantidad suficiente de la solución de tampón para mantener la composición de reactivo a un pH de aproximadamente 7. Típicamente, los componentes seleccionados se mezclan previamente con agua para proporcionar una diversidad de soluciones madre que pueden combinarse, rindiendo la composición de reactivo final. Por ejemplo, puede prepararse una solución tampón mediante la combinación de las sales fosfato y, opcionalmente, el succinato sódico. Entre otras soluciones madre se incluyen: los agentes espesantes, es decir KeltrolF y carboximetilcelulosa; los surfactantes, es decir Gerocon T77 y Mega 8; el enzima y el coenzima o cofactor, y el mediador.
- 30
- 35 Lo siguiente proporciona un ejemplo de la preparación de una composición de reactivo. La composición de reactivo puede prepararse en primer lugar preparando las soluciones madre siguientes:

Solución tampón	pH 6,9 a 7,1
	Cantidad (g)
H ₂ O	1214,62
KH ₂ PO ₄	18,27
K ₂ HPO ₄	43,43
Succinato de Na	23,23

Solución de Keltrol F

	Cantidad (g)
H ₂ O	287,06
Solución tampón	101,35
Keltrol F	11,60

Solución de carboximetilcelulosa (CMC)

	Cantidad (g)
H ₂ O	1334,76
CMC Na ¹	27,24
1. CMC Na es una sal sódica de carboximetilcelulosa comercializada por Hercules Inc. Aqualon Division	

5

Suspensión de sílice

	Cantidad (g)
H ₂ O	722,99
Sipernat 320 ¹	
Kieselsäure Sipernat 320 DS (Silica) comercializado por Degussa AG.	

Solución de polivinilpirrolidona (PVP)

	Cantidad (g)
Solución tampón	226,03
Mega 8 ¹	13,23
Geropon T77 ²	1,405
PVP ³	89,33
1. Mega 8 es n-octanoil-N-metilglucamida, comercializada por Dojindo Molecular Technologies Inc. 2. Geropon T77 es sal sódica de N-metil oleil taurato, comercializado por Rhodia HPCII. 3. PVP es polivinilpirrolidona K25, comercializada por BASF.	

Solución de trehalosa¹

	Cantidad (g)
H ₂ O	36,4
Trehalosa	23,6
Dicha solución de trehalosa se utiliza únicamente para preparar la "Solución de enzima" indicada posteriormente.	

10

Solución de PQQ

	Cantidad (g)
1ª adición de solución tampón	101,59
PQQ	0,533
2ª adición de solución tampón	30,0

Solución de enzima

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

15

Solución de mediador

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

Se preparó la solución tampón, solución de Keltrol F, solución de CMC y la suspensión de sílice un día antes. A continuación, se combinaron dichas soluciones tal como se indican posteriormente, para preparar la composición de reactivo.

20

Composición de reactivo final

Espesante I (solución de Keltrol F)	331,51 g
Espesante II (solución de CMC)	1262,9 g
Solución de PVP	315,05 g
Suspensión de sílice	762,3 g

Solución de propiofan	257,09 g
solución de mediador	855,84 g
Solución de enzima	196,65 g
KOH 5N	según se requiera para alcanzar un pH final de 6,9 a 7,1
Agua (bidestilada)	518,69 g

Para este reactivo antes del recubrimiento, el pH final era 6,96 y no requirió ajustes con solución de KOH 5 N. La viscosidad medida era 111 mPaS, que se encuentra en el intervalo correcto para el recubrimiento, de 105 a 115 mPaS.

5 Las FIGS. 5 y 5A presentan un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento preferente 100 para preparar una tira de ensayo útil según la presente invención. El procedimiento 100 se inicia en la línea de procedimiento central 101 en la etapa 102 con la selección de un material de película para la capa de base o el sustrato de base. En una realización preferente, la película se proporciona en forma de un rollo continuo con una anchura y longitud
10 adecuadas para fabricar un gran número de tiras de ensayo. En etapas de acabado posteriores, la película procesada puede subdividirse para proporcionar una única tira o malla que presenta una anchura que se aproxima a la longitud de la tira de ensayo e incluye una serie de tiras de ensayo o puede troquelarse para proporcionar sensores de ensayo individuales.

15 A partir de la etapa 102, la película sigue hasta la etapa 104, en donde es pretratada para recibir un recubrimiento de metal y es recubierta con el metal en un procedimiento continuo. El pretratamiento puede utilizarse para limpiar o modificar la superficie para proporcionar un grosor de recubrimiento uniforme y mejor adhesión de la capa metalizada posterior. El pretratamiento puede incluir someter la película a descarga de corona o plasma de argón. Inmediatamente después de dicho pretratamiento, se aplica un recubrimiento conductor uniforme a la película tal
20 como se muestra en 106. Alternativamente, pueden obtenerse comercialmente sustratos adecuados con recubrimientos metálicos.

La capa metálica puede contener metales puros, aleaciones u otros materiales, que son conductores metálicos. Entre los ejemplos de conductores metálicos o de tipo metálico se incluyen: aluminio, carbono (tal como grafito),
25 cobalto, cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (en forma de 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 dichos materiales. Preferentemente, los materiales se seleccionan para que resulten esencialmente no reactivos con los sistemas biológicos; entre dichos materiales se incluyen oro, platino, paladio, iridio o aleaciones de dichos
30 metales. La capa metálica puede presentar cualquier grosor deseado.

El recubrimiento conductor preferentemente es una capa metálica que se aplica mediante una diversidad de métodos, incluyendo, aunque sin limitación, pulverización iónica, deposición física en fase vapor (PVD, por sus siglas en inglés), deposición en fase vapor asistida por plasma (PAVD, por sus siglas en inglés), deposición química
35 en fase vapor (CVD, por sus siglas en inglés), deposición física en fase vapor con haz de electrones (EBPVD, por sus siglas en inglés) y/o deposición química en fase vapor metal-orgánica. La deposición en fase vapor se lleva a cabo típicamente bajo vacío. Dichas técnicas son bien conocidas de la técnica y pueden utilizarse para proporcionar selectivamente un recubrimiento uniformemente delgado de metal sobre un sustrato. La película metalizada resultante puede inspeccionarse para garantizar que el recubrimiento metálico es uniforme y se encuentra libre de defectos materiales.
40

El rollo de película metalizada a continuación pasa por la etapa 108, en la que es subdividida y/o dimensionada para proporcionar mallas con una anchura que es aproximadamente la longitud final de una tira de ensayo individual. El troceado puede llevarse a cabo utilizando equipos de corte de cuchilla fija bien conocidos de la técnica.
45

Una única malla continúa hasta la etapa 10 para configurar los electrodos, trazos y contactos o placas. En dicha etapa, los electrodos, trazos y placas de contacto se forman mediante la eliminación de metal de la superficie de la tira de malla. El exceso de metal puede eliminarse utilizando una diversidad de técnicas bien conocidas. En dicha etapa, pueden formarse una o más marcas de indexación o registro en un primer borde próximo a los electrodos, el
50 segundo borde opuesto próximo a la placa de electrodo, en ambos bordes o en cualquier sitio entre ellos. Las marcas de indexación, en particular las presentes en un borde pueden utilizarse en operaciones posteriores para alinear componentes aplicados en capas prefabricados en operaciones separadas.

En un método preferente, el metal es ablacionado con láser para eliminar las partes no deseadas del metal y dejar
55 los componentes eléctricos deseados. Según este método, las zonas seleccionadas son grabadas con láser simultáneamente, en un "campo amplio", en lugar de utilizar el movimiento lineal de un haz láser enfocado. Dicho

método de ablación láser de campo amplio proporciona un patrón preciso del metal rápidamente y a un coste reducido en comparación con otros enfoques. A continuación, se lleva a cabo el tratamiento de corona del sustrato con el patrón, en la etapa 111.

La malla con el patrón continúa hasta la etapa 112, en la que se deposita una capa de reactivo sobre los electrodos. En una realización preferente, se deposita la capa de reactivo en forma de una banda alargada continua que se extiende contigua o próxima al primer borde y que es suprayacente a los electrodos de medición formados sobre la malla con patrón. Tal como se ha indicado anteriormente, en consecuencia, el reactivo se localiza en la anchura completa de la tira de ensayo, incluyendo la zona lateralmente externa a la cámara receptora de muestras y entre el sustrato de base y la capa de espaciado. Tal como también se ha indicado, ello facilitará el secado del reactivo sin discontinuidades, efectos de borde u otras varianzas que evitarían proporcionar una capa de reactivo uniforme, plana y delgada en la cámara receptora de muestras. El reactivo incluye una combinación de componentes y se formula para secarse rápidamente con un corrimiento mínimo o nulo después de la deposición.

Dicha banda puede aplicarse de cualquier manera adecuada que proporcione la extensión y uniformidad deseadas de grosor, precisión del borde de a banda, homogeneidad y similares. Los métodos preferentes son capaces de aplicar el recubrimiento deseado a velocidad relativamente elevada y un gran tamaño de lote. Los métodos de aplicación adecuados son bien conocidos de la técnica y, por lo tanto, no se detallan en la presente memoria.

Preparación de la capa de espaciado

A continuación, se hace referencia a la línea de procedimiento 114, se ilustra un flujo de procedimiento para preparar la capa de espaciado. Partiendo de la etapa 116, se seleccionó un material para preparar una capa de espaciado para la laminación sobre la malla recubierta con reactivo preparada en la etapa 112. La película de base para el sustrato puede seleccionarse de entre una diversidad de materiales. El material de la capa de espaciado, similar a la capa de base, puede proporcionarse en forma de un rollo alargado que puede procesarse convenientemente de manera rápida y con elevada eficiencia. Entre los materiales preferentes se incluyen una película de poliéster comercializada bajo el nombre comercial MELINEX® de DuPont. Otros materiales adecuados para la utilización en la presente podrían incluir PEN. El material de la capa de espaciado presenta un grosor seleccionado específicamente para proporcionar una profundidad (o altura) de cámara deseada en cada una de las tiras de ensayo al combinarlas con los grosores de cualesquiera capas de unión que se utilizan para laminar el espaciador con los otros componentes de la tira. En realizaciones preferentes, la capa de espaciado se selecciona para presentar un grosor de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 150 µm, más preferentemente de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 125 µm. Tal como se ha indicado anteriormente, la capa de espaciado puede formarse con un adhesivo de doble cara.

La capa de espaciado preferentemente se forma como una película continua con una serie de huecos que se alinearán con los electrodos sobre la malla de sustrato de fondo. La manera de unir la capa de espaciado y el sustrato de fondo impactarán sobre el método de preparación de la capa de espaciado. Por ejemplo, en el caso de que la capa de espaciado deba soldarse por calor al sustrato del fondo, la capa de espaciado puede simplemente troquelarse para proporcionar los huecos de cámara apropiadamente espaciados. Sin embargo, un método preferente es la utilización de adhesivos no interfirientes delgados que unen las capas contiguas. Según dicho método preferente, se prepara una capa de espaciado para la combinación con la malla de sustrato anteriormente indicada tal como se indica posteriormente en la presente memoria.

La película de capa de espaciado se prepara con la anchura deseada para la combinación con el resto de los componentes de la tira de ensayo. La película de capa de espaciado puede incluir una parte opaca, p.ej. una sección 23 de ella se imprime de color azul u otro color para la utilización en la visualización de la cámara receptora de muestras, tal como se indica en otros sitios. La película de capa de espaciado se lamina sobre la cara inferior con una combinación de adhesivo y soporte antiadherente y en la cara superior, con una combinación similar de adhesivo y revestimiento.

En la etapa 118, se laminan dos adhesivos de transferencia en el material de la capa de espaciado: el primer adhesivo de transferencia se lamina en la superficie superior de la capa de espaciado y el segundo adhesivo de transferencia se lamina en la superficie inferior de la capa de espaciado. Preferentemente, los adhesivos de transferencia son el mismo adhesivo; sin embargo, en realizaciones alternativas, el primer y segundo adhesivos de transferencia pueden ser diferentes. En realizaciones preferentes, los adhesivos de transferencia se seleccionan de entre los adhesivos utilizados comúnmente y conocidos, incluyendo los adhesivos sensibles a la presión. Los adhesivos preferentes muestran suficiente hidrofobicidad para bloquear o inhibir la salida por efecto 'mecha' de la muestra de ensayo presente en la cámara entre la capa de espaciado y la capa de reactivo o el sustrato de base. Un ejemplo de un adhesivo sensible adecuado es ARCare 90132 de Adhesives Research Inc. Los adhesivos se proporcionan con un soporte antiadherente para evitar la adhesión prematura de la capa de espaciado durante el procesamiento. Los papeles antiadherentes se disponen sobre la superficie exterior del primer y segundo adhesivos de transferencia, orientados hacia afuera respecto al material de la capa de espaciado.

La capa de espaciado con los papeles antiadherentes de adhesivo sobre las superficies superior e inferior progresa hasta la etapa 120. En la etapa 120, la cavidad que formará la cámara receptora de muestras se punzona en la capa de espaciado. En una realización, la cavidad se punzona utilizando un método de medio corte. El método de medio corte corta a través del soporte antiadherente superior, el adhesivo superior, la capa de espaciado y el adhesivo inferior, aunque o a través del soporte antiadherente inferior. En operaciones posteriores, simplemente retirar el soporte antiadherente inferior retirará las partes punzonadas del adhesivo inferior, la capa de espaciado, el adhesivo superior y el soporte antiadherente superior de la capa de espaciado punzonada. En otras realizaciones, la cavidad puede punzonarse con una matriz hueca. La matriz hueca punzona completamente o corta a través de la capa de espaciado, los dos adhesivos y los dos papeles antiadherentes, eliminando a continuación la parte punzonada en la matriz hueca. El espaciado o paso entre cada cavidad se determina y se controla con precisión para permitir un casado preciso de la capa de espaciado punzonada sobre los electrodos utilizando una o ambas marcas de indexación grabadas en la malla recubierta con reactivo.

En la etapa 122, el soporte antiadherente inferior en la capa de espaciado se retira, retirando con él las partes cortadas en medio corte y exponiendo el adhesivo sobre la superficie inferior de la capa de espaciado. Siguiendo a la etapa 124 en la línea de procedimiento 101, se lamina la capa de espaciado sobre la malla recubierta con reactivo utilizando una o más de las marcas de indexación previamente grabadas sobre la malla para alinear correctamente cada cavidad formada en la capa de espaciado punzonada directamente sobre la parte superior de un juego de electrodos para proporcionar un laminado de malla-capas de espaciado. En la etapa 126 en la línea de procedimiento central 101, el soporte antiadherente superior sobre el laminado de malla-capas de espaciado en preparación para la unión de la capa de cubierta.

Laminación sobre las partes de cubierta

En la etapa 128, se introduce en el procedimiento un material para una cubierta del cuerpo. En ejemplos preferentes, el material es un material polimérico flexible y puede seleccionarse, por ejemplo, de MELINEX 454 o MELINEX 339 de du Pont. El material para la cubierta del cuerpo se dimensiona para que presente una anchura suficiente para superponerse a por lo menos una parte de los trazos de electrodo en la cámara receptora de muestras de la tira de ensayo.

A continuación se hace referencia a la línea de procedimiento 130, que parte de la etapa 131, se selecciona un material de película para proporcionar una cubierta de cámara sobre la cavidad, reactivo y electrodos de medición sobre el laminado de malla-capas de espaciado. En realizaciones preferentes, el material de la cubierta de la cámara se proporciona como una película transparente de poli(tereftalato de etileno) (PET) o poli(naftalato de etileno) (PEN) con un grosor de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 200 µm. El recubrimiento puede incluir preferentemente un protector antiadherente, que puede retirarse inmediatamente antes de la laminación sobre la malla-capas de espaciado. La cubierta de la cámara preferentemente está realizada en un material hidrofílico o la superficie de fondo de la cubierta de la cámara puede tratarse o recubrirse para que sea hidrofílica, tal como se indica en 134. En la etapa 138, el material de la película puede dimensionarse a una anchura deseada para formar la cubierta de la cámara para cubrir la cavidad y electrodos.

Siguiendo a la etapa 140, la cubierta del cuerpo a partir de la etapa 128 y la cubierta de la cámara a partir de la etapa 138 se laminan en el laminado de malla-capas de espaciado. En realizaciones preferentes, la cubierta del cuerpo y la cubierta de la cámara se laminan simultáneamente con el laminado de malla-capas de espaciado. La cubierta del cuerpo se sitúa sobre una parte de los trazos de electrodo próximos a los electrodos formados sobre el sustrato de base. La cubierta de la cámara se sitúa sobre la cavidad, reactivo y electrodos de medición sobre el laminado de malla-capas de espaciado. La cubierta del cuerpo y la cubierta de la cámara están separadas por un hueco que forma una abertura de ventilación en el extremo interior de la cavidad formada en la tira de ensayo.

Tal como se ha indicado, la cubierta de la cámara se aplica próxima al borde de la tira para que se superponga a la parte recortada de la capa de espaciado, dejando la parte más interna de la parte recortada sin cubrir. Tal como se acaba de indicar, dicha cubierta de cámara preferentemente incluye una cara inferior hidrofílica para promover el desplazamiento por efecto 'mecha' de líquido hacia el interior de la cámara de reactivo. La cubierta de la cámara está espaciada ligeramente respecto a la cubierta del cuerpo para formar un hueco que de esta manera comunica con la cámara receptora de muestras y sirve como abertura de ventilación para el escape de aire a medida que entra líquido en la cámara, tal como se ha indicado anteriormente.

La opacidad de la capa de espaciado y la transparencia de la cubierta de la cámara cooperan de manera que permiten al usuario de la tira de ensayo final ver mejor el progreso del ensayo. Tal como se ha construido, el sustrato de fondo o capa de reactivo recubierta sobre él resulta visible a través del recorte en la capa de espaciado y a través de la cubierta transparente de la cámara. El sustrato de fondo y/o el reactivo presenta un color cálido, p.ej., amarillo brillante, que contrasta con la coloración opaca de la capa de espaciado. Por lo tanto, la persona que utiliza el ensayo puede monitorizar fácilmente el progreso de un líquido por el canal capilar. Además, debido a que la ranura 34 está configurada para ser hidrofóbica sobre el lado de la cubierta de cuerpo e hidrofílica en el lado de la cubierta de la cámara, el líquido se detendrá abruptamente al alcanzar la ranura, presentando de esta manera una línea de

llenado claramente definida que, a su vez, proporciona una indicación clara al usuario de que se ha recibido suficiente muestra de líquido en la cámara.

Separación de las tiras de ensayo

Desde la etapa 140, se llevan a cabo las etapas de procesamiento de acabado para la fabricación de las tiras de ensayo. En la etapa 142, se decide si fabricar una única tira de ensayo troquelada similar a la tira de ensayo individual 10 comentada anteriormente. En ese caso, el laminado multicapa de la etapa 142 pasa a la etapa 144 para ser troquelada en tiras de ensayo individuales.

Alternativamente, el laminado multicapa desde la etapa 142 sigue a la etapa 148, en la que es cortada mediante medio corte para definir tiras de ensayo individuales y para perforar o debilitar los límites entre las tiras de ensayo contiguas en la cinta. Además, en la etapa 149, los extremos de las tiras de ensayo se troquelan a lo largo de la cinta laminada. Se corta un extremo de la malla para formar el extremo receptor de líquido del sensor de ensayo con una abertura en forma de Y que lleva al interior de la cavidad. Las tiras de ensayo pueden dividirse en tarjetas que comprenden un número, p.ej., 25, de tiras que se cortan en paralelo y después se doblan para apilarlas en un vial o dispensador.

Después de la etapa 144 o 149, las tiras o cinta de tiras procesadas se inspeccionan y eventualmente se empaquetan para la utilización por el consumidor en la etapa 146 o 150, respectivamente.

Las FIGS. 6 a 16 ilustran en mayor detalle algunos de los componentes y/o etapas de procedimiento descritas 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 la utilización en la formación de la tira de ensayo. La película de base 160 preferentemente se proporciona en forma de una película flexible o material de malla que se enrolla en uno o más rodillos 162 en los procedimientos 164, 166 continuando con el material entre los rodillos.

La superficie superior pretratada de la película se metaliza utilizando pulverización iónica, VD, CVD, EBPVD, MOCVD u otro procedimiento adecuado, tal como se ilustra mediante el número de referencia 166 y descrito de manera más completa anteriormente, para depositar un recubrimiento uniforme de un metal o aleación de metales. Los procedimientos pueden utilizar una fuente de diana individual o múltiple para la capa metálica. La película metalizada 168 seguidamente puede seccionarse o subdividirse en una pluralidad de películas metalizadas, p.ej., 170a, 170b y 170c, mediante el corte o troceado de la película tal como se ilustra mediante el número de referencia 172. Cada rollo separado de película metalizada conductora 170 seguidamente puede enrollarse en un único cilindro o en una pluralidad de diferentes cilindros, según se desee preferentemente.

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 eliminar cualquier componente metálico que no se desee que forme los electrodos, trazos, placas de contacto u otras características deseadas. El procedimiento puede controlarse con precisión utilizando la ablación láser u otras tecnologías. El procedimiento proporciona una pluralidad de juegos de electrodos 182, trazos 184 y placas de contacto 186. El procedimiento puede proporcionar además una pluralidad de marcas de indexación o registro 176 a lo largo de un primer borde 178 y/o marcas de registro similares 177 a lo largo del borde opuesto 180. Tal como se muestra en la FIG. 7, las características repetitivas del patrón de electrodos forman marcas de registro 177. Preferentemente, cada juego de electrodos y/o contactos está asociado a por lo menos un índice o marca de registro, 176 y 177, respectivamente. Tras formar los patrones de electrodos, la malla puede enrollarse nuevamente en un rodillo para el procesamiento posterior, tal como se indica posteriormente.

La FIG. 8 ilustra una parte de una malla recubierta con reactivo 188. La composición de reactivo se deposita sobre la superficie del material de malla flexible. La capa de reactivo 190 se deposita utilizando una diversidad de métodos de recubrimiento, incluyendo las técnicas de recubrimiento por cortina, el recubrimiento de fundido en caliente, el recubrimiento de pantalla giratoria, el recubrimiento con cuchilla 'Doctor Blade' o con cuchilla al aire, el recubrimiento con barra de Meyer y el recubrimiento con rodillo inverso. Preferentemente, la capa de reactivo se deposita sobre la malla flexible en forma de una composición húmeda de un grosor de aproximadamente 50 µm a aproximadamente 100 µm, más preferentemente de aproximadamente 60 µm a aproximadamente 80 µm. La malla 188 puede proporcionarse mediante el recubrimiento de una capa uniformemente delgada de reactivo 190 directamente sobre juegos de electrodos 182 y a lo largo de la longitud de malla 188 en forma de una banda estrecha continua 192. En realizaciones preferentes, la banda estrecha 192 presenta una anchura de aproximadamente 5 mm a 9 mm y un grosor en seco de aproximadamente 2 µm a aproximadamente 10 µm. Tal como se ilustra en la FIG. 8, la capa de reactivo 190 es translúcida.

La capa de reactivo preferentemente se recubre mediante una técnica de recubrimiento con boquilla de ranura ilustrada en la FIG. 8A y también descrita en la solicitud Homogeneous Reagent Stripes, incorporada como referencia anteriormente en la presente memoria. La malla de polímero 300 (Melinex® 329, DuPont) se desplaza hasta el interior de la zona de recubrimiento 302, que contiene una matriz de boquilla de ranura 304 y un rodillo de apoyo 306. Una matriz de boquilla de ranura con la realización ilustrada se encuentra disponible de Troller

Schweizer Engineering (TSE), Murgenthal, Suiza, pieza nº 113-10xx, aunque podrían utilizarse otras matrices de boquilla de ranura. En la realización ilustrada, el cabezal de boquilla de ranura define un canal rectangular por el que se dispensa el reactivo. El canal en la realización ilustrada presenta una altura de aproximadamente 250 micrómetros, una longitud de aproximadamente 40 mm y una anchura de aproximadamente 7 mm. El ángulo α es aproximadamente 35 grados y el cabezal de boquilla de ranura se encuentra inclinado ligeramente con respecto a la malla 300, tal como indica el ángulo β . El ángulo α se determina experimentalmente y es una función del grado de enrollado de la malla en torno del rodillo, las características del recubrimiento y una posición óptima para un flujo estable de recubrimiento de salida del cabezal de boquilla de ranura utilizada. Preferentemente, el carro que soporta el cabezal de boquilla de ranura se orienta a 35 grados sobre la línea central del rodillo de apoyo o 55 grados bajo la línea central del rodillo de apoyo en el sistema de recubrimiento. Tal como se acaba de mencionar, un segundo ángulo β define la inclinación de un labio superior 305 y un labio inferior 307 del cabezal de boquilla de ranura 304 respecto a la tangente al rodillo de apoyo 306. El segundo ángulo β se ajusta para un flujo óptimo del recubrimiento de reactivo de salida del cabezal de boquilla de ranura 304. El hueco preferente W entre el cabezal de boquilla de ranura y la malla se determina utilizando el software TopCoat de RheoLogic Ltd., Leeds, Reino Unido, que determina una ventana de recubrimiento basada en la reología, peso de la capa, tensión superficial, velocidad deseada de la malla, radio del rodillo de apoyo, longitudes de los labios superior e inferior de la boquilla de ranura, hueco de entrada de la boquilla de ranura y longitud de entrada, y el ángulo del labio superior respecto al labio inferior.

En la realización ilustrada, el cabezal de boquilla de ranura se nivela respecto a la superficie de la malla y se ajusta a un hueco de ranura a malla mostrado como W en la FIG. 8A de 74 μm . La velocidad de la malla se incrementa de 0 a 38 m/min para la deposición del recubrimiento sobre la malla. Aunque en la realización ilustrada sólo se desplaza la malla, debe entenderse que el procedimiento de recubrimiento con boquilla de ranura podría reconfigurarse de manera que se desplazase el cabezal de boquilla de ranura en lugar de, o además de, la malla. El procedimiento también podría reconfigurarse de manera que α fuese 90 grados y dispensarse el reactivo hacia abajo sobre la malla. La matriz de reactivo puede administrarse en el cabezal de boquilla de ranura 304 utilizando una diversidad de medios, entre ellos bombas de engranajes, pistones, jeringas, sistemas de ampollas tal como se conocen de la técnica. El sistema de administración de reactivo se ajusta a un flujo de agua de 13,58 ml/in para administrar un peso de capa de 53 g/m² por el cabezal de recubrimiento. La anchura de la banda recubierta resultante 192 (FIG. 8) es 7,0 $\pm$ 0,3 mm. El recubrimiento se seca en la zona de secado caliente o secador 308 (longitud 15 m, temperatura: 110°C, velocidad: 38 m/min) y se enrolla nuevamente en un carrete 310 en la estación de rebobinado 312.

La FIG. 9 es una vista de despiece de un ensamblaje de capa de espaciado 194, que puede ensamblarse según la presente invención. El ensamblaje de capa de espaciado 194 comprende una capa de espaciado 196 preferentemente formada de un material polimérico. La capa de espaciado 196 incluye una banda o sección 197 que está coloreada (correspondiente a la sección 23, FIG. 2). Durante el procedimiento de fabricación, la capa de espaciado 196 se proporciona en un rollo 198 y después se recubre exteriormente con adhesivos sobre las partes superior e inferior.

El adhesivo superior se proporciona en un rollo 200 que comprende además un protector antiadherente superior o "fuerte" 202, que está adaptado para resistir el procesamiento posterior, un adhesivo 204 y un protector antiadherente inferior o "débil" 206. Entre los adhesivos preferentes 204 para la utilización en la presente invención se incluyen un adhesivo sensible a la presión comercializado bajo el nombre comercial ARCare 90132 por Adhesives Research Inc. Durante el ensamblaje, el protector antiadherente inferior 206 es retirado y el adhesivo resultante 208, que presenta el protector antiadherente 202 todavía presente se adhiere a la capa de espaciado 196, tal como se indica en la parte superior de la FIG. 9.

De manera similar, el adhesivo inferior se proporciona en un rollo 210 que comprende además un protector antiadherente superior o "fuerte" 212, que está adaptado para resistir el procesamiento posterior, un adhesivo 214 y un protector antiadherente inferior o "débil" 216. Entre los adhesivos preferentes 214 para la utilización en la presente invención se incluyen un adhesivo sensible a la presión comercializado bajo el nombre comercial ARCare 90132 por Adhesives Research Inc. Durante el ensamblaje, el protector antiadherente inferior 216 es retirado y el adhesivo resultante 218, que presenta el protector antiadherente 212 todavía presente se adhiere a la capa de espaciado 196, tal como se indica en la parte superior de la FIG. 9. Debe entenderse que el adhesivo 204 puede ser igual o diferente al adhesivo 214.

La FIG. 10 ilustra la capa de espaciado 196 que ha sido troquelada para formar los precapilares 220a, 220b, 220c, etc. Y que está lista para ser laminada a una malla de material de sustrato de base 188 tal como se indica en referencia a la FIG. 8. Los precapilares 220 pueden formarse utilizando una técnica de "medio corte" en la que una matriz corta a través del protector antiadherente superior 202, el adhesivo 204, la capa de espaciado 196 y el adhesivo 214, pero no el protector antiadherente 212, que, tal como se ha indicado anteriormente, está orientado en sentido contrario a la capa de espaciado 196. El protector antiadherente 212 seguidamente es retirado junto con partes del protector antiadherente 202, adhesivo 204, capa de espaciado 196 y adhesivo 214 a través de las cuales se había realizado el corte. Dichas partes a través de las cuales se había realizado el corte comprenden un "recorte capilar", es decir, un sándwich de capas conformadas como precapilares 220. Este "recorte" es retirado junto con el protector antiadherente 212, dejando las cavidades 220 sin ningún material. Al retirar el protector antiadherente 212, puede inspeccionarse para garantizar que siempre contiene el recorte capilar que se acaba de describir. La serie

resultante de cavidades 220 se espacian entre sí a una distancia deseada seleccionada para situar cada uno de los canales de la serie de canales 220 directamente sobre un juego de electrodos de medición en la tira de ensayo. La capa de espaciado 196 que presenta su adhesivo inferior expuesto seguidamente puede alinearse con la malla 188 mediante las marcas de indexado 176 y laminarse con la misma. Cada canal capilar de la serie de canales 220 es suprayacente a un juego de electrodos de medición 182.

La FIG. 11 ilustra un ensamblaje 230 formado mediante la laminación de la capa de espaciado 196 con la malla 188. En la FIG. 11, el protector antiadherente superior 202 ha sido retirado del adhesivo superior 208, que hace que el ensamblaje 230 se encuentre listo para el ensamblaje con el mismo de material adicional. Tal como se muestra en la FIG. 12, una malla 240 del material de capa de cobertura de la cámara y una malla 234 de material de cobertura del cuerpo están alineados sobre el adhesivo superior expuesto 208 del ensamblaje 230 y están listos para adherirse al mismo. Tal como se ilustra en la FIG. 12, la capa de cobertura de la cámara 240 es transparente e incluye un recubrimiento hidrofílico (ver el recubrimiento 21, FIG. 2) sobre por lo menos la cara frente a las cavidades 220. Ello facilita el desplazamiento o transporte por efecto 'mecha' de la muestra de líquido hacia el interior de la cámara receptora de muestras y sobre los electrodos y capa de reactivo. La cubierta del cuerpo 234 es opaca, está coloreada tal como se muestra y preferentemente es hidrofóbica. La capa de cobertura 240 y la cobertura del cuerpo 234 pueden proporcionarse como rollos tales como los indicados anteriormente en referencia a la FIG. 9. Preferentemente, el material de cobertura de la cámara 240 es ligeramente más delgado que el material de cobertura del cuerpo 234.

El ensamblaje 260 mostrado en la FIG. 13 se produce mediante laminación de las mallas 234 y 240 con el ensamblaje 230 mostrado en la FIG. 12 y recortando seguidamente el extremo de la malla para formar el borde de dosificación 250. El borde de dosificación 250 preferentemente se forma mediante un corte de tijera en el que la cuchilla de corte se desplaza a través del extremo de la malla tal como indica la flecha 252. En contraste, resulta más difícil utilizar una técnica de troquelado sin dañar los capilares. El corte de tijera a lo largo del borde de dosificación 250 también aparta en el corte una parte de los precapilares 220 y define el volumen final de los capilares 222. Los capilares 222 preferentemente incluyen una abertura acampanada o en forma de Y, tal como se muestra. Preferentemente, se forma un hueco 262 entre la malla de cobertura de la cámara y la malla de cobertura del cuerpo, y este hueco proporcionará eventualmente una abertura de ventilación en las tiras de ensayo individuales. En realizaciones preferentes, el hueco presenta una anchura de 1,0 mm a aproximadamente 1,6 mm.

En referencia particular a la FIG. 13, el ensamblaje 260 está listo para el procesamiento posterior tal como indican las líneas discontinuas 262 y 264. En la FIG. 14 se muestra la tira cortada en medio corte 276 que presenta una pluralidad de tiras de ensayo individuales, p.ej. 278A, 278b y 278c, conectadas entre sí separablemente. Puede observarse que la tira cortada en medio corte 276 ha sido recortada o cortada en su extremo superior a lo largo de las líneas 262 en la FIG. 13 para presentar un perfil y/o configuración adecuada para facilitar la captura de una muestra de líquido muy pequeña en cada una de las series de canales capilares 222. En la realización ilustrada, la tira cortada en medio corte 276 presenta un extremo de trabajo plano 280 que expone el extremo de los juegos de canales capilares cortados en Y 222. La configuración resultante de segundo borde 282 puede proporcionarse para facilitar la inserción de una única tira en un medidor (no mostrado). Por ejemplo, el segundo borde 282 puede presentar una marcada de registro y/o pestañas, ranuras cortadas u otras configuraciones diseñadas para permitir la inserción de una única tira en el medidor en una sola dirección. Por ejemplo, en referencia a la FIG. 13, los bordes 177 de las placas de contacto 288 están espaciadas por un paso constante, "P", tal como se muestra, y los bordes 177 pueden, por lo tanto, utilizarse como marcas de registro. Tal como en otras etapas de procesamiento, las marcas de indexación o registro 176 y 177 en el primer borde y/o en el segundo borde pueden utilizarse para el corte "de medio corte" y recorte precisos de las tiras de ensayo individuales a partir de la estructura laminada 260.

La FIG. 15 es una vista en perspectiva de una realización de una tira de ensayo troquelada 290 formada mediante el corte a través de las líneas discontinuas 264 mostradas en las FIGS. 13 y 14. La tira 290 ilustrada en la FIG. 15 ha sido descrita sustancialmente anteriormente como tira de ensayo 10. La tira 290 se proporciona como tira de ensayo individual separada de cualquier otra tira de ensayo.

Ejemplo

A título de ejemplo específico, se forma una tira de ensayo basándose en el método descrito y utilizando materiales de la manera siguiente. El sustrato del fondo se recubre superficialmente con una capa de 50 nm de oro y se corta en anchuras de 43 a 45 mm. Se lleva a cabo la ablación láser (308 nm) utilizando un tamaño de campo de aproximadamente 40 mm x 10 mm. El ensamblaje de la capa de espaciado incluye una película de capa de espaciado de MelinexTM 339 blanco y un grosor de 0,1016 o 0,127 mm (4 o 5 milipulgadas). Los adhesivos inferior y superior son un adhesivo de Adhesive Research Arcare 90132 a 0,0254 o 0,0127 mm (1 o ½ milipulgadas), interpuesto entre protectores antiadherentes con un grosor de 0,0508 mm (2 milipulgadas). Los canales capilares se forman con una anchura de 1,500 mm +/- 0,050 mm y un paso (espaciado) de 9 mm +/- 0,150 mm.

La cubierta del cuerpo 18 comprende una tira de material Melinex 454, 453 o 339, de 0,127 mm (5 milipulgadas) de grosor. La cubierta de la cámara 20 comprende un material de naftato de poliéster o polietileno formado a partir de, por ejemplo, Melinex 454 o 453, de 0,1016 mm (4 milipulgadas) de grosor. Tal como se indica, la cubierta de la

cámara puede preferentemente tratarse o recubrirse para que presente una cara inferior hidrofílica contigua al canal capilar para promover el desplazamiento por efecto 'mecha' del espécimen de sangre hacia el interior del canal. En una realización preferente, una hoja de Melinex 454 (4 milipulgadas) para la cubierta de la cámara 20 se utiliza para recubrir la cara inferior con un material hidrofílico 21, ARCare 90037 de Adhesives Research Inc. Preferentemente, el material de cubierta de la cámara se forma inicialmente como material más amplio y se corta hasta la anchura deseada después de la preparación.

Ejemplos de tiras de ensayo

Se utilizaron los materiales siguientes en la tira:

Capa de sustrato de base 12	Melinex 329-9 milipulgadas o 329 - 10 milipulgadas
Capa conductora 26	Oro pulverizado iónicamente - 50 nm
Capa inferior de adhesivo 49	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 milipulgadas
Capa de espaciado 14	Melinex 329 o 339 - 4 a 5 milipulgadas
Capa adhesiva 46	AR ARCare 90132 PSA - 1 a 0,5 milipulgadas
Cubierta del cuerpo 18	Melinex 339 o 329 o 454 - 5 milipulgadas
Cubierta de la cámara 20	Melinex 339 o 329 o 454 - 4 milipulgadas
Hoja hidrofílica 21	ARCare 90037

Almacenamiento de las tiras

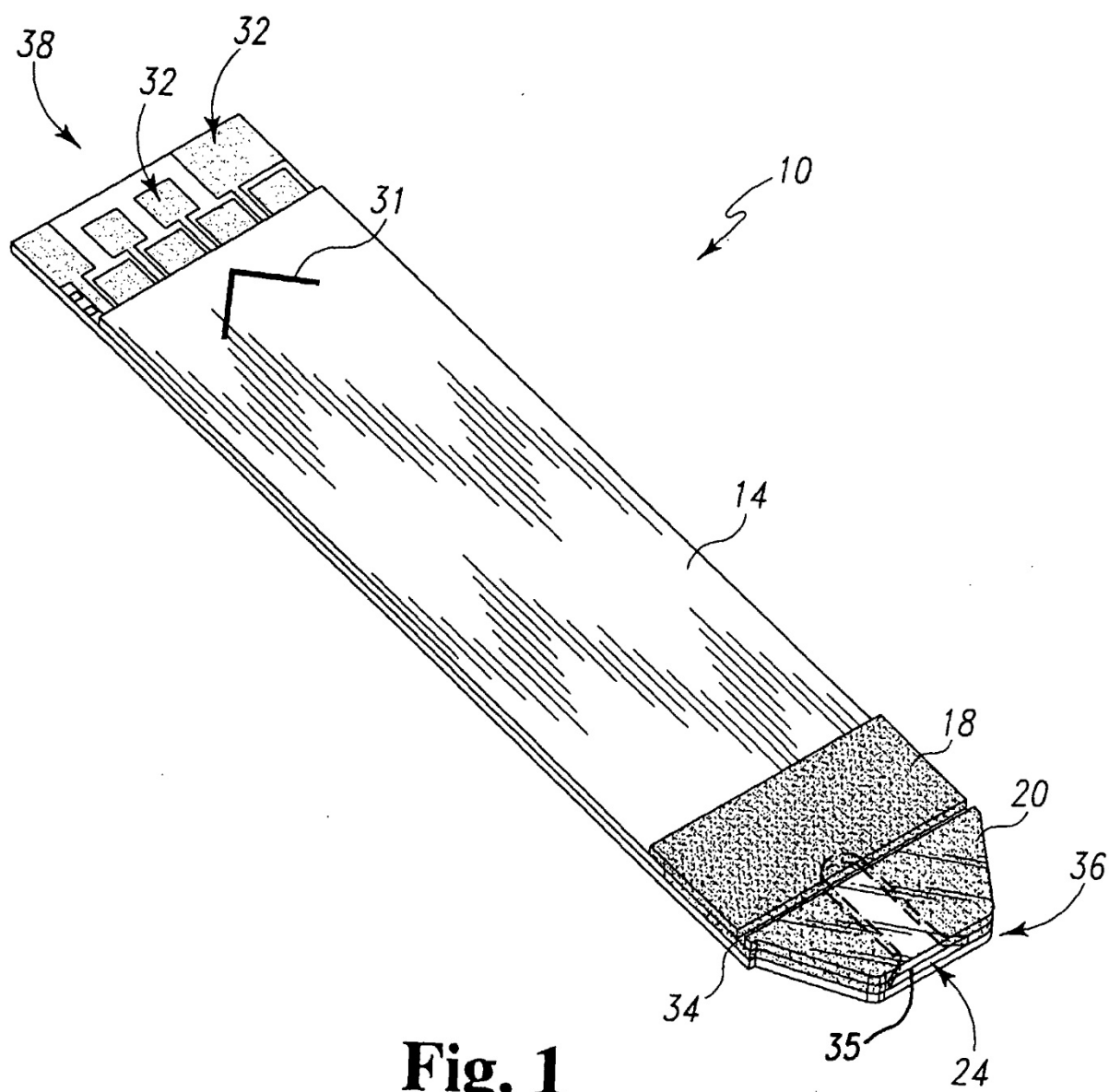
Las tiras pueden empaquetarse de una diversidad de maneras. Por ejemplo, las tiras pueden empaquetarse en viales de plástico abatibles (p.ej., número de 10, 25 o 50). Todos los recipientes incluyen materiales desecantes necesarios para garantizar un tiempo de almacenamiento aceptable. Las tiras de ensayo preferentemente muestran un tiempo de almacenamiento mínimo de 18 meses al almacenarlas entre 4°C y 32° en recipientes herméticamente cerrados según se proporciona.

Aunque se han dado a conocer anteriormente en la presente memoria realizaciones preferentes que incorporan los principios de la presente invención, la presente invención no se encuentra limitada a las realizaciones dadas a conocer. Por el contrario, la presente solicitud pretende cubrir dichas desviaciones respecto de la presente exposición comprendidas dentro de la práctica conocida o habitual de la técnica a la que se refiere la presente invención y que se encuentran comprendidas dentro de los límites según las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Tira de ensayo (10, 290), que comprende:
 - 5 un cuerpo de tira de ensayo que presenta extremos de inserción de medidor y de recepción de muestra, primera y segunda caras y un eje longitudinal central dispuesto sustancialmente paralelo a las dos caras, definiendo el cuerpo de la tira de ensayo una dirección descendente desde el extremo receptor de muestra hasta el extremo de inserción de medidor,
 - 10 un sustrato de base (12) que define el fondo del cuerpo de la tira de ensayo y que presenta un electrodo formado en el mismo, presentando el sustrato de base (12) bordes alineados con el extremo receptor de muestra y la primera y segunda caras del cuerpo de la tira de ensayo,
 - una capa de espaciado (14) suprayacente al sustrato de base (12) y que presenta un hueco que define por lo menos parcialmente una cámara receptora de muestras (24) y
 - 15 una capa de reactivo dispuesta en la cámara receptora de muestras (24) y que cubre una parte del sustrato de base (12) y el electrodo, encontrándose la capa de reactivo interpuesta entre la capa de espaciado (14) y el sustrato de base (12) y que se extiende hasta la primera y segunda caras y el extremo receptor de muestra del cuerpo de la tira de ensayo.
2. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la cámara receptora de muestras (24) define un canal alineado con el eje longitudinal, terminando el canal en una abertura receptora de muestras dispuesta en el extremo receptor de muestras, en donde la capa de reactivo se extiende hasta la abertura receptora de muestras.
3. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, que comprende además una capa de cobertura (16) suprayacente a la capa de espaciado, comprendiendo la capa de cobertura (16) una abertura de ventilación en comunicación con la cámara receptora de muestras (24), estando la abertura de ventilación alineada con la cámara receptora de muestras (24) en un sitio situado después de la abertura receptora de muestras, en donde la abertura de ventilación comprende una ranura formada en la capa de cobertura (16).
4. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la capa de reactivo se extiende en la dirección descendente hasta la abertura de ventilación.
5. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la capa de reactivo se extiende en la dirección descendente mas allá de la abertura de ventilación.
6. Tira de ensayo (10, 290) según las dos reivindicaciones anteriores, en la que la capa de reactivo se extiende en la dirección descendente más allá del electrodo.
7. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la capa de reactivo presenta un grosor uniforme, sustancialmente sin menisco.
8. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la capa de reactivo define primer y segundo bordes laterales de la capa de reactivo que se encuentran sustancialmente alineados con la primera y segunda caras de la tira de ensayo (10, 290) y un borde terminal de la capa de reactivo que se encuentra alineado con el extremo receptor de muestras de la tira de ensayo (10, 290).
9. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la capa de espaciado (14) comprende una capa de espaciado unitaria.
10. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una capa adhesiva dispuesta entre la capa de espaciado (14) y el sustrato de base (12).
11. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la capa adhesiva se encuentra interpuesta entre la capa de espaciado (14) y el sustrato de base (12), presentando la capa adhesiva un perfil de borde que se encuentra alineado con un borde periférico de la cámara receptora de muestras (24).
12. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la capa adhesiva forma un sello en torno a la periferia de la cámara receptora de muestras (24).
13. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la capa de reactivo presenta un grosor de aproximadamente 1 a 20 micrómetros.
14. Tira de ensayo (10, 290) según la reivindicación anterior, en la que la capa de reactivo presenta un grosor de aproximadamente 2 a 6 micrómetros.

15. Tira de ensayo (10, 290) según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la capa de reactivo incluye sílice.
- 5 16. Método de fabricación de una tira de ensayo (10, 290) que presenta primera y segunda caras, extremos receptores de muestras y de inserción de medidor, y un eje longitudinal central que se extiende entre los dos extremos, comprendiendo el método:
 - 10 (a) proporcionar una malla del material de sustrato base que presenta primer y segundo bordes de malla,
 - (b) formar un juego de electrodos sobre la malla,
 - (c) aplicar una banda de material de reactivo en la malla y cubrir por lo menos un electrodo del juego de electrodos con la banda, estando la banda orientada de manera sustancialmente paralela al primer borde de malla, y
 - 15 (d) cortar la tira de ensayo (10, 290) a partir de la malla, definiendo el corte la primera y segunda caras y el extremo receptor de muestras de la tira de ensayo (10, 290), en donde durante el corte de una parte de la banda de reactivo se corta y se elimina del extremo receptor de muestras de la tira de ensayo (10, 290) y además en el que la tira de ensayo (10, 290) comprende una capa de reactivo que se extiende hasta el extremo receptor de muestras y la primera y segunda caras de la tira de ensayo (10, 290), comprendiendo además el método, después de la etapa (c):
 - 20 - proporcionar una malla de material de espaciado que presenta una cavidad formada en la misma,
 - alinear la cavidad con el eje longitudinal central de la tira de ensayo (10, 290) y después laminar el material de espaciado con la malla de material de sustrato de base y
 - 25 - llevando a cabo después la etapa (d), en la que la cavidad define por lo menos parcialmente una cámara receptora de muestras (24).
17. Método según la reivindicación 16, en el que se utiliza un adhesivo para la laminación de la malla de material de espaciado con la malla del material de sustrato de base.
- 30 18. Método según la reivindicación 16, que comprende además, después de laminar la malla de material de capa de espaciado, alinear y después laminar una malla de material de capa de cobertura sobre la malla de material de capa de espaciado.
- 35 19. Método según la reivindicación anterior, en el que el material de capa de cobertura forma una abertura de ventilación que comunica con la cámara receptora de muestras.
- 40 20. Método según la reivindicación 19, en el que el juego de electrodos comprende una pluralidad de juegos de electrodos espaciados, la cavidad comprende una pluralidad de cavidades espaciadas, el eje longitudinal central comprende una pluralidad de ejes longitudinales centrales espaciados y la etapa (d) comprende realizar una pluralidad de cortes para formar una pluralidad de tiras de ensayo (10, 290).
- 45 21. Método según la reivindicación 20, en el que el corte en la etapa (d) comprende además formar aberturas receptoras de muestras en los extremos receptores de muestras, conduciendo cada abertura receptora de muestras a una cavidad respectiva, extendiéndose la capa de reactivo de cada tira de ensayo (10, 290) hasta la abertura receptora de muestras.
- 50 22. Método según la reivindicación 16, en el que la banda de reactivo se deposita sobre la malla de sustrato de base en forma de una composición húmeda con un grosor de aproximadamente 50 μm a aproximadamente 100 μm .
- 55 23. Método según la reivindicación anterior, en el que la banda de reactivo se deposita sobre la malla de sustrato de base en forma de una composición húmeda con un grosor de aproximadamente 60 μm a aproximadamente 80 μm .
- 60 24. Método según cualquiera de las dos reivindicaciones anteriores, en el que la banda de reactivo se seca hasta un grosor de aproximadamente 3 μm a aproximadamente 20 μm .
25. Método según la reivindicación 16, en el que la etapa (c) comprende aplicar la banda de reactivo mediante un procedimiento de recubrimiento con boquilla de ranura.
26. Método según la reivindicación 16, en el que la banda de reactivo es continua.



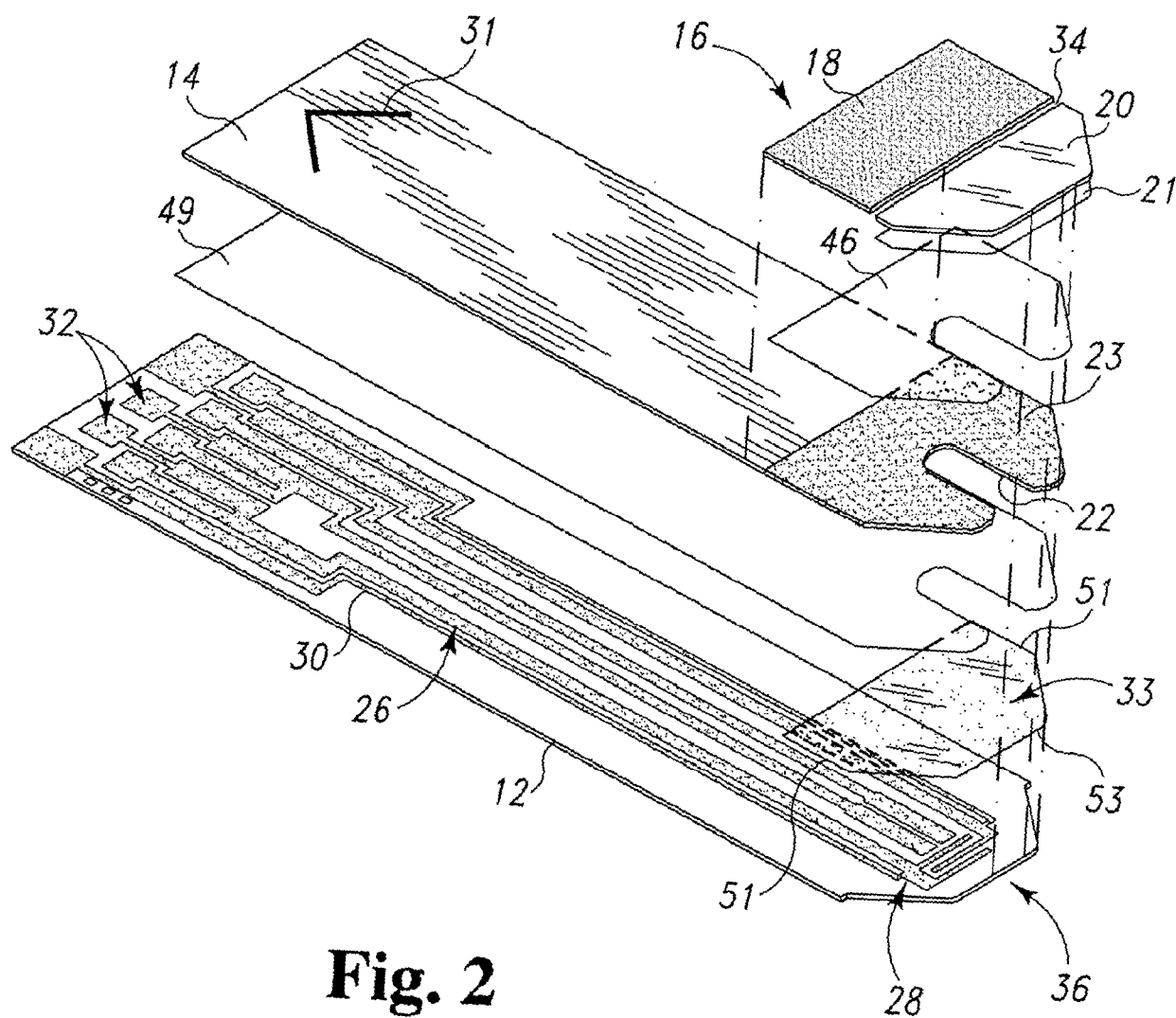


Fig. 2

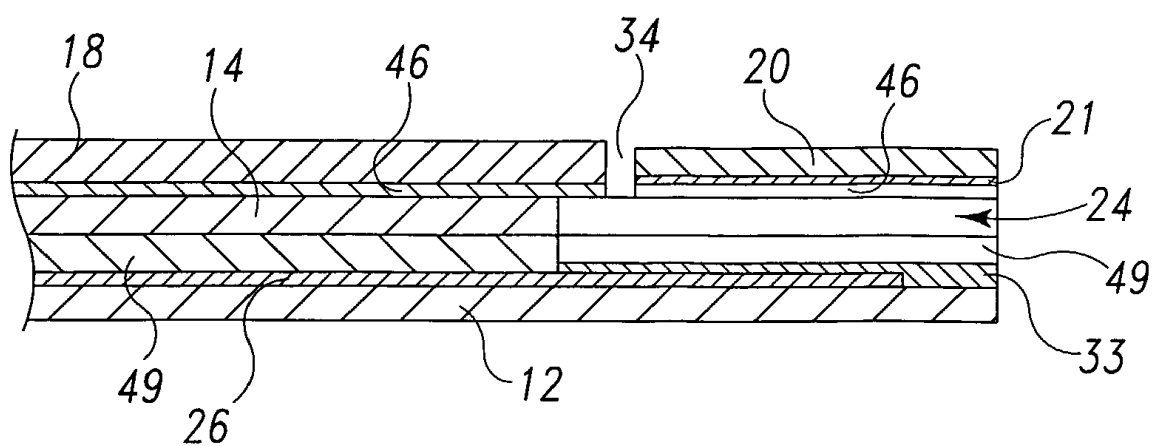


Fig. 3

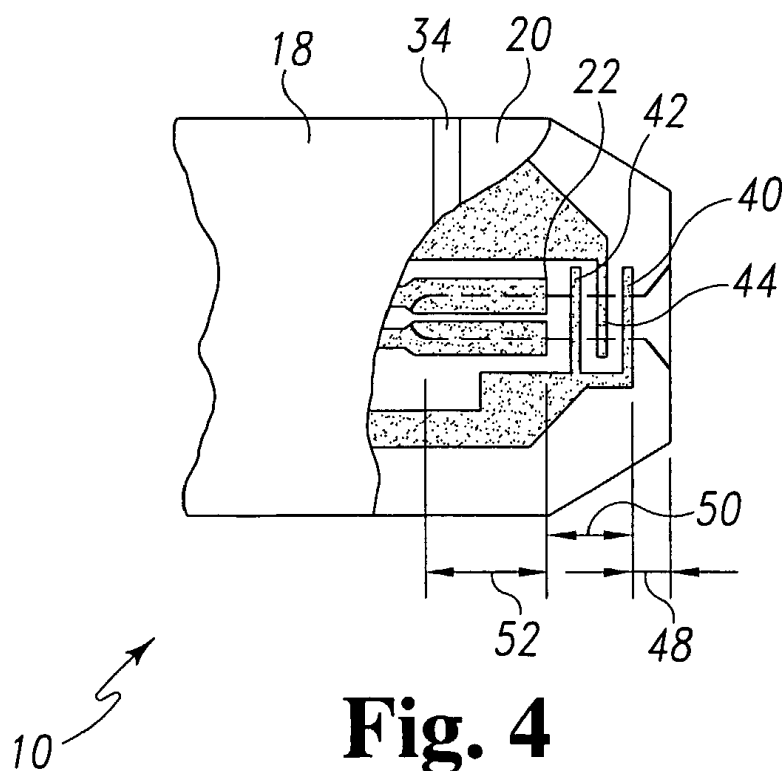


Fig. 4

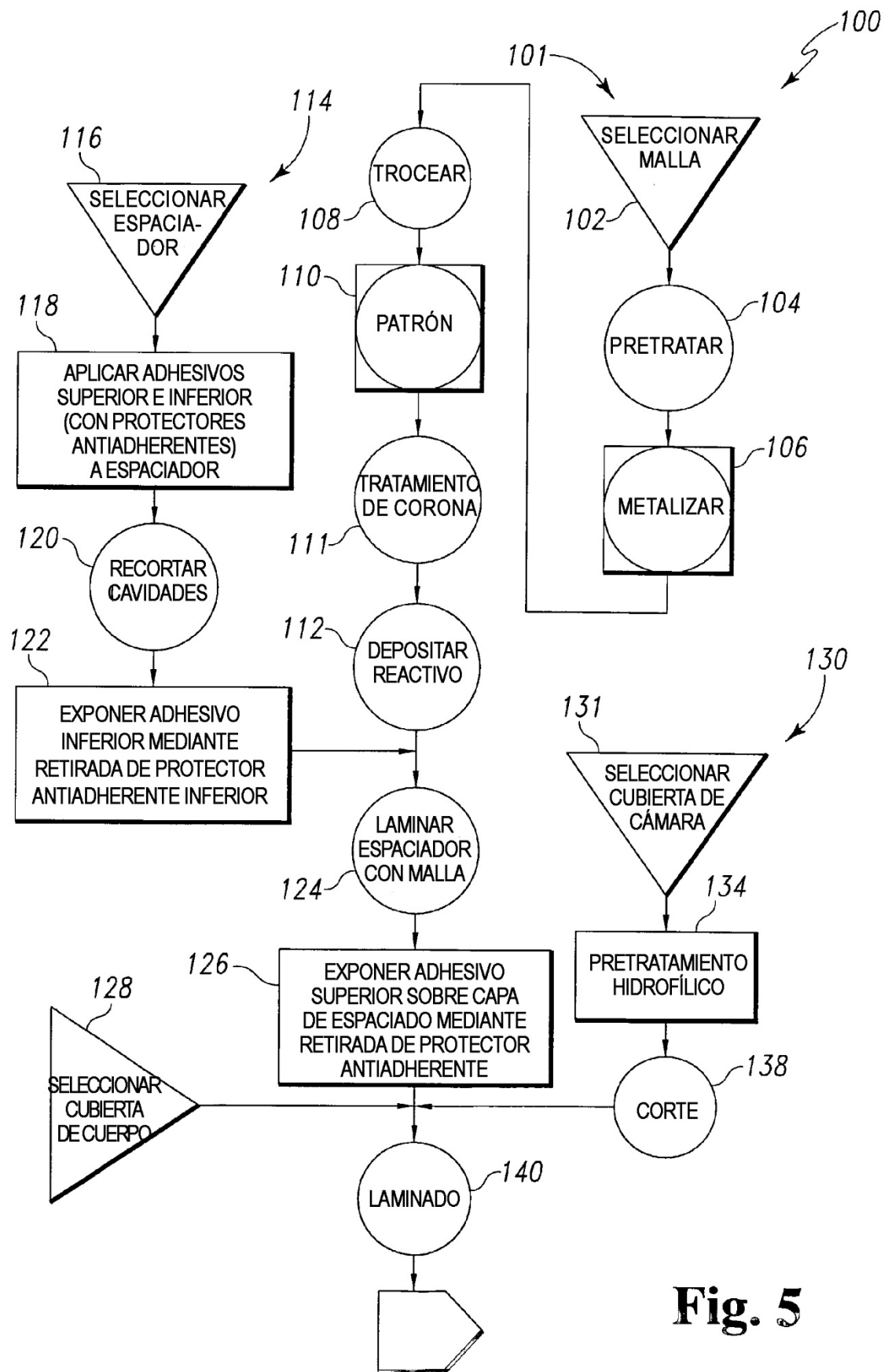


Fig. 5

100 (cont.)

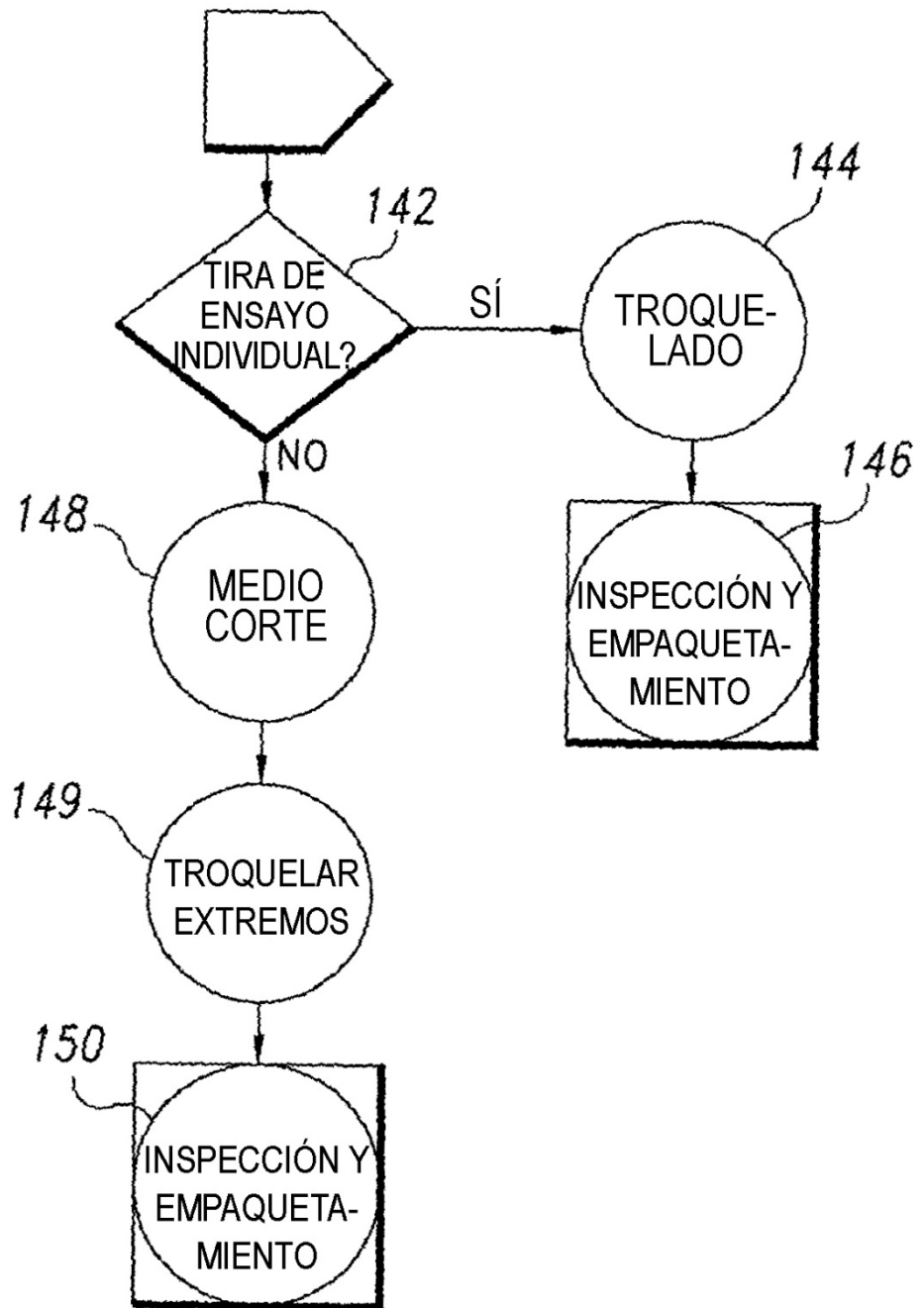


Fig. 5A

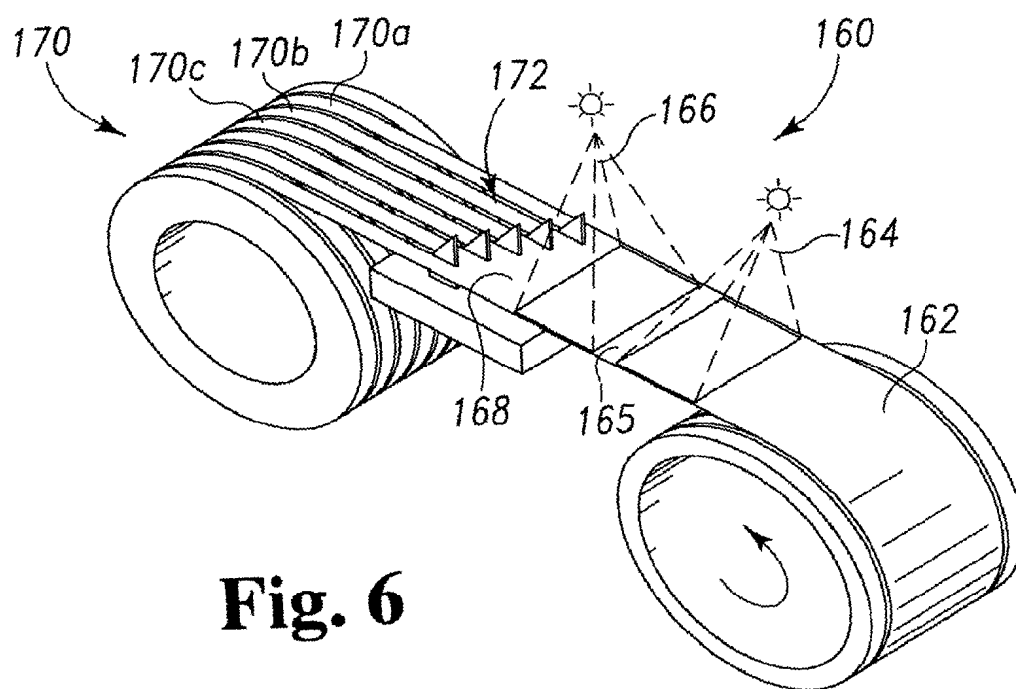


Fig. 6

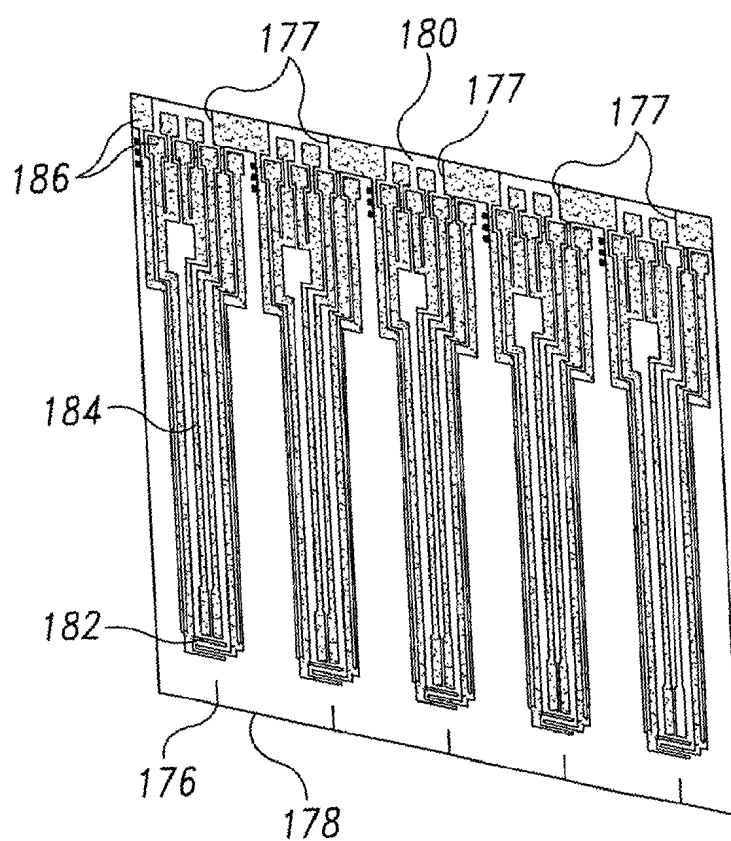


Fig. 7

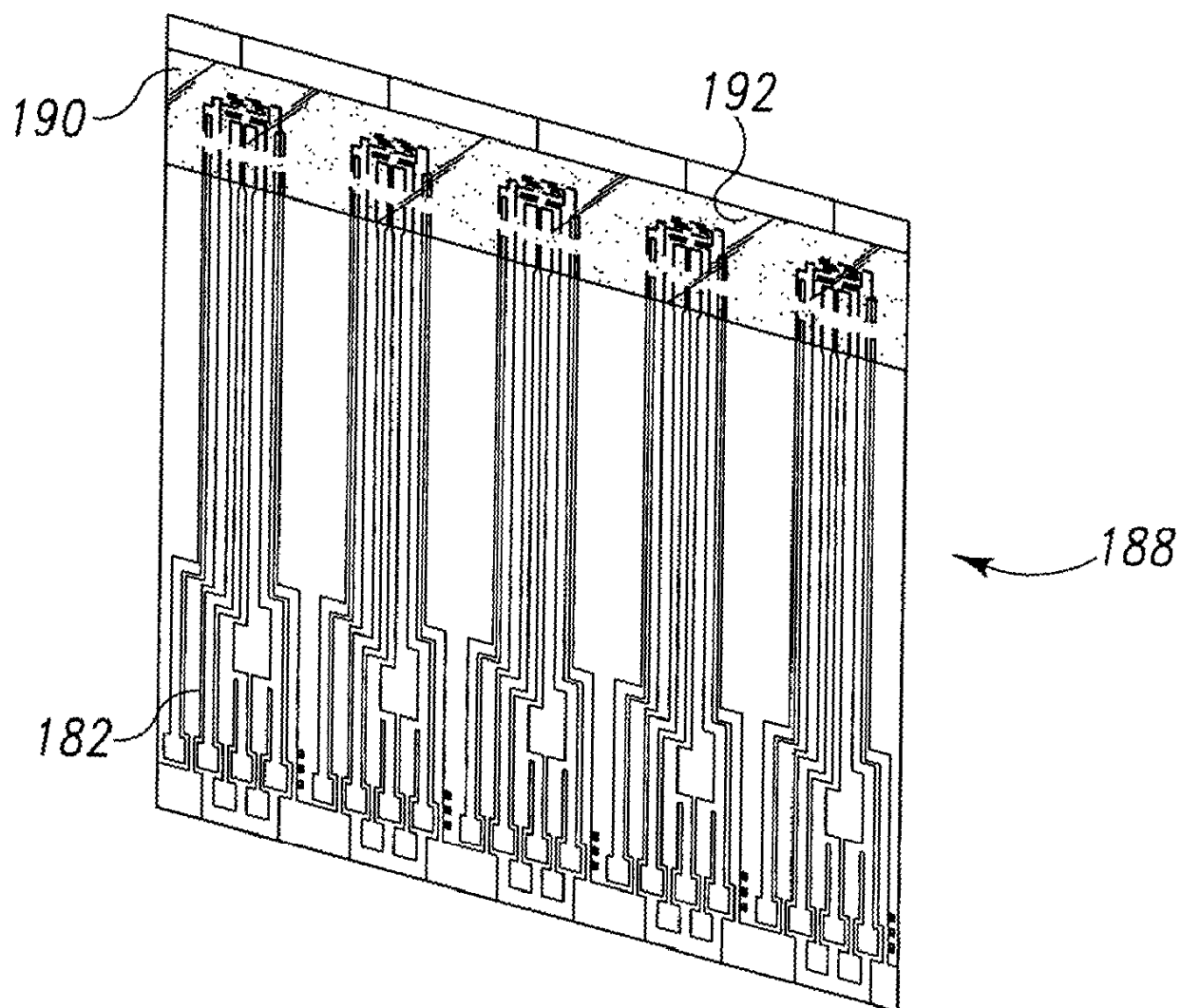


Fig. 8

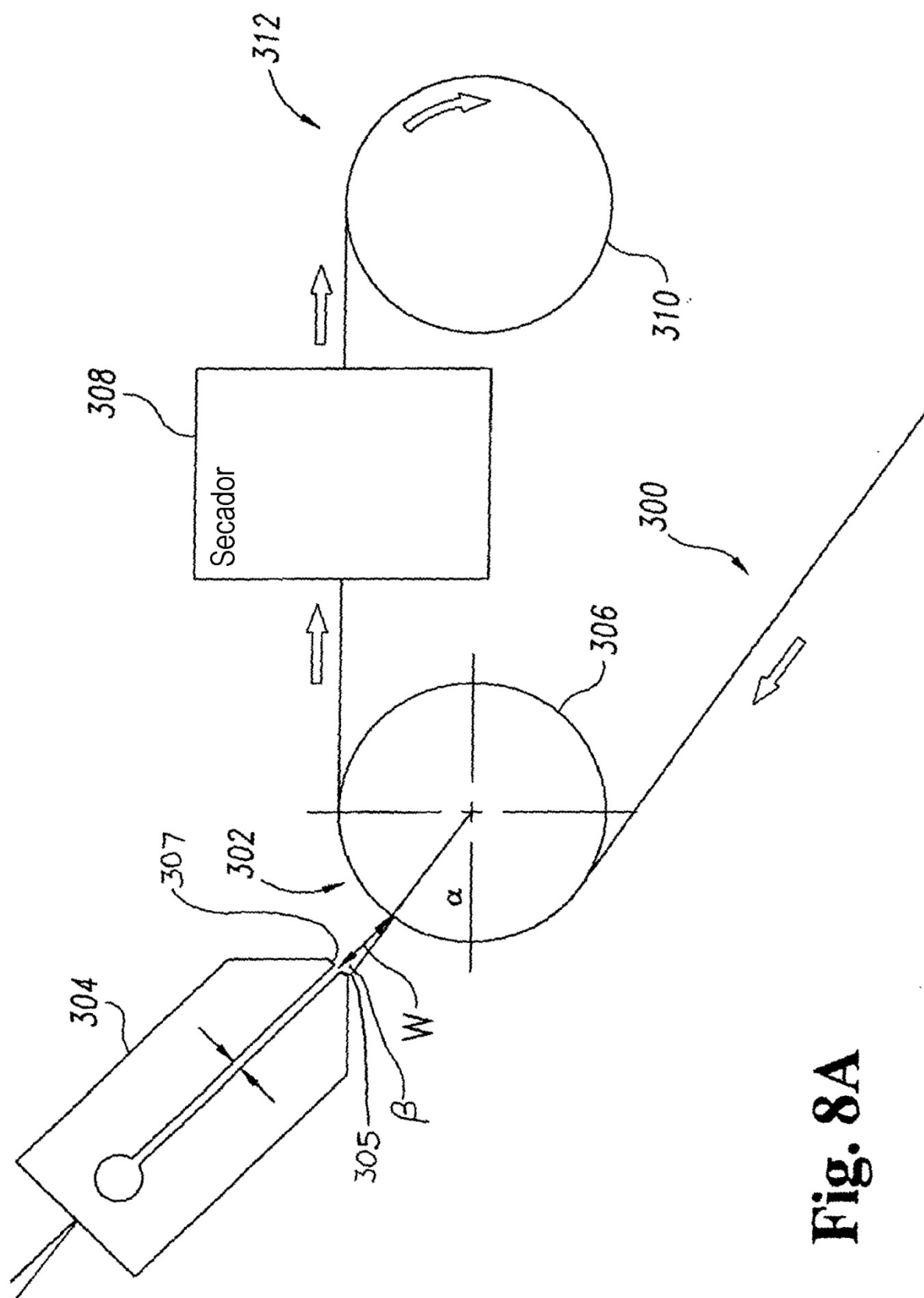


Fig. 8A

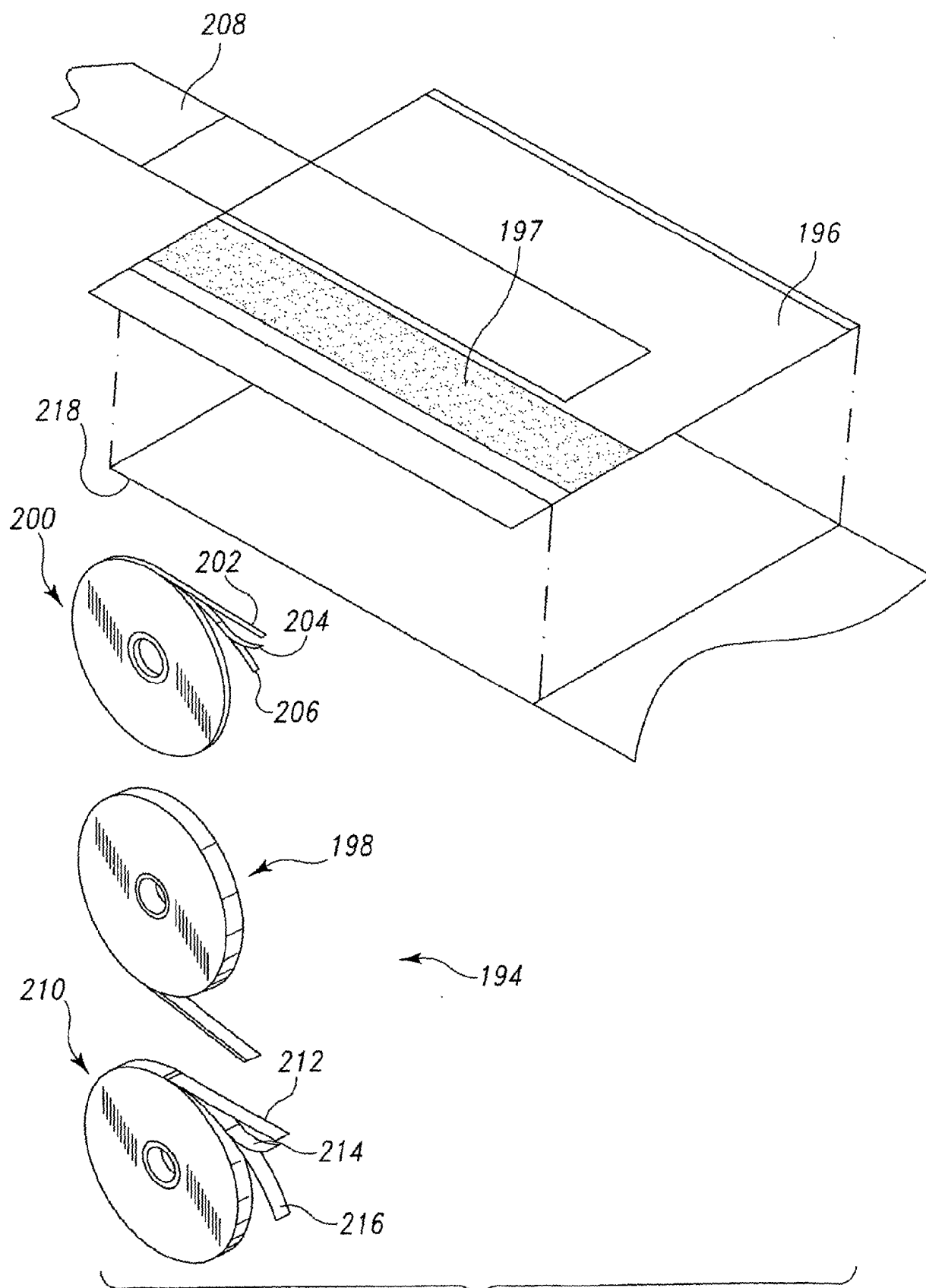


Fig. 9

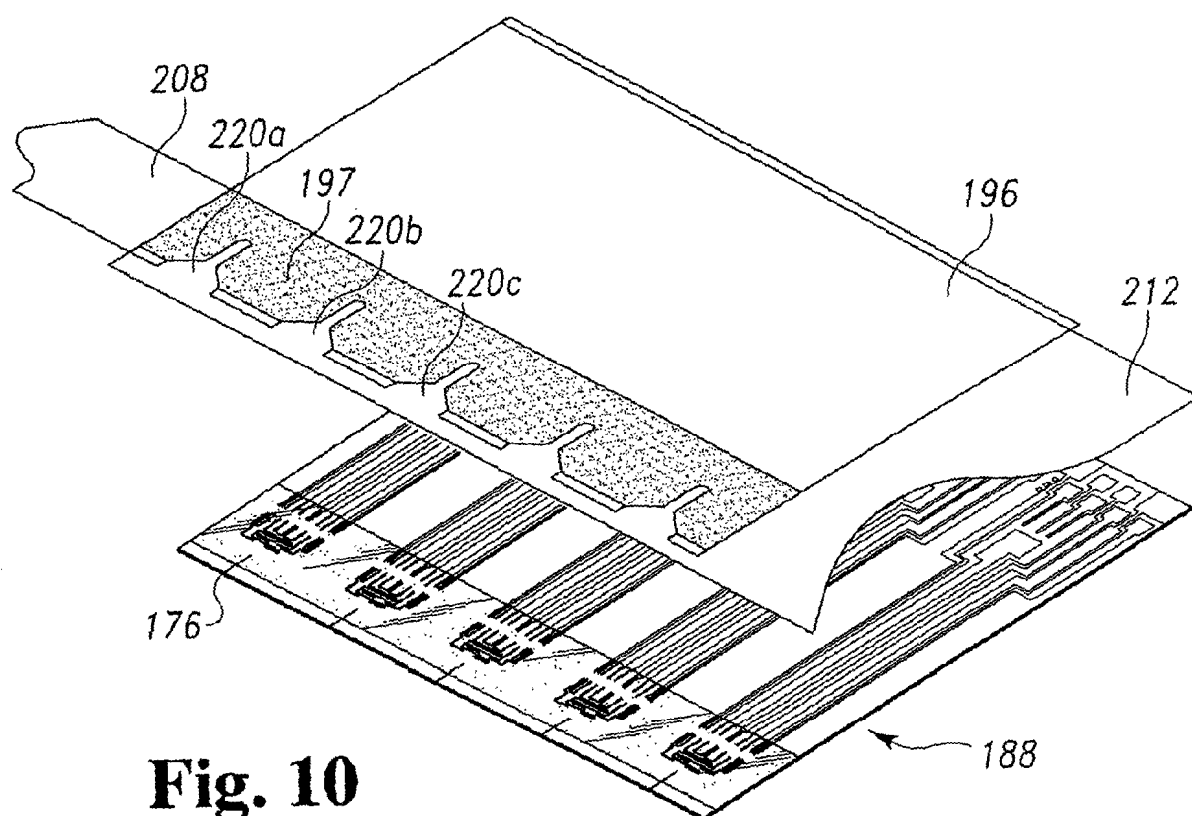


Fig. 10

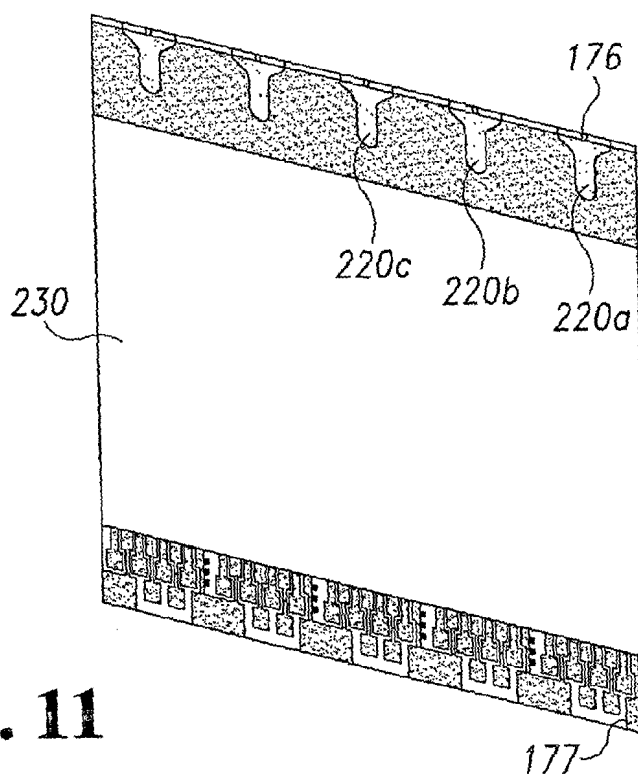


Fig. 11

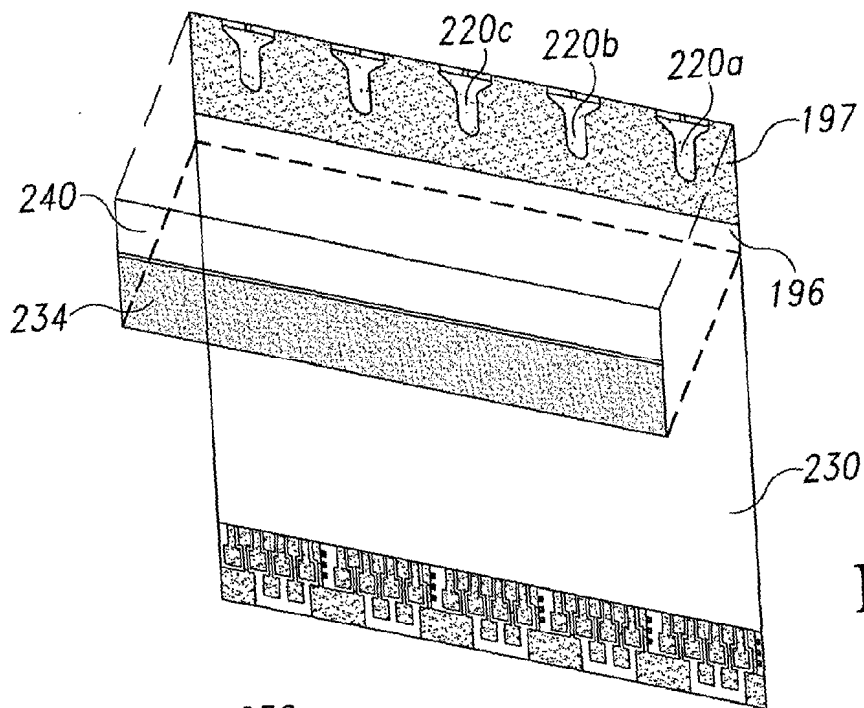


Fig. 12

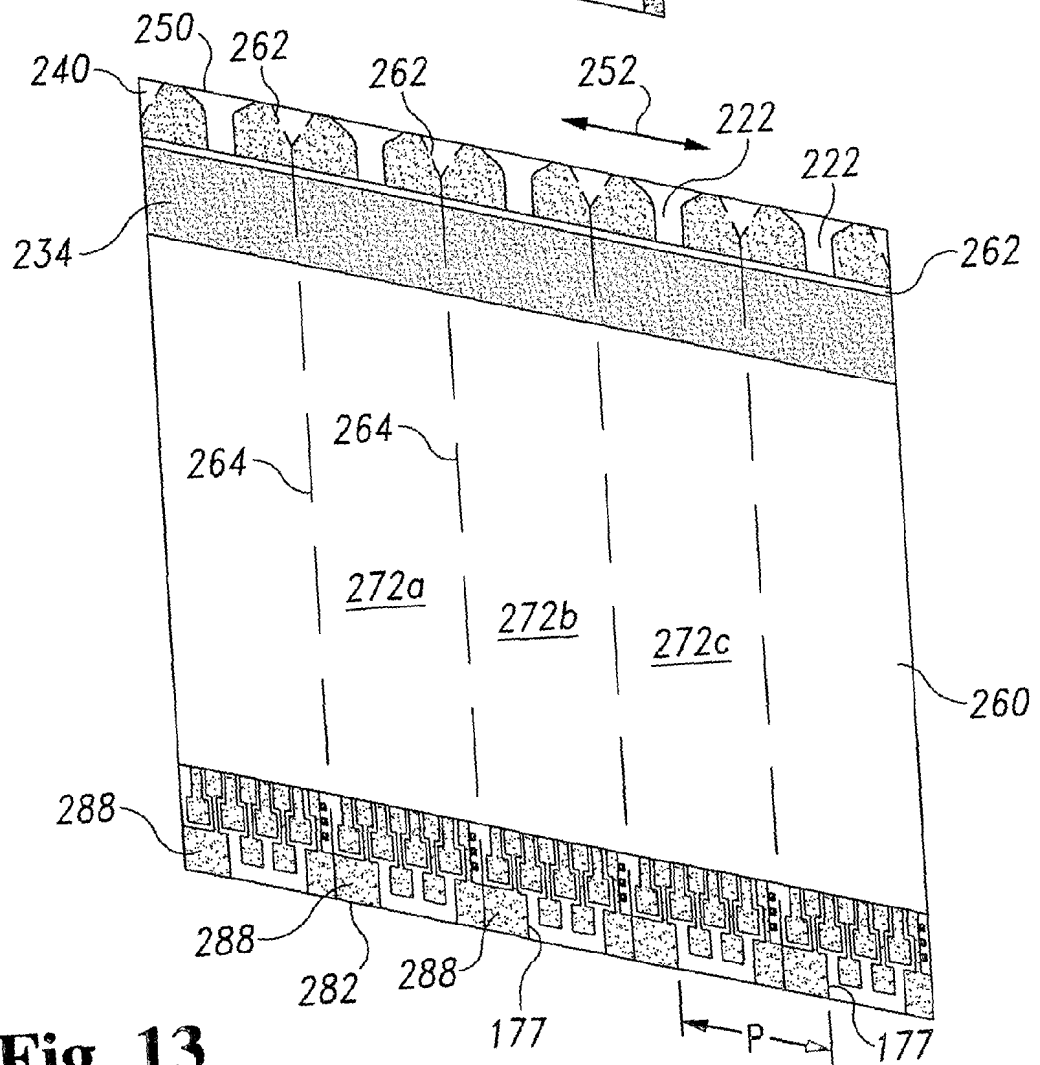


Fig. 13

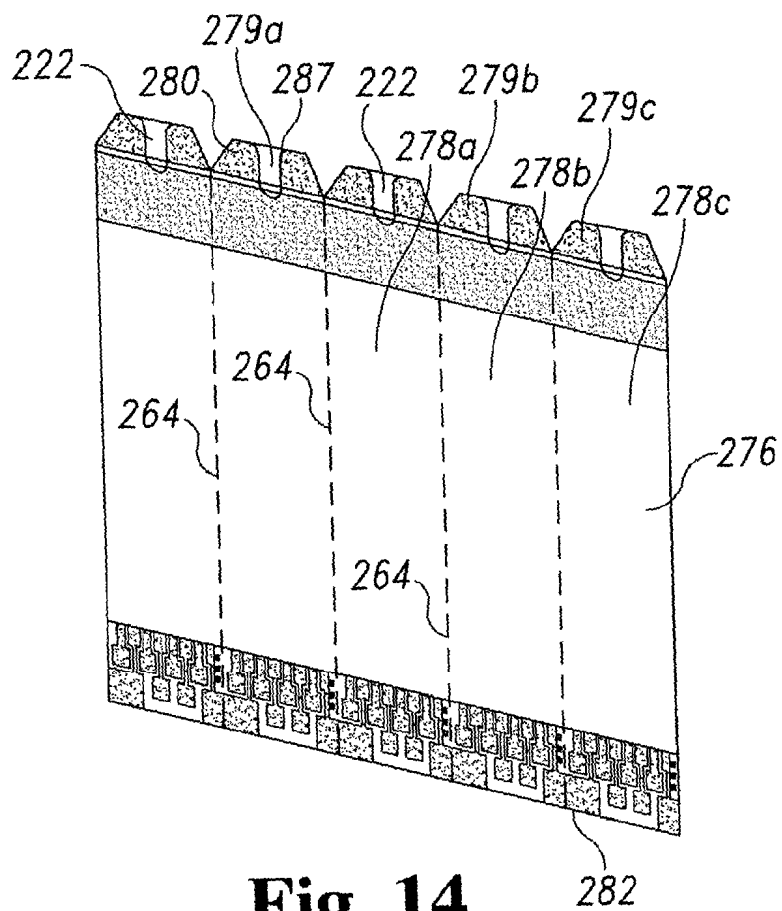


Fig. 15

