(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 300 289**

(51) Int. Cl.:
G01N 27/447 (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Número de solicitud europea: **01114188 .4**
(86) Fecha de presentación : **12.06.2001**
(87) Número de publicación de la solicitud: **1167963**
(87) Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2002**

(54) Título: **Biosensor.**

(30) Prioridad: **19.06.2000 US 596846**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

(73) Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

(72) Inventor/es: **Bhullar, Raghbir Singh y**
Walling, Douglas Paul

(74) Agente: **Isern Jara, Jorge**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Biosensor.

Ámbito del invento

El presente invento hace referencia a un biosensor y en particular a un biosensor electroquímico.

Antecedentes y resumen del invento

Los biosensores electroquímicos son bien conocidos. Se han utilizado para determinar la concentración de diversos análitos procedentes de muestras biológicas, en especial de la sangre. Los biosensores se describen en las patentes estadounidenses números 5.413.690, 5.762.770, 5.798.031 y 5.997.817.

La patente europea EP-A-0.875.754 divulga un aparato para detecciones electroquímicas que comprende una placa de base 6 y una placa de cubierta 8 montadas en un eje para su rotación y separadas por un espaciador 10. Los separadores radiales aislantes 12 en la placa de base o de cubierta representan barreras de líquidos y definen una diversidad de cubetas radiales 4. La placa de base va revestida con un aislante dieléctrico para cubrir las zonas sin utilizar de los electrodos 18, que se constituyen en pistas de electrodos 22 y llevan a un conector central. Los electrodos pueden disponerse en la placa de cubierta y en la placa de base de manera que queden enfrentados entre sí. En la placa de base o placa de cubierta se imprimen los productos químicos que pueden actuar como reactivos, para facilitar el análisis. La profundidad de cada cubeta tiene dimensiones capilares que oscilan entre 100 micrones y 3 mm.

Según el presente invento, se aporta un biosensor como el definido en la reivindicación 1. El biosensor consta de una sección inferior con un borde y una brida que sobresale del borde, una sección superior que se apoya en la sección inferior y tiene un borde y una brida que sobresale del borde y se alinea con la brida de la sección inferior, así como un primer electrodo y un segundo electrodo. Las bridas de las secciones superior e inferior cooperan para formar un canal capilar. Además, el primer electrodo se dispone en la brida de la sección inferior del canal capilar y el segundo electrodo se dispone en la brida de la sección superior del canal capilar.

También se aporta un biosensor de acuerdo con la presente divulgación constituido por un primer electrodo que comprende una base y un perímetro, un espaciador situado en la base del primer electrodo, y un segundo electrodo que comprende una base situada en el espaciador y un perímetro. Los perímetros de los electrodos primero y segundo cooperan entre sí para definir un canal capilar en voladizo.

Además, de acuerdo con la presente divulgación, se aporta un biosensor constituido por una sección inferior, un primer electrodo situado en la sección inferior, un espaciador, y un segundo electrodo. Cada uno de los electrodos primero y segundo comprende una base y un perímetro. El espaciador está situado adyacente a las bases de los electrodos primero y segundo. Además, los perímetros de los electrodos primero y segundo cooperan entre sí para definir un canal capilar.

Los expertos apreciarán otras características del presente invento al considerar la siguiente descripción detallada de su forma de realización preferida, que presenta un ejemplo del mejor modo de llevarlo a cabo.

Breve descripción de los dibujos

La descripción detallada se refiere particularmente a las figuras que se acompañan, siendo:

La figura 1 una vista en perspectiva del biosensor, tal como lo vería un usuario al colocarlo en un medidor;

La figura 2 una vista despiezada del conjunto del biosensor de la figura 1, con porciones de una sección anular inferior desprendida;

La figura 3 una vista lateral montada del biosensor de la figura 2;

La figura 4 una vista inferior en perspectiva de la sección anular inferior del biosensor de la figura 2;

La figura 5 una vista de la figura 1, tomada a lo largo de las líneas 5-5;

La figura 6 una vista inferior en perspectiva de la sección anular superior del biosensor con porciones desprendidas;

La figura 7 una vista en perspectiva del biosensor de la figura 1 situado dentro del medidor;

La figura 8 una vista en perspectiva ampliada del biosensor y del medidor de la figura 7 con porciones del medidor desprendidas tras el cierre de la tapa y la puerta del medidor;

La figura 9A una vista de la figura 7, tomada a lo largo de las líneas 9A-9A;

La figura 9B una vista ampliada del biosensor y del medidor de la figura 9A;

La figura 10 una vista esquemática de un sistema de accionamiento del biosensor de la presente divulgación;

La figura 11 una vista despiezada del conjunto de un biosensor según otro aspecto adicional de la presente divulgación;

La figura 12 una vista inferior en perspectiva de la sección anular superior del biosensor de la figura 11 con porciones desprendidas;

La figura 13 una vista despiezada del conjunto de un biosensor según otro aspecto de la presente divulgación; y

La figura 14 una vista transversal del biosensor de la figura 13 después del montaje.

Descripción detallada de los dibujos

En la figura 1 se aprecia un biosensor 10 según el presente invento, tal como lo vería un usuario al colocarlo en un medidor 12. El biosensor 10 compensa los volúmenes de muestra pequeños mediante la aportación de un diseño capilar basado en un voladizo. Como se aprecia en la figura 2, el biosensor 10 comprende una sección anular superior 14, un espaciador 16 y una sección anular inferior 18. El espaciador 16 separa las secciones superior e inferior 14 y 18, que cooperan entre sí para definir una diversidad de canales capilares en voladizo y separados 20. Es preferible que el biosensor 10 tenga configuración discoidal y se forme por rotación en torno a un eje 22 en incrementos discontinuos predeterminados para exponer canales individuales 20 a un usuario que desee efectuar evaluaciones. No obstante, se apreciará que el biosensor 10 puede adoptar cualquier número de configuraciones y comprender tan sólo un canal capilar en voladizo 20, según la presente divulgación. Se presentan diversos aspectos del presente invento y de su divulgación en las figuras 1-14, que no están dibujadas a escala y en las cuales los mismos componentes de las diversas vistas llevan idénticas numeraciones.

El biosensor 10 del presente invento puede moldearse de una resina termoplástica. Son resinas adecuadas para ello los termoplásticos como el acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS), acetal, acrílico, policarbonato (PC), poliéster, polietileno, fluoroplástico, poliamida, nylon, polióxido de fenileno, polipropileno (PP), copolímero estireno-acrílico, poliestireno, polisulfona, cloruro de polivinilo, poli (metacrilato), poli (metil metacrilato de metilo) o sus mezclas. Es preferible que las secciones superior e inferior 14 y 18 se formen con un policarbonato como los utilizados para fabricar discos compactos. Es aún más preferible que las secciones superior e inferior 14 y 18 carezcan de materiales de refuerzo y sólo contengan un material termoplástico como el policarbonato. Son ejemplos concretos de policarbonatos utilizables el MAKROLON 2400 producido por Bayer AG de Leverkusen (Alemania) y la resina de policarbonato NOVAREX® que comercializa Mitsubishi Kasei Corporation de Tokio (Japón). Es preferible que el espaciador 16 se fabrique con una película de poliéster termoestabilizada y tenga un grosor aproximado de 3-7 milésimas de pulgada. Un ejemplo no limitativo de dicho material es una película de poliéster transparente, comercializada con las designaciones ST-505 ó ST 454 por E.I. DuPont de Nemours and Company de Wilmington, Delaware (EE.UU.). El espaciador 16 tiene un grosor aproximado de 75-125 micrómetros y es preferible que su altura ronde los 75 micrómetros. Se apreciará que la altura del espaciador 16 puede variar y que dicho espaciador 16 puede comprender más o menos de ocho aberturas 66 según la presente divulgación.

Como se aprecia en las figuras 2-5, la sección inferior 18 del biosensor 10 comprende un lado exterior 24, un lado interior 26 que queda frente al espaciador 16, un borde exterior circular 28 con una serie de bridas 30 que se extienden radialmente hacia fuera y un borde interior circular 32 con una serie de bridas 34 que se extienden radialmente hacia dentro. Pasando ahora a la figura 5, entre cada brida 30 y el lado interior 26 del biosensor 10 se extiende una depresión 38. Además, cada brida exterior 30 comprende una cara interior 36 generalmente alineada con el lado interior 26.

Como se aprecia en las figuras 4-5, el lado exterior 24 de la sección inferior 18 comprende una porción elevada 40 adyacente al borde interior 32. La porción elevada 40 comprende un borde interior circular 42 formado para incluir una serie de dientes 44 que se extienden radialmente hacia dentro. Los dientes 44 del lado exterior 24 están configurados y dimensionados para acoplarse en interconexión con el medidor 12 y hacer girar la sección inferior 18 del biosensor 10 en torno al eje 22. Además, la sección inferior 18 se ha formado para comprender ocho aberturas 46 que se extienden entre la porción elevada 40 del lado exterior 24 y el lado interior 26. Se apreciará que la sección inferior 18 puede comprender más o menos de ocho aberturas 46 según la presente divulgación.

Pasando ahora a las figuras 2 y 3, la sección superior 14 del biosensor 10 se apoya sobre la sección inferior 18. Tal como se utiliza aquí respecto a la ubicación relativa de las secciones superior e inferior 14 y 18, el término “sobre” se emplea como palabra funcional para indicar una posición de la sección superior 14 muy próxima a la sección inferior 18. Se apreciará que es posible situar el espaciador 16 entre las secciones superior e inferior 14 y 18, o bien, como se explicará más adelante, que la sección superior 14 o la sección inferior 18 puede formarse integralmente con el espaciador. Como muestran las figuras 5-6, la sección superior 14 tiene un lado exterior 48 y un lado interior 50 que queda frente al espaciador 16. Entre los lados exterior e interior 48 y 50 de la sección superior 14 se extienden ocho aberturas 52, generalmente alineadas con las aberturas 46 cuando se monta el biosensor 10. Se apreciará que la sección superior 14 puede comprender más o menos de ocho aberturas 46 según la presente divulgación. Como

muestra la figura 6, la sección superior 14 también comprende un borde exterior circular 54 con una serie de bridas 56 que se extienden radialmente hacia fuera y un borde interior circular 58 con una serie de bridas 60 que se extienden radialmente hacia dentro. Cada brida exterior 56 comprende una cara interior 62 generalmente alineada con el lado interior 50 y una depresión 64 que se extiende entre la cara interior 62 y el lado interior 50. Cuando se monta el biosensor 10, la cara interior 62 de la brida 56 queda frente a la cara interior 36 de la brida 30 para definir el espacio capilar 20.

El espaciador 16 se sitúa entre el lado interior 50 de la sección superior 14 y el lado interior 26 de la sección inferior 18. La configuración del espaciador 16 comprende ocho aberturas 66 alineadas con las aberturas 46 y 52 de las secciones inferior y superior 18 y 14, respectivamente. El espaciador 16 mantiene entre los lados interiores 26 y 50 de las secciones superior e inferior 14 y 18 una separación suficiente para impedir que los sucesos electroquímicos del lado interior 26 ocasionen sucesos electroquímicos en el lado interior 50.

Las secciones superior e inferior 14 y 18 se acoplan al espaciador 16 mediante pasadores de conexión 68. Como se aprecia en la figura 1, el biosensor 10 comprende ocho pasadores 68, todos ellos dimensionados para extenderse a través de las aberturas alineadas 52, 66 y 46, respectivamente. Los pasadores 68 se fabrican con materiales similares a los empleados para las secciones superior e inferior 14 y 18. No obstante, se apreciará que pueden utilizarse más o menos de ocho pasadores 68, así como pasadores 68 de diversas configuraciones y dimensiones, según la presente divulgación. Igualmente se apreciará que las secciones superior e inferior 14 y 18 pueden acoplarse al espaciador 16 con grapas, adhesivos, soldadura por ultrasonidos y similares, según la presente divulgación.

Se han tendido conductores eléctricos 71 y 70 en las secciones superior e inferior 14 y 18, respectivamente. Los conductores eléctricos 71 y 70 constituyen los electrodos del biosensor 10. Por consiguiente, el conductor 70 puede ser un electrodo de trabajo y el conductor 71 puede ser un contraelectrodo. Pasando ahora a la figura 2, el conductor 70 comprende una base 73 que cruza el lado interior 26 de la sección inferior 18 y un perímetro 75 en el borde exterior de la brida 30 para establecer comunicación eléctrica entre la brida exterior 30 y la brida interior 34. Igualmente, como se aprecia en la figura 6, el conductor 71 comprende una base 77 que cruza el lado interior 50 y un perímetro 79 en el borde exterior de la brida 56 para establecer comunicación eléctrica entre la brida exterior 56 y la brida interior 60. La distancia entre los perímetros 75 y 79 de los conductores 71 y 70 es aproximadamente de entre 35 y 125 μm, y más preferiblemente de 75 μm, definiendo el canal capilar 20. Se apreciará que la distancia entre los perímetros 75 y 79 puede variar.

Son ejemplos no limitativos de materiales electroconductores adecuados para formar los conductores eléctricos 70 y 71 el aluminio, carbono (grafito, por ejemplo), cobalto, cobre, galio, oro, indio, iridio, hierro, plomo, magnesio, mercurio (como amalgama), níquel, niobio, osmio, paladio, platino, renio, rodio, selenio, silicio (por ejemplo, el silicio policristalino muy impurificado), plata, tantalio, estaño, titanio, tungsteno, uranio, vanadio, cinc, circonio, sus mezclas, y aleaciones de compuestos metálicos de estos elementos. Es preferible que los conductores eléctricos 70 y 71 comprendan oro, platino, paladio, indio o aleaciones de estos metales, porque estos metales nobles y sus aleaciones no reaccionan en presencia de los sistemas biológicos. Es aún más preferible que el conductor 70 sea un electrodo de trabajo fabricado con oro, y que el conductor 71 sea un contraelectrodo, también de oro y sustancialmente del mismo tamaño que el electrodo de trabajo.

Una vez montado el biosensor 10, como se aprecia en las figuras 3 y 5, el espaciador 16 sitúa las secciones superior e inferior 14 y 18 de manera que las bridas exteriores 56 y 30 cooperen entre sí para definir canales capilares individuales 20. En una forma de realización preferida, cada sección superior e inferior 14 y 18 comprende sesenta bridas exteriores separadas 56 y 30, respectivamente. No obstante, se apreciará que cada sección superior e inferior 14 y 18 puede comprender sólo una o más de sesenta bridas exteriores según la presente divulgación. Además, la orientación respectiva de los diversos canales capilares 20 es una opción de diseño y puede variar, siendo ejemplos no limitativos de ello una línea generalmente recta, una configuración en forma de S y una configuración elíptica según la presente divulgación.

Cada canal capilar 20 expone una porción de los conductores 70 y 71 entre las bridas 30 y 56 para aplicar una muestra a las superficies expuestas de los conductores 70 y 71. El grado de exposición de los conductores 70 y 71 determina el área superficial de cada electrodo. El electrodo de trabajo y el contraelectrodo tienen áreas superficiales sustancialmente equivalentes de menos de o igual a unos 2 mm^2, más preferiblemente 1,25 mm^2. No obstante, se apreciará que el grado de exposición de los conductores 70 y 71 puede variar según la presente divulgación.

Como se aprecia en la figura 5, las bridas interiores 60 y 34 cooperan entre sí para definir las brechas individuales 84. Cada brecha 84 expone una porción de los conductores 71 y 70 entre las bridas 60 y 34 para acceder al medidor 12 y realizar una medición electroquímica. En una forma de realización preferida, cada sección superior e inferior 14 y 18 comprende sesenta bridas interiores separadas 60 y 34, respectivamente. Se apreciará que las secciones superior e inferior 14 y 18 pueden formarse sin brida interior o con cualquier número de bridas interiores según la presente divulgación, a condición de que los conductores 70 y 71 sean accesibles al medidor 12. Además, la orientación y altura relativas de las brechas 84 es una opción de diseño y puede variar. Son ejemplos no limitativos de opciones de orientación una línea generalmente recta, una configuración en forma de S y una configuración elíptica, según la presente divulgación.

El reactivo 72 aporta sondas electroquímicas para análitos específicos y puede situarse en cada canal capilar 20. El reactivo 72 se coloca como película de grosor generalmente uniforme sobre al menos una porción del perímetro 75 del conductor 70 en cada brida 30. Véase, por ejemplo, la figura 2. La opción de un determinado reactivo 72 depende del análito o de los análitos que deban medirse, como conocen bien los expertos en esta tecnología. Por ejemplo, puede utilizarse como reactivo 72 del presente invento un reactivo para medir la glucosa de una muestra de sangre completa. Un ejemplo no limitativo de un reactivo para medir la glucosa contenida en una muestra de sangre humana comprende 62,2 mg de polióxido de etileno (con un peso molecular de 100-900 kilodaltonios), 3,3 mg de NATROSOL 250M, 41,5 mg de AVICEL RC-591 F, 89,4 mg de fosfato de potasio monobásico, 157,9 mg de fosfato de potasio dibásico, 437,3 mg de ferricianuro de potasio, 46,0 mg de succinato sódico, 148,0 mg de trehalosa, 2,6 mg de tensioactivo TRITON X-100, y de 2.000 a 9.000 unidades de actividad enzimática por gramo de reactivo. La enzima se prepara como solución enzimática con 12,5 mg de coenzima PQQ y 1,21 millones de unidades de quinoproteína de glucosa deshidrogenasa. Este reactivo también se describe en la patente estadounidense 5.997.817.

Otro ejemplo de reactivo adecuado es el que se utiliza para determinar el hematocrito. Cuando, por ejemplo, debe determinarse el hematocrito, el reactivo comprende formas oxidadas y reducidas de un compuesto electroactivo reversible (hexacianoferrato de potasio [III] ["ferricianuro"] y hexacianoferrato de potasio [II] ["ferrocianuro"], respectivamente), un electrólito (amortiguador de fosfato de potasio) y un material microcristalino (Avicel RC-591 F, mezcla de un 88% de celulosa microcristalina y 12% de carmelosa sódica, comercializada por FMC Corp). Las concentraciones de los componentes dentro del reactivo antes del secado son las siguientes: 400 milimolares (mM) de ferricianuro, 55 mM de ferrocianuro, 400 mM de fosfato de potasio y 2,0% (peso: volumen) de Avicel. La patente estadounidense Nº 5.385.846 contiene otra descripción más del reactivo utilizado para un análisis de hematocrito. En la Tabla 1 se enumeran otros ejemplos no limitativos de enzimas y mediadores utilizables para medir determinados análitos en el biosensor 10 del presente invento.

TABLA 1

Ensayo	Enzimas	Mediador (forma oxidada)	Mediador adicional
Glucosa	Diaforasa y deshidrogenasa de glucosa	Ferricianuro	
Glucosa	Deshidrogenasa de glucosa (quinoproteína)	Ferricianuro	
Colesterol	Colesterol esterasa y colesterol oxidasa	Ferricianuro	2,6-dimetilo-1,4-benzoquinona 2,5-dicloro-1,4-benzoquinona o etosulfato de fenacina
Colesterol HDL	Colesterol esterasa y colesterol oxidasa	Ferricianuro	2,6-dimetilo-1,4-benzoquinona 2,5-dicloro-1,4-benzoquinona o etosulfato de fenacina
Triglicéridos	Lipoproteína lipasa, glicerolcinasa y glicerol-3-fosfato oxidasa	Ferricianuro o etosulfato de fenacina	Metosulfato de fenacina
Lactato	Lactato oxidasa	Ferricianuro	2,6-dicloro-1,4-benzoquinona
Lactato	Diaforasa y deshidrogenasa de lactato	Ferricianuro, etosulfato de fenacina, o metosulfato de fenacina	
Deshidrogenasa de lactato	Diaforasa	Ferricianuro	Etosulfato de fenacina, o metosulfato de fenacina
Piruvato	Piruvato oxidasa	Ferricianuro	
Alcohol	Alcohol oxidasa	Fenilenediamina	
Bilirrubina	Bilirrubina oxidasa	1-metoxi-fenacina metosulfato	
Ácido úrico	Urato-oxidasa	Ferricianuro	

En algunos ejemplos de la Tabla 1 se utiliza al menos una enzima adicional como catalizador de la reacción. Además, algunos ejemplos de la Tabla 1 pueden utilizar un mediador adicional para facilitar la transferencia de electrones a la forma oxidada del mediador. El mediador adicional puede aportarse al reactivo en menor cantidad que la forma oxidada del mediador.

Mientras que los reactivos mencionados se describen en relación con un análisis amperimétrico, el biosensor 10 según la presente divulgación permitiría correlacionar adecuadamente con la concentración del análito en la muestra la corriente, carga, impedancia, conductancia, potencial u otras propiedades de la muestra indicadas electroquímicamente.

Haciendo referencia nuevamente a la figura 1, el medidor 12 es adecuado para recibir el biosensor 10. El medidor 12 comprende un armazón 74 con una base 76, una pared 78 que se extiende desde la base 76 y una cubierta 80 que se extiende por la pared 78 sobre una primera porción de la base 76. El medidor 12 también comprende una tapa 82 acoplada a la pared 78 y formada para realizar un movimiento giratorio sobre una segunda porción de la base 76 y una puerta 110. Se apreciará que la forma del armazón 74 es una opción de diseño y que puede variar, siendo ejemplos no limitativos de la misma una configuración rectangular, elíptica y triangular de acuerdo con la presente divulgación.

La puerta 110 del armazón 74 comprende una pantalla 112 que cubre una abertura 124 de la pared 78 cuando la puerta 110 se halla en posición cerrada, como se aprecia en la figura 8. La puerta 110, como se aprecia en la figura 9A, también comprende un brazo giratorio 126 que se extiende entre la pantalla 112 y la base 76. La pantalla 112 se ha formado para girar separándose de la abertura 124 hasta una posición abierta (figuras 1 y 7) y comprende porciones elevadas 142 que sirven como asideros para los dedos del usuario durante dicho movimiento giratorio. El brazo giratorio 126 de la puerta 110 se ha formado para que gire en torno a una porción rebajada 128 de la base 76. La porción rebajada 128 comprende lengüetas 150 separadas, manteniéndose el brazo giratorio 126 entre las lengüetas 150 y girando en torno a la porción rebajada 128. Se apreciará que la puerta 110 podría girar, desprenderse o plegarse respecto a la pared 78 o que el medidor 12 podría formarse sin puerta según la presente divulgación.

El armazón 74 del medidor 12 también comprende una división 86 que define las cavidades superior e inferior 88 y 90. La división 86 comprende porciones de apoyo 92 y 93 que penetran en la cavidad superior 88 para sostener el lado exterior 24 de la sección inferior 18. Además, la cavidad de torre 90 contiene un sistema de accionamiento del biosensor 94. El sistema de accionamiento del biosensor 94 está configurado para aplicar una fuerza a la sección inferior 18 que hace girar el biosensor 10 en la cavidad superior 88 del medidor 12.

Como se aprecia en las figuras 9A y 10, el sistema de accionamiento del biosensor 94 comprende un eje motor 96 girado por el motor 98 y una rueda de accionamiento 100 fijada o enchavetada en el eje motor 96 para girar con el mismo. La rueda de accionamiento 100 comprende dientes 102 que se corresponden con los dientes 44 de la sección inferior 18. Por consiguiente, el movimiento rotatorio del eje motor 96 y la rueda de accionamiento 100 hace girar a su vez el biosensor 10 en torno al eje 22. El sistema de accionamiento del biosensor 94 también comprende un sistema actuador constituido por un circuito eléctrico que contiene un suministro eléctrico de pila 130, un reloj 132, un circuito integrado del accionamiento del motor 134, una CPU del medidor 136, una interfaz de señales 138 y un sensor de proximidad 140. Es preferible que el circuito integrado 134 sea un circuito integrado inteligente para control de movimientos SMC-C24/50, comercializado por Advanced Micro Systems, Inc., de Nashua, Nueva Hampshire (EE.UU.). El circuito integrado 134 se comunica con la pila 130, el reloj 132 y el motor 98. Además, la CPU 136 del medidor se comunica con el circuito 134 y la interfaz de señales 138. El sensor de proximidad 140 se ubica preferiblemente junto al biosensor 10, en comunicación con la interfaz de señales 138, y sirve para asegurar que los miembros conductores 120 activen los electrodos 70 y 71.

El impulso angular generado por el motor 98 sigue en general una dirección de desplazamiento coherente para que dicho impulso no haga girar el biosensor 10 en una dirección que exponga al usuario un punto de evaluación ya utilizado. Sin embargo, si el sensor de proximidad 140 detecta que el biosensor 10 ha hecho girar un nuevo punto de evaluación más allá de la abertura, el motor 98 genera un impulso angular que hace girar el biosensor 10 en una dirección de desplazamiento opuesta para situar el nuevo punto de evaluación en la ubicación deseada junto a la abertura 124. El tiempo de funcionamiento del motor 98 se controla mediante la posición rotatoria del biosensor 10 en torno al eje 22. Concretamente, el motor 98 funciona y se aplica un par de torsión al biosensor 10, a través de la rueda de accionamiento 100 y del eje motor 96, hasta que el sensor de proximidad 140 detecta que los miembros conductores 120 activan los electrodos 70 y 71. El momento del arranque del motor 98 lo controla el usuario al completarse la evaluación.

El usuario pulsa un botón del medidor 12, creando una activación eléctrica del circuito integrado del accionamiento del motor 134, para que arranque el motor eléctrico 98. El motor 98 se desactiva cuando el biosensor 10 llega a una posición giratoria predeterminada en torno al eje 22 para exponer un nuevo punto de evaluación al usuario. Además, el circuito integrado se programa para obtener un punto de disparo, posición programable que permite iniciar operaciones predefinidas, como avisar al usuario de que el biosensor 10 está agotado, cuando la posición del motor 98 coincide con la posición establecida del punto de disparo. Durante el movimiento, el contador de posiciones del circuito 134 se actualiza y se compara continuamente con la posición de disparo programada. Como apreciarán los expertos en estas tecnologías, hay muchas formas de hacer funcionar el sistema de accionamiento del biosensor 96 del medidor 12, sin rebasar el ámbito de la presente divulgación.

El medidor 12 comprende un conjunto conector 114 con un poste 116 que se aleja de la división 86 y penetra en la cavidad superior 88, así como una lengüeta 118 que se extiende desde el poste 116 hacia la pared 78. La lengüeta 118 comprende seis miembros electroconductores 120, tres de los cuales se extienden desde la parte superior y tres desde la parte inferior de la lengüeta 118. Cada miembro 120 está en comunicación eléctrica con la CPU del medidor 136 alojada en la primera porción del medidor 12. La lengüeta 118 tiene cierta flexibilidad, para que los miembros 120 encajen en las bridas interiores 34 y 60 cuando el biosensor 10 se acople al medidor 12. Se apreciará que el número y la configuración de los miembros 120 puede variar según la presente divulgación.

Los componentes electrónicos (no aparecen en las figuras) del medidor 12 están en comunicación con los miembros 120. Normalmente, estos componentes están adaptados para aplicar un algoritmo a la medición del momento, en virtud de lo cual se aporta y se visualiza una concentración de análitos en la pantalla 122. Las mejoras de los componentes son el objeto de las patentes estadounidenses de asignación general 4.963.814, concedida el 16 de octubre de 1990; 4.999.632, concedida el 12 de marzo de 1991; 4.999.582, concedida el 12 de marzo de 1991; 5.243.516, concedida el 7 de septiembre de 1993; 5.352.351, concedida el 4 de octubre de 1994; 5.366.609, concedida el 22 de noviembre de 1994; 5.405.511, concedida a White *et al*. el 11 de abril de 1995; y 5.438.271, concedida a White *et al*. el 1 de agosto de 1995.

Pueden analizarse muchas muestras de líquidos. Por ejemplo, es posible medir líquidos orgánicos humanos como sangre completa, plasma, sueros, linfa, bilis, orina, semen, líquido cefalorraquídeo, secreción lagrimal y muestras de heces, y otros líquidos biológicos evidentes para los expertos en estas tecnologías. También pueden analizarse preparados líquidos de tejidos, junto con alimentos, productos en fermentación y sustancias ambientales que posiblemente contengan contaminantes ambientales. Es preferible que el suero humano se analice con el presente invento.

Para instalar el biosensor 10 en el medidor 12, el usuario hace girar la puerta 110 alejándola de la abertura 124, como se aprecia en la figura 1, y levanta la tapa 82 del medidor 12 para exponer la cavidad superior 88 y la división 86. Seguidamente, introduce el biosensor 10 en la cavidad superior 88 hasta que el lado exterior 24 de la sección inferior 18 descansa en los soportes 92 y 93, los dientes 44 de la sección inferior 18 encajan en los dientes 102 de la rueda de accionamiento 100, y la lengüeta 118 penetra en la brecha 84 para que los miembros 120 encajen en las bridas 34 y 60. Entonces, el usuario cierra la tapa 82. El sensor de proximidad 140 detecta la posición del biosensor 10 y transmite esa información al circuito 134 a través de la interfaz de señales 138 y de la CPU del medidor 136. Si es necesario, el motor 98 se activa para hacer girar el biosensor 10 hasta alcanzar una posición giratoria predeterminada y exponer un nuevo punto de evaluación al usuario. El usuario puede realizar entonces una evaluación, o cerrar la puerta 100 sobre la abertura y sellar herméticamente el biosensor 10 en la cavidad superior 88.

Para realizar una evaluación con el biosensor 10, el usuario abre la puerta 110, si es necesario, exponiendo al menos un canal capilar 20. Se introduce una muestra líquida (no aparece en las figuras) en el canal capilar 20, pasando entre las bridas 30 y 56. La acción capilar atrae la muestra que contiene el análito a través del canal 20 para disolver el reactivo 72. La muestra se desplaza por el canal 20 hasta encontrar las depresiones 38 y 64, donde el aumento de las dimensiones del canal disminuye drásticamente la acción capilar. Cuando el reactivo 72 se forma según el ejemplo no limitativo antedicho para medir la glucosa de una muestra de sangre humana utilizando una medición amperimétrica, el análito se oxida y la forma oxidada del mediador se reduce, una vez disuelto el reactivo 72 en la muestra. Se permite que la reacción del análito con el reactivo 72 alcance su culminación. (La culminación es una reacción suficiente que afecta al análito, la enzima y el mediador [en su forma oxidada] para correlacionar la concentración del análito con la corriente limitada por difusión y generada mediante oxidación de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo).

Una vez culminada la reacción, una fuente de energía (por ejemplo, una pila) aplica una diferencia de voltaje entre los conductores 70 y 71. Cuando se aplica la diferencia de voltaje, la cantidad de forma oxidada del mediador en el contraelectrodo y la diferencia de voltaje deben ser suficientes para ocasionar la electrooxidación limitada por la difusión de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo.

El medidor 12 mide la corriente limitada por la difusión que ha generado la oxidación de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo. La corriente medida puede correlacionarse exactamente con la concentración del análito en la muestra cuando se satisfacen los requisitos siguientes:

1. La velocidad de oxidación de la forma reducida del mediador se rige por la velocidad de difusión de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo.

2. La corriente producida queda limitada por la oxidación de la forma reducida del mediador en la superficie del electrodo de trabajo.

De nuevo, aunque se describa una medición amperimétrica, se apreciará que la corriente, carga, impedancia, conductancia, potencial u otras propiedades de la muestra indicadas electroquímicamente pueden medirse y correlacionarse exactamente con la concentración del análito contenido en la muestra utilizando el biosensor 10 y el medidor 12 según la presente divulgación.

Una vez determinada la concentración del análito, el usuario pulsa un botón del medidor 12 para activar el motor 98 que hace girar el biosensor 10 en la cavidad superior 88, hasta que un nuevo canal capilar 20 quede junto a la

abertura 124 del medidor 12. De este modo, el biosensor 10 queda preparado y en la posición correcta para una nueva evaluación. El biosensor 10 se forma para girar en el medidor 12 y realizar una cantidad de evaluaciones predeterminada, en función del número de canales capilares 20. Una vez que cada canal 20 del biosensor 10 se ha expuesto a la abertura 124, el medidor 12 indica al usuario que el biosensor 10 se ha agotado y debe reemplazarse.

Para fabricar el biosensor 10, las secciones superior e inferior 14 y 18 se moldean por inyección con un policarbonato como el Novarex®. A continuación se aplican los conductores eléctricos 71 y 70 a las secciones superior e inferior 14 y 18 mediante pulverización de partículas por bombardeo iónico, como apreciarán inmediatamente los expertos en estas tecnologías. El reactivo 72 se sitúa en el conductor eléctrico 70, sobre las bridas 30. Asimismo, el espaciador 16, troquelado en lámina para darle la configuración deseada, se sitúa en el conductor eléctrico 70 separado de las bridas 30. La sección superior 14 se sitúa en el espaciador 16 y las aberturas 52, 66 y 46 se disponen en alineación general entre sí. A continuación, la sección superior 14, el espaciador 16 y la sección inferior 18 se acoplan con los pasadores de conexión 68.

El medidor 12 se fabrica moldeando por inyección el armazón 74, la tapa 82, la división 86 y la puerta 110. Es preferible que el medidor 12 se construya con polímero de metacrilato de metilo/acrilonitrilo/butadieno/estireno (MASS), comercializado por BASF Aktiengesellschaft de Ludwigshafen (Alemania). El sistema plástico de accionamiento 94 se sitúa en la porción rebajada 128 del armazón 74 y la división 86 se encaja a presión sobre una porción del sistema 94 para que la rueda de accionamiento 100 quede expuesta en la cavidad superior 88 del medidor 12. Además, la tapa 82 se encaja a presión en las paredes 78 del armazón 74 (figura 7) y la puerta 110 se encaja a presión entre las lengüetas 150 de la porción rebajada 128. Véase la figura 9A. Los componentes electrónicos se sitúan en el medidor 12, debajo de la cubierta 80. Se apreciará que el medidor puede fabricarse de muchas maneras, como resultará evidente para los expertos en estas tecnologías.

En las figuras 11-12 se aprecia un biosensor 210 según otro aspecto de la presente divulgación. El biosensor 210 comprende secciones superior e inferior 214 y 218, separadas por un espaciador 216. Cada sección superior e inferior 214 y 218 comprende una serie de pistas separadas 270 y 271. Como se aprecia en la figura 11, cada pista 270 se extiende entre una brida exterior 30 y una brida interior 34 de la sección inferior 18. Igualmente, como se aprecia en la figura 12, cada pista 271 se extiende entre una brida exterior 56 y una brida interior 60 de la sección superior 14. Además, la sección inferior 218 se ha formado para comprender seis aberturas 246 que se extienden entre la porción elevada 40 del lado exterior 24 y el lado interior 26. La sección superior 214 también comprende seis aberturas 252, generalmente alineadas con las aberturas 246 cuando se monta el biosensor 210. Además, el espaciador 216 se ha formado de manera similar al espaciador 16, excepto por el hecho de comprender seis aberturas 266 alineadas con las aberturas 246 y 252. Se apreciará que la sección superior 214, la sección inferior 218 y el espaciador 216 pueden comprender más o menos de seis aberturas según la presente divulgación.

El biosensor 210 se instala en el medidor 12 de manera idéntica al procedimiento descrito para el biosensor 10. Se introduce una muestra líquida (no aparece en las figuras) en el canal capilar 20, pasando entre las bridas exteriores 30 y 56. La acción capilar atrae la muestra que contiene el análito a través del canal 20 para disolver el reactivo 72. La reacción del análito con el reactivo ocurre como la descrita anteriormente respecto al biosensor 10 y una fuente de energía aplica una diferencia de voltaje entre las pistas 270 y 271. El medidor 12 mide la corriente limitada por la difusión en las pistas 270 y 271. La corriente medida puede correlacionarse exactamente con la concentración del análito en la muestra del modo que ya se ha descrito.

El biosensor 210 se fabrica de manera similar al biosensor 10, salvo que las pistas 270 y 271 se forman en las secciones 214 y 216 eliminando tiras del material conductor entre las pistas 270 y 271, para exponer los lados interiores 50 y 26 de las secciones 214 y 218. La eliminación del material conductor se realiza maquinando el material conductor de las secciones 214 y 218. Como alternativa, se apreciará que las pistas 270 y 271 pueden formarse mediante un proceso selectivo de pulverización de partículas por bombardeo iónico, como resultará evidente para los expertos en estas tecnologías, según la presente divulgación. A continuación, la sección superior 214, el espaciador 216 y la sección inferior 218 se acoplan con los pasadores de conexión 68.

En las figuras 13-14 se aprecia un biosensor 310 según otro aspecto de la presente divulgación. El biosensor 310 se ha formado para cooperar con el medidor 12 de manera idéntica a los biosensores 10 y 210. El biosensor 310 comprende una sección anular superior 214 y una sección anular inferior 318. Las secciones superior e inferior 214 y 318 cooperan entre sí para definir una diversidad de canales capilares en voladizo y separados 320.

Pasando ahora a la figura 14, la sección inferior 318 del biosensor 310 comprende un lado interior 326 frente a la sección superior 214. El lado interior 326 comprende una diversidad de soportes 316 que están separados entre sí y cooperan para definir los canales 322. Cada soporte 316 se extiende entre los bordes exterior e interior 28 y 32, quedando entre las bridas alineadas 30 y 34. Los soportes 316 comprenden paredes 350, una parte superior 352 y porciones biseladas opuestas 354 que se extienden entre las paredes y la parte superior 318 y 320. La sección superior 314 se apoya en la parte superior 352 de los soportes 316, separando los lados interiores 50 y 326 lo suficiente para impedir que los sucesos electroquímicos del lado interior 326 ocasionen sucesos electroquímicos en el lado interior 50. Se apreciará que la altura de los soportes 316 puede variar y que las secciones superior e inferior 314 y 318 pueden comprender más o menos de seis aberturas 252 y 366 según la presente divulgación.

En cada canal 322 se ha introducido un conductor eléctrico 324, que se extiende a lo largo de las paredes 350 de cada soporte 316. El conductor 324 es uno de los electrodos del biosensor 310, similar al conductor eléctrico 70 del biosensor 10. El conductor 324 comprende una base 328 que se extiende a través del canal 322 y un perímetro 330 en el borde exterior de la brida 30 para establecer comunicación eléctrica entre la brida exterior 30 y la brida interior 34.

El biosensor 310 se instala en el medidor 12 de manera idéntica al biosensor 10. Se introduce una muestra líquida (no aparece en las figuras) en el canal capilar 220, pasando entre las bridas exteriores 30 y 56. La acción capilar atrae la muestra que contiene el análito a través del canal 220 para disolver el reactivo 72. La reacción del análito con el reactivo ocurre como la descrita anteriormente respecto al biosensor 10 y una fuente de energía aplica una diferencia de voltaje entre los conductores eléctricos 324 y 271. El medidor 12 mide la corriente limitada por la difusión en los conductores 324 y 271. La corriente medida puede correlacionarse exactamente con la concentración del análito en la muestra del modo que ya se ha descrito.

El biosensor 310 se fabrica de manera similar al biosensor 10, salvo por el hecho de que la placa 318 se moldea de una forma que incluye los soportes 316. Se reviste un conductor eléctrico en los soportes 316 y los canales 322. Seguidamente, estos soportes se biselan como muestra la figura 13, dejando una brecha entre el conector eléctrico del canal 322 y el conector eléctrico de la superficie superior 352 del soporte 316. A continuación se sitúa la sección superior 214 en la superficie superior 352 de la sección inferior 318, para que las aberturas 252 y 366 queden alineadas. Por último, la sección superior 214 y la sección inferior 318 se acoplan entre sí mediante pasadores de conexión 68 que atraviesan las aberturas 252 y 366.

Aunque el presente invento se ha descrito detalladamente con referencia a una forma de realización preferida, existen variaciones y modificaciones dentro del ámbito del presente invento que se describen y definen en las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

1. Un biosensor constituido por (a) una sección inferior que comprende un borde y diversas bridas que se extienden desde dicho borde; (b) una sección superior apoyada en la sección inferior, comprendiendo la sección superior un borde y diversas bridas que se extienden desde dicho borde de la sección superior y quedan alineadas con las bridas de la sección inferior, cooperando las bridas de las secciones superior e inferior para formar canales capilares individuales; (c) un primer electrodo situado en la brida de la sección inferior, en el canal capilar; y (d) un segundo electrodo situado en la brida de la sección superior, en el canal capilar.

2. El biosensor de la reivindicación 1, **caracterizado** por el hecho de que las secciones superior e inferior son de configuración anular y tienen bordes interiores y exteriores separados entre sí.

3. El biosensor de la reivindicación 2, **caracterizado** por el hecho de que cada brida se extiende desde los bordes exteriores respectivos de las secciones superior e inferior.

4. El biosensor de la reivindicación 2, **caracterizado** por el hecho de que cada sección superior e inferior comprende una diversidad de bridas que se extienden desde el borde exterior respectivo.

5. El biosensor de la reivindicación 2, **caracterizado** por el hecho de que el primer electrodo se extiende entre la brida de la sección inferior y el borde interior de la sección inferior.

6. El biosensor de la reivindicación 4, **caracterizado** por el hecho de que el segundo electrodo se extiende entre la brida de la sección superior y el borde interior de la sección inferior.

7. El biosensor de la reivindicación 1, **caracterizado** por el hecho de que la sección inferior comprende bordes interior y exterior y dientes adyacentes al borde interior.

8. El biosensor de la reivindicación 7, **caracterizado** por el hecho de que la sección inferior comprende superficies interior y exterior y los dientes están situados en la superficie exterior.

9. El biosensor de la reivindicación 1, **caracterizado** por el hecho de que el primer electrodo comprende pistas separadas.

10. El biosensor de la reivindicación 9, **caracterizado** por el hecho de que el segundo electrodo comprende pistas separadas.

11. El biosensor de la reivindicación 1, que también comprende un reactivo situado en al menos uno de los electrodos primero y segundo.

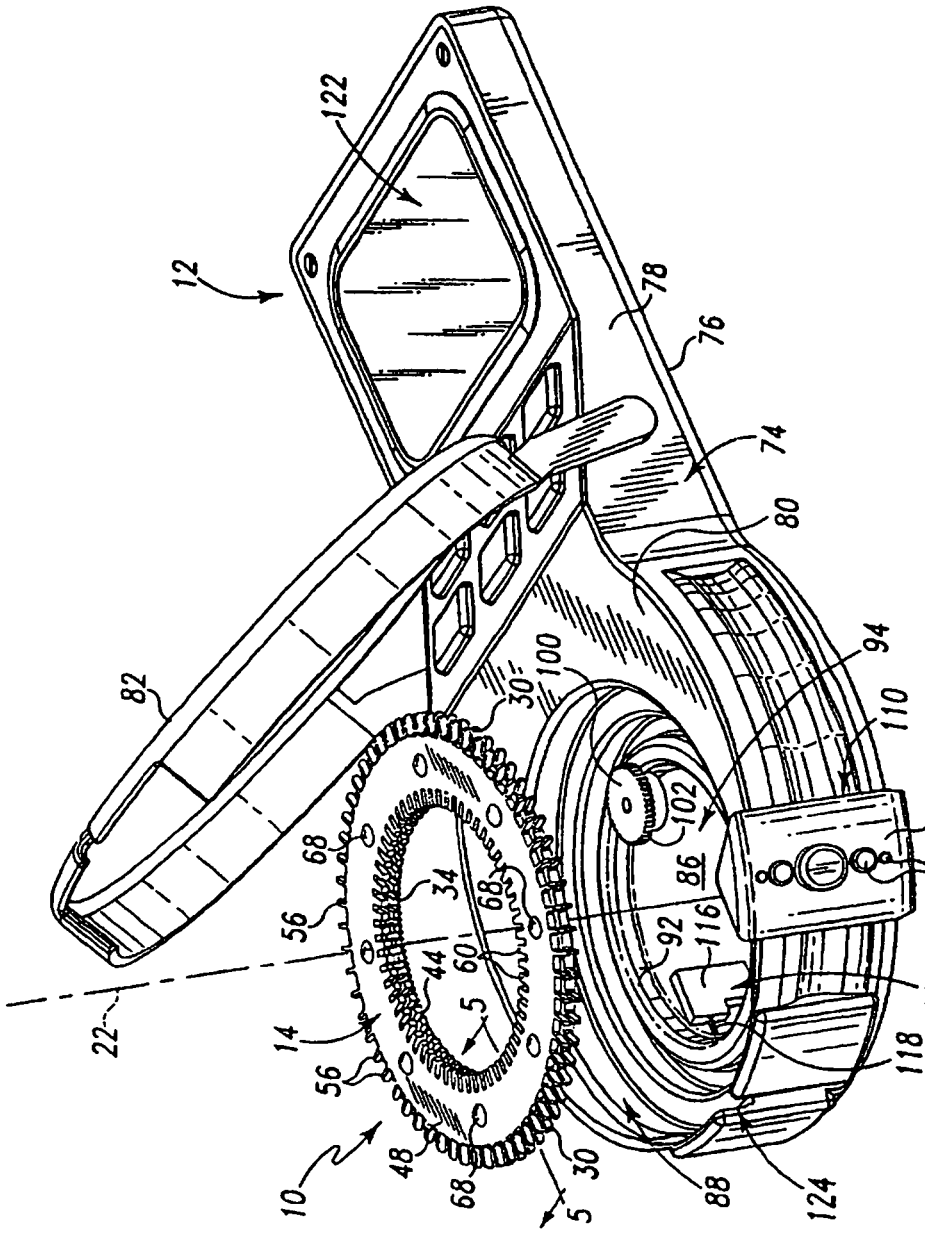
12
122
78
76
74
80
82
30
100
94
110
102
112
86
142
116
92
114
118
124
88
68
56
34
44
60
5
22
14
10
48

Fig. 1

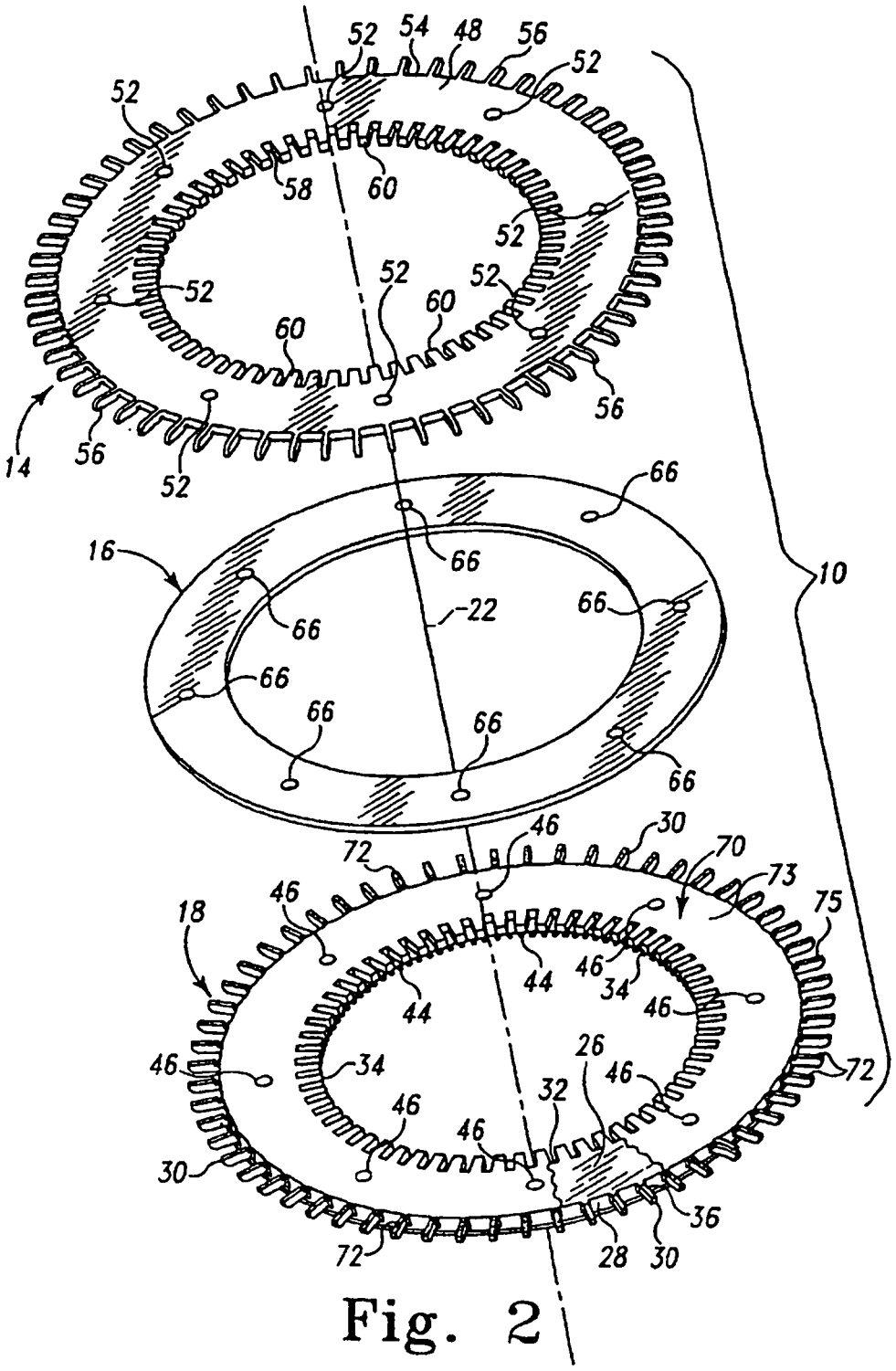

Fig. 2

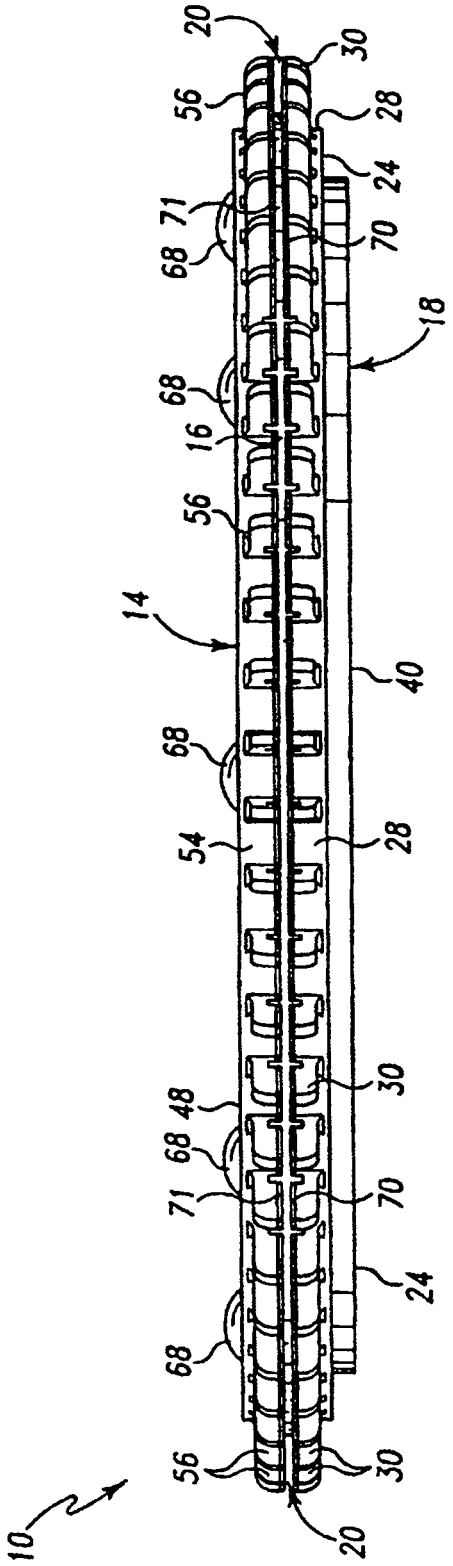
20
30
56
28
24
71
70
68
18
68
16
56
14
40
68
54
28
30
48
68
71
70
24
68
56
30
10
20

Fig. 3

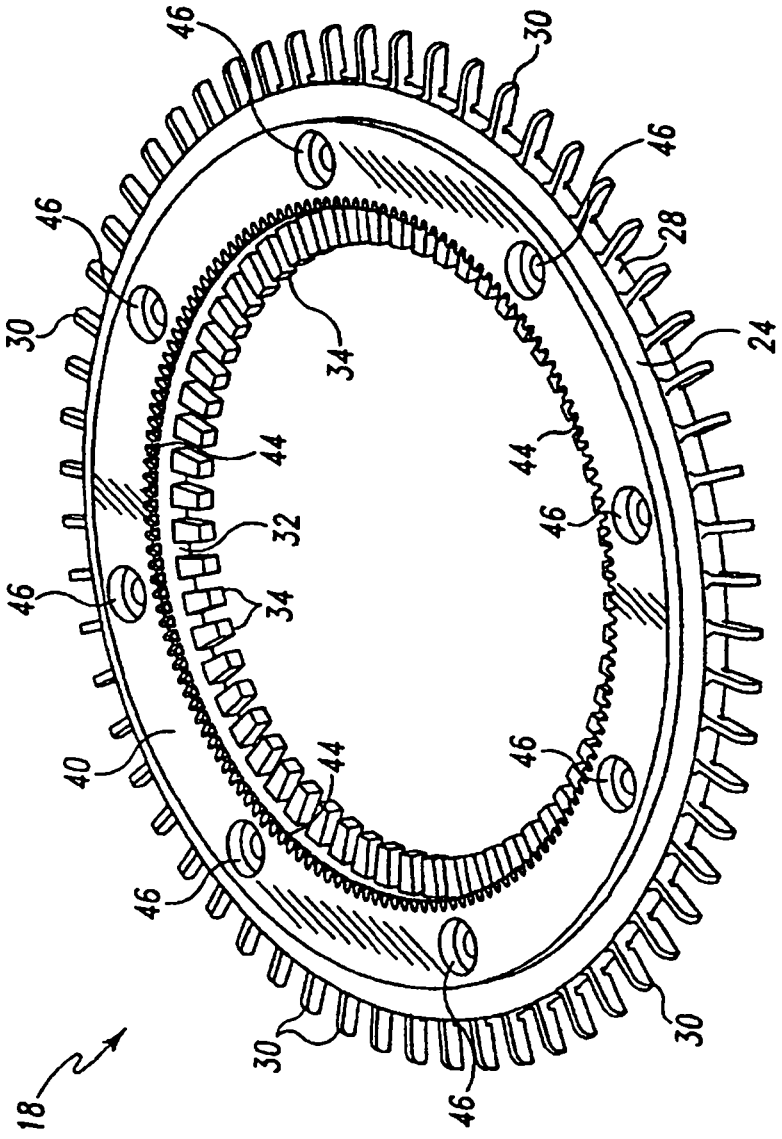

Fig. 4

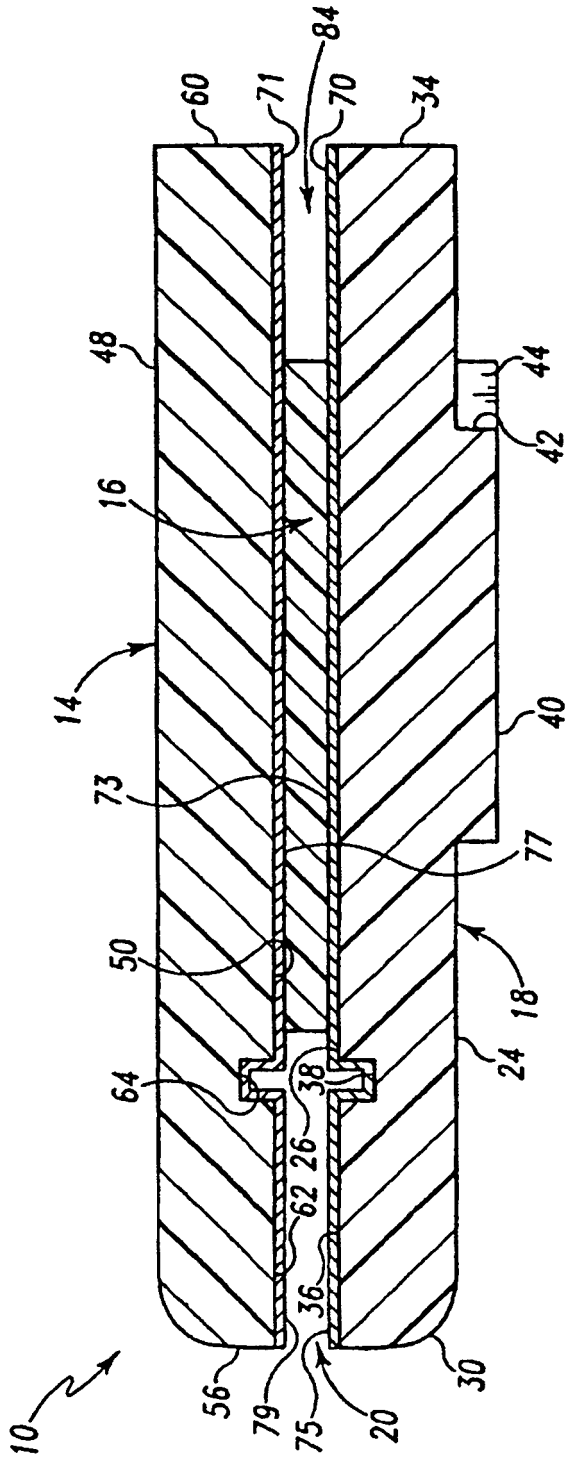
84
60
71
70
34
48
44
42
16
14
40
73
77
50
18
24
64
38
26
62
36
56
79
75
20
30
10

Fig. 5

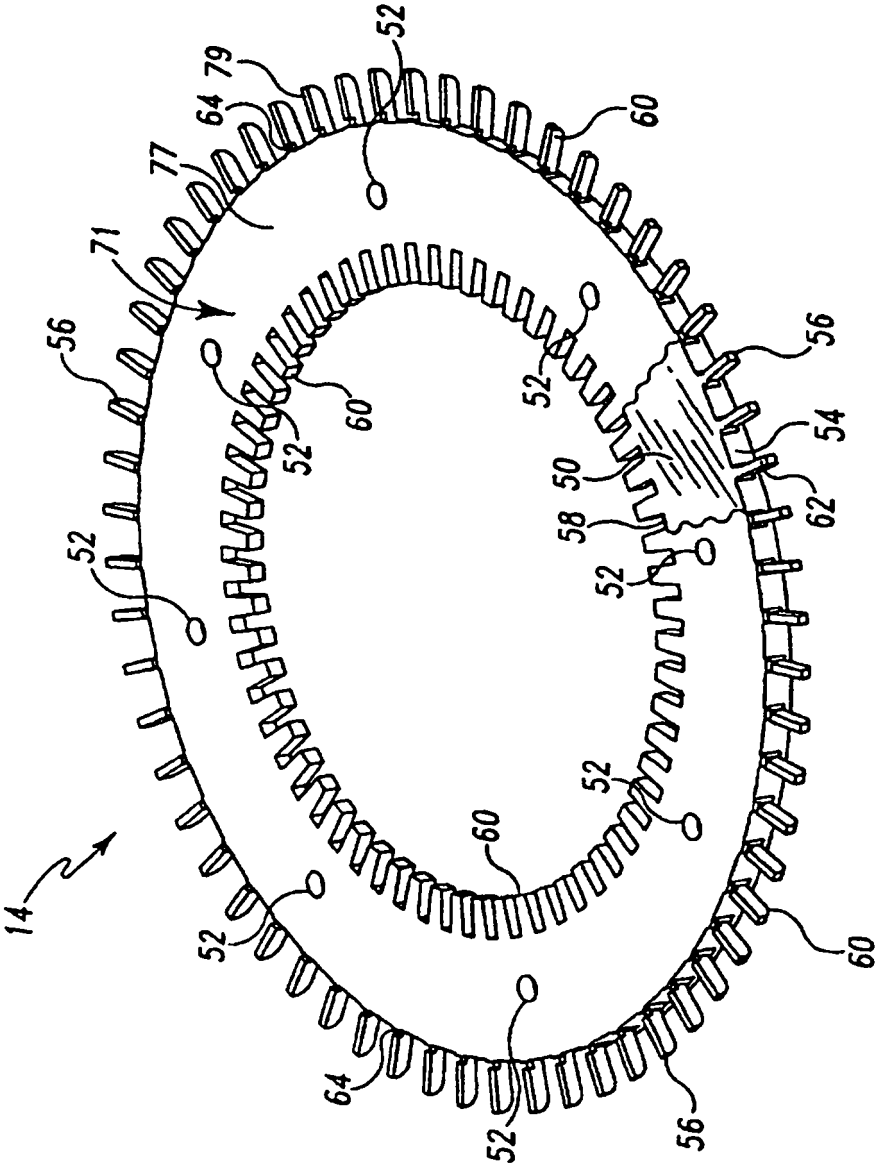

Fig. 6

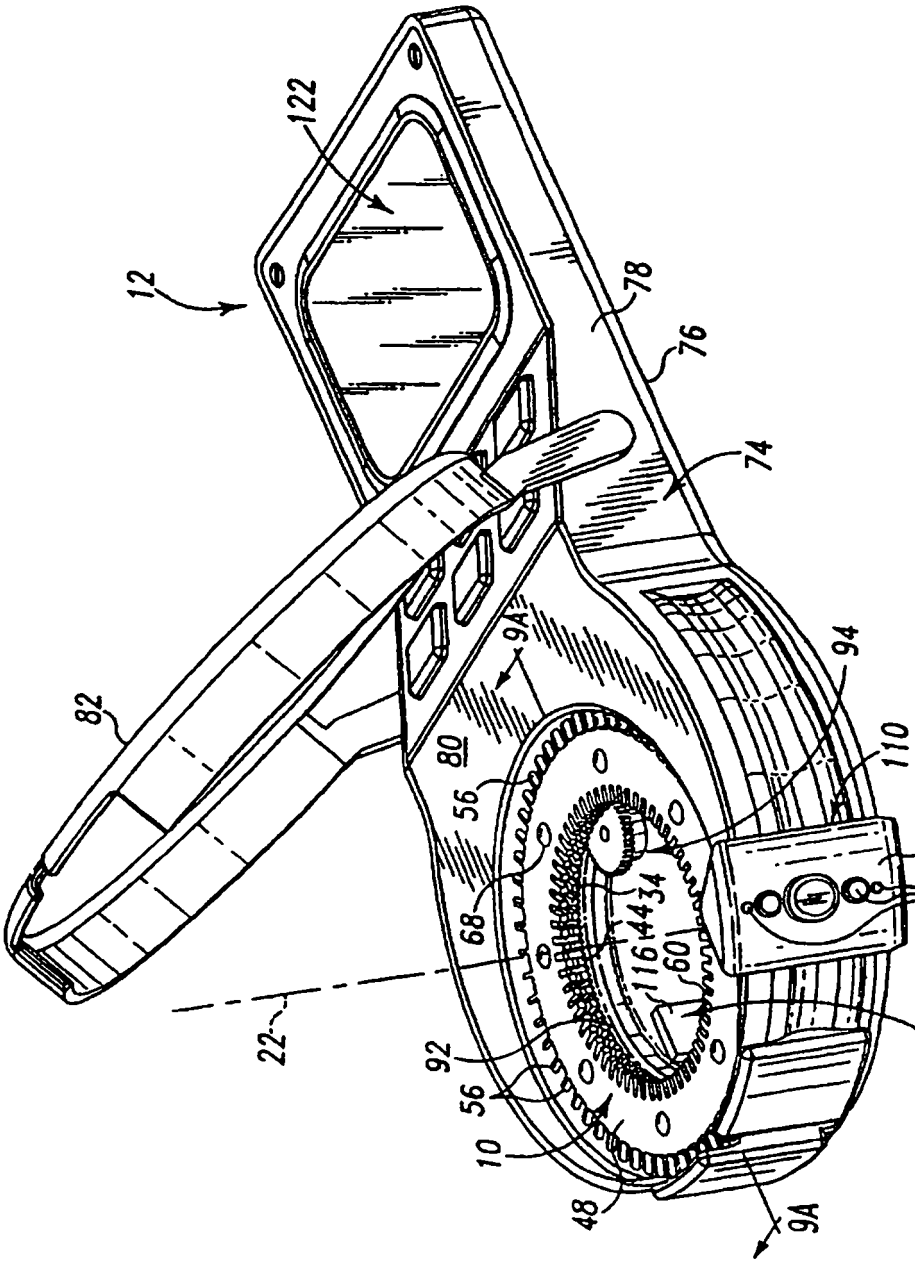
12
122
78
76
74
82
9A
80
56
68
34
44
116
60
94
110
112
142
114
22
92
56
10
48
9A

Fig. 7

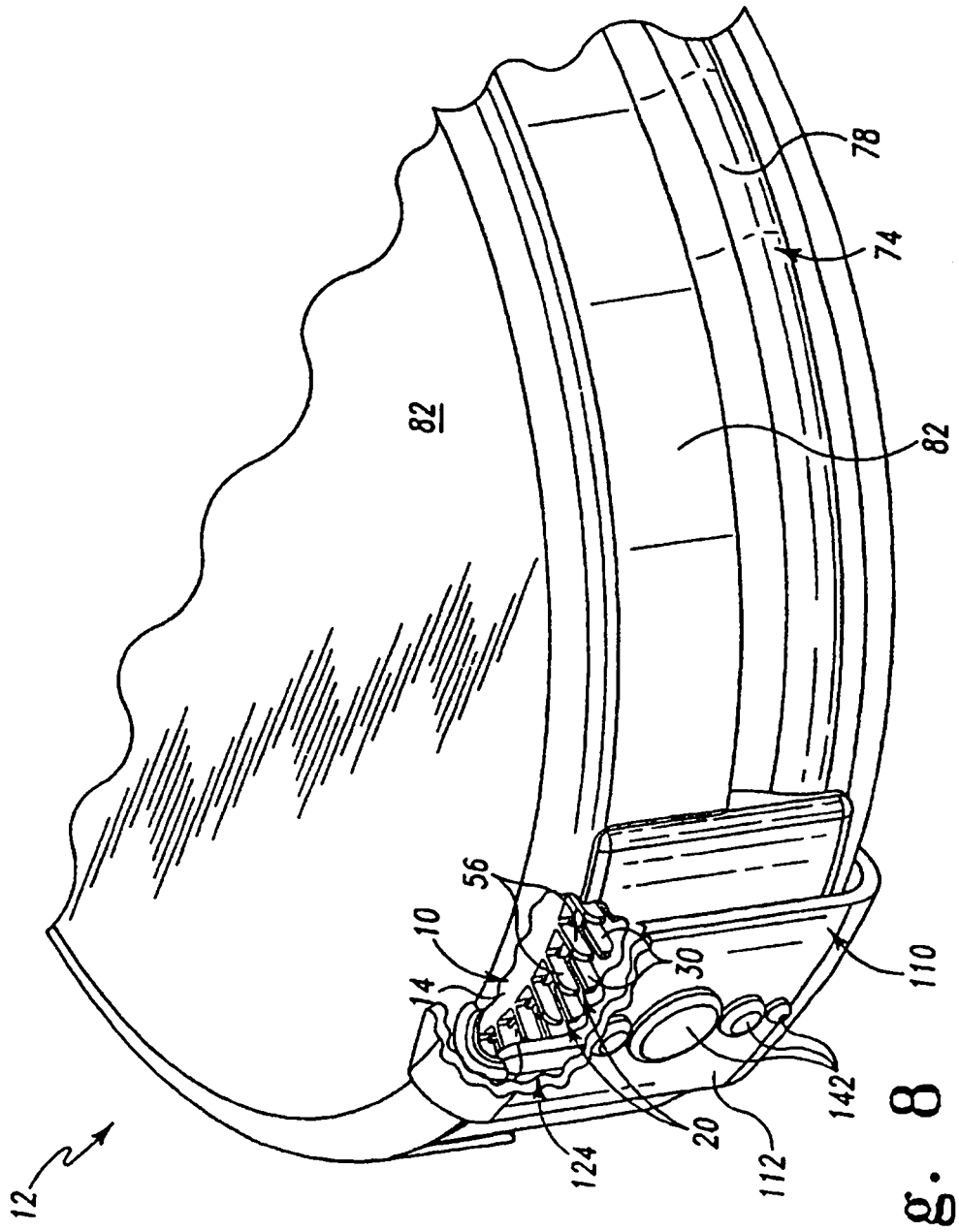

Fig. 8

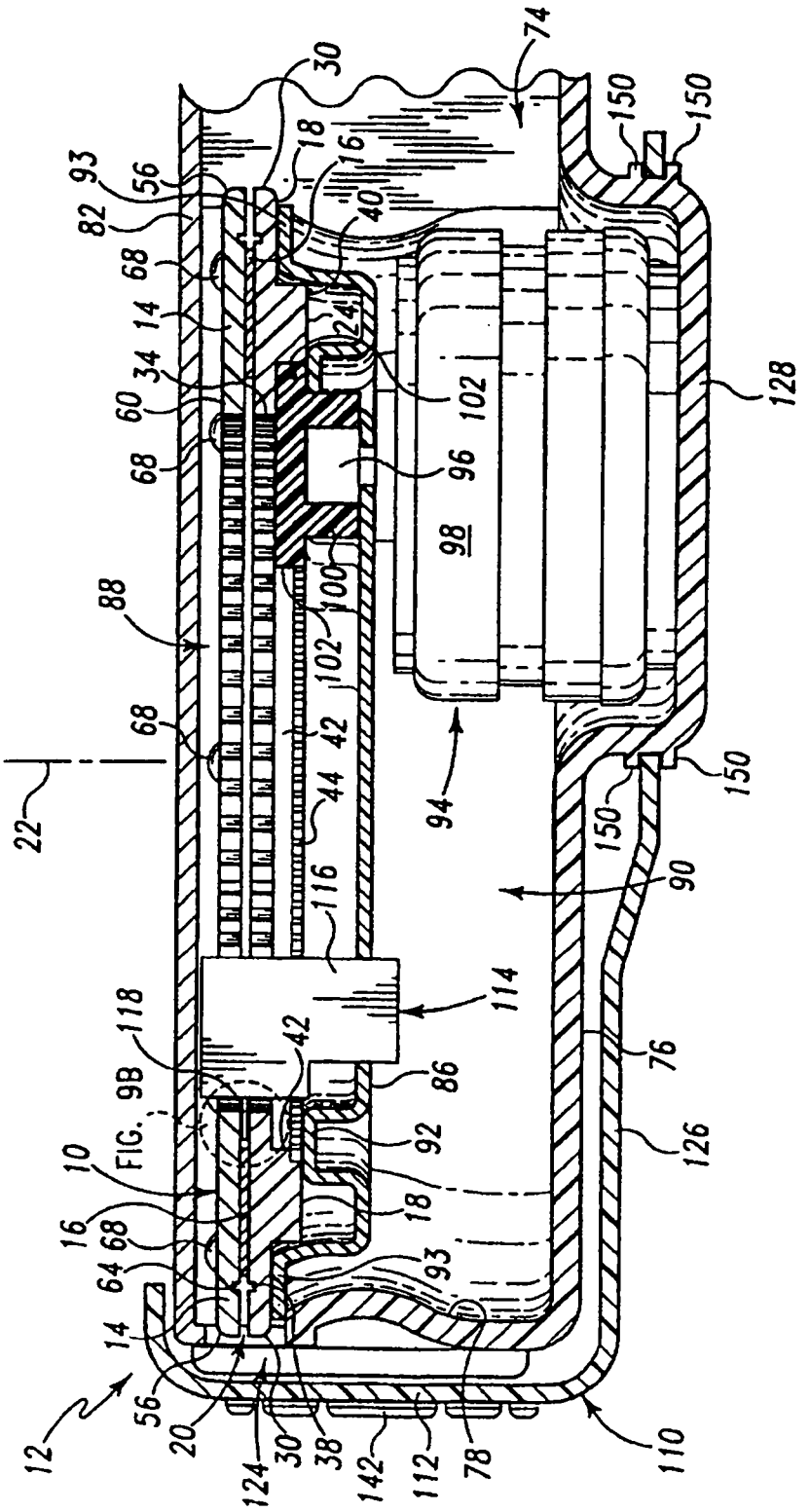
74
30
150
150
93
56
82
18
16
40
68
14
24
34
60
102
128
68
96
98
100
88
102
68
42
44
22
94
150
150
116
90
114
118
42
76
FIG. 9B
86
92
126
10
16
68
18
64
93
14
56
12
20
124
30
38
142
112
78
110

Fig. 9A

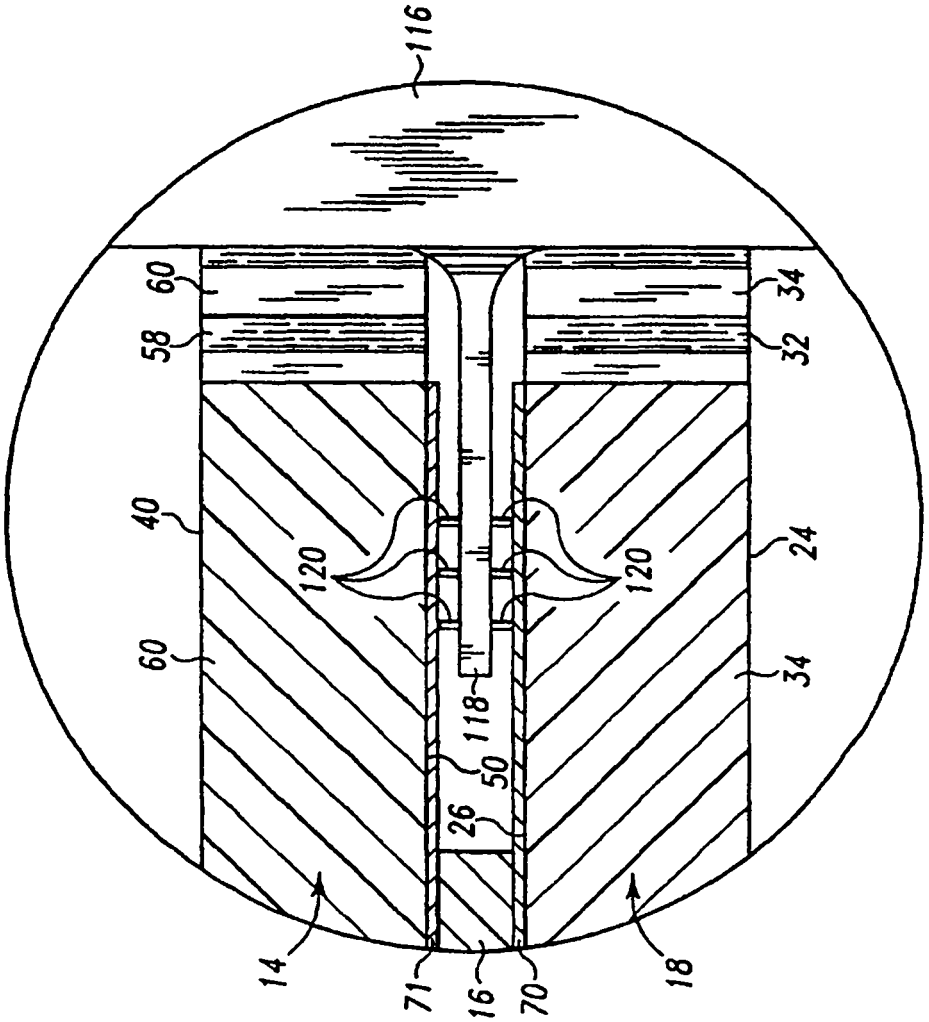

Fig. 9B

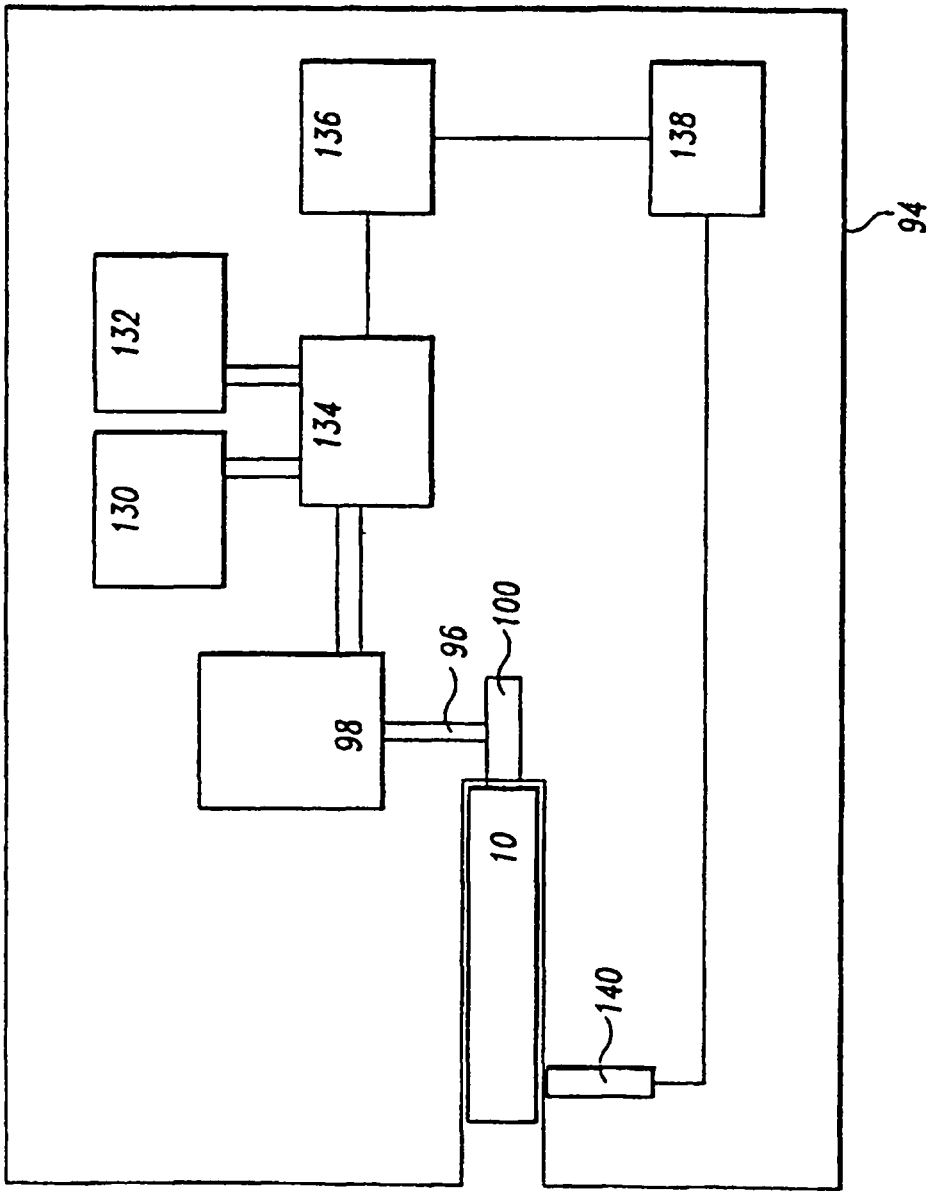

Fig. 10

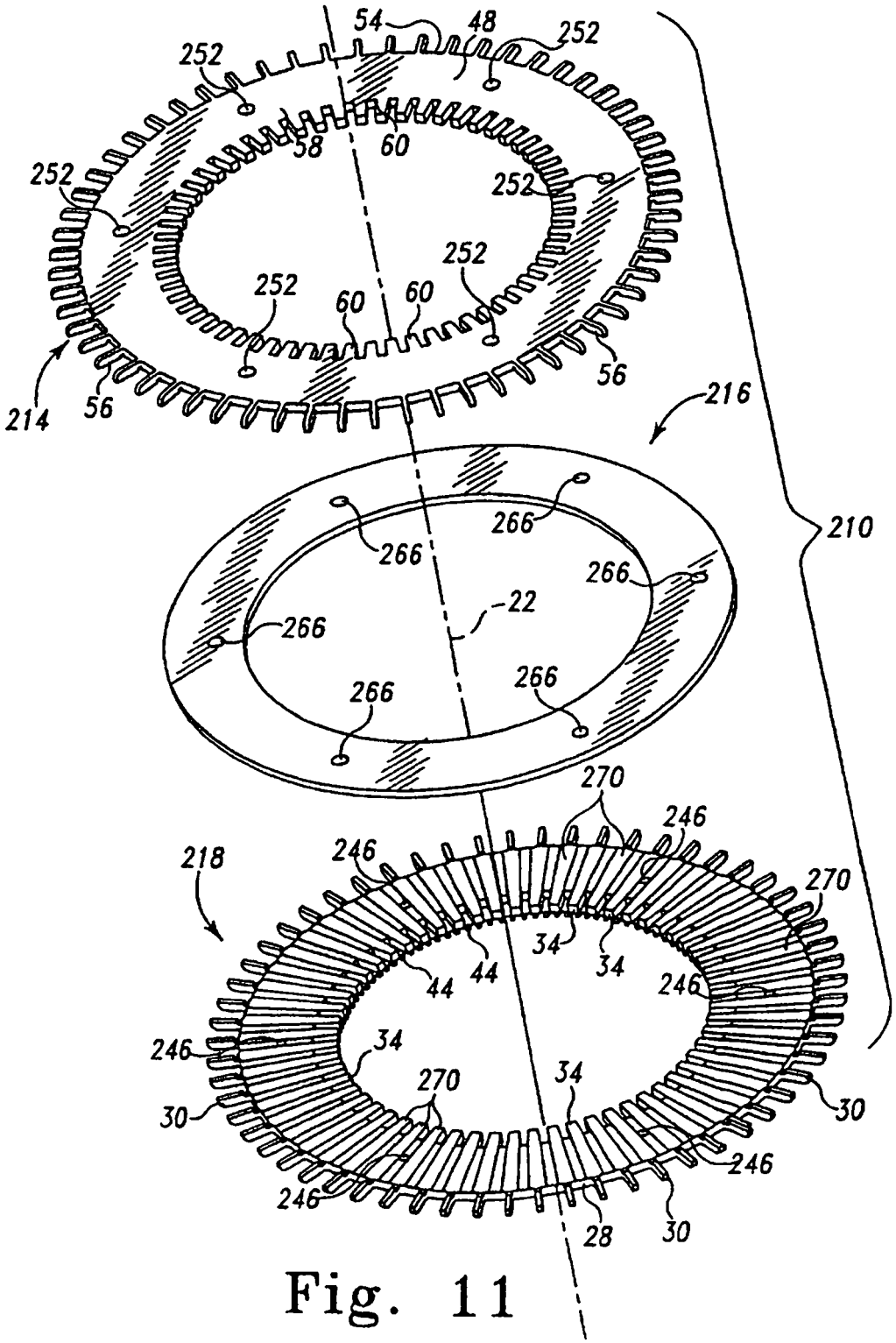
54
48
252
252
252
58
60
252
252
252
252
60
60
56
214
56
216
210
266
266
266
22
266
266
266
270
246
246
218
270
34
34
44
44
246
246
34
270
34
30
30
246
246
28
30

Fig. 11

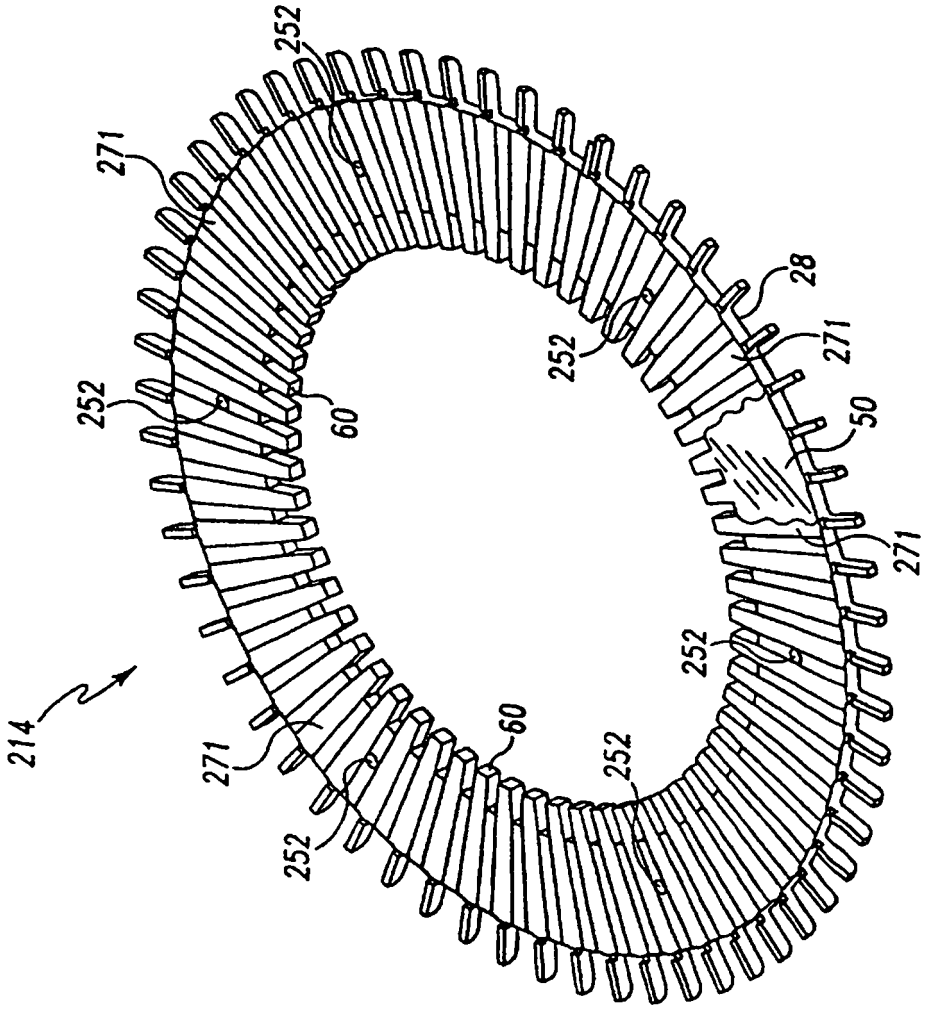

Fig. 12

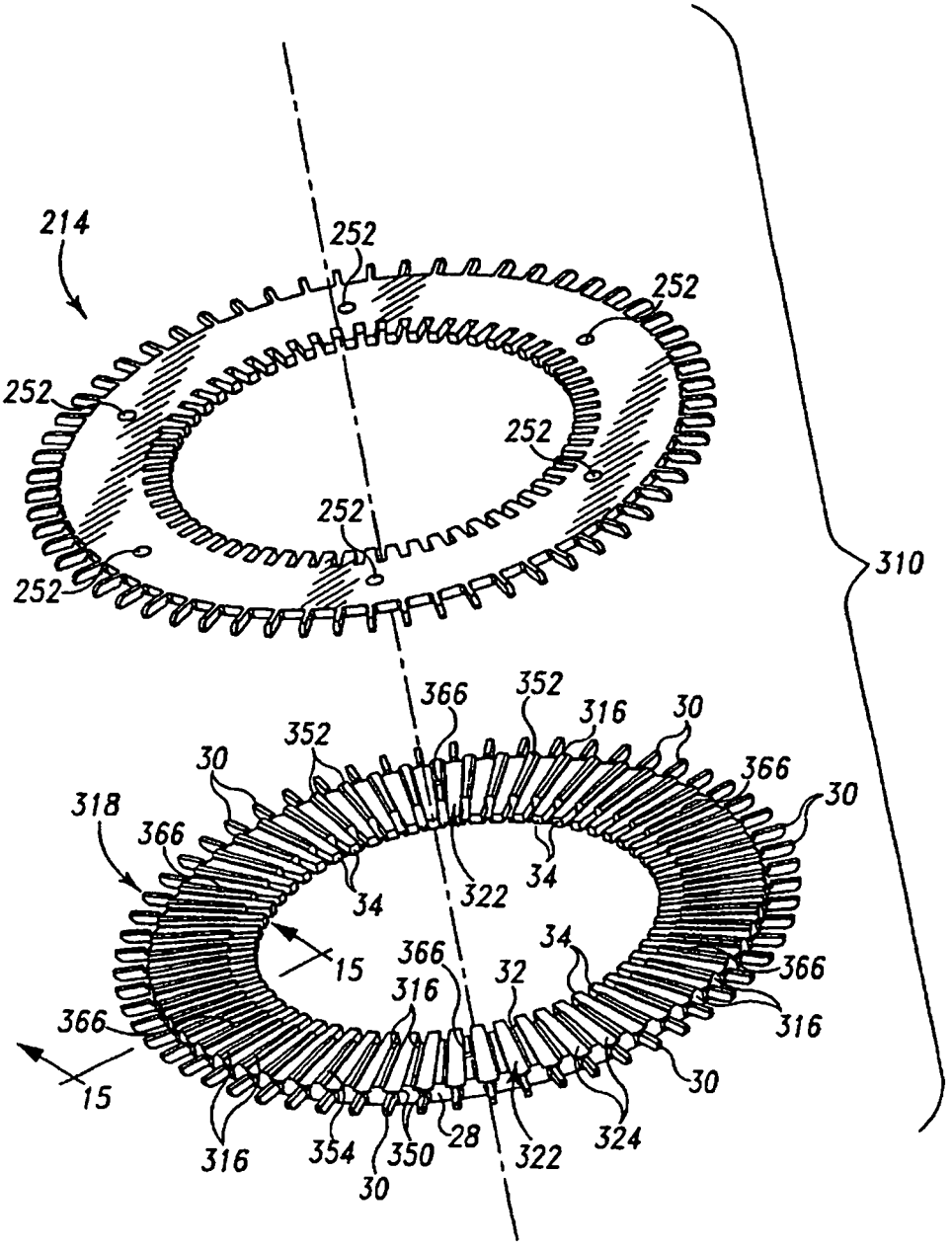
214
252
252
252
252
252
252
310
366
352
316
30
352
30
366
30
318
366
34
322
34
34
15
366
32
366
316
366
316
15
30
316
354
350
28
322
324
30

Fig. 13

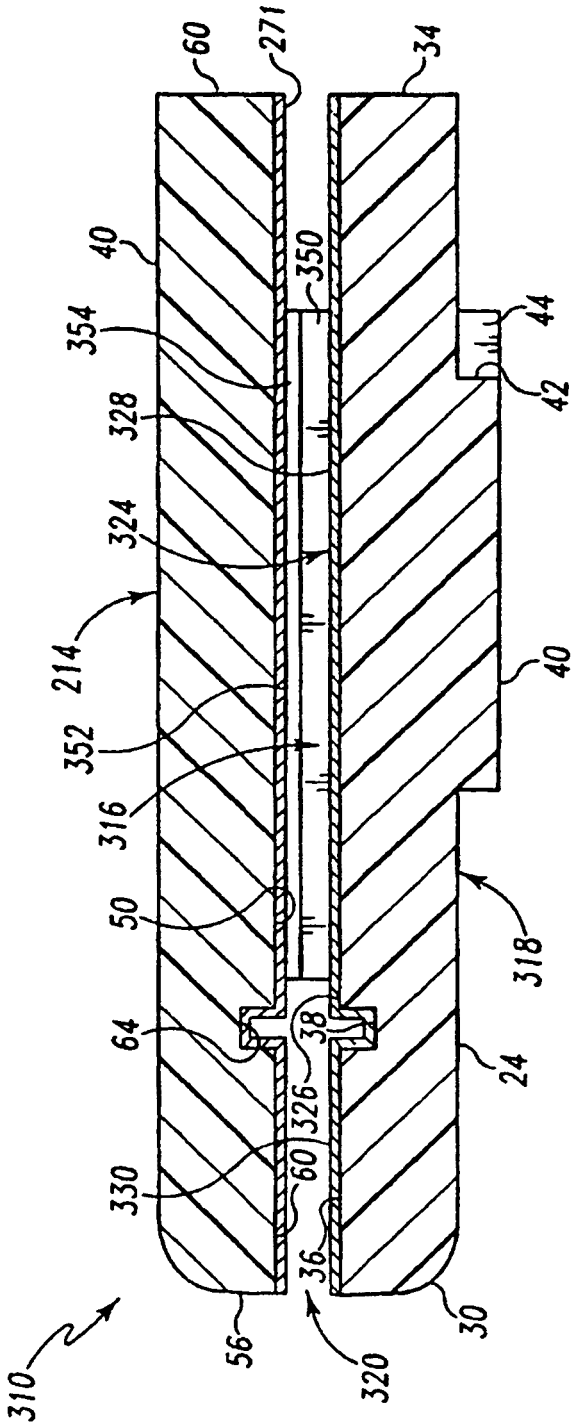
60
271
34
40
350
354
44
42
328
324
214
352
316
50
64
38
326
330
60
36
56
320
30
24
318
40

Fig. 14