(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 371 539**

(51) Int. Cl.:
G01N 33/92 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **03726433 .0**
(96) Fecha de presentación : **23.04.2003**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1502117**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.02.2005**

(54) Título: **Análisis cuantitativo de una muestra biológica de cantidad desconocida.**

(30) Prioridad: **23.04.2002 US 374629 P**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.01.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.01.2012

(73) Titular/es:
HOME ACCESS HEALTH CORPORATION
2401 West Hassell Road, Suite 1510
Hoffman Estates, Illinois 60195, US

(72) Inventor/es: **Wandell, Michael y**
Vinogradov, Ilia

(74) Agente: **Aznárez Urbieta, Pablo**

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

Análisis cuantitativo de una muestra biológica de cantidad desconocida.

Campo técnico de la invención

El campo de la invención corresponde al de los ensayos, en especial los ensayos cuantitativos, y en las realizaciones preferidas, los ensayos médicos. En las realizaciones más preferidas, la invención está dirigida hacia los ensayos de las muestras de fluidos corporales, en especial muestras de sangre o suero.

Antecedentes de la invención

Las prácticas médicas y de bienestar modernas emplean cada vez con mayor frecuencia ensayos autoadministrados y de auto-obtención de muestras para ensayo. Por ejemplo, en las patentes estadounidenses nº 5.978.466, 6.014.438, 6.016.345 y 6.226.378, otorgadas a Richard Quattrocchi y asignadas a la *Home Access Health Corporation of Hoffman Estates*, Illinois, EE.UU., se revela un método de ensayo anónimo de enfermedades humanas. Según ciertas realizaciones de la materia revelada en los pacientes anteriores, un paciente obtiene una muestra de sangre, normalmente pinchándose un dedo, y dejando que la sangre se absorba en una tarjeta absorbente para sangre. Después de que la tarjeta se ha secado, el usuario envía la tarjeta absorbente para sangre a una instalación de ensayos médicos donde se analiza para determinar si el paciente padece una enfermedad específica. El usuario podrá entonces comunicarse anónimamente con las instalaciones para recibir el resultado del ensayo.

Puede utilizarse la materia de las patentes anteriores en conexión con los ensayos para determinar la presencia de anticuerpos humanos dirigidos contra los antígenos virales en la sangre, por ejemplo, para determinar si un paciente está infectado con VIH (virus de inmunodeficiencia humana) o con el virus de la hepatitis. En otro documento, la patente estadounidense nº 5.435.970, otorgada a Mamenta *et al*. y asignada a *Environmental Diagnostics, Inc*. de Burlington, Carolina del Norte, EE.UU., se revela un instrumento para la separación de células sanguíneas de los fluidos biológicos, por ejemplo, para separar el suero de la sangre entera. El instrumento revelado en la patente nº 5.435.970 tiene como objetivo permitir el envío y ensayo de una muestra de sangre.

Las tarjetas absorbentes de muestreo para sangre y suero conocidas dentro del estado de la técnica son adecuadas para el empleo en la obtención de muestras para realizar ensayos cualitativos; esto es, ensayos para determinar la presencia o ausencia de un compuesto dado en sangre o una condición médica particular. Sin embargo, hasta ahora las tarjetas absorbentes para muestras de sangre y suero han sido relativamente insatisfactorias en el ensayo cuantitativo de muestras de sangre y suero.

Por ejemplo, el protocolo de bienestar general indica los valores del colesterol total de un paciente, que es el número de miligramos de colesterol total en un decilitro de sangre. Frecuentemente el valor se emplea conjuntamente con el perfil de lípidos completo, donde se indican los niveles de triglicéridos, colesterol debido a LAD (lipoproteína de alta densidad) y a LBD (lipoproteína de baja densidad) en la sangre de un paciente. Puede resultar muy difícil determinar la cantidad de sangre o suero que está presente en la tarjeta absorbente para sangre o suero. Especialmente cuando la tarjeta absorbente para sangre o suero ha sido autopreparada por una persona sin capacitación médica, es difícil saber con certidumbre si la tarjeta ha sido "llenada insuficientemente" con una cantidad menor de la necesaria de sangre o suero o "llenada excesivamente" con una cantidad mayor de la necesaria. Si la cantidad de sangre o suero varía aún en una cantidad pequeña por encima o debajo del nivel esperado, la utilidad del ensayo cuantitativo podría reducirse seriamente. Por ejemplo, en general se piensa que el valor de colesterol total de una persona deberá ser menor de 200 mg/dl, los valores de colesterol mayores de 240 mg/dl se consideran altos y los valores de colesterol intermedios se consideran limítrofes. Un margen de error del 10% en una determinación de colesterol de 220 mg/dl no proporciona información sobre si el nivel de colesterol del paciente es bajo, intermedio o alto.

Reconociendo estos problemas, mediante las técnicas en el estado de la técnica se ha tratado de ofrecer una determinación cuantitativa de los niveles del analito en una muestra de sangre. Por ejemplo, la patente estadounidense nº 6.040.135, otorgada a Steven Tyrell y asignada a *Biosafe Laboratories, Inc*. Chicago, Illinois, EE.UU., divulga un método para la corrección del volumen de sangre en una determinación del analito sérico. El método que supuestamente se revela en este documento es limitado y en general se considera relativamente insatisfactorio.

La invención busca mejorar los métodos de ensayo de las técnicas en el estado de la técnica y proporcionar un método para el ensayo cuantitativo de muestras modificadas tales como muestras de manchas secas de sangre y de suero.

La invención

La invención ofrece varias realizaciones en el campo de los ensayos, en especial de los ensayos médicos. De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se ofrece un método para la determinación del nivel de un analito en sangre a partir de una solución formada a partir de una muestra de fluido sanguíneo seco, siendo dicha muestra del fluido sanguíneo una muestra de plasma o suero que comprende:

en cualquier orden, la medición del nivel de analito en dicha solución, medición del nivel de un primer analito normalizador seleccionado entre un grupo formado por contenido de sodio, contenido de cloruro, y osmolalidad y

medición del nivel de un segundo analito normalizador seleccionado entre el grupo formado por contenido de sodio, contenido de cloruro, y osmolalidad; y

la medición del nivel del analito en la sangre de la que se obtuvo la muestra de fluido sanguíneo basándose en dicho nivel del analito en la solución, el nivel del primer analito normalizador en dicha solución, y el nivel del segundo analito normalizador en dicha solución, mediante el cálculo del promedio ponderado del nivel del primer y segundo analitos normalizadores en dicha solución. La invención no está limitada al campo de los ensayos médicos, sino que, por lo contrario, también resulta útil con respecto a otras formas de ensayo.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se presenta un método para la determinación de la concentración de un analito en una muestra de fluido corporal a partir de una solución formada por una muestra de sangre entera seca, que comprende:

en cualquier orden, la medición del nivel de un analito en dicha solución, la medición del nivel de un primer analito normalizador en dicha solución seleccionado entre un grupo formado por contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad, y la medición del nivel de un segundo analito normalizador en dicha solución seleccionado entre el grupo formado por contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad; y

la medición del nivel del analito en la muestra de la que se obtuvo dicha muestra modificada basándose en dicho nivel del analito en dicha solución, el nivel del primer analito normalizador en dicha solución, y el nivel del segundo analito normalizador en dicha solución, mediante el cálculo del promedio ponderado del nivel del primer y segundo analitos normalizadores en dicha solución.

En realizaciones alternativas, la invención incluye además un recolector de fluidos que incluye un sustrato absorbente recubierto con un sacárido. Estas realizaciones también incluyen un instrumento que incluye el recolector (como se describe a continuación).

A continuación se describen otras características de las realizaciones preferidas de la invención.

Breve descripción de las figuras

La Fig. 1 es un organigrama que representa los pasos en un método para calcular el nivel de un analito en sangre de la que se obtuvo una muestra de sangre.

La Fig. 2 es un organigrama que representa los pasos en un método alternativo para calcular el nivel de un analito en sangre de la cual se obtuvo una muestra de sangre.

La Fig. 3 es un organigrama que representa los pasos en un método para proporcionar la información sobre el resultado de un ensayo a un usuario.

La Fig. 4 es una representación de un registro en una base de datos donde se establece una correlación entre la información del resultado del ensayo y el número de un ensayo.

La Fig. 5 es un organigrama que representa los pasos en un método de preparación de una base de datos de resultados y números del ensayo.

La Fig. 6 es un organigrama que representa los pasos en un método de preparación de una base de datos de los niveles del analito en sangre, niveles del analito en solución y niveles del analito en la solución normalizadora.

La Fig. 7 es una representación de un registro en una base de datos que contiene la información sobre el nivel del analito en sangre, información del nivel del analito en solución e información del nivel del analito en la solución normalizadora.

La Fig. 8 es una ilustración esquemática donde se muestran las diversas comunicaciones entre un cliente, instalaciones que proporcionan resultados y otros en conexión con un protocolo de ensayo.

La Fig. 9 es un plano en perspectiva del anverso de un instrumento de recolección de sangre que es útil conjuntamente con la invención.

La Fig. 10 es un plano en perspectiva del reverso del instrumento que aparece en la Fig. 9.

Descripción de las realizaciones preferidas

La invención es aplicable a los ensayos de cualquier muestra que se modifica a partir de la forma original antes del ensayo. Con mayor frecuencia, la muestra es una muestra seca, que se ha secado para facilitar su almacenamiento o transporte o por alguna otra razón. En las realizaciones preferidas de la invención, la muestra es una muestra médica, y

en realizaciones muy preferidas de la invención, la muestra es una muestra de fluido sanguíneo, que se observa como una mancha de sangre seca, una mancha de suero seco (por ejemplo, como se obtiene con el instrumento revelado en la patente estadounidense 5.435.970, o el que aparece en la patente estadounidense 4.839.296 otorgada a Kennedy *et al*. y asignada a *Chem-Elec, Inc*. de North Webster, Indiana, EE.UU.), u otra muestra de fluido sanguíneo. La invención es aplicable al ensayo de la muestra modificada para cualquier uso adecuado, y en especial para el ensayo de cualquier analito en la muestra. Por ejemplo, cuando la muestra es una muestra de fluido sanguíneo, el ensayo podría ser un ensayo específico del antígeno de la próstata (PSA), alanina-amino-transferasa (ALT), lípidos, como los triglicéridos, lipoproteína de alta densidad (LAD), lipoproteína de baja densidad (LBD) o cualquier otro analito de interés. La invención es aplicable a la determinación del nivel de analito en la muestra original, por ejemplo, el nivel de colesterol total en la sangre de la cual se obtuvo la muestra de fluido sanguíneo. El "nivel" del analito puede expresarse en unidades adecuadas, por ejemplo concentración molar, concentración por peso, o similares. Se prefiere particularmente el suero sanguíneo, pero se considera que podrán emplearse otras fracciones tales como células, plaquetas, gammaglobulinas, plasma o similares. Más generalmente, cualquier fluido corporal es susceptible de análisis usando la invención. Teniendo en cuenta todo lo anterior, se describirán en mayor detalle las realizaciones preferidas de la invención con respecto a la determinación del perfil de lípidos en una muestra de sangre, pero deberá entenderse que la invención no se limita sólo a ello.

Las instalaciones o cualquier otra entidad que realiza el ensayo de la muestra de fluido sanguíneo podrá ser o no ser la misma entidad que la que calcula el nivel del analito en la muestra del fluido sanguíneo o la entidad que recibe una solicitud de información por parte de un usuario e informa sobre los resultados del ensayo a dicho usuario. Para ensayar la muestra de fluido sanguíneo, la entidad donde se hará el análisis recibe inicialmente la muestra que se eluye con un líquido, preferentemente agua desionizada. Se considera que el líquido podría ser un líquido no acuoso o podría ser una solución acuosa, preferentemente una solución que no contiene o fundamentalmente no contiene iones de sodio o cualquier otro analito normalizador. Alternativamente, la solución podría contener una cantidad conocida del analito normalizador que se tomará en cuenta durante la normalización. Preferentemente, cuando la entidad de ensayo es una instalación de análisis que busca analizar muchas muestras, el eluyente se añadirá en una cantidad estándar, que típicamente es 600 μl (0,6 ml). En algunas realizaciones, el eluyente podrá ser una solución de electrolito tamponado.

Después de la elución de la muestra, preferentemente se analiza primero la muestra con respecto al contenido de un analito normalizador, como el contenido de sodio y cloruro, y en algunas realizaciones la osmolalidad, que generalmente representa el contenido total de sodio, glucosa, y nitrógeno ureico en sangre (NUS). Para analizar el sodio y cloruro, podrá emplearse un electrodo específico al ión (EEI), como el que Orion vende. Preferentemente, se obtendrá información sobre el contenido de sodio y cloruro, y la información será, por ejemplo, información analógica como una señal eléctrica o información digital como una copia impresa que representa el contenido de sodio o cloruro o una señal digital que contiene información sobre dicho contenido de sodio o cloruro. Más preferentemente, también se mide la osmolalidad. Deberá observarse que la invención no se limita al empleo de sodio o cloruro como analitos normalizadores, sino que por lo contrario, puede determinarse cualquier otro analito (lo que incluye una propiedad tal como osmolalidad). Entre las realizaciones preferidas se prevé la determinación de los niveles de sodio, cloruro y osmolalidad contra límites predeterminados para determinar si la cantidad de suero es suficiente para realizar un ensayo adecuado. Por ejemplo, se prevé que para una ensayo de colesterol, idealmente deberá contarse con aproximadamente 15-17 μl de suero para el ensayo. Si el contenido de sodio de la solución eluida demuestra que el nivel del suero se encuentra muy fuera de estos límites, la muestra podría rechazarse como inadecuada para el ensayo. Generalmente, la muestra podrá rechazarse si la solución contiene una cantidad insuficiente de suero, aunque se prevé que en algunos casos el exceso de suero podría ser la razón del rechazo. Los especialistas en este campo podrán determinar a qué grado podrá permitirse que el contenido del analito normalizador se encuentre fuera de los límites sin provocar el rechazo de la muestra.

Antes o después de determinar los niveles de los analitos normalizadores (aunque preferentemente después), la solución puede dividirse en cuatro alícuotas o "canales". Cada canal se analiza respectivamente en cuanto al nivel de triglicéridos, nivel de LAD, nivel de LBD, y en una realización preferida, nivel de ALT (que podría ser de interés para informar a un médico en caso de que el paciente presente anormalidades hepáticas que podrían ser contraindicadas en el empleo de ciertos fármacos). Se determinan los niveles de analitos usando cualquier técnica conocida en el campo o una que se considere adecuada. Por ejemplo, se revela un ensayo de colesterol en Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, G.S.G., Richmond, W. y Fu, P.C., *Clin. Chem*. 20:474-75 (1974); *véase también* Roeschlau, P., Brent, E. y Gruber, W.A., *Clin. Chem. Clin. Biochem*. 12:226 (1974). También se revela un ensayo para LAD en RiFai, N., Warnick, G.R., Ed., *Laboratory Measurement of Lipids, Lipoproteins and Apolioproteins* (1994). Se revela un ensayo para triglicéridos en McGowan, M.W., Artiss, J.D., Strandbergh, D.R., Zak, B., *Clin. Chem*. 29:583 (1983). Se revela un ensayo para la enzima hepática ALT en Wroblewski, F., LaDue, J.S., *Proc. Sec. Exp. Biol. Med*. 34:381 (1956). La invención no se limita a los ensayos o analitos indicados previamente, sino que por lo contrario es aplicable a otros ensayos para estos y otros analitos.

Después de determinarse los niveles del analito, se calcula el nivel de al menos un analito (y preferentemente todos los analitos) en la sangre de la cual se obtuvo la muestra de fluido sanguíneo o se determina de alguna manera basándose en el nivel del analito en la solución y al nivel en la solución de al menos un analito normalizador. Se prevé que el cálculo de un nivel de analito en sangre será tan sencillo como la multiplicación del nivel del analito en la solución por el cociente del nivel del analito normalizador en sangre y el nivel del analito normalizador en la solución, estimándose el nivel del analito normalizador en sangre basándose en la media de una distribución normal de población. Por ejemplo, se considera que el nivel normal de sodio en sangre en humanos varía entre 136 y 142

mEq/l, con una media de 139 mEq/l, y el nivel normal de cloruro varía entre 95 y 103 mEq/l con una media de 99 mEq/l. Se prevé que mediante el empleo de dos analitos normalizadores, podrá determinarse el nivel del analito en sangre calculando el nivel de analito en sangre basándose en el primer nivel de analito normalizador, calculando el nivel de analito en sangre basándose en el segundo nivel de analito normalizador, y después calculando el promedio de los niveles de analito en sangre así determinados.

Si se evalúan analitos normalizadores adicionales, podrá determinarse el promedio de todos los niveles de los analitos en sangre así determinados; si se desea, cuando se tengan al menos dos analitos normalizadores, el promedio podrá ponderarse hacia un analito normalizador específico. Por ejemplo, se prevé que podrán usarse métodos estadísticos bayesianos para asignar un peso relativo a los niveles del analito en sangre determinados por lo que respecta a cada uno de los analitos. Dichas técnicas estadísticas podrán tomar en cuenta no sólo la magnitud absoluta del nivel del analito normalizador, sino también la diferencia entre el nivel actual y la magnitud esperada basándose en la cantidad esperada de suero, y la desviación estándar de la distribución normal de la población del analito. Podrán usarse estas técnicas, conocidas ocasionalmente como técnicas de "probabilidad máxima" o "análisis de probabilidad previa", para obtener una aproximación del nivel de analito en sangre. Encontrará ensayos adicionales sobre estas técnicas estadísticas en Casella, G., Berger, R.L., *Statistical Inference* (1990) y Carlin B.P., Louis, T.A., *Bayes and Empirical Bayes Methods for Data Analysis* (2nd Ed. 2000).

Se puede encontrar información adicional sobre la distribución de sodio, cloruro y osmolalidad en la población humana normal en Ravel, *Clinical Laboratory Medicine* (6ª Ed., 1995); véase también Penney, M.D. y Walters, G., *Ann. Clin. Biochem*., 24:566-71 (1987) y Fraser, C.G., Cummings, S.T., Wilkinsen, S.O. *et al*., *Clin. Chem*. 35:783-86 (1985). Además se prevé que podrá emplearse una función más compleja del nivel del analito en la solución y los niveles de uno o más analitos normalizadores para calcular los niveles del analito en sangre.

Por lo que respecta a la Fig. 1, el método generalizado que aquí se presenta es aplicable cuando la misma organización realiza el ensayo y calcula el nivel del analito en sangre. Por lo tanto, en los pasos 101 y 102, respectivamente, se sumerge el electrodo de ión selectivo (EIS) (por ej., sodio) en la solución y se obtiene la información sobre el nivel de sodio. Los pasos se repiten para recibir la información sobre cloruro, como se muestra en los pasos 103 y 104. La información sobre el analito de interés se recibe en el paso 105, y el nivel de analito en sangre se calcula en el paso 106. Si, en el paso 107, se desea ensayar un analito adicional con la misma muestra, el control pasa al paso 105 donde se recibe la información sobre el analito en la solución para el nuevo analito. Se prevé que los pasos de ensayo para los analitos de interés y los analitos normalizadores pueden ser realizados por una organización y que el cálculo del nivel del analito en sangre puede ser realizado por una organización diferente. Así, por ejemplo, en la Fig. 1, podrán omitirse los pasos 101 y 103 si la organización que calcula el nivel del analito en sangre no es la misma que la organización que realiza el ensayo. El método indicado en la Fig. 1 es muy general, y podrán añadirse otros pasos, o bien omitirse o llevarse a cabo siguiendo un orden diferente y, más generalmente, el método podrá hacerse de otra forma. Por ejemplo, no se muestran los pasos de elución y verificación del nivel apropiado de suero, pero es preferible su empleo.

Se prevé que el nivel del analito, nivel del primer analito normalizador y nivel del segundo analito normalizador podrán determinarse independientemente y estos valores usarse para calcular el nivel del analito en sangre. Por ejemplo, típicamente los ensayos de colesterol analizados previamente se realizan mediante técnicas enzimáticas donde se determina la densidad óptica de la solución, la que puede expresarse como:

$$CV_S = f(DO)$$

donde CV_S, la concentración de colesterol de la solución, se calcula como una función de la densidad óptica (DO) cuando se añaden reactivos analíticos a la muestra siguiendo las técnicas de ensayo conocidas o que se consideran adecuadas. La concentración de sodio en la solución, o Na_S, puede usarse para calcular el nivel de colesterol sanguíneo, CV_b, de la siguiente forma:

$$CV_b = f(CV_S, Na_S)$$

Existen numerosas formas de hacer estos cálculos. Por ejemplo, podría determinarse un factor de corrección (FC) como función del nivel de sodio en la solución, donde:

$$CV_b = f(CV_S, FC)$$

y

$$FC = f(Na_S)$$

Alternativamente se prevé que podrá diseñarse un aparato o sistema único para calcular los niveles de analito en sangre, donde se genera una señal eléctrica analógica o digital que corresponde a los niveles del analito y analito normalizador en la solución. Por ejemplo, podría calcularse el índice de colesterol en sangre como función de la magnitud de dos señales eléctricas:

$$CV_b=f(E_1, E_2)$$

donde E_1 representa la magnitud de una señal eléctrica recibida de un espectrofotómetro al medir la densidad óptica para evaluar el nivel de colesterol total en solución y E_2 representa la magnitud de una señal eléctrica recibida de un electrodo específico al sodio.

En la práctica, se prevé que numerosas variables afectarán los resultados obtenidos para un grupo dado de muestras. Por ejemplo, las lecturas obtenidas a partir de un EIS podrían "fluctuar" de un día a otro, y el equipo empleado para obtener la muestra de sangre u otro fluido podría contener impurezas (como sodio) que potencialmente podrían introducir errores al ensayo. Por esta razón, ocasionalmente deberá seguirse un procedimiento de "tara". Periódicamente, se proporciona una pluralidad de muestras con un nivel conocido o determinable de analito, y a partir de estas muestras se prepararán muestras modificadas, y estas muestras modificadas serán muestras modificadas en la forma esperada de las muestras desconocidas. Por ejemplo, cierto número de muestras (por ej., seis) de sangre podrían colocarse periódicamente en un equipo de obtención de manchas de sangre similar a los empleados en el campo y secarse, haciendo después la elución de las muestras anhidras para producir soluciones. Después, se ensayarán las soluciones para determinar el nivel del analito y uno o más analitos normalizadores. A partir de estos ensayos, podrá obtenerse un algoritmo para la determinación del nivel del analito fluido original como función del nivel del analito medido y los niveles del analito o analitos normalizadores. Mediante el empleo de este algoritmo, podrán analizarse las muestras de fluidos modificados, donde los niveles del analito y analito normalizador podrían determinarse, y el nivel del analito en la muestra original podrá determinarse como una función de ellos. Mediante esta metodología se resolverán los errores introducidos por las impurezas (como sodio) en el equipo de obtención, y los errores introducidos por factores tales como la calibración del equipo podrán resolverse mediante el recálculo periódico del algoritmo. El procedimiento de tara podrá hacerse ocasional o regularmente a intervalos predeterminados (por ej., diaria, semanal, mensual o anualmente).

Las ecuaciones indicadas anteriormente como ejemplo no pretenden ser exhaustivas, sino que por lo contrario, pretenden ilustrar que se incluyen variaciones innumerables de los métodos de cálculo del nivel del analito en sangre dentro del ámbito de la invención. Por ejemplo, con respecto a la Fig. 2, en una de estas variaciones, se sumerge un EIS (sodio) en una muestra eluida en el paso 201, y en el paso 202 se recibe una señal que corresponde al nivel de sodio. La señal podrá ser una señal digital o analógica, cuyo nivel se registrará. En los pasos 203 y 204 se repetirán los mismos pasos para el nivel de cloruro, y en los pasos 205 y 206, respectivamente, se realiza un ensayo del analito y se recibe una señal que corresponde al nivel del analito. En el paso 207 se calcula el nivel de sodio en solución; en el paso 208 se calcula el nivel de cloruro y, en el paso 209, se calcula el nivel del analito en solución. En el paso 210, se calcula el nivel del analito en sangre, en este caso basándose en la magnitud del nivel de sodio en solución, el nivel de cloruro en solución, y el nivel del analito en solución. Si, en el paso 211, se desea ensayar un analito adicional en la misma muestra, el control pasa al paso 205. En este caso, si se han almacenado los niveles de sodio y cloruro en solución, podrán omitirse los pasos 207 y 208 después de recibir una señal correspondiente al nivel del segundo analito. El proceso podrá controlarse mediante un microprocesador o microcontrolador apropiado (no se muestra).

Como se ha indicado anteriormente, se prevé que la organización que ofrece los resultados de un ensayo a un usuario, que podría ser o no el profesional de la salud que solicitó el ensayo, que a su vez puede ser la misma o diferente organización que la que realiza el cálculo del nivel del analito en sangre, que a su vez puede ser la misma o diferente organización que la que analiza las muestras y genera la información correspondiente al nivel o niveles del analito y el nivel o niveles del analito normalizador. En la Fig. 3 se presenta un protocolo muy general para una organización que proporciona los resultados, donde un usuario manda una pregunta en el paso 301, y donde se le pide a dicho usuario su número de ensayo en el paso 302. En el paso 303 se recibe el número del ensayo, y en el 304 se pide el resultado del ensayo a la base de datos de resultados del ensayo. Se recibe esa información en el paso 305 y el usuario la recibe en el paso 306.

En cuanto a la Fig. 4, la base de datos de resultados del ensayo descrita anteriormente podrá ser estructurada de forma adecuada. Con respecto, por ejemplo, al registro 400 en la base de datos, la información sobre el resultado del ensayo 401, que en la realización ilustrada incluye dos puntos de información, información sobre el analito en sangre 1 e información sobre el analito en sangre 2, se correlacionan con el número del ensayo 402. El número del ensayo puede ser un número de ensayo anónimo o puede ser un número de ensayo asociado con un usuario, por ejemplo, en otro lugar dentro del registro 400 de la base de datos (no mostrado) o en otra base de datos.

En cuanto a la Fig. 5, la base de datos puede prepararse creando un registro de la base de datos (mostrado en el paso 501), recibiendo la información del resultado del ensayo y un número del ensayo (mostrado en los pasos 502 y 503, respectivamente) y, como se muestra en el paso 504, introduciendo el número del ensayo y la información del

resultado del mismo en el registro de la base de datos. En las patentes Quattrocchi mencionadas anteriormente o en la solicitud pendiente de resolución de nº de serie 09/709.884 se podrá encontrar información adicional sobre el papel de una organización que proporciona resultados en un protocolo de ensayos médicos o de bienestar.

La invención prevé además un método de preparación de una base de datos para usarse en el cálculo de los niveles del analito en sangre. El nivel del analito en sangre puede calcularse con referencia específica a la base de datos, o alternativamente la base de datos puede usarse conjuntamente con la preparación de un algoritmo para permitir el cálculo del nivel en sangre. La base de datos se prepara preferentemente con referencia a sangre que contiene un nivel conocido de colesterol u otro analito de interés. Varias muestras de sangre con diferentes niveles del analito se reducen entonces a una muestra modificada, como una muestra en la forma de una mancha de sangre o de suero, y cada muestra se analiza en cuanto al analito de interés y en cuanto a un analito normalizador. Por ejemplo, con respecto a la Fig. 6, se crea un registro en la base de datos en el paso 601, y se recibe la información del nivel conocido de un analito en sangre en el paso 602. La información con respecto al nivel del analito en solución y el nivel de los dos analitos normalizadores, sodio y cloruro, por ejemplo, se recibe durante los pasos 603-605, y en el paso 606 la información recibida se introduce en el registro de la base de datos. Si en el paso 607 se va a crear un registro adicional en la base de datos, el control pasa al paso 601, donde se crea un nuevo registro en la base de datos para la nueva muestra. Deberá observarse que el orden de los pasos no es crítico, y de hecho la base de datos podría prepararse secuencialmente con respecto a cada muestra de sangre (esto es, cada muestra se reduce a una muestra modificada, se ensaya, y los resultados se introducen a un registro en la base de datos antes de alterar la siguiente muestra de sangre), secuencialmente con respecto al registro en la base de datos (donde todas las muestras de sangre se reducen a muestras modificadas antes de introducir los primeros registros a la base de datos) o cualquier otra metodología apropiada. Así se prepara un registro 700 en la base de datos como se muestra en la Fig. 7, con entradas 701 a 704 que representan respectivamente el nivel de analito en sangre, analito en solución, nivel de sodio en la solución y nivel de cloruro en solución.

Como se analizó anteriormente, en lugar de calcularse, puede determinarse el nivel del analito en sangre en una muestra de fluido sanguíneo por lo que respecta a la base de datos, por ejemplo encontrando el nivel de analito en solución y nivel o niveles de analito normalizador en solución en la base de datos que se aproximan mejor a los de la muestra. Alternativamente puede usarse cualquier técnica estadística o matemática adecuada para obtener un algoritmo para calcular el nivel del analito en sangre a partir del nivel del analito en solución y al menos un nivel de analito normalizador. En algunas realizaciones, el algoritmo es de primer orden con respecto al menos al nivel del analito en solución y podría ser de primer orden con respecto al nivel del analito en solución y uno o ambos niveles de analito normalizador.

Preferentemente la invención se realiza de acuerdo con el esquema general que aparece en la Fig. 8. Generalmente un médico o tienda minorista 802 vende al cliente 801 un equipo de ensayo (la transferencia del equipo se muestra a través de la comunicación de transferencia 805). El equipo de ensayo (no mostrado) incluye preferentemente herramientas para permitirle al cliente obtener una muestra de sangre, suero o manchas de suero. Por ejemplo, como se discute más ampliamente en las patentes Quattrocchi mencionadas anteriormente, el equipo de ensayo podría incluir una lanceta para que el usuario se pinche el dedo, una tarjeta absorbente para la sangre o una tarjeta absorbente para el suero (o el equipo que se muestra en las Figs. 9 y 10 mencionado posteriormente), un formulario de consentimiento informado y un número de ensayo. Después de preparar la sangre, suero o tarjeta absorbente de suero, el cliente envía la muestra de sangre seca a una organización que proporciona resultados 803 como se muestra mediante una comunicación de transferencia 806. En la realización ilustrada, la organización que proporciona resultados 803 envía la muestra a otra organización 804, como se muestra mediante una comunicación de transferencia 809. Como se muestra mediante la comunicación 810, la organización que realiza el ensayo ofrece los resultados del mismo a la organización que proporciona los resultados. Los resultados podrían ser resultados “sin tratar”, esto es, resultados donde el nivel del analito en sangre no se ha determinado u obtenido, o alternativamente la organización que realiza el ensayo podría calcular el nivel del analito en sangre y transmitir ese resultado a la organización que proporciona los resultados. Como se muestra en la comunicación 807, el cliente se comunica con la organización que proporciona los resultados, y en la comunicación 808, la organización que proporciona los resultados le da los resultados del ensayo al cliente. Opcionalmente, la organización que proporciona los resultados podría estar equipada para comunicarse directamente con la oficina del médico, como se muestra en las comunicaciones 811 y 812. Excepto cuando se requiere la transferencia de una muestra física, la comunicación puede hacerse a través de cualquier medio o método conocido en la actualidad o descubierto en el futuro, por ejemplo por teléfono, comunicación inalámbrica, correo o “conversación” electrónica u otra comunicación electrónica, u otra forma de comunicación.

Por lo que respecta a las Figs. 9 y 10, el equipo 900 de recolección de fluidos ilustrado incluye dos bandas 901, 901, cada una comprende un recolector de fluidos 903, 904 que está colocado entre una hoja superestrato 905 y una hoja substrato 906 y generalmente se fija con respecto a la hoja superestrato 905. Normalmente el recolector de fluidos está conectado a la hoja substrato 906 (una parte de la cual puede verse) en un extremo 907, 908, aunque el recolector podría ser flexible y por lo tanto no estar completamente fijo con respecto a la hoja substrato 905. El substrato cuenta con al menos una apertura (se muestran dos como 909, 910) mediante la cual el usuario puede transferir fluidamente sangre al recolector. En las realizaciones ilustradas, se proporcionan las aperturas secundarias 911, 912. Para usar el equipo, el usuario coloca la sangre en el recolector, donde parte o toda la sangre se absorbe en la dirección indicada por las flechas 913 hasta las partes 914, 915 de los recolectores 903, 904 visibles a través de las aperturas secundarias 914, 915 se manchan, cuando el usuario recibe una indicación de que se ha recogido suficiente sangre. En las realizaciones ilustradas, se proporcionan las instrucciones 917 en la hoja del substrato 905 y los espacios

de información de identificación 918 (mostrados en la Fig. 10) se proporcionan en la hoja substrato 906. El equipo puede estar equipado con marcas no textuales legibles por máquina (como el código de barras 919).

En una realización muy preferida de la invención, el recolector de fluidos es un papel absorbente o substrato de fibra de vidrio recubierto con un sacárido, preferentemente un mono o disacárido y más preferentemente xilosa. El substrato deberá ser el que permita al menos una separación sustancial del componente de glóbulos rojos de las células sanguíneas de otras porciones de la sangre (esto es, suero). Se piensa que el componente sacárido permite una recuperación más efectiva de los componentes del suero de la hoja del substrato. El substrato puede estar sólo recubierto en la superficie en uno o los dos lados con el sacárido, pero preferentemente el substrato estará recubierto sobre las superficies internas tanto como la superficie exterior. En una realización, se aplicaron 180 μl de una solución al 5% de xilosa a la superficie interna del substrato 0,8x7 cm (de manera que sustancialmente todo el substrato queda humedecido) y se dejó secar al aire. Si se emplea el recolector de fluidos en el equipo mostrado en las Figs. 9 y 10, las células sanguíneas permanecerán cerca del extremo del equipo de recolección (opuesto a la dirección de las flechas 913), mientras que el suero se absorberá hacia el otro extremo de la tarjeta. Cuando un laboratorio de ensayo la recibe, podrá cortarse y eluirse parte del recolector de fluido. Preferentemente, la porción cortada incluirá parte del recolector "por encima" del punto final de absorción del suero. Un producto comercial (papel Whatman GF/AVA) contiene sodio, y se piensa que al cortar el papel filtro por encima del punto final de absorción se introducirá una cantidad constante de sodio en el fluido eluido. Podrá prepararse el equipo aplicando una solución del sacárido al substrato.

La invención permite la determinación de los niveles de analito en sangre venosa a partir de muestras de sangre capilar. Se prevé que en la mayoría de las realizaciones, el nivel de analito de la solución se normalizará al nivel de sangre venosa del analito, pero también se prevé que el valor de la solución podrá normalizarse al nivel de la sangre capilar (o la de un vaso sanguíneo diferente).

Las bases de datos estudiadas en el presente pueden crearse y almacenarse como ficheros informáticos en un medio legible por ordenador, como un disquete, disco duro, CD-ROM, DVD-ROM, chip ROM o chip EPROM, o cualquier otro medio adecuado que se conozca en la actualidad o se descubra en el futuro. Los ensayos del analito y analitos normalizadores pueden hacerse mediante cualquier técnica convencional o de otro tipo que sea adecuada en la actualidad o en el futuro, e igualmente, el analito y el analito normalizador (que podrían ser átomos discretos, iones, compuestos, materiales bioquímicos, o propiedades) podrían ser los que se han descrito específicamente aquí u otros que podrían resultar adecuados para el uso conjuntamente con la invención.

Se ofrecen los siguientes ejemplos para ilustrar la invención, pero no deberán considerarse que estos limitan el ámbito de la invención a menos que se indique lo contrario. A menos que se indique lo contrario en estos ejemplos, el nivel de analito determinado se corrigió usando sodio como el único analito normalizador. Se hizo la corrección usando una regresión lineal simple. Deberá entenderse que pueden emplearse regresiones más complejas de variables únicas y de varias variables conjuntamente con la invención, y por lo tanto, las técnicas estadísticas empleadas en estos ejemplos deben considerarse no limitantes.

Ejemplo 1

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación del colesterol total.

Se usaron quince pacientes para obtener muestras de sangre (micromuestras de suero) mediante punción venosa. El suero de cada muestra se depósito como una mancha sobre papel filtro y se secó, los volúmenes aplicados variaron entre aproximadamente 8 y 16 μl. El número de manchas para cada muestra de sangre se enumera en la columna "No." en la tabla a continuación. Se eluyeron las manchas y se determinaron el colesterol y sodio. Para cada muestra de cada paciente, se calculó el nivel normalizado de colesterol basándose en el nivel de un analito medido en el fluido (colesterol) y un analito normalizador (sodio). Se obtuvo el nivel normalizado de colesterol según la invención actual usando técnicas de regresión lineal para obtener la siguiente función: Colesterol normalizado = Colesterol medido/((-0,003306) + 0,9781 x (sodio medido/139)), donde 139 (mEq/l) es la media de población para el sodio. La regresión se calculó basándose en cinco mediciones directas del nivel de colesterol a partir de la misma muestra de sangre, como se enumeran en la columna "Media del colesterol en suero". Se muestra el promedio de los valores normalizados de colesterol para cada paciente en la columna "Media del colesterol normalizado" y se muestra el coeficiente de variación de los niveles de colesterol normalizados obtenidos para cada paciente en la columna designada "%CV del colesterol normalizado".

Paciente	No.	Media del colesterol en suero	Media del colesterol normalizado	%CV del colesterol normalizado
A	11	152,35	153,68	3,85
Ja	12	165,79	162,50	1,42
Il	14	180,93	180,47	4,61
Ca	12	186,20	182,28	0,70
Br	10	187,06	185,35	2,93
Mi	12	187,14	186,21	1,85
Gr	12	187,42	189,14	1,65
Ed	12	200,38	197,18	1,36
Tr	11	220,83	221,89	2,00
Bb	11	232,65	233,06	1,89
Ma	11	236,73	245,53	1,02
Jo	11	237,37	237,24	1,95
JJ	14	262,41	259,24	1,75
Kt	12	264,30	268,23	1,86
TT	13	269,36	273,53	2,79

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

Media del colesterol normalizado = -7,97 + 1,04 x Media del colesterol en suero,
siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, mayor de 0,99.

Ejemplo 2

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de LAD.

Se usaron las mismas manchas anhidras de los mismos quince pacientes que participaron en el Ejemplo 1 para obtener un valor medido de LAD. Se obtuvo el valor normalizado de LAD según la invención actual usando técnicas de regresión lineal que dieron la siguiente función:

LAD normalizado = LAD/(0,0158 + 1,060 x (sodio/139)). Los datos que se ofrecen
a continuación se midieron o calcularon de la misma forma que en el Ejemplo 1.

Paciente	No.	Media de LAD en suero	Media del LAD normalizado	%CV del LAD normalizado
II	14	45,77	47,03	2,35
A	11	46,05	47,77	2,17
Jo	11	47,40	48,50	2,12
Ja	12	48,87	53,22	2,23
JJ	14	49,07	48,15	1,68
Gr	12	49,64	52,45	1,62
Mi	12	59,96	58,95	1,69
Br	10	57,20	55,83	2,66
Ed	12	71,00	71,09	0,92
Kt	12	73,08	72,46	1,53
TT	13	76,16	75,77	2,27
Ca	12	78,01	75,93	1,50
Bb	11	78,77	73,35	1,99
Ma	11	87,84	84,75	0,94
Tr	11	91,15	86,42	1,46

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

Media del LAD normalizado = 8,15 + 0,87 x Media del LAD en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, mayor de 0,99.

Ejemplo 3

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de triglicéridos (TG).

Se usaron las mismas manchas anhidras de los mismos quince pacientes que participaron en el Ejemplo 1 para obtener un valor medido de TG. Se obtuvo el valor normalizado de TG según la invención actual usando técnicas de regresión lineal que dieron la siguiente función:

TG normalizado = TG/((-0,0136) + 0,9307 x (sodio/139). Los datos dados a continuación se midieron o calcularon de la misma forma que en el Ejemplo 1.

Paciente	No.	Media de TG en suero	Media de TG normalizados	%CV de TG normalizados
Ca	12	37,63	38,76	1,95
Bb	11	46,86	48,55	1,75
A	11	48,75	50,16	2,73
Ja	12	49,68	49,94	3,31
Kt	12	52,15	48,19	1,32
Br	10	55,00	56,56	4,14
Ma	11	56,05	56,40	2,03
Il	14	59,09	60,88	6,22
Ed	12	62,91	61,65	1,25
Tr	11	66,69	67,66	1,63
TT	13	68,76	72,14	13,37
Mi	12	71,84	72,63	1,62
Jo	11	109,28	107,10	2,27
JJ	14	117,31	112,24	5,03
Gr	12	139,47	136,74	2,13

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

Media de TG normalizado = 3,36 + 0,95 x Media de TG en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, mayor de 0,995.

Ejemplo 4

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de LBD. Se usaron las mismas observaciones de los mismos quince pacientes que participaron en los Ejemplos 1, 2 y 3 para calcular un valor para LBD en suero y un valor para LBD en MSS según la fórmula de Friedewald:

Media de LBD en suero = Media de colesterol en suero - Media de LAD en suero - Media de TG en suero/5

Media de LBD normalizado = Media de colesterol normalizado - Media de LAD normalizado - Media de TG normalizado/5, respectivamente.

Se calcularon los siguientes datos (se calculó la media de LBD en suero a partir de los valores medios registrados en los Ejemplos 1-3).

Paciente	No.	Media de LBD en suero	Media de LBD normalizado	%CV de LBD normalizado
A	11	96,55	95,30	5,36
Ca	12	100,66	98,82	1,17
Ja	12	106,98	99,22	2,32
Gr	12	109,88	109,00	2,19
Mi	12	115,81	112,90	2,80
Tr	11	116,35	121,21	3,11
Ed	12	116,80	113,76	1,98
Br	10	118,86	118,21	3,23
Il	14	123,34	119,75	5,72
Ma	11	137,68	149,45	1,72
Bb	11	144,51	150,01	2,12
Jo	11	168,11	167,55	2,66
Tt	13	179,45	183,33	3,33
Kt	12	180,78	186,13	2,19
JJ	14	189,88	189,54	1,89

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

Media de LBD normalizado = -8,16 + 1,07 x Media de LBD en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, igual a 0,98.

Ejemplo 5

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación del colesterol total.

Se usaron ciento treinta y dos pacientes para obtener sangre mediante punción venosa (muestras de sangre venosa) y pinchando los dedos (muestras de sangre capilar). La sangre capilar se depositó como manchas sobre un papel filtro Whatman GF/AVA recubierto con xilosa, usando un equipo similar al mostrado en la Fig. 9. Se secaron las muestras de sangre capilar y se cortó y eluyó la parte del papel filtro que contenía el suero separado. Se determinó el colesterol y sodio en los eluidos de cada muestra. Se obtuvo el nivel de colesterol normalizado según la invención actual usando una fórmula variable:

Colesterol normalizado = colesterol medido/(A + B x (sodio medido/139)).

En esta ecuación, A y B fueron valores escalares recalculados periódicamente basándose en el procedimiento de "tara" descrito anteriormente, donde se calculó una regresión para seis pacientes y se usaron los valores A y B de esta regresión para calcular los valores de colesterol normalizado para las muestras analizadas antes del siguiente período de tara. A continuación se dan los valores de colesterol real (medido directamente en sangre venosa) y los calculados para el colesterol normalizado en estos pacientes.

Paciente	Colesterol en suero	Colesterol normalizado
1	172,68	157,54
2	149,25	154,61
3	176,81	175,60
4	189,78	187,41
5	170,38	173,03
6	189,67	188,80
7	130,52	128,80
8	266,76	276,31
9	151,29	152,49
10	219,86	211,23
11	242,00	251,07
12	232,41	230,66
13	173,09	176,48
14	190,89	190,86
15	264,47	260,46
16	236,18	244,49
17	272,58	279,76
18	240,29	228,83
19	169,32	166,57
20	192,02	195,03
21	239,83	235,33
22	225,13	225,13
23	169,40	156,05
24	197,93	183,67
25	151,59	146,26
26	235,43	247,88
27	178,84	170,79
28	196,40	191,34
29	240,99	230,52
30	171,53	173,95
31	229,43	229,43
32	217,54	223,84
33	187,23	183,58
34	175,68	173,95
35	174,69	172,34
36	251,23	249,20
37	203,70	185,98
38	123,30	114,96
39	136,04	127,97
40	251,33	243,27
41	216,14	218,02
42	145,14	156,86
43	208,58	203,43
44	250,25	245,07
45	235,76	250,40
46	193,19	187,83
47	211,75	223,38
48	221,15	226,04
49	199,41	196,35

Paciente	Colesterol en suero	Colesterol normalizado
50	249,35	259,44
51	166,46	165,63
52	154,64	151,56
53	187,36	190,37
54	256,78	260,40
55	230,59	222,39
56	208,57	224,14
57	183,92	181,28
58	159,73	156,20
59	155,31	153,59
60	205,29	197,61
61	204,49	198,97
62	219,21	221,45
63	122,83	114,88
64	175,13	176,48
65	201,35	211,70
66	216,66	209,09
67	227,50	231,96
68	151,28	153,23
69	130,10	128,40
70	175,95	173,45
71	182,38	183,21
72	201,03	195,89
73	175,86	189,73
74	146,10	149,88
75	116,17	103,88
76	193,58	197,59
77	291,91	296,11
78	184,93	185,49
79	145,82	141,34
80	182,73	180,78
81	175,84	170,03
82	148,99	151,67
83	212,79	213,40
84	228,82	225,39
85	218,44	229,26

Paciente	Colesterol en suero	Colesterol normalizado
86	169,43	173,84
87	151,43	157,96
88	217,96	218,63
89	239,39	244,17
90	148,62	152,86
91	136,81	132,60
92	179,13	173,31
93	121,10	119,61
94	165,37	163,34
95	117,65	132,34
96	190,25	184,44
97	201,78	206,49
98	133,26	137,69
99	225,84	221,67
100	244,66	230,25
101	164,72	168,10
102	150,75	146,82
103	163,57	170,41
104	196,06	198,89
105	213,32	206,01
106	186,62	183,13
107	163,46	162,71
108	244,58	250,24
109	231,82	231,32
110	171,94	172,27
111	207,12	209,36
112	205,41	209,00
113	157,54	156,02
114	191,41	190,59
115	192,20	197,37
116	193,52	183,72
117	257,83	248,49
118	178,32	171,44
119	203,64	209,32
120	210,36	230,25
121	207,74	220,04
122	200,05	205,38
123	216,34	219,09
124	190,10	179,14
125	293,34	272,48
126	228,57	226,02
127	171,60	174,88
128	142,80	148,94
129	197,16	205,05
130	220,50	218,43
131	220,32	231,50
132	255,78	255,23

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

Colesterol normalizado = -1,16 + 1,00 x Colesterol en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, 0,966.

Ejemplo 6

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de LAD. Se usaron las muestras de manchas anhidras y sangre venosa de los mismos ciento treinta y dos pacientes que participaron en el Ejemplo 5 para determinar LAD en sangre capilar y compararlo con un valor medido de LAD en sangre venosa. Se obtuvo el nivel normalizado de LAD en sangre capilar según la invención actual usando la fórmula: LAD normalizado = LAD medido/(A+B x (sodio medido/139)), donde A y B se obtuvieron en la forma descrita anteriormente. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Paciente	LAD en suero	LAD normalizado
1	58,90	61,12
2	41,28	42,33
3	38,54	39,15
4	48,84	46,19
5	61,56	54,98
6	52,68	48,79
7	47,69	45,15
8	34,69	39,49
9	57,45	56,32
10	38,00	36,33
11	47,53	42,14
12	60,04	58,94
13	36,08	37,35
14	46,09	48,37
15	42,22	42,82
16	34,70	38,98
17	55,76	55,79
18	21,16	24,53
19	55,33	55,69
20	44,66	42,65
21	83,26	81,00
22	44,33	46,14
23	40,71	40,69
24	47,24	43,98
25	49,46	47,71
26	44,37	43,30
27	50,16	48,34
28	55,49	61,30
29	58,90	61,12
30	41,28	42,33
31	38,54	39,15
32	48,84	46,19
33	61,56	54,98
34	52,68	48,79
35	47,69	45,15
36	34,69	39,49

Paciente	LAD en suero	LAD normalizado
37	57,45	56,32
38	38,00	36,33
39	47,53	42,14
40	60,04	58,94
41	36,08	37,35
42	46,09	48,37
43	42,22	42,82
44	34,70	38,98
45	55,76	55,79
46	21,16	24,53
47	55,33	55,69
48	44,66	42,65
49	83,26	81,00
50	44,33	46,14
51	40,71	40,69
52	47,24	43,98
53	49,46	47,71
54	44,37	43,30
55	50,16	48,34
56	55,49	61,30
57	49,27	45,94
58	51,73	51,78
59	38,07	36,98
60	38,22	38,49
61	43,57	45,05
62	54,16	51,46
63	38,66	34,13
64	50,14	48,65
65	57,94	54,11
66	46,02	44,67
67	49,21	52,36
68	43,15	45,31
69	37,20	38,42
70	49,66	50,00
71	63,00	65,28
72	79,92	79,17

Paciente	LAD en suero	LAD normalizado
73	37,12	44,57
74	59,14	60,35
75	32,49	28,57
76	56,08	59,37
77	64,22	70,04
78	46,54	48,66
79	37,68	37,28
80	75,41	74,70
81	44,06	44,73
82	40,65	40,88
83	93,40	91,97
84	40,97	47,04
85	69,63	75,17
86	36,13	38,81
87	34,88	36,42
88	43,90	49,40
89	63,29	66,41
90	49,21	49,65
91	29,54	31,27
92	49,30	49,87
93	35,82	34,39
94	49,66	51,20
95	39,01	39,79
96	36,92	34,49
97	43,40	43,45
98	48,70	45,97
99	42,15	41,04
100	59,09	55,11
101	49,46	47,04
102	33,36	29,81
103	49,36	47,93
104	43,02	39,12
105	39,81	41,06
106	60,29	56,62
107	59,84	55,33
108	84,77	82,31

Paciente	LAD en suero	LAD normalizado
109	55,20	55,72
110	54,77	56,06
111	69,16	67,30
112	38,18	40,50
113	37,11	36,49
114	51,31	49,24
115	39,69	42,54
116	61,17	56,56
117	29,94	30,25
118	75,50	77,62
119	56,94	57,49
120	68,89	71,30
121	37,89	40,82
122	73,57	72,14
123	78,31	78,16
124	48,88	47,45
125	83,96	79,26
126	95,12	92,48
127	51,44	52,50
128	38,88	38,10
129	41,70	44,58
130	47,80	46,24
131	56,42	59,35
132	55,14	56,98

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

LAD normalizado = 2,47 + 0,953 x LAD en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, mayor de 0,96.

Ejemplo 7

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de triglicéridos (TG). Se usaron las muestras de manchas anhidras y sangre venosa de los mismos ciento treinta y dos pacientes que participaron en el Ejemplo 5 para determinar TG en sangre capilar y compararlo con un valor medido de TG en sangre venosa. Se obtuvo el nivel normalizado de TG en sangre capilar según la invención actual usando la fórmula: TG normalizado = TG medido/(A+B x (sodio medido/139)), donde A y B se obtuvieron en la forma descrita anteriormente. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Paciente	TG en suero	TG normalizado
1	73,24	55,65
2	97,89	97,31
3	45,26	38,38
4	70,31	60,30
5	119,71	119,33
6	105,97	100,56
7	77,47	73,30
8	220,18	236,94
9	191,79	203,18
10	177,10	117,03
11	112,19	116,71
12	73,24	55,65
13	97,89	97,31
14	45,26	38,38
15	70,31	60,30
16	119,71	119,33
17	157,70	164,69
18	122,09	124,56
19	66,86	63,24
20	138,31	151,08
21	146,08	137,36

Paciente	TG en suero	TG normalizado
22	95,85	97,05
23	77,27	60,69
24	85,44	82,87
25	86,25	77,32
26	112,51	110,68
27	176,25	184,16
28	190,63	189,57
29	95,17	98,92
30	98,52	98,76
31	102,13	97,07
32	117,77	128,91
33	123,08	125,56
34	135,72	132,69
35	76,46	71,14
36	230,90	210,77
37	80,41	67,66
38	99,43	85,63
39	86,87	91,07
40	125,01	120,98
41	362,90	322,04
42	132,98	118,47
43	83,21	75,43
44	52,45	53,34
45	53,91	50,52
46	349,76	357,87
47	135,25	139,57
48	209,20	208,33
49	374,36	386,86
50	74,90	79,81
51	395,31	399,34
52	56,38	54,87
53	217,08	258,78
54	52,83	71,35
55	136,53	144,81
56	115,98	118,45
57	78,41	62,45

Paciente	TG en suero	TG normalizado
58	70,38	65,13
59	91,00	68,59
60	180,98	179,72
61	163,32	188,88
62	72,16	65,05
63	102,89	101,45
64	50,24	49,05
65	184,45	195,42
66	183,07	194,25
67	65,28	65,04
68	111,40	109,43
69	67,25	87,27
70	74,92	72,25
71	100,19	105,33
72	136,82	132,52
73	119,29	129,90
74	119,76	119,83
75	121,90	125,90
76	75,55	80,65
77	74,44	89,06
78	226,78	243,05
79	71,19	78,23
80	98,89	93,66
81	127,93	135,56
82	333,65	352,31
83	97,18	91,96
84	139,77	133,20
85	73,23	72,05
86	160,00	148,64
87	131,69	133,49
88	69,07	66,79
89	271,22	248,43
90	91,86	98,00
91	231,14	224,76
92	153,65	171,85
93	115,95	107,16

Paciente	TG en suero	TG normalizado
94	263,50	257,68
95	95,38	92,85
96	143,96	125,21
97	110,10	131,36
98	97,72	93,75
99	158,22	151,23
100	123,80	127,26
101	279,56	271,61
102	192,26	176,02
103	59,41	59,23
104	197,04	186,32
105	182,29	170,98
106	96,16	91,53
107	80,46	72,56
108	65,55	68,16
109	215,37	210,92
110	186,09	191,14
111	96,41	96,52
112	78,68	80,54
113	83,96	73,13
114	207,32	208,03
115	37,41	37,32
116	103,17	93,38
117	193,21	210,21
118	119,46	103,27
119	67,57	58,99
120	119,56	117,34
121	75,42	52,90
122	311,18	315,01
123	67,72	68,28
124	127,36	129,28
125	59,82	64,57
126	85,54	83,90
127	43,24	41,49
128	85,09	78,05
129	95,15	99,45
130	92,21	75,05
131	72,46	88,51
132	56,52	57,13

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

TG normalizado = -2,5 + 1,01 x TG en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, 0,98.

Ejemplo 8

En este ejemplo se demuestra la actuación de la invención en la determinación de LBD. Se usaron las mismas observaciones de los mismos ciento treinta y dos pacientes que participaron en los Ejemplos 5, 6 y 7 para calcular un valor para LBD en suero y un valor para LBD en MSS según la fórmula de Friedewald:

LBD en suero = Colesterol en suero - LAD en suero - TG en suero/5

LBD normalizado = Colesterol normalizado - LAD normalizado - TG normalizado/5.

Se calcularon los siguientes resultados:

Paciente	LBD en suero	LBD normalizado
1	110,85	101,31
2	97,93	101,60
3	109,82	103,89
4	110,51	112,89
5	108,21	107,74
6	126,07	121,49
7	49,76	54,13

Paciente	LBD en suero	LBD normalizado
8	173,19	173,53
9	78,72	77,71
10	129,52	119,61
11	174,74	180,58
12	149,04	140,09
13	98,72	101,13
14	115,22	115,25
15	187,28	180,56
16	146,29	158,21
17	195,20	200,00
18	167,30	161,22
19	101,87	99,92
20	122,26	127,45
21	168,27	164,79
22	149,27	148,28
23	100,92	85,06
24	129,40	115,93
25	92,09	88,71
26	165,02	175,92
27	114,88	104,61
28	94,16	90,62
29	154,94	142,87
30	114,95	117,39
31	144,71	148,13
32	152,62	164,12
33	105,78	111,48
34	105,62	106,95
35	101,99	102,99
36	143,96	145,31
37	119,65	105,96
38	68,65	63,55
39	78,02	75,16
40	180,50	174,23
41	110,10	109,10
42	72,00	80,58
43	124,52	118,94

Paciente	LBD en suero	LBD normalizado
44	140,68	128,72
45	165,02	178,66
46	92,96	83,43
47	145,15	156,72
48	133,07	131,63
49	105,59	101,08
50	177,71	184,34
51	102,56	101,25
52	91,72	95,09
53	123,82	129,64
54	194,21	203,38
55	144,23	138,11
56	120,42	125,06
57	120,22	122,32
58	87,42	84,13
59	107,19	106,80
60	130,18	120,03
61	124,30	115,07
62	151,99	156,98
63	61,89	58,86
64	111,54	110,38
65	128,43	143,14
66	150,60	143,35
67	150,93	153,10
68	84,28	81,94
69	68,95	66,01
70	101,92	98,27
71	104,27	101,79
72	106,22	98,91
73	93,38	96,56
74	72,72	73,88
75	63,90	56,58
76	111,92	111,11
77	160,96	155,60
78	118,95	118,43
79	80,19	77,42

Paciente	LBD en suero	LBD normalizado
80	92,68	91,67
81	99,78	95,56
82	82,00	84,09
83	105,58	108,07
84	133,61	128,66
85	130,44	134,49
86	87,08	90,07
87	85,82	87,16
88	150,87	147,80
89	123,40	126,22
90	80,33	84,64
91	78,47	76,28
92	107,81	97,16
93	65,74	66,47
94	84,06	81,90
95	53,88	67,10
96	97,42	95,63
97	119,93	127,83
98	72,69	79,87
99	144,28	143,36
100	149,12	140,94
101	96,03	102,76
102	101,29	102,50
103	101,09	108,85
104	109,96	117,58
105	136,29	126,72
106	107,05	107,20
107	87,89	91,28
108	143,01	153,30
109	135,15	134,00
110	109,68	108,74
111	117,33	123,38
112	128,59	126,45
113	96,53	98,88
114	126,58	129,56
115	128,60	131,36

Paciente	LBD en suero	LBD normalizado
116	117,26	116,58
117	165,65	155,24
118	89,27	80,15
119	121,23	125,97
120	129,51	146,03
121	152,74	162,44
122	117,83	124,94
123	121,01	125,32
124	122,19	111,80
125	190,94	178,21
126	118,95	115,83
127	108,85	110,95
128	76,17	84,41
129	116,38	120,15
130	116,39	113,82
131	134,85	142,75
132	173,09	172,40

Se generó una regresión lineal comparativa a partir de los puntos de datos recogidos en este ejemplo. El ajuste lineal obedece a la siguiente ecuación:

LBD normalizado = -0,25 + 1,00 x LBD en suero, siendo el coeficiente de correlación, expresado como R^2, igual a 0,96.

Por lo tanto, puede observarse cómo la invención proporciona un método para determinar el nivel de analito en una muestra.

Aunque en el presente se han descrito determinadas realizaciones de la invención, dicha invención no se limita a ellas, sino que por lo contrario deberá considerarse como definida por el ámbito completo de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar el nivel de un analito en sangre a partir de una solución formada por una muestra de fluido sanguíneo seco, y dicha muestra de fluido sanguíneo es una muestra de plasma o suero, que comprende:

en cualquier orden, la medición del nivel del analito en dicha solución, la medición del nivel de un primer analito normalizador seleccionado entre el grupo que incluye el contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad, y la medición del nivel de un segundo analito normalizador seleccionado entre el grupo que incluye el contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad; y

la determinación del nivel del analito en la sangre de la cual se obtuvo la muestra de fluido sanguíneo basándose en dicho nivel de analito en dicha solución, el nivel de dicho primer analito normalizador en dicha solución, y el nivel de dicho segundo analito normalizador en dicha solución, calculando el promedio ponderado del nivel de dichos primer y segundo analitos normalizadores en dicha solución.

2. Un método como el indicado en la reivindicación 1, donde el analito se selecciona entre el grupo formado por ALT, colesterol, PSA, sodio, cloruro y osmolalidad.

3. Un método para la determinación de la concentración de un analito en una muestra de fluido corporal a partir de una solución formada por una muestra de sangre entera seca, que comprende:

en cualquier orden, la medición del nivel de un analito en dicha solución, la medición del nivel de un primer analito normalizador en dicha solución seleccionado entre el grupo formado por el contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad, y la medición del nivel de un segundo analito normalizador en dicha solución seleccionado entre el grupo formado por el contenido de sodio, contenido de cloruro y osmolalidad; y

la determinación del nivel del analito en la muestra de la cual se obtuvo dicha muestra modificada basándose en dicho nivel de analito en dicha solución, el nivel de dicho primer analito normalizador en la solución, y el nivel de dicho segundo analito normalizador en la solución, calculando el promedio ponderado del nivel del primer y segundo analitos normalizadores en la solución.

FIG. 1

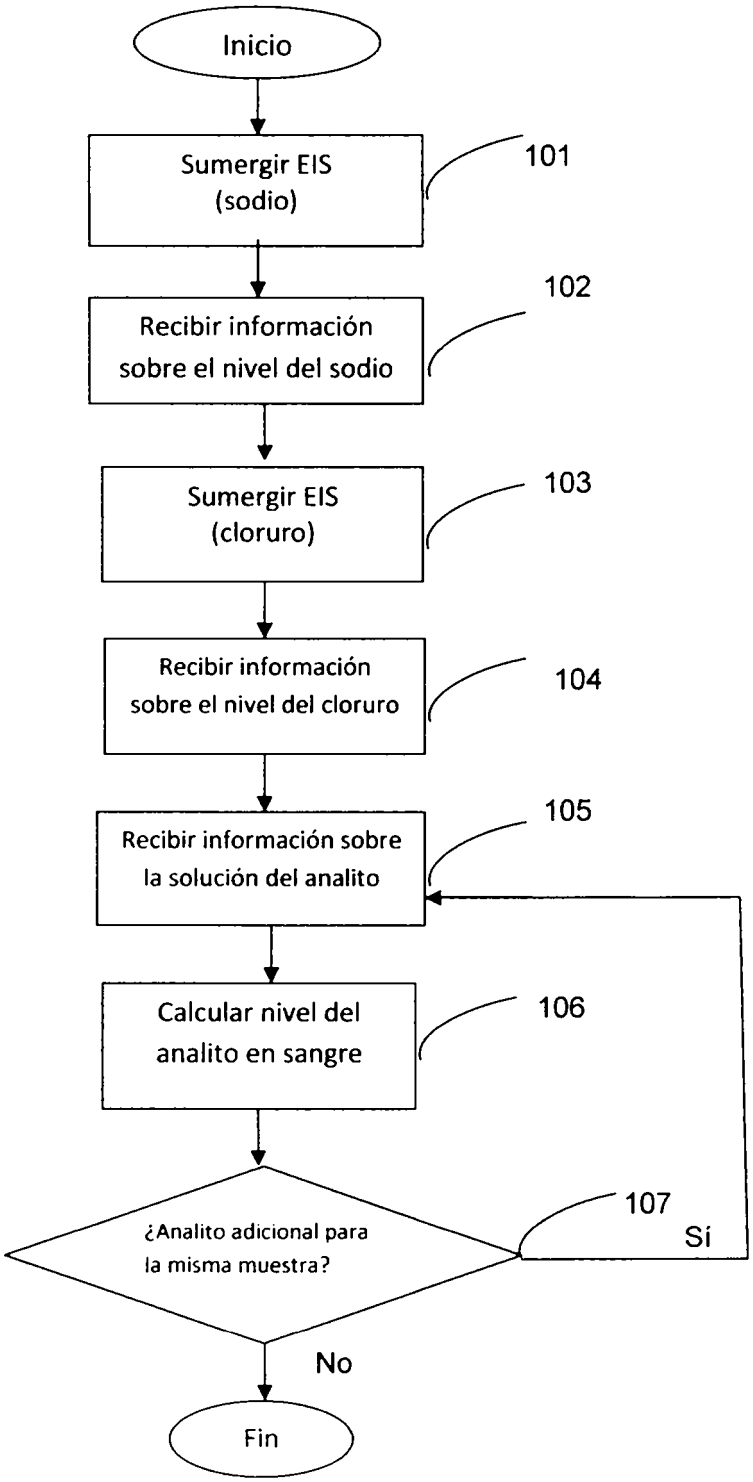

Inicio
Sumergir EIS (sodio)
101
Recibir información sobre el nivel del sodio
102
Sumergir EIS (cloruro)
103
Recibir información sobre el nivel del cloruro
104
Recibir información sobre la solución del analito
105
Calcular nivel del analito en sangre
106
¿Analito adicional para la misma muestra?
107
Sí
No
Fin

FIG.2

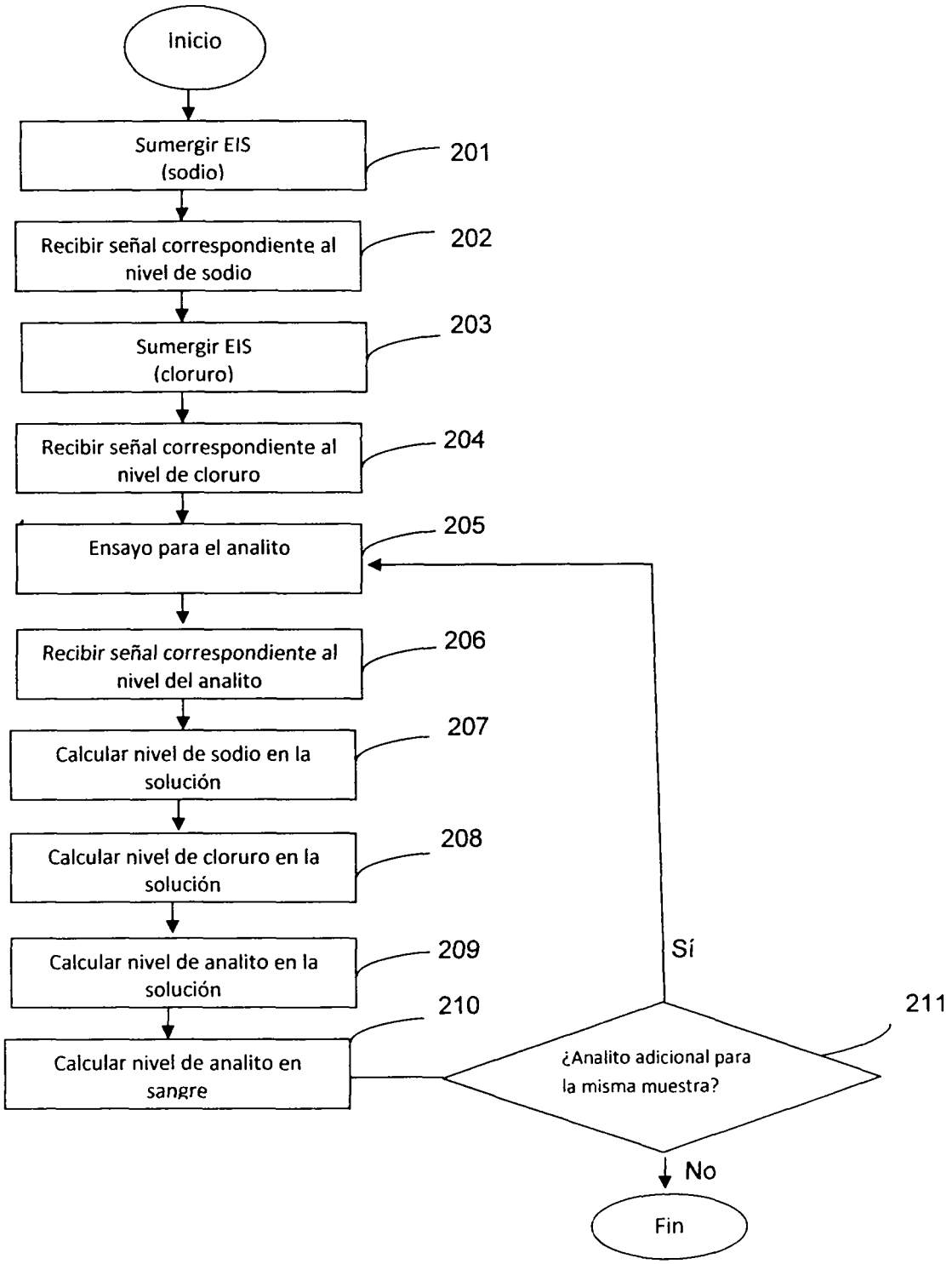

Inicio
Sumergir EIS (sodio)
201
Recibir señal correspondiente al nivel de sodio
202
Sumergir EIS (cloruro)
203
Recibir señal correspondiente al nivel de cloruro
204
Ensayo para el analito
205
Recibir señal correspondiente al nivel del analito
206
Calcular nivel de sodio en la solución
207
Calcular nivel de cloruro en la solución
208
Calcular nivel de analito en la solución
209
Calcular nivel de analito en sangre
210
¿Analito adicional para la misma muestra?
211
Sí
No
Fin

FIG. 3

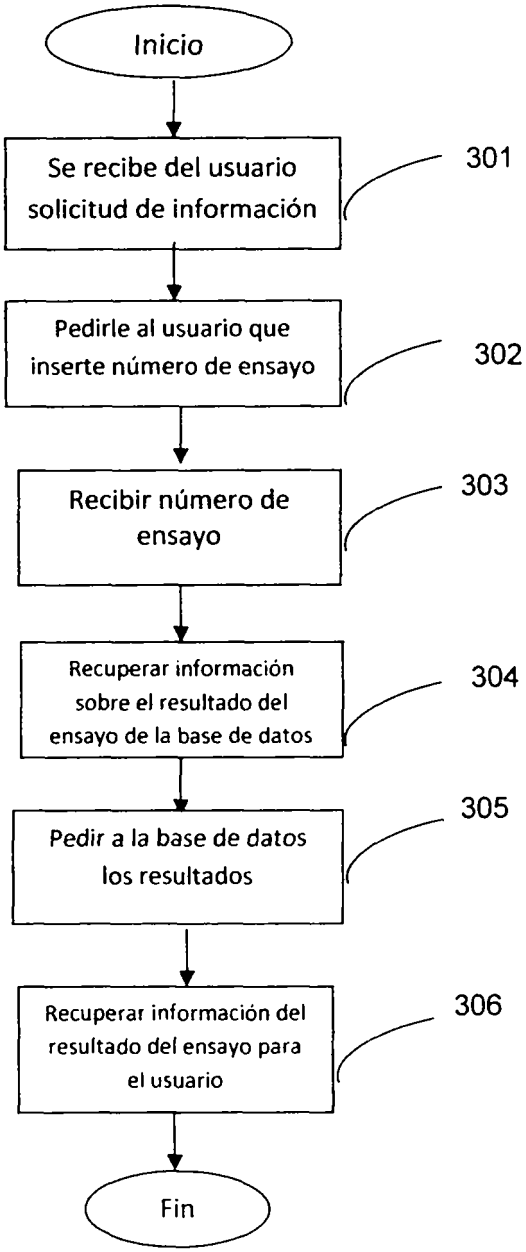

Inicio
Se recibe del usuario solicitud de información
301
Pedirle al usuario que inserte número de ensayo
302
Recibir número de ensayo
303
Recuperar información sobre el resultado del ensayo de la base de datos
304
Pedir a la base de datos los resultados
305
Recuperar información del resultado del ensayo para el usuario
306
Fin

FIG. 4

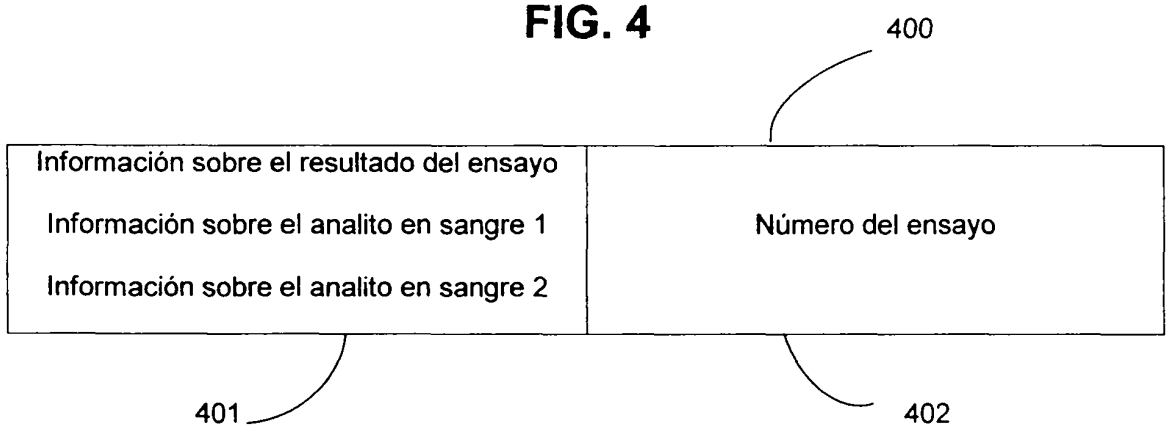

400
Información sobre el resultado del ensayo
Información sobre el analito en sangre 1
Información sobre el analito en sangre 2
Número del ensayo
401
402

FIG. 5

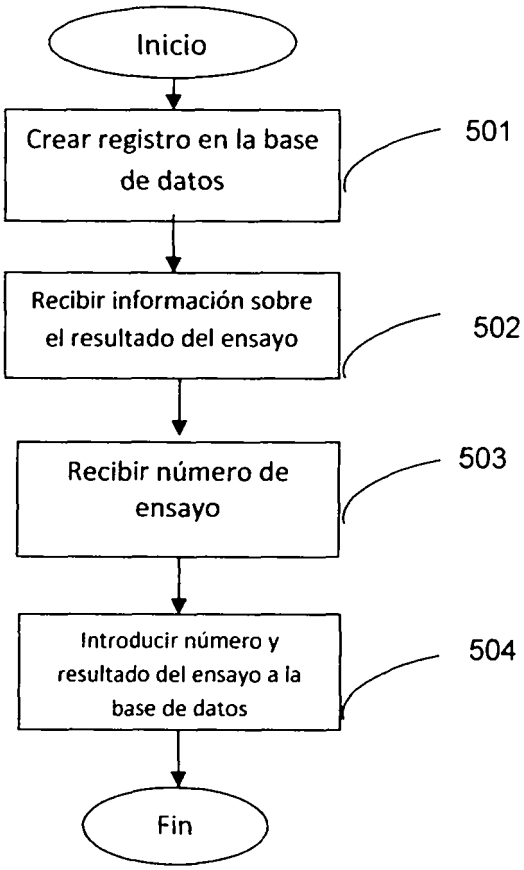

Inicio
Crear registro en la base de datos
501
Recibir información sobre el resultado del ensayo
502
Recibir número de ensayo
503
Introducir número y resultado del ensayo a la base de datos
504
Fin

FIG. 6

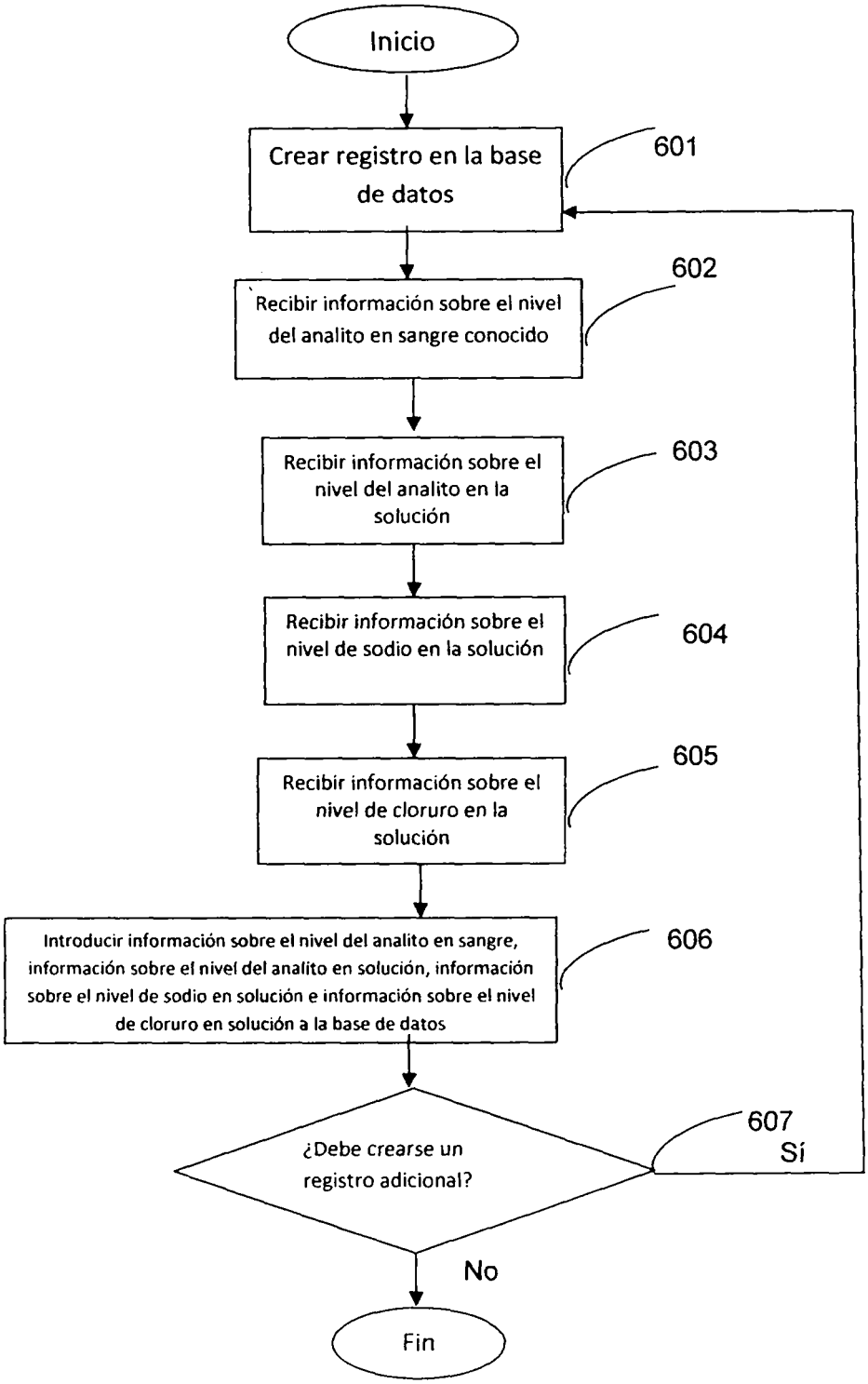

Inicio
Crear registro en la base de datos
601
Recibir información sobre el nivel del analito en sangre conocido
602
Recibir información sobre el nivel del analito en la solución
603
Recibir información sobre el nivel de sodio en la solución
604
Recibir información sobre el nivel de cloruro en la solución
605
Introducir información sobre el nivel del analito en sangre, información sobre el nivel del analito en solución, información sobre el nivel de sodio en solución e información sobre el nivel de cloruro en solución a la base de datos
606
¿Debe crearse un registro adicional?
607
Sí
No
Fin

FIG. 7

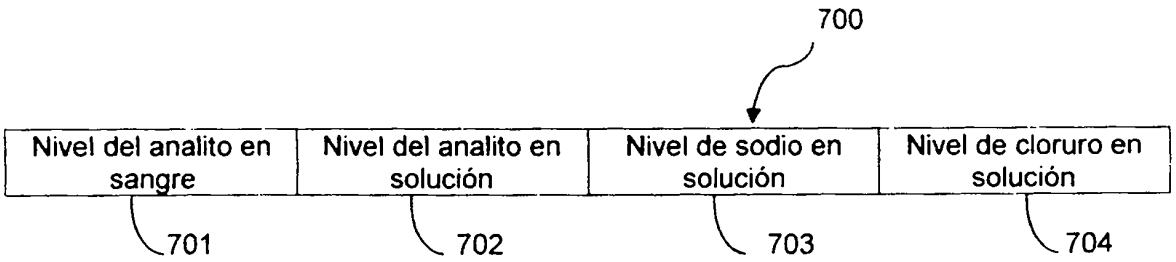

700
Nivel del analito en sangre
Nivel del analito en solución
Nivel de sodio en solución
Nivel de cloruro en solución
701
702
703
704

FIG. 8

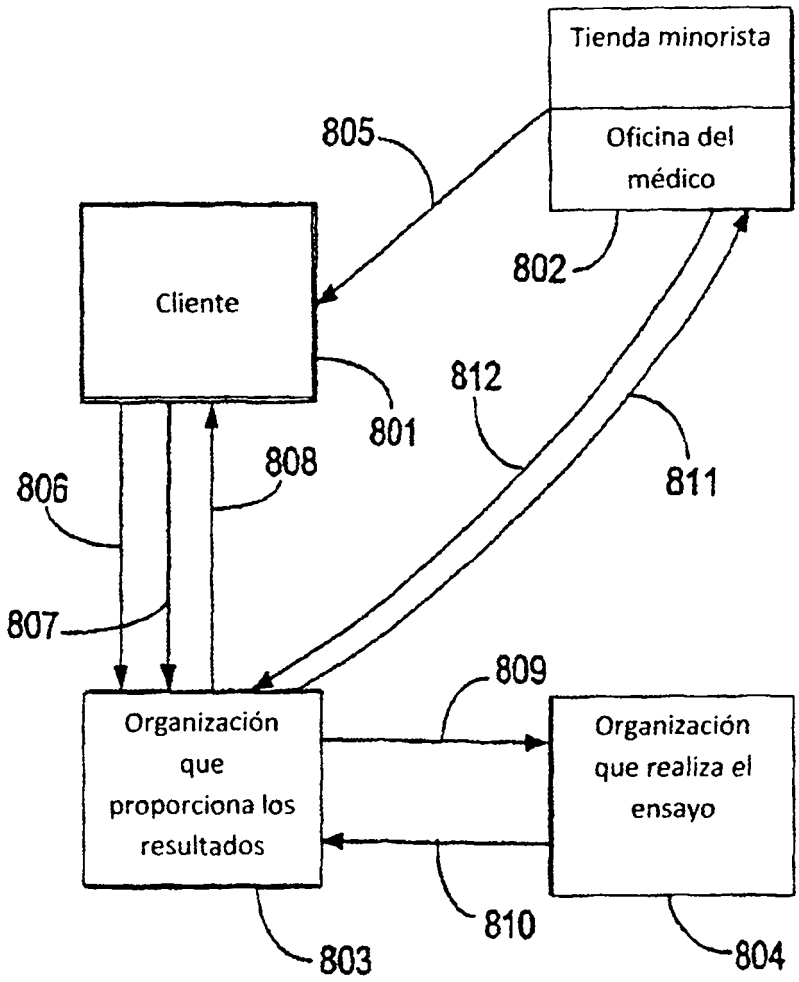

Tienda minorista
Oficina del médico
805
802
Cliente
801
812
811
808
806
807
809
Organización que proporciona los resultados
Organización que realiza el ensayo
810
803
804

FIG. 9

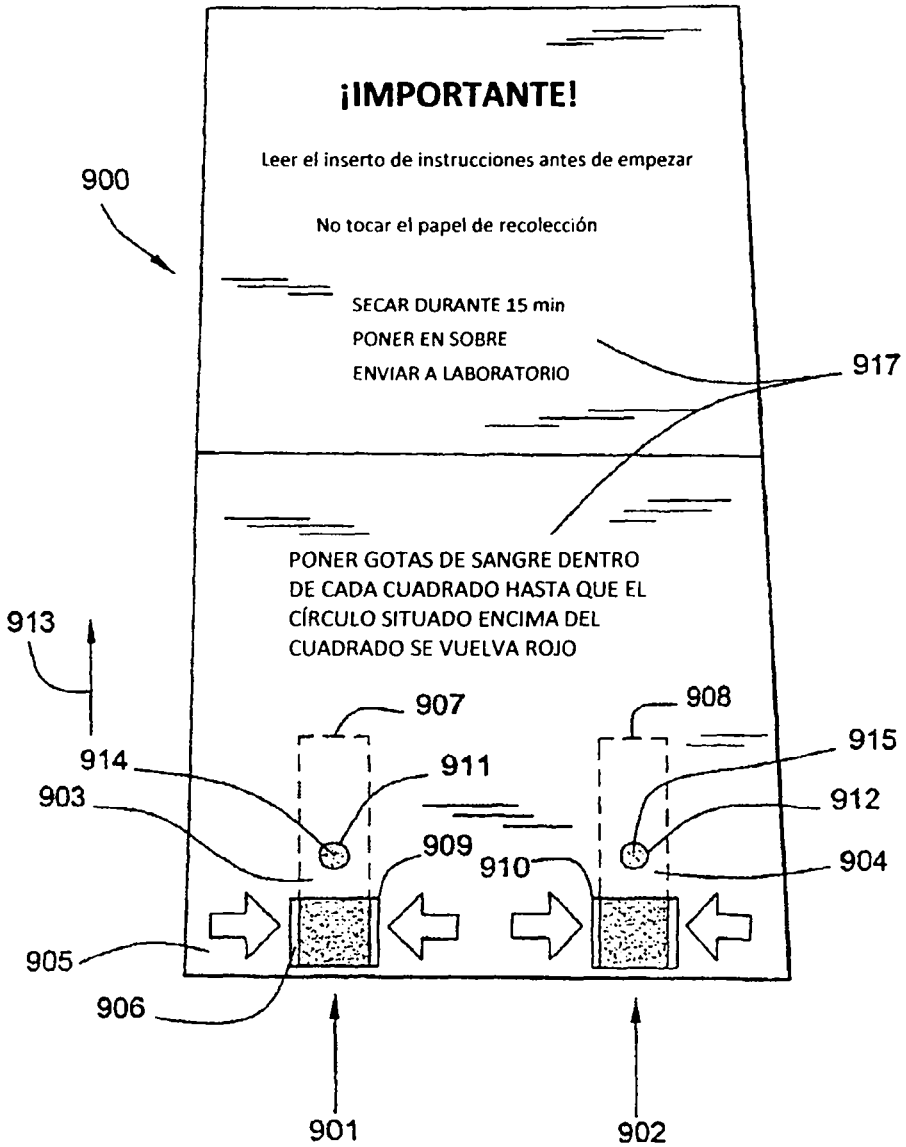
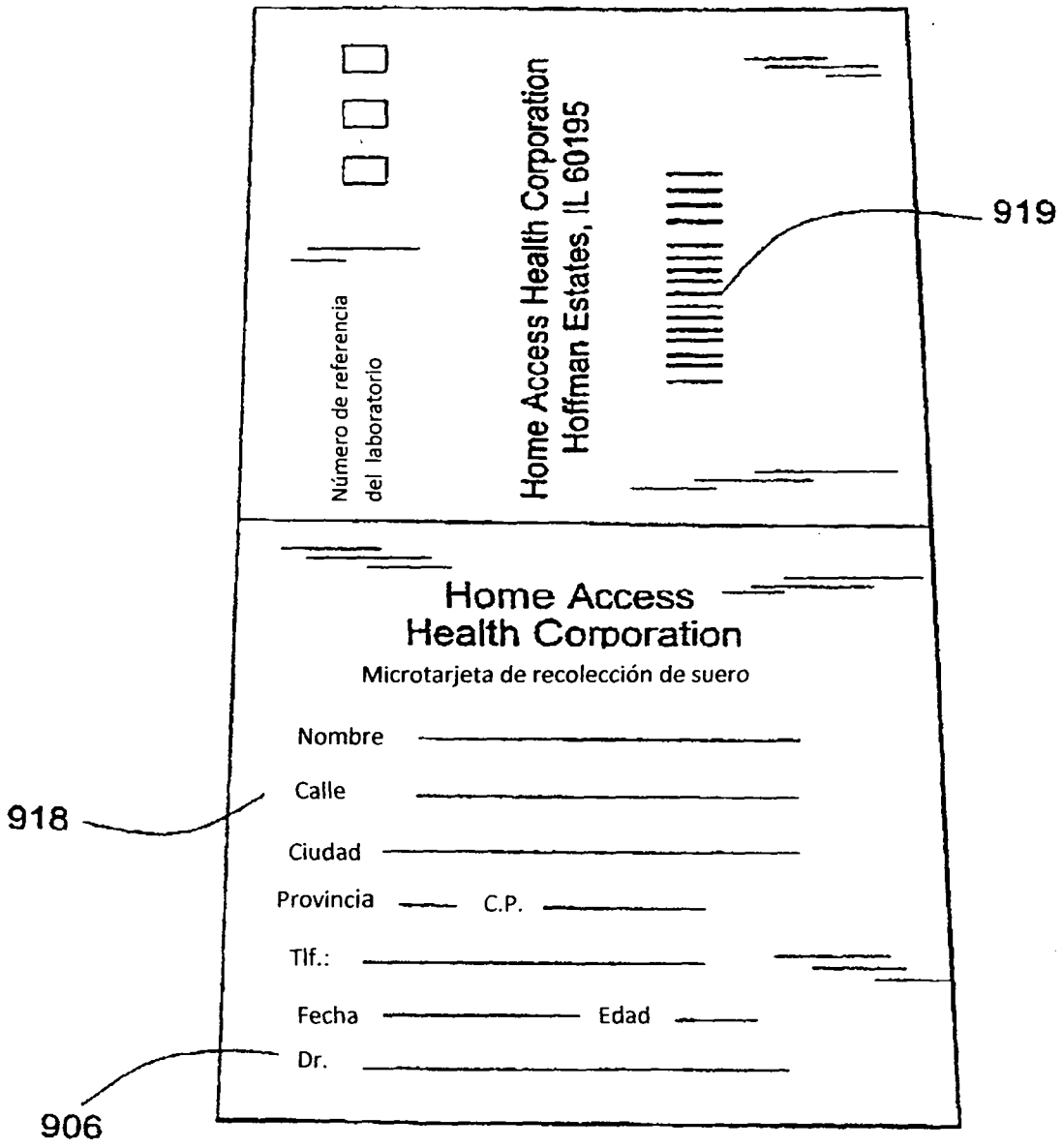

¡IMPORTANTE!
Leer el inserto de instrucciones antes de empezar
No tocar el papel de recolección
SECAR DURANTE 15 min
PONER EN SOBRE
ENVIAR A LABORATORIO
PONER GOTAS DE SANGRE DENTRO DE CADA CUADRADO HASTA QUE EL CÍRCULO SITUADO ENCIMA DEL CUADRADO SE VUELVA ROJO
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
917

FIG. 10


Home Access Health Corporation
Hoffman Estates, IL 60195
Número de referencia del laboratorio
919
Home Access
Health Corporation
Microtarjeta de recolección de suero
Nombre
Calle
Ciudad
Provincia
C.P.
Tlf.:
Fecha
Edad
Dr.
918
906