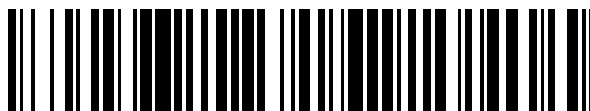


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 288**

51 Int. Cl.:
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 27/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07824026 .4**
96 Fecha de presentación: **05.10.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2080023**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.07.2009**

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR CONCENTRACIONES DE ANALITO CORREGIDAS CON HEMATOCRITO.**

30 Prioridad:
05.10.2006 US 850173 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.02.2012

73 Titular/es:
**LIFESCAN SCOTLAND LIMITED
BEECHWOOD BUSINESS PARK NORTH
INVERNESS
INVERNESS-SHIRE IV2 3ED, GB**

72 Inventor/es:
**BLYTHE, Stephen, Patrick;
CARDOSI, Marco, F.;
GILL, Andrew;
MILLS, Leanne y
LEACH, Christopher, Philip**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

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).

ES 2 375 288 T3

DESCRIPCIÓN

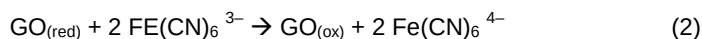
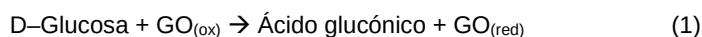
Procedimiento para determinar concentraciones de analito corregidas con hematocrito

1. Prioridad

5 La presente solicitud reivindica los beneficios de la prioridad bajo el artículo 119, título 35 del U. S. C. a partir de la solicitud provisional S. N. 60/850.173 presentada el 5 de octubre de 2006, titulada: "Procedimiento para determinar concentraciones de analito corregidas con hematocrito".

2. Antecedentes de la invención

10 Las tiras de prueba de glucosa electroquímica, tales como las que se usan en el kit de pruebas de sangre completa OneTouch® Ultra®, que se encuentra disponible a través de LifeScan, Inc., se diseñan para medir la concentración de glucosa en una muestra de sangre de pacientes con diabetes. La medición de la glucosa se basa en la oxidación específica de la glucosa por la flavo-enzima glucosa oxidasa. Las reacciones que pueden tener lugar en una tira de prueba de glucosa se resumen a continuación en las ecuaciones 1 y 2.



15 Tal como se muestra en la ecuación 1, la glucosa se oxida en ácido glucónico por la forma oxidada de la glucosa oxidasa ($\text{GO}_{(\text{ox})}$). Ha de observarse que también puede hacerse referencia a la $\text{GO}_{(\text{ox})}$ como una "enzima oxidada". Durante la reacción en la ecuación 1, la enzima oxidada $\text{GO}_{(\text{ox})}$ se convierte en su estado reducido que se indica como $\text{GO}_{(\text{red})}$ (es decir, "enzima reducida"). A continuación, la enzima reducida $\text{GO}_{(\text{red})}$ se vuelve a oxidar de vuelta a $\text{GO}_{(\text{ox})}$ mediante una reacción con $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (al que se hace referencia como o bien el mediador oxidado o bien ferrocianuro) tal como se muestra en la ecuación 2. Durante la regeneración de $\text{GO}_{(\text{red})}$ de vuelta a su estado oxidado $\text{GO}_{(\text{ox})}$, el $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ se reduce a $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ (al que se hace referencia como o bien el mediador reducido o bien ferrocianuro).

25 Cuando las reacciones que se han expuesto anteriormente se llevan a cabo aplicando un voltaje de prueba entre dos electrodos, una corriente de prueba puede crearse mediante la reoxidación electroquímica del mediador reducido en la superficie de electrodo. Por lo tanto, debido a que, en un entorno ideal, la cantidad de ferrocianuro que se crea durante la reacción química que se describe anteriormente es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra que se coloca entre los electrodos, la corriente de prueba generada sería proporcional al contenido de glucosa de la muestra. Un mediador, tal como el ferrocianuro, es un compuesto que acepta electrones a partir de una enzima tal como la glucosa oxidasa y a continuación dona los electrones a un electrodo. A medida que aumenta la concentración de glucosa en la muestra, la cantidad de mediador reducido formado también aumenta, de este modo, hay una relación directa entre la corriente de prueba que resulta de la reoxidación del mediador reducido y la concentración de glucosa. En particular, la transferencia de electrones a través de la superficie de contacto eléctrica da como resultado un flujo de corriente de prueba (2 moles de electrones por cada mol de glucosa que se oxida). Puede hacerse referencia a la corriente de prueba que resulta de la introducción de glucosa, por lo tanto, como una corriente de glucosa.

35 Debido a que puede ser muy importante conocer la concentración de glucosa en sangre, en particular en personas con diabetes, se han desarrollado unos medidores de prueba usando los principios que se han expuesto anteriormente para permitir que la persona promedio muestree y someta a prueba su sangre para determinar la concentración de glucosa en cualquier instante dado. La corriente de glucosa generada se supervisa por el medidor de prueba y se convierte en una lectura de la concentración de glucosa usando un algoritmo que relaciona la corriente de prueba con una concentración de glucosa a través de una fórmula matemática simple. En general, los medidores de prueba trabajan en conjunción con una tira de prueba desechable que incluye una cámara de recepción de muestras y al menos dos electrodos que se disponen en el interior de la cámara de recepción de muestras además de la enzima (por ejemplo, glucosa oxidasa) y el mediador (por ejemplo, ferrocianuro). Durante su uso, el usuario pincha su dedo u otro lugar conveniente para inducir un sangrado e introduce una muestra de sangre en la cámara de recepción de muestras, iniciando de este modo la reacción química que se ha expuesto anteriormente.

50 En términos electroquímicos, la función del medidor es doble. En primer lugar, proporciona un voltaje de polarización (de aproximadamente 0,4 V en el caso de OneTouch® Ultra®) que polariza la superficie de contacto eléctrica y permite el flujo de corriente en el electrodo de carbono de la superficie de trabajo. En segundo lugar, mide la corriente que fluye en el circuito externo entre el ánodo (el electrodo de trabajo) y el cátodo (el electrodo de referencia). Puede, por lo tanto, considerarse que el medidor de prueba es un sistema electroquímico simple que funciona en un modo de dos electrodos a pesar de que, en la práctica, pueden usarse unos electrodos tercero e incluso cuarto para facilitar la medición de la glucosa y/o realizar otras funciones en el medidor.

55 En la mayoría de las situaciones, se considera que la ecuación que se ha expuesto anteriormente es una aproximación suficiente de la reacción química que tiene lugar en la tira de prueba y que el medidor de prueba emite

como salida una representación suficientemente precisa del contenido de glucosa de la muestra de sangre. No obstante, en ciertas circunstancias y para ciertos fines, puede ser ventajoso mejorar la precisión de la medición. Por ejemplo, unas muestras de sangre que tienen un alto nivel de hematocrito o bajo nivel de hematocrito pueden dar lugar a que una medición de glucosa sea poco precisa.

5 Un nivel de hematocrito representa un porcentaje del volumen de una muestra de sangre completa ocupada por glóbulos rojos. El nivel de hematocrito puede también representarse como una fracción de glóbulos rojos presente en una muestra de sangre completa. En general, una muestra de sangre con contenido en hematocrito alto es más viscosa (hasta aproximadamente 10 centipoise a un 70 % de hematocrito) que una muestra de sangre con contenido en hematocrito bajo (aproximadamente 3 centipoise a un 20 % de hematocrito). Además, una muestra de sangre
10 con contenido en hematocrito alto tiene un contenido en oxígeno más alto que una sangre con contenido en hematocrito bajo debido al aumento concomitante en hemoglobina, que un portador para oxígeno. Por lo tanto, el nivel de hematocrito puede influir en la viscosidad y en el contenido en oxígeno de la sangre. Tal como se describirá posteriormente, tanto la viscosidad como el contenido en oxígeno puede cambiar la magnitud de la corriente de glucosa y a su vez dar lugar a que la concentración de glucosa sea poco precisa.

15 Una muestra de alta viscosidad (es decir, una muestra de sangre con contenido en hematocrito alto) puede dar lugar a que la corriente de prueba disminuya para una variedad de factores tal como una disminución en 1) la velocidad de disolución de la enzima y/o el mediador, 2) la velocidad de reacción de la enzima, y 3) la difusión de un mediador reducido hacia el electrodo de trabajo. Una disminución en la corriente que no esté basada en una disminución en la concentración de glucosa puede potencialmente dar lugar a que se mida una concentración de glucosa poco
20 precisa.

Una velocidad de disolución más lenta de la capa de reactivo puede ralentizar la reacción enzimática tal como se muestra en las ecuaciones 1 y 2 debido a que la enzima oxidada $GO_{(ox)}$ debe de disolverse en primer lugar antes de que ésta pueda reaccionar con la glucosa. De forma similar, el ferricianuro ($Fe(CN)_6^{3-}$) debe de disolverse en primer lugar antes de que éste pueda reaccionar con la enzima reducida $GO_{(red)}$. Si la enzima oxidada $GO_{(ox)}$ no disuelta no
25 puede oxidar la glucosa, entonces la enzima reducida $GO_{(red)}$ no puede producir el mediador reducido $Fe(CN)_6^{4-}$ que es necesario para generar la corriente de prueba. Además, la enzima oxidada $GO_{(ox)}$ reaccionará con la glucosa y el mediador oxidado $Fe(CN)_6^{3-}$ más lentamente si ésta se encuentra en una muestra de alta viscosidad como opuesto a una muestra de baja viscosidad. La más lenta velocidad de reacción con las muestras de alta viscosidad se atribuye a una disminución global en la difusión de masa. Tanto la enzima oxidada $GO_{(ox)}$ como la glucosa deben chocar e interactuar entre sí para que la reacción tenga lugar tal como se muestra en la ecuación 1. La capacidad de la enzima oxidada $GO_{(ox)}$ y glucosa para chocar e interactuar entre sí se ralentiza cuando éstas se encuentran una muestra viscosa. Aún más, el mediador reducido $Fe(CN)_6^{4-}$ se difundirá al electrodo de trabajo más lentamente cuando se disuelve en una muestra de alta viscosidad. Debido a que la corriente de prueba se limita típicamente por la difusión del mediador reducido $Fe(CN)_6^{4-}$ en el electrodo de trabajo, una muestra de alta viscosidad atenuará
35 también la corriente de prueba. En resumen, hay varios factores que dan lugar a que la corriente de prueba disminuya cuando la muestra tiene una viscosidad aumentada.

Un alto contenido en oxígeno puede también dar lugar a una disminución en la corriente de prueba. La enzima reducida ($GO_{(red)}$) puede reducir el oxígeno (O_2) a peróxido de hidrógeno tal como se muestra en la ecuación 3.



40 Tal como se indica anteriormente, la enzima reducida $GO_{(red)}$ puede reducir a ferrocianuro ($Fe(CN)_6^{4-}$) también el ferricianuro ($Fe(CN)_6^{3-}$) tal como se muestra en la ecuación 2. Por lo tanto, el oxígeno puede competir con el ferricianuro para reaccionar con la enzima reducida ($GO_{(red)}$). En otras palabras, la aparición de la reacción en la ecuación 3 dará lugar probablemente a una disminución en la velocidad de la reacción en la ecuación 2. Debido a una competición de este tipo entre el ferricianuro y el oxígeno, un contenido en oxígeno más alto dará lugar a que se produzca menos ferrocianuro. A su vez, una disminución en ferrocianuro daría lugar a una disminución en la magnitud de la corriente de prueba. Por lo tanto, un alto contenido en oxígeno muestra de sangre puede disminuir potencialmente la corriente de prueba y afectar a la precisión de la medición de glucosa.

Como tal, los solicitantes de la presente invención tienen un gran interés en el desarrollo de procedimientos que reduzcan los efectos del hematocrito en una medición de glucosa. En ciertos protocolos, una membrana de filtrado de sangre colada previamente que está separada de la capa de reactivo se ha empleado para eliminar glóbulos rojos y reducir de ese modo el efecto del hematocrito. La membrana de filtrado de sangre colada previamente que está separada de la capa de reactivo puede disponerse en el electrodo de trabajo. El uso de una membrana de filtrado de sangre colada previamente discreta es poco satisfactorio en que éste requiere una tira de prueba más compleja, un volumen de muestra aumentado, y un tiempo de prueba aumentado. La membrana de filtrado de
50 sangre retiene una cierta cantidad de sangre que no entra en contacto con los electrodos de trabajo lo que da lugar a una necesidad de una muestra de sangre más grande. Además, se necesita una cantidad finita de tiempo para que la sangre se filtre por la membrana dando lugar a un aumento en los tiempos de prueba globales. Por lo tanto, los solicitantes de la presente invención reconocen que sería ventajoso reducir los efectos del hematocrito sin usar una membrana de filtrado de sangre colada previamente que está separada de la capa de reactivo.

En la técnica anterior, el efecto del hematocrito puede reducirse aplicando múltiples voltajes de prueba tales como, por ejemplo, un voltaje de prueba sinusoidal. No obstante, aplicar un voltaje de prueba sinusoidal da como resultado un medidor de prueba más complejo y costoso. Además, el medidor de prueba necesita medir la corriente de pruebas de forma precisa y exacta en unos intervalos de tiempo predeterminados. Los componentes electrónicos pueden ser costosos y complicados para que un medidor de prueba aplique de forma precisa y exacta múltiples voltajes de prueba.

Los solicitantes de la presente invención observaron que sería ventajoso implementar un sistema que tuviera un medidor de prueba que aplicara sólo un voltaje de prueba y una tira de prueba que no usara una membrana colada previamente para reducir los efectos del hematocrito. El sistema usa en su lugar una tira de prueba que tiene un electrodo de trabajo con una pluralidad de microelectrodos formados sobre la misma. Más en particular, los solicitantes de la presente invención reconocen que sería ventajoso desarrollar un algoritmo que procesara matemáticamente la corriente de prueba recogida usando un voltaje de prueba de tal modo que puede determinarse una concentración precisa de glucosa que reduce los efectos del hematocrito.

Adicionalmente, los solicitantes de la presente invención han determinado que sería beneficioso proporcionar un mecanismo mediante el que el medidor de prueba puede diferenciar entre un fluido corporal, por ejemplo sangre completa, y una disolución de control. De forma similar, sería beneficioso proporcionar un procedimiento mediante el que un medidor de prueba puede determinar si una tira de prueba incluye una pluralidad de microelectrodos formados en un electrodo de trabajo.

Sumario de la invención

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para determinar una concentración de glucosa corregida con hematocrito. El procedimiento a modo de ejemplo incluye proporcionar una tira de prueba que tiene un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo, en la que el electrodo de trabajo incluye una pluralidad de microelectrodos y se recubre con al menos una enzima y un mediador. El procedimiento puede llevarse a cabo: proporcionando una tira de prueba que comprende un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo formado con una pluralidad de microelectrodos y recubierto con una capa de reactivo; aplicando una muestra de fluido a la tira de prueba durante un periodo de reacción; aplicando un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo; midiendo una corriente de prueba como una función del tiempo; midiendo un valor de corriente de estado estacionario cuando la corriente de prueba ha alcanzado un equilibrio; calculando una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario; trazando la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo; calculando un coeficiente de difusión efectiva a partir de la pendiente de la representación gráfica de regresión lineal de la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo; y calculando una concentración corregida con hematocrito del analito.

En otro aspecto de la presente invención, el procedimiento a modo de ejemplo incluye además unas etapas para distinguir entre un fluido corporal y una disolución de control. El procedimiento incluye comparar el valor calculado del coeficiente de difusión efectiva con respecto a un intervalo de aceptación para o bien un fluido corporal o bien una disolución de control, dependiendo de la muestra aplicada a la tira de prueba. Si el valor calculado no se encuentra dentro del intervalo de aceptación para el fluido corporal o la disolución de control, el medidor de prueba no permitirá que el usuario proceda con las pruebas y visualizará un mensaje de error adecuado.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento de determinación un tipo de muestra de fluido aplicada a la tira de prueba. El procedimiento puede llevarse a cabo: proporcionando una tira de prueba que tiene un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo, en la que el electrodo de trabajo se forma con una pluralidad de microelectrodos y se recubre con una capa de reactivo; aplicando una muestra de fluido a la tira de prueba durante un periodo de reacción; aplicando un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo; midiendo una corriente de prueba como una función del tiempo; midiendo un valor de corriente de estado estacionario cuando la corriente de prueba ha alcanzado un equilibrio; calculando una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario; trazando la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo; calculando un coeficiente de difusión efectiva a partir de la pendiente de la representación gráfica de regresión lineal de la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo; determinando un tipo de una muestra de fluido aplicada a la tira de prueba comparando un valor medido para el coeficiente de difusión efectiva frente a un intervalo de aceptación para un fluido corporal y una disolución de control; y visualizando un mensaje de error adecuado si el coeficiente de difusión efectiva no pasa el intervalo de aceptación para el tipo de muestra de fluido aplicada a la tira de prueba.

En aún otro aspecto de la presente invención, el procedimiento a modo de ejemplo incluye además unas etapas para determinar si una tira de prueba incluye una disposición de microelectrodos. El procedimiento incluye usar el coeficiente de difusión efectiva para calcular un coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura. El valor calculado para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura se compara a continuación con un intervalo de aceptación para una tira de prueba que incluye una pluralidad de microelectrodos. Si el valor calculado

se encuentra dentro del intervalo de aceptación para las tiras de prueba que tienen una pluralidad de microelectrodos, el usuario puede proceder con las pruebas. No obstante, si el valor calculado no se encuentra dentro del intervalo de aceptación para las tiras de prueba que tienen una pluralidad de microelectrodos, un mensaje de error adecuado se visualiza en el medidor de prueba y el medidor de prueba no permitirá que el usuario proceda con las pruebas.

Breve descripción de los dibujos

Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención se obtendrá por referencia a la siguiente descripción detallada que expone unas realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los que:

10 La figura 1 es una vista en perspectiva en despiece ordenado desde arriba de una tira de prueba sin montar de acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la presente invención;

La figura 2 es una vista desde arriba de la tira de prueba tal como se muestra en la figura 1 después de que ésta se ha montado;

15 Las figuras 3 a 7 son unas vistas desde arriba de una parte distal de una tira de prueba montada parcialmente de acuerdo con unas realizaciones a modo de ejemplo de la presente invención;

La figura 8 es una vista en sección transversal de la tira de prueba que se muestra en la figura 3 a través de una disposición de microelectrodos en un primer electrodo de trabajo de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

20 La figura 9 es una vista en sección transversal a través de una disposición de microelectrodos en un primer electrodo de trabajo de la figura 3 con unas capas adicionales recubiertas sobre una parte de aislamiento que incluye una capa de reactivo, unas almohadillas de adhesivo, y una parte hidrófila. La capa de reactivo se dispone en el lado distal de la parte hidrófila de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

25 La figura 10 es una vista en sección transversal a través de una disposición de microelectrodos en un primer electrodo de trabajo de la figura 3 con unas capas adicionales recubiertas sobre una parte de aislamiento que incluye una capa de reactivo, unas almohadillas de adhesivo, y una parte hidrófila. La capa de reactivo se dispone por encima de la parte de aislamiento de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

La figura 11 es una vista desde arriba cercana de la pluralidad de microelectrodos en el primer electrodo de trabajo de la tira de prueba que se muestra en la figura 3 de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

La figura 12 es una vista desde arriba de un medidor de prueba conectado a la tira de prueba de las figuras 1 y 2;

30 La figura 13 es una vista esquemática simplificada del medidor de prueba de la figura 12 formando una conexión eléctrica con la tira de prueba de las figuras 1 y 2;

Las figuras 14 y 15 son unas representaciones gráficas de un voltaje de prueba aplicado a un electrodo de trabajo de una tira de prueba de acuerdo con los procedimientos de la presente invención;

La figura 16 es una representación gráfica de una corriente como una función del tiempo (es decir, un transitorio de corriente-tiempo) para una muestra de fluido que se genera mediante un procedimiento;

35 La figura 17 es una representación gráfica de $\frac{I(t)}{I_{ss}}$ como una función de $\frac{1}{\sqrt{t}}$ que se genera mediante un procedimiento;

La figura 18 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento para determinar una concentración de analito corregida con hematocrito de la que informa un medidor de prueba de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

40 La figura 19 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento para determinar si un fluido corporal o una disolución de control se ha añadido a una tira de prueba de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

La figura 20 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento para determinar si una tira de prueba incluye una disposición de microelectrodos de acuerdo con una realización a modo de ejemplo;

45 La figura 21 es una representación gráfica que ilustra unos datos simulados que se usan para diferenciar entre una tira de prueba que incluye una disposición de microelectrodos y una tira de prueba que no incluye una disposición de microelectrodos, en la que la representación gráfica se genera mediante un procedimiento; y

Las figuras 22 y 23 son unas vistas en perspectiva y lateral, respectivamente, de un dispositivo médico que es adecuado para su uso en la presente invención.

Descripción detallada de las realizaciones a modo de ejemplo

La divulgación a continuación describe la medición de una concentración de glucosa en una muestra de sangre completa; no obstante, el experto reconocerá que la descripción se adapta fácilmente para medir las propiedades de otros analitos, tales como colesterol, cuerpos cetónicos o alcohol, y a otros fluidos tales como saliva, orina, fluido intersticial, o disoluciones de control de la tira de prueba.

Ha de entenderse adicionalmente que la presente invención no se limita sólo a la corrección de hematocrito y puede ser también aplicarse para la corrección del efecto de una viscosidad o un contenido en oxígeno variables en las muestras de fluido. Por ejemplo, las muestras de sangre completan pueden tener una alta viscosidad para una variedad de otras razones además de alto hematocrito lo que incluye una temperatura baja (por ejemplo, de aproximadamente 10 °C), una concentración de lípidos alta, y/o una concentración de proteínas alta.

Se entenderá aún más que la invención sería también aplicable para reducir los efectos a lo que da lugar el oxígeno y/o la viscosidad de los fluidos fisiológicos diferentes de la sangre. Por ejemplo, los fluidos fisiológicos pueden también incluir plasma, suero, fluido intersticial, y una combinación de los mismos. Ha de observarse que no es infrecuente que las muestras de fluido intersticial extraídas estén parcialmente mezcladas con sangre.

Las secciones describirán una realización de tira de prueba que puede usarse con un algoritmo de acuerdo con una realización para calcular una concentración de glucosa corregida con hematocrito. La figura 1 es una vista en perspectiva en despiece ordenado de una tira 100 de prueba, que incluye múltiples capas que se disponen sobre un sustrato 5. Estas capas pueden incluir una capa 50 conductora, una capa 16 de aislamiento, una capa 22 de reactivo, una capa 60 de adhesivo, una capa 70 hidrófila, y una capa 80 de arriba. La tira 100 de prueba puede manufacturarse en una serie de etapas en las que la capa 50 conductora, la capa 16 de aislamiento, la capa 22 de reactivo y la capa 60 de adhesivo se depositan de forma secuencial sobre el sustrato 5 usando, por ejemplo, un proceso de serigrafía tal como se describe en la publicación anterior a la concesión de los Estados Unidos con n.º US20050096409A1 y las solicitudes internacionales publicadas con n.ºs WO2004040948A1, WO2004040290A1, WO2004040287A1, WO2004040285A2, WO2004040005A1, WO2004039897A2, y WO2004039600A2. En una realización alternativa, un proceso de inyección de tinta puede usarse para depositar una capa 22 de reactivo sobre el sustrato 5. Un ejemplo de un proceso de inyección de tinta se describe en la patente de los Estados Unidos con n.º 6.179.979. La capa 70 hidrófila y la capa 80 de arriba pueden disponerse a partir de un material en rollo y laminarse sobre el sustrato 5. La tira 100 de prueba también incluye una parte 3 distal y una parte 4 proximal tal como se muestra en las figuras 1 y 2.

La tira 100 de prueba montada completamente, tal como se muestra en la figura 2, incluye una entrada 82 a través de la que una muestra de sangre puede introducirse en una cámara 84 de recepción de muestras. La entrada 82 puede formarse cortando a través de una parte 3 distal de la tira 100 de prueba. Una muestra 94 de sangre puede aplicarse a la entrada 82 para rellenar una cámara 84 de recepción de muestras de tal modo que la glucosa puede medirse, tal como se muestra en la figura 12. Cada uno de los bordes laterales de una primera almohadilla 24 de adhesivo y de una segunda almohadilla 26 de adhesivo que se encuentran adyacentes a la capa 22 de reactivo define una pared de la cámara 84 de recepción de muestras. Una parte de abajo o "piso" de la cámara 84 de recepción de muestras incluye una parte 5 de sustrato, la capa 50 conductora, y la capa 16 de aislamiento. Una parte de arriba o "techo" de la cámara 84 de recepción de muestras incluye una parte 32 hidrófila distal.

Para la tira 100 de prueba, tal como se muestra en la figura 1, la capa 50 conductora incluye un electrodo 10 de referencia, un primer electrodo 12 de trabajo, un segundo electrodo 14 de trabajo, un primer contacto 13, un segundo contacto 15, un contacto 11 de referencia, y una barra 17 de detección de tira. Los materiales adecuados que pueden usarse para la capa conductora son Au, Pd, Ir, Pt, Rh, acero inoxidable, óxido de estaño dopado, carbono, y similares. En una realización, el material para la capa conductora puede ser una tinta de carbono tal como las que se describen en la patente de los Estados Unidos 5.653.918. En otra realización, el material para la capa conductora puede ser un metal metalizado por bombardeo iónico tal como oro o paladio. Un patrón de ablación por láser puede formarse en la capa de metal metalizada por bombardeo iónico para formar una pluralidad de electrodos.

Para la tira 100 de prueba, la capa 16 de aislamiento incluye una primera abertura 18 que expone una parte del electrodo 10 de referencia, unos orificios 20 que exponen una parte del primer electrodo 12 de trabajo, y una segunda abertura 21 que expone una parte del segundo electrodo 14 de trabajo. Las partes del electrodo 10 de referencia, el primer electrodo 12 de trabajo y el segundo electrodo 14 de trabajo que se exponen mediante la primera abertura 18, los orificios 20 y la segunda abertura 21, respectivamente, pueden humedecerse mediante una muestra de líquido tal como se muestra en la figura 1. Los orificios 20 en la capa de aislamiento exponen una pluralidad de microelectrodos 120 tal como se describirá con referencia a las figuras 5 a 9. En una realización a modo de ejemplo, la capa 16 de aislamiento es la tinta Ercon E6110-116 Jet Black Insulayer™ que puede adquirirse a través de Ercon, Inc (Waltham, Massachusetts).

La capa 22 de reactivo puede disponerse en una parte de capa 50 conductora, el sustrato 5, y la capa 16 de aislamiento tal como se muestra en la figura 1. En una realización, la capa 22 de reactivo puede incluir una enzima, un mediador que reacciona de forma selectiva con la glucosa y un tampón para mantener un pH deseado. Los ejemplos de enzimas adecuados para su uso en la presente invención pueden incluir o bien glucosa oxidasa o bien glucosa deshidrogenasa. Más específicamente, la glucosa deshidrogenasa puede tener un cofactor pirroloquinolin-quinona (al que puede hacerse referencia abreviada como PQQ o a su nombre común que es metoxatina). Los ejemplos de un mediador adecuado para su uso en la presente invención pueden incluir o bien ferricianuro o hexamina de rutenio ($\text{Ru}^{\text{III}}(\text{NH}_3)_6$). Durante las reacciones tal como se muestra en las ecuaciones 1 y 2, puede generarse una cantidad de mediador reducido proporcional que se mide electroquímicamente para calcular una concentración de glucosa. Los ejemplos de tampones adecuados para su uso en la presente invención pueden incluir fosfato, citrato o citraconato. Pueden encontrarse ejemplos de formulaciones de reactivo o de tintas adecuadas para su uso en la presente invención en las patentes de los Estados Unidos 5.708.247 y 6.046.051 y en las solicitudes internacionales publicadas WO01/67099 y WO01/73124.

En una realización, la formulación puede incluir un tampón fosfato 200 milimolar que tiene un pH de aproximadamente 7 y un mediador de hexamina de rutenio. El pH de alrededor de 7 se eligió debido a que la glucosa oxidasa tiene una actividad lo suficientemente alta a este pH cuando se usa hexamina de rutenio como un mediador. En una realización, la formulación puede tener una actividad enzimática que varía desde aproximadamente 1.500 unidades/ml hasta aproximadamente 8.000 unidades/ml. El intervalo de actividad enzimática puede seleccionarse de tal modo que la corriente de glucosa no depende del nivel de actividad enzimática en la formulación a condición de que el nivel de actividad enzimática se encuentre dentro del nivel expuesto anteriormente. La actividad enzimática debería de ser lo suficientemente grande como para asegurar que la corriente de glucosa resultante no estará en función de unas variaciones pequeñas en la actividad enzimática. Por ejemplo, la corriente de glucosa dependerá de la cantidad de actividad enzimática en la formulación si la actividad enzimática es de menos de 1.500 unidades/ml. Por otro lado, para unos niveles de actividad enzimática superiores a 8.000 unidades/ml, pueden surgir problemas de solubilidad en los que la glucosa oxidasa no puede disolverse suficientemente en la formulación. La glucosa oxidasa puede adquirirse comercialmente a través de Biozyme Laboratories International Limited (San Diego, California, los Estados Unidos de América). La glucosa oxidasa puede tener una actividad enzimática de aproximadamente 250 unidades/mg en la que las unidades de actividad enzimática se basan en un ensayo de o-dianisidina con un pH 7 y 25 °C.

Opcionalmente, la capa 22 de reactivo incluye un material de matriz que ayuda a retener la capa 22 de reactivo en la superficie de capa 50 conductora en la presencia de la muestra de fluido. Los materiales de matriz útiles incluyen sílice tal como Cab-o-Sil® TS630 o Cab-o-Sil® 530 (Cabot Corporation, Boston, los Estados Unidos de América). A pesar de que no se desea estar limitado por ninguna teoría particular, se cree que la sílice forma una red de gel en la presencia de la muestra que mantiene de forma efectiva el recubrimiento en la superficie del electrodo. Otros materiales de matriz útiles incluyen materiales poliméricos tales como polietersulfonas, polímeros de ácidos acrílico y metacrílico; polímeros obtenidos a partir de almidón, celulosa y otros polisacáridos naturales; poliamidas y colágeno. Un ejemplo de una composición de recubrimiento útil se da a conocer en el ejemplo 1 de la patente de los Estados Unidos con número 5.708.247. La capa 22 de reactivo puede incluir también opcionalmente al menos un agente estabilizante tal como albúmina, sacarosa, trehalosa, manitol o lactosa, un agente tal como hidroxietilcelulosa para ajustar la viscosidad, un agente antiespumante tal como DC1500, y al menos un agente humectante tal como polivinilpirrolidona o acetato de polivinilo.

Para la tira 100 de prueba, la capa 60 de adhesivo incluye la primera almohadilla 24 de adhesivo, la segunda almohadilla 26 de adhesivo, y la tercera almohadilla de adhesivo 28 tal como se muestra en la figura 1. En una realización, la capa 60 de adhesivo puede comprender un adhesivo sensible a la presión de copolímero acrílico basado en agua, que se encuentra comercialmente disponible a través de Tape Specialties LTD (Tring, Herts, Reino Unido; parte n.º A6435). La capa 60 de adhesivo se dispone en una parte de la capa 16 de aislamiento, la capa 50 conductora, y el sustrato 5. La capa 60 de adhesivo une la capa 70 hidrófila a la tira 100 de prueba.

La capa 70 hidrófila incluye una parte 32 hidrófila distal y una parte proximal hidrófila 34. Como un ejemplo no limitante, la capa 70 hidrófila es un poliéster que tiene una superficie hidrófila tal como un recubrimiento antivaho que se encuentra comercialmente disponible a través de 3M.

Para la tira 100 de prueba, la capa 80 de arriba incluye una parte transparente 36 y una parte opaca 38 tal como se muestra en la figura 1. La capa 80 de arriba se dispone en y se adhiere a la capa 70 hidrófila. En una realización, la capa 80 de arriba es un poliéster. Ha de observarse que la parte transparente 36 se solapa sustancialmente a la parte 32 hidrófila distal lo que permite que un usuario confirme visualmente que la cámara 84 de recepción de muestras se ha llenado suficientemente. La parte opaca 38 ayuda a que el usuario observe un alto grado de contraste entre un fluido coloreado tal como, por ejemplo, sangre en el interior de la cámara 84 de recepción de muestras y la parte opaca 38 de la capa 80 de arriba.

La figura 3 muestra una vista desde arriba simplificada de un montaje parcial de una tira 100 de prueba que incluye un primer electrodo 12 de trabajo en la forma de una disposición 110 de microelectrodos de acuerdo con una realización a modo de ejemplo. En general, la disposición 110 de microelectrodos aumentará los efectos de la difusión radial que dan lugar a un aumento en la densidad corriente medida (la corriente por unidad de área del

electrodo de trabajo). La difusión radial hace referencia al flujo del mediador reducido que se difunde al primer electrodo 106 de trabajo de una forma no perpendicular con respecto a un plano del primer electrodo 106 de trabajo. Por el contrario, la difusión plana hace referencia al flujo del mediador reducido que se difunde al primer electrodo 106 de trabajo de una forma aproximadamente perpendicular con respecto a un plano del primer electrodo 106 de trabajo. Como resultado de la difusión radial aumentada, la aplicación de un voltaje de prueba de limitación para la disposición 110 de microelectrodos puede dar lugar a que una corriente de prueba consiga un valor de estado estacionario distinto de cero que es independiente del tiempo. Por el contrario, la aplicación de un voltaje de prueba de limitación a uno distinto de un microelectrodo dará como resultado una corriente de prueba que se aproxima a cero a medida que el tiempo prosigue. Debido a que el valor de estado estacionario es independiente del tiempo para una disposición 110 de microelectrodos, puede calcularse un coeficiente de difusión efectiva D del mediador en la muestra de sangre. A su vez, el coeficiente de difusión efectiva D puede usarse como una entrada a un algoritmo para reducir los efectos del hematocrito.

Haciendo referencia de nuevo a la figura 3, una parte 102 distal de la tira 100 de prueba incluye un electrodo 10 de referencia, un primer electrodo 12 de trabajo y un segundo electrodo 14 de trabajo. El primer electrodo 10 de trabajo se encuentra en la forma de una disposición 110 de microelectrodos que incluye una pluralidad de microelectrodos 120.

En otra realización que se muestra en la figura 4, una parte 202 distal de una tira 200 de prueba incluye un electrodo 204 de referencia, un primer electrodo 206 de trabajo y un segundo electrodo 208 de trabajo. La tira 200 de prueba se diferencia de la tira 100 de prueba en que un segundo electrodo 208 de trabajo incluye una disposición 210 de microelectrodos con una pluralidad de microelectrodos 220. En aún otra realización que se muestra en la figura 5, tanto un primer electrodo 306 de trabajo como un segundo electrodo 308 de trabajo incluyen una disposición de microelectrodos 310 con una pluralidad de microelectrodos 320.

Otra realización de una tira 400 de prueba que tiene una disposición 410 de microelectrodos se muestra en la figura 6. Una parte 402 distal de la tira 400 de prueba incluye un electrodo 404 de referencia, un electrodo 406 de trabajo y un electrodo 412 de detector de llenado. El electrodo 406 de trabajo se encuentra en la forma de una disposición 410 de microelectrodos que incluye una pluralidad de microelectrodos 420. La tira 400 de prueba se diferencia de la tira 100 de prueba en que el electrodo 406 de trabajo se encuentra aguas arriba del electrodo 404 de referencia y no incluye un segundo electrodo de trabajo. Tal como se muestra en la figura 6, el electrodo 406 de trabajo puede tener opcionalmente al menos el doble del área superficial que el electrodo 404 de referencia.

La figura 7 muestra aún otra realización de una tira 500 de prueba en la que la tira 500 de prueba incluye un electrodo 504 de referencia y un electrodo 506 de trabajo. En la presente realización, el electrodo 504 de referencia y el electrodo 506 de trabajo tienen un área superficial aproximadamente igual. El electrodo 506 de trabajo incluye una disposición de microelectrodos 510 y se encuentra aguas abajo con respecto al electrodo 504 de referencia con respecto al flujo de fluido en la tira 500 de prueba. La figura 7 también muestra un electrodo 512 de detector de llenado opcional.

Muchas de las capas de la tira 100 de prueba, tal como se muestra en la figura 1, pueden usarse para las tiras 100, 200, 300, 400 y 500 de prueba, tal como la capa 16 de aislamiento, la capa 22 de reactivo, la capa 60 de adhesivo, la capa 70 hidrófila, y la capa 80 de arriba.

La figura 8 es una vista en sección transversal a través de la disposición 110 de microelectrodos en el primer electrodo 106 de trabajo de la figura 3 que muestra que una parte 130 de aislamiento se dispone en el primer electrodo 106 de trabajo. En una realización a modo de ejemplo, la parte 130 de aislamiento es contigua a la capa 16 de aislamiento de la figura 1. Por lo tanto, en la presente realización, la parte 130 de aislamiento se imprime en la misma etapa que la impresión de la capa 16 de aislamiento. La realización de una ablación por láser de la parte 130 de aislamiento para formar los orificios 20 que exponen una pluralidad de microelectrodos 120 puede formar a continuación la disposición 110 de microelectrodos.

En otra realización, la parte 130 de aislamiento es un elemento separado de la capa 16 de aislamiento de la figura 1. En la presente realización, la parte 130 de aislamiento se dispone en el primer electrodo 106 de trabajo en una etapa separada de la impresión de la capa 16 de aislamiento. La parte 130 de aislamiento puede disponerse por encima de y unirse al primer electrodo 106 de trabajo mediante unos procesos tales como soldadura por ultrasonidos, serigrafía, o a través del uso de un adhesivo. En la presente realización, los orificios 20 en la parte 130 de aislamiento pueden formarse antes o después de que se adhiera la parte 130 de aislamiento al primer electrodo 106 de trabajo.

Las figuras 9 y 10 son unas vistas en sección transversal a través de la disposición 110 de microelectrodos en el primer electrodo 106 de trabajo de la figura 3 con unas capas adicionales que incluyen la capa 22 de reactivo, unas almohadillas 24 y 26 de adhesivo, y la parte 32 hidrófila. La capa 22 de reactivo puede disponerse en la parte 32 hidrófila distal tal como se muestra en la figura 9. En la presente realización, la capa 22 de reactivo es muy soluble, lo que asegura que cuando una muestra de fluido se aplica a la tira 100 de prueba, la capa 22 de reactivo se disuelve fácilmente y el mediador se difunde rápidamente a los microelectrodos 120. Alternativamente, la capa 22 de reactivo puede disponerse por encima de una parte 130 de aislamiento tal como se muestra en la figura 10. En la

presente realización, la capa 22 de reactivo puede ser insoluble debido a la proximidad inmediata de la capa 22 de reactivo a los microelectrodos 120. Las almohadillas 24 y 26 de adhesivo primera y segunda se aplican de una forma tal como para definir una altura de separación L entre la parte de aislante 130 y la capa 22 de reactivo (véase la figura 9) o entre la capa 22 de reactivo y la parte hidrófila distal (véase la figura 10). Las almohadillas de adhesivo primera y segunda 24 y 26 también definen una anchura W de la capa 22 de reactivo.

Para que la disposición 110 de microelectrodos tenga un efecto aumentado debido a la difusión radial, la parte 130 de aislamiento debería tener las dimensiones adecuadas. En un aspecto, la parte 130 de aislamiento puede incluir una altura H que es de entre aproximadamente 1 micrómetro y aproximadamente 6 micrómetros. Es necesario que la parte 130 de aislamiento sea lo suficientemente delgada como para permitir la difusión radial. Si la parte 130 de aislamiento es mucho más grande que 6 micrómetros, entonces la parte 130 de aislamiento interfiere con la difusión radial y realmente fomentaría la difusión plana.

En otro aspecto que se muestra en la figura 11, cada microelectrodo 120 debería de separarse lo suficientemente lejos de los demás como para evitar que un primer microelectrodo compita con un segundo microelectrodo adyacente para un mediador de oxidación. Cada microelectrodo 120 puede separarse una distancia B que varía desde aproximadamente 5 veces hasta aproximadamente 10 veces el diámetro del microelectrodo 120. En una realización tal como se muestra en la figura 10, cada microelectrodo 120 puede espaciarse uniformemente a lo largo de la totalidad de la parte 130 de aislamiento, en la que un microelectrodo puede tener seis microelectrodos colindantes que adoptan una forma hexagonal.

En aún otro aspecto, cada microelectrodo 120 debería de ser lo suficientemente pequeño de tal modo que la proporción de la corriente de prueba que se atribuye a la difusión radial es más grande que la proporción de la corriente de prueba que se atribuye a la difusión plana. El microelectrodo 120 puede tener una forma de disco con un diámetro A que varía desde aproximadamente 3 micrómetros hasta aproximadamente 20 micrómetros. En realizaciones alternativas, el microelectrodo 120 puede tener la forma de un cuadrado, un rectángulo, una elipse o un óvalo.

En otro aspecto, la disposición 110 de microelectrodos puede ser cualquier forma geométrica lo que incluye, pero que no se limita a, un círculo, un óvalo, un cuadrado o un rectángulo. Si tienen una forma rectangular, el área superficial es en general de entre aproximadamente 0,3 y aproximadamente 3 micrómetros cuadrados.

La figura 12 ilustra un medidor 600 de prueba adecuado para su conexión a la tira 100 de prueba. El medidor 600 de prueba incluye un visualizador 602, una carcasa 604, una pluralidad de botones 606 de interfaz de usuario, y un conector 608 de orificio de tira. El medidor 600 de prueba incluye además un conjunto de circuitos electrónico en el interior de la carcasa 604 tal como una memoria 620, un microprocesador 622, unos componentes electrónicos para aplicar un voltaje de prueba, y también para medir una pluralidad de valores de corriente de prueba. La parte 4 proximal de la tira 100 de prueba puede insertarse en el conector 608 de orificio de tira. El visualizador 102 puede emitir como salida una concentración de glucosa y usarse para mostrar una interfaz de usuario para instar a un usuario acerca de cómo realizar una prueba. La pluralidad de botones 606 de interfaz de usuario permite que un usuario accione el medidor 600 de prueba navegando a través del software de interfaz de usuario.

La figura 13 muestra un diagrama esquemático simplificado de un medidor 600 de prueba que funciona en conjunto con la tira 100 de prueba. El medidor 600 de prueba incluye un primer conector 612, un segundo conector 614, y un conector 610 de referencia que forman respectivamente una conexión eléctrica con el primer contacto 13, el segundo contacto 15, y el contacto 11 de referencia. Los tres conectores que se mencionan anteriormente son parte del conector 608 de orificio de tira. Cuando se realiza una prueba, una primera fuente 616 de voltaje de prueba puede aplicar un primer voltaje de prueba V_1 entre el primer electrodo 12 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. Como resultado del primer voltaje de prueba V_1 , el medidor 600 de prueba puede medir a continuación una primera corriente de prueba I_1 . De una forma similar, la segunda fuente 618 de voltaje de prueba aplica un segundo voltaje de prueba V_2 entre el segundo electrodo 14 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. Como resultado del segundo voltaje de prueba V_2 , el medidor 600 de prueba puede medir a continuación una segunda corriente de prueba I_2 . En una realización, el primer voltaje de prueba V_1 y el segundo voltaje de prueba V_2 pueden ser aproximadamente iguales, lo que permite que se realice dos veces una medición de glucosa, en la que se realiza una primera medición con el primer electrodo 12 de trabajo y se realiza una segunda medición con el segundo electrodo 14 de trabajo. El uso de dos mediciones de glucosa puede aumentar la precisión promediando los dos resultados entre sí. Para simplificar la descripción de las secciones siguientes, los algoritmos para determinar una concentración de glucosa corregida con hematocrito se describirá para sólo un electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. Debería de ser evidente para un experto en la técnica que la invención no debería de estar limitada al electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, sino que pueden también aplicarse múltiples electrodos de trabajo a la presente invención.

Los siguientes procedimientos describirán unos algoritmos que pueden aplicarse a microelectrodos y, más en particular, a unas disposiciones de microelectrodos, en las que la corriente de prueba consigue un valor de estado estacionario debido a una proporción de difusión radial más alta.

La figura 18 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento 700 que usa el medidor 600 de prueba para aplicar una corrección de hematocrito a una concentración de glucosa de acuerdo con

una realización a modo de ejemplo.

El procedimiento 700 incluye proporcionar una tira 100 de prueba con un electrodo 10 de referencia, un primer electrodo 12 de trabajo, un segundo electrodo 14 opcional y un medidor 600 de prueba, tal como se ha expuesto mediante la etapa 710. El primer electrodo 12 de trabajo incluye una pluralidad de microelectrodos 120 (es decir, la disposición 110 de microelectrodos) teniendo cada microelectrodo con forma de disco un diámetro de aproximadamente 3 micrómetros hasta aproximadamente 50 micrómetros y estando separado por de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 10 veces el diámetro del mismo. El electrodo 10 de referencia incluye un área superficial que es al menos igual al área superficial de la disposición 110 de microelectrodos.

La figura 14 es una representación gráfica de un voltaje de prueba que se aplica a la tira 100 de prueba de acuerdo con el procedimiento. Antes de que se aplique una muestra de fluido a la tira 100 de prueba, el medidor 600 de prueba se encuentra en un modo de detección de fluidos en el que un voltaje de prueba (que no se muestra) de aproximadamente 100 milivoltios hasta aproximadamente 600 milivoltios, típicamente de 400 milivoltios se aplica entre el primer electrodo 12 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. Tal como se ha expuesto en la etapa 720, la muestra de fluido se aplica a la tira 100 de prueba en t_0 y se permite que reaccione con la capa 22 de reactivo durante un periodo de reacción t_R . La presencia de una muestra en la zona de reacción de la tira 100 de prueba se determina midiendo la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo. Se determina que el comienzo de periodo de reacción t_R se inicia cuando la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo alcanza un valor deseado, típicamente de aproximadamente 0,150 nanoamperios (lo que no se muestra), punto en el que un voltaje de prueba de cero milivoltios se aplica entre el primer electrodo 12 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. El periodo de reacción t_R es típicamente de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 3 segundos y es más típicamente de aproximadamente 2,5 segundos. Después del periodo de reacción t_R , el voltaje de prueba en el procedimiento a modo de ejemplo se aplica a la tira 100 de prueba en t_1 durante un tiempo de prueba total t_T . En un procedimiento alternativo que se muestra en la figura 15, el periodo de reacción t_R se omite, de tal modo que el inicio de la prueba comienza tan pronto como fluye una corriente suficiente a través del primer electrodo 12 de trabajo.

Tal como se ha expuesto en la etapa 730, un voltaje de prueba de limitación de aproximadamente 100 milivoltios hasta aproximadamente 600 milivoltios, típicamente de 400 milivoltios, se aplica entre el electrodo 10 de referencia y el primer electrodo 12 de trabajo y se mide la corriente de prueba como una función del tiempo, tal como se ilustra en la figura 16. Obsérvese que la corriente de prueba se aproxima a un valor de estado estacionario de corriente a medida que el tiempo prosigue. Un valor de corriente de estado estacionario I_{ss} se mide cuando se obtiene un valor de corriente de equilibrio, tal como se ha expuesto mediante la etapa 740. El valor de corriente de estado estacionario I_{ss} en general se alcanza entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2 segundos después de que se aplique el voltaje de prueba a la tira 100 de prueba.

Tal como se ha expuesto en la etapa 750, la proporción de la corriente de prueba con respecto a un valor de

$$\frac{I(t)}{I_{ss}}$$
 corriente de estado estacionario I_{ss} se calcula a continuación para cada punto de tiempo en el que se mide la corriente de prueba. Para la disposición 110 de microelectrodos que tiene una pluralidad de microelectrodos 120 en forma de disco en la que se aplica un voltaje de prueba de limitación, la siguiente ecuación estima una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de estado estacionario de corriente:

$$\frac{I(t)}{I_{ss}} = 1 + \left(\frac{2r_d}{\pi\sqrt{\pi Dt}} \right) \quad (4)$$

En la que:

$I(t)$ es la corriente de prueba en microamperios, medida en el instante t ;
 I_{ss} es el valor de estado estacionario de corriente en microamperios;
 r_d es el radio del microelectrodo 120 en centímetros;
 t es el tiempo en segundos; y
 D es el coeficiente de difusión efectiva en unidades de centímetro²/segundo.

El coeficiente de difusión efectiva D tiene en cuenta la difusión del mediador en una muestra de sangre que tiene una capa de reactivo disuelta. En general, el coeficiente de difusión efectiva D debería de disminuir con el aumento en los niveles de hematocrito. Por lo tanto, el coeficiente de difusión efectiva D está en función del nivel de hematocrito y puede usarse en un algoritmo para disminuir los efectos del hematocrito. Lo siguiente describirá cómo calcular el coeficiente de difusión efectiva D y a continuación aplicar el coeficiente de difusión efectiva D para calcular una concentración de glucosa.

Usando la ecuación 4, el coeficiente de difusión efectiva D puede calcularse trazando los valores $\frac{I(t)}{I_{ss}}$ en el eje Y y

$$\frac{1}{\sqrt{t}}$$

en el eje X tal como se ilustra en la figura 17 y que se ha expuesto en la etapa 760. La pendiente resultante a partir de la parte lineal de la línea puede calcularse y convertirse a continuación y en el coeficiente de difusión efectiva D , tal como se ha expuesto en la etapa 770. En la práctica, la totalidad de los cálculos que se requieren para determinar el coeficiente de difusión efectiva D estaría programada con anterioridad en el medidor de prueba como un algoritmo. Una ventaja de este enfoque de determinar el coeficiente de difusión efectiva D es que el coeficiente de difusión efectiva D es independiente de la concentración de glucosa.

Tal como se ha expuesto en la etapa 780, el coeficiente de difusión efectiva D puede usarse con la ecuación 5 a continuación para estimar la concentración de mediador reducida C_{red} (por ejemplo, la concentración de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$).

$$C_{red} = \frac{I_s}{4nFD r_d} \quad (5)$$

En la que:

n es el número de electrones que se intercambian por molécula de mediador reducido;
 F es la constante de Faraday.

C_{red} puede usarse a continuación para estimar la concentración de glucosa corregida con hematocrito. Por ejemplo, puede generarse una curva de calibración, en la que el eje Y es C_{red} en la que C_{red} se calcula para unas muestras de sangre completa con un intervalo de concentraciones de glucosa y de hematocrito. El eje X es la concentración de glucosa de referencia G_{ref} de las mismas muestras de sangre completa tal como se mide en un analizador de glucosa de referencia. El punto de intersección de calibración puede sustraerse con respecto a C_{red} a continuación de una división que usa una pendiente de calibración para deparar la concentración de glucosa G_{ref} . En resumen, las ecuaciones 1 y 2 permiten que se calculen unas concentraciones de glucosa con un efecto reducido a partir del hematocrito cuando se usan unas disposiciones de microelectrodos tal como se ilustra en las figuras 3 a 7, lo que de este modo da como resultado una concentración más precisa de glucosa.

Por último, la concentración de analito corregida con hematocrito se visualiza en el medidor 600 de prueba, tal como se ha expuesto en la etapa 790.

La figura 19 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento 800 que se usa por el medidor 600 de prueba para establecer si una muestra de fluido es un fluido corporal (por ejemplo, sangre completa) o una disolución de control de acuerdo con una realización a modo de ejemplo. Una disolución de control se usa para asegurar que el medidor de prueba y la tira de prueba están funcionando de forma apropiada. En una realización, las concentraciones de analito para un fluido corporal se promedian a lo largo de un periodo del tiempo para evaluar la salud del paciente. Si una disolución de control valor se almacena en el medidor de prueba como una concentración de analito, la concentración de analito promedio para el fluido corporal será incorrecta. Por lo tanto, es ventajoso tener un procedimiento para distinguir entre un fluido corporal y una disolución de control.

El procedimiento 800 incluye proporcionar una tira 100 de prueba con un electrodo 10 de referencia, un primer electrodo 12 de trabajo, un segundo electrodo 14 opcional y un medidor 600 de prueba, tal como se ha expuesto mediante la etapa 810. El primer electrodo 12 de trabajo incluye una pluralidad de microelectrodos 120 (es decir, la disposición 110 de microelectrodos) teniendo cada microelectrodo con forma de disco un diámetro de aproximadamente 3 de hasta aproximadamente 50 micrómetros y estando separado por de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 10 veces el diámetro del mismo. El electrodo 10 de referencia incluye un área superficial que es al menos igual al área superficial de la disposición 110 de microelectrodos.

Tal como se ha expuesto en la etapa 820, la muestra de fluido se aplica a la tira 100 de prueba en t_0 y se permite que reaccione con la capa 22 de reactivo durante un periodo de reacción t_R (véase la figura 14). La presencia de una muestra en la zona de reacción de la tira 100 de prueba se determina midiendo la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo. El comienzo de periodo de reacción t_R se determina que se inicia cuando la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo alcanza un valor deseado, típicamente de aproximadamente 0,150 nanoamperios (lo que no se muestra), punto en el que un voltaje de prueba de entre aproximadamente - 50 milivoltios y aproximadamente + 50 milivoltios, típicamente de aproximadamente cero milivoltios, se aplica entre el primer electrodo 12 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. El periodo de reacción t_R es típicamente de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 3 segundos y es más típicamente de aproximadamente 2,5 segundos. Después del periodo de reacción t_R , el voltaje de prueba en el procedimiento a modo de ejemplo se aplica a la tira 100 de prueba en t_1 durante un tiempo de prueba total t_T . En un procedimiento alternativo que se muestra en la figura 15, el periodo de reacción t_R se omite, de tal modo que el inicio de la prueba comienza tan pronto como fluye una corriente suficiente a través del primer electrodo 12 de trabajo.

Tal como se ha expuesto en la etapa 830, un voltaje de prueba de limitación de aproximadamente 100 milivoltios

hasta aproximadamente 600 milivoltios, típicamente de 400 milivoltios, se aplica entre el electrodo 10 de referencia y el primer electrodo 12 de trabajo y se mide la corriente de prueba como una función del tiempo, tal como se ilustra en la figura 16. Un valor de corriente de estado estacionario I_{ss} se mide cuando se obtiene un valor de corriente de equilibrio, tal como se ha expuesto mediante la etapa 840. El valor de corriente de estado estacionario I_{ss} en general se alcanza entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2 segundos después de que se aplique el voltaje de prueba a la tira 100 de prueba.

Tal como se ha expuesto en la etapa 850, la proporción de la corriente de prueba con respecto a un valor de

$$\frac{I(t)}{I_{ss}}$$

corriente de estado estacionario se calcula a continuación para cada punto de tiempo en el que se mide la corriente de prueba. Para la disposición 110 de microelectrodos que tiene una pluralidad de microelectrodos 120 en forma de disco en la que se aplica un voltaje de prueba de limitación, la ecuación 4 anterior se usa para estimar una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de estado estacionario de corriente.

$$\frac{I(t)}{I_{ss}}$$

Usando la ecuación 4, el coeficiente de difusión efectiva D puede también calcularse trazando los valores en

$$\frac{1}{\sqrt{t}}$$

el eje Y y $\frac{1}{\sqrt{t}}$ en el eje X tal como se ilustra en la figura 17 y que se ha expuesto en la etapa 860. La pendiente resultante a partir de la parte lineal de la línea puede calcularse y convertirse a continuación y en el coeficiente de difusión efectiva D , tal como se ha expuesto en la etapa 870.

Tal como se ha expuesto en la etapa 880, el coeficiente de difusión efectiva D puede usarse con la ecuación 5 anterior para estimar la concentración de mediador reducida C_{red} (por ejemplo, la concentración de $Fe(CN)_6^{4-}$).

Para determinar el tipo de muestra de fluido (por ejemplo, el fluido corporal o la disolución de control) que se aplica a la tira 100 de prueba, el medidor 600 de prueba compara un valor medido para el coeficiente de difusión efectiva D con respecto a un intervalo de aceptación para el fluido corporal y un intervalo de aceptación para la disolución de control, tal como se ha expuesto mediante la etapa 880. Para sangre completa con un nivel de hematocrito de entre aproximadamente un 20 % y aproximadamente un 70 %, el coeficiente de difusión efectiva D es típicamente de entre aproximadamente $0,7 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo y aproximadamente $2,7 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo. El coeficiente de difusión efectiva D para la disolución de control típicamente es de entre aproximadamente $4,0 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo y aproximadamente $7,2 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo.

Finalmente, el medidor 600 de prueba visualiza un mensaje de error adecuado si la muestra de fluido no se encuentra en el intervalo de aceptación para el fluido corporal o la disolución de control, dependiendo de qué tipo de muestra de fluido se ha aplicado a la tira 100 de prueba, o permite que el usuario proceda con las pruebas, tal como se ha expuesto mediante la etapa 890.

El coeficiente de difusión estimado efectivo D puede también usarse para distinguir entre las tiras 100 de prueba que incluyen los microelectrodos 120 y las que no incluyen los microelectrodos 120. El coeficiente de difusión estimado efectivo d puede también usarse para determinar si la capa 22 de reactivo se ha formulado o recubierto de forma incorrecta. La figura 20 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un procedimiento 900 que se usa por un medidor de prueba para determinar si una tira 100 de prueba incluye una pluralidad de microelectrodos 120 e incluye una capa 22 de reactivo que se ha formulado y recubierto de forma correcta de acuerdo con una realización a modo de ejemplo.

El procedimiento 900 incluye proporcionar una tira 100 de prueba con un electrodo 10 de referencia, un primer electrodo 12 de trabajo, un segundo electrodo 14 opcional y un medidor 600 de prueba, tal como se ha expuesto mediante la etapa 910. El primer electrodo 12 de trabajo incluye una pluralidad de microelectrodos 120 (es decir, una disposición 110 de microelectrodos), teniendo cada microelectrodo 120 un diámetro de entre aproximadamente 3 micrómetros y aproximadamente 50 micrómetros y estando separado por de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 10 veces el diámetro del mismo. El electrodo 10 de referencia incluye un área superficial que es al menos igual al área superficial de la disposición 110 de microelectrodos.

Tal como se ha expuesto en la etapa 920, la muestra de fluido se aplica a la tira 100 de prueba en t_0 y se permite que reaccione con la capa 22 de reactivo durante un periodo de reacción t_R (véase la figura 14). La presencia de una muestra en la zona de reacción de la tira 100 de prueba se determina midiendo la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo. Se determina que el comienzo de periodo de reacción t_R se inicia cuando la corriente que fluye a través del primer electrodo 12 de trabajo alcanza un valor deseado, típicamente de aproximadamente 0,150 nanoamperios (lo que no se muestra), punto en el que un voltaje de prueba de cero milivoltios se aplica entre el primer electrodo 12 de trabajo y el electrodo 10 de referencia. El periodo de reacción t_R es típicamente de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 3 segundos y es más típicamente de aproximadamente 2,5 segundos.

Después del periodo de reacción t_R , el voltaje de prueba en el procedimiento a modo de ejemplo se aplica a la tira 100 de prueba en t_1 durante un tiempo de prueba total t_T . En un procedimiento alternativo que se muestra en la figura 15, el periodo de reacción t_R se omite, de tal modo que el inicio de la prueba comienza tan pronto como fluye una corriente suficiente a través del primer electrodo 12 de trabajo.

- 5 Tal como se ha expuesto en la etapa 930, un voltaje de prueba de limitación de aproximadamente 100 milivoltios hasta aproximadamente 600 milivoltios, típicamente de 400 milivoltios, se aplica entre el electrodo 10 de referencia y el primer electrodo 12 de trabajo y se mide la corriente de prueba como una función del tiempo, tal como se ilustra en la figura 16. Un valor de corriente de estado estacionario I_{ss} se mide cuando se obtiene un valor de corriente de equilibrio, tal como se ha expuesto mediante la etapa 940. El valor de corriente de estado estacionario I_{ss} en general se alcanza entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2 segundos después de que se aplique el voltaje de prueba a la tira 100 de prueba.

Tal como se ha expuesto en la etapa 950, la proporción de la corriente de prueba con respecto a un valor de

$$\frac{I(t)}{I_{ss}}$$

corriente de estado estacionario I_{ss} se calcula a continuación para cada punto de tiempo en que se mide la corriente de prueba. Para la disposición 110 de microelectrodos que tiene una pluralidad de microelectrodos 120 en forma de disco en la que se aplica un voltaje de prueba de limitación, la ecuación 4 anterior se usa para estimar una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de estado estacionario de corriente.

$$\frac{I(t)}{I_{ss}}$$

Usando la ecuación 4, el coeficiente de difusión efectiva D puede calcularse trazando los valores $\frac{1}{\sqrt{t}}$ en el eje Y y

$$\frac{1}{\sqrt{t}}$$

en el eje X tal como se ilustra en la figura 17 y que se ha expuesto en la etapa 960. La pendiente resultante a partir de la parte lineal de la línea puede calcularse y convertirse a continuación y en el coeficiente de difusión efectiva D , tal como se ha expuesto en la etapa 970.

A continuación, tal como se ha expuesto mediante la etapa 980, un coeficiente de difusión corregido en temperatura $\tilde{D}$ se calcula sustituyendo coeficiente de difusión efectiva D en la ecuación 6 a continuación que aproxima la difusión en función de la temperatura en un gel.

$$\tilde{D} = D \exp \left\{ \theta \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right\} \quad (6)$$

- 25 En la que:

$\tilde{D}$ es el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura en centímetro²/segundo;
 D es el coeficiente de difusión estimado efectivo en centímetro²/segundo;
 θ es una constante conocida para la difusión en función de la temperatura;
 T es la temperatura en Kelvin de la muestra de fluido tal como se mide por el medidor de prueba y en general es de entre aproximadamente 283 K y aproximadamente 317 K; y
 T_0 es una temperatura de referencia (por ejemplo, la temperatura ambiente) en Kelvin. T_0 varía entre aproximadamente 293 Kelvin y aproximadamente 298 Kelvin.

A continuación, el medidor 600 de prueba determina si la tira 100 de prueba incluye una disposición 110 de microelectrodos y una capa 22 de reactivo formulada y recubierta de forma correcta comparando un valor calculado de coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ frente a un intervalo de aceptación, tal como se ha expuesto mediante la etapa 990. El coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ es típicamente de aproximadamente $1,8 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo y normalmente es de entre aproximadamente $1,6 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo y $2,0 \times 10^{-6}$ centímetros²/segundo.

Finalmente, si el valor calculado para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ se encuentra dentro del intervalo de aceptación, se permite que el usuario proceda con las pruebas. Si, no obstante, el valor calculado para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ se encuentra fuera del intervalo de aceptación, el medidor 600 de prueba visualiza un mensaje de error adecuado (por ejemplo, no se reconoció la tira de prueba) para el usuario, tal como se ha expuesto mediante la etapa 995.

La figura 21 es una representación gráfica que ilustra unos valores simulados para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ para las tiras 100 de prueba que incluyen una disposición 110 de microelectrodos y las que no incluyen una disposición 110 de microelectrodos. La punta de flecha M indica un intervalo adecuado de valores para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ para la tira 100 de prueba que incluye una disposición 110 de microelectrodos. Los valores para el coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura $\tilde{D}$ de las tiras de prueba que no incluyen una disposición 110 de microelectrodos se encontraría fuera de la punta de flecha M tal como se indica por las puntas de flecha N1 y N2 en esta representación gráfica.

Las figuras 22 y 23 son unas vistas en perspectiva y lateral, respectivamente, de un dispositivo 1000 médico integrado que puede incluir una pluralidad de microelectrodos 120 de acuerdo con las realizaciones a modo de ejemplo. El dispositivo 1000 médico integrado incluye una tira 1004 de prueba y un elemento 1002 de penetración de tejido dérmico. La tira 1004 de prueba tiene un área 1005 de reacción que está compuesto por la capa 22 de reactivo recubierta en el electrodo de referencia y uno o más electrodos de trabajo (que no se muestran). Los contactos 1006 eléctricos aparecen en un extremo 1010 proximal del dispositivo 1000 médico integrado y están formados por cualquier material conductor adecuado, tal como oro, plata, platino o carbono. El elemento 1002 de penetración de tejido dérmico incluye una lanceta 1020 adaptada para perforar la piel de un usuario y extraer sangre al interior del área 1005 de reacción. El elemento 1002 de penetración de tejido dérmico se adhiere a la tira 100 de prueba por una capa 1014 de adhesivo. Esta capa 1014 de adhesivo puede ser un adhesivo sensible a la presión o termosellado. La lanceta 1020 incluye una base 1022 de lanceta que termina en el extremo 1012 distal de la tira de prueba montada. Unas descripciones adicionales de los dispositivos médicos integrados que pueden usarse con la presente invención se encuentran en la solicitud de patente de los Estados Unidos con n.º 10/432.827 (publicada como 2004/0096959 el 20 de mayo de 2004) y en la solicitud de patente de los Estados Unidos con n.º 10/143.399 (publicada como 2003/0143113 el 31 de julio de 2003).

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de cálculo de una concentración de glucosa corregida con hematocrito en una muestra de fluido, comprendiendo el procedimiento:

- 5 proporcionar una tira de prueba que comprende un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo formado con una pluralidad de microelectrodos y recubierto con una capa de reactivo;
 aplicar una muestra de fluido a la tira de prueba durante un periodo de reacción;
 aplicar un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo;
 medir una corriente de prueba como una función del tiempo;
 medir un valor de corriente de estado estacionario cuando la corriente de prueba ha alcanzado un equilibrio;
 10 calcular una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario;
 trazar la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo;
 calcular un coeficiente de difusión efectiva a partir de la pendiente de la representación gráfica de regresión lineal de la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario
 15 como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo; y
 calcular una concentración corregida con hematocrito del analito.

2. Un procedimiento de determinación un tipo de muestra de fluido aplicada a la tira de prueba, comprendiendo el procedimiento:

- 20 proporcionar una tira de prueba que tiene un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo, en la que el electrodo de trabajo se forma con una pluralidad de microelectrodos y se recubre con una capa de reactivo;
 aplicar una muestra de fluido a la tira de prueba durante un periodo de reacción;
 aplicar un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo;
 medir una corriente de prueba como una función del tiempo;
 medir un valor de corriente de estado estacionario cuando la corriente de prueba ha alcanzado un
 25 equilibrio;
 calcular una proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario;
 trazar la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo;
 calcular un coeficiente de difusión efectiva a partir de la pendiente de la representación gráfica de regresión lineal de la proporción de la corriente de prueba con respecto al valor de corriente de estado estacionario
 30 como una función de la inversa de la raíz cuadrada del tiempo;
 determinar un tipo de una muestra de fluido aplicada a la tira de prueba comparando un valor medido para el coeficiente de difusión efectiva frente a un intervalo de aceptación para un fluido corporal y una disolución de control; y
 35 visualizar un mensaje de error adecuado si el coeficiente de difusión efectiva no pasa el intervalo de aceptación para el tipo de muestra de fluido aplicada a la tira de prueba.

3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en la que la etapa de cálculo del coeficiente de difusión efectiva utiliza una ecuación de la forma:

$$\frac{I(t)}{I_{ss}} = 1 + \left(\frac{2r_d}{\pi \sqrt{\pi D t}} \right)$$

40 en la que:

$I(t)$ es el valor de corriente en microamperios, medida en el instante t ;
 I_{ss} es la corriente de estado estacionario en microamperios;
 r_d es el radio de un microelectrodo en centímetros; y
 t es el tiempo en segundos.

45 4. El procedimiento de la reivindicación 3, en la que la etapa de cálculo de una concentración corregida con hematocrito del analito comprende además:

sustituir el coeficiente de difusión estimado en una ecuación de la forma:

$$C_{red} = \frac{I_s}{4nFD r_d}$$

en la que:

- 50 C_{red} es una concentración de mediador reducida;
 I_{ss} es la corriente de estado estacionario en microamperios;
 n es el número de electrones que se intercambian por ión que se somete a una reacción de oxidación/reducción;

F es la constante de Faraday;

D es el coeficiente de difusión estimado en cm^2/s ; y

r_d es el radio del microelectrodo en centímetros;

5 generar una curva de calibración en la que un eje Y es la concentración de mediador reducida y un eje X es una concentración de analito de referencia;
calcular una concentración de analito sustrayendo un punto de intersección de calibración con respecto a la concentración de mediador reducida y dividir con una pendiente de calibración.

10 5. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en la que la tira de prueba comprende además una parte de aislamiento que se dispone en la pluralidad de microelectrodos y la parte de aislamiento tiene una altura de entre aproximadamente un micrómetro y seis micrómetros.

6. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo están compuestos por oro.

7. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en la que la capa de reactivo comprende una enzima, un mediador y un agente de tamponamiento en la que el mediador comprende hexamina de rutenio (III).

15 8. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el diámetro de cada uno de la pluralidad de microelectrodos es de entre aproximadamente 5 micrómetros y 50 micrómetros.

9. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que cada uno de la pluralidad de microelectrodos se separa por una distancia que varía desde aproximadamente 5 a 10 veces el diámetro de un microelectrodo o que varía desde aproximadamente 25 micrómetros hasta 500 micrómetros.

20 10. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que la forma de cada uno de la pluralidad de microelectrodos se selecciona de un grupo que consiste esencialmente en un círculo, un cuadrado, un rectángulo, un óvalo y una elipse y combinaciones de las mismas.

11. Un sistema que comprende:

25 una tira de prueba que tiene un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo, en la que el electrodo de trabajo se forma con una pluralidad de microelectrodos y se recubre con una capa de reactivo, y un medidor de prueba que comprende:

un circuito electrónico para aplicar un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo; y

30 un procesador de señal para medir una corriente de prueba y para calcular un coeficiente de difusión efectiva.

12. El sistema de la reivindicación 11, en el que la tira de prueba comprende además una parte de aislamiento que se dispone en la pluralidad de microelectrodos y la parte de aislamiento tiene una altura de entre aproximadamente un micrómetro y seis micrómetros.

13. El sistema de la reivindicación 11, en el que el coeficiente de difusión efectiva se calcula a partir de la pendiente

35 de la representación gráfica de regresión lineal de $\frac{I(t)}{I_{ss}}$ frente a $\frac{1}{\sqrt{t}}$ en base a una ecuación de la forma:

$$\frac{I(t)}{I_{ss}} = 1 + \left(\frac{2r_d}{\pi\sqrt{\pi Dt}} \right)$$

en la que:

$I(t)$ es la corriente de prueba en microamperios, medida en el instante t ;

I_{ss} es la corriente de estado estacionario en microamperios;

40 r_d es el radio de un microelectrodo en centímetros; y

t es el tiempo en segundos.

14. El sistema de la reivindicación 13, en el que una concentración de glucosa corregida con hematocrito se calcula usando el coeficiente de difusión estimado y una ecuación de la forma:

$$C_{\text{red}} = \frac{I_s}{4nFD r_d}$$

45 en la que:

C_{red} es una concentración de mediador reducida;

I_{ss} es la corriente de estado estacionario en microamperios;

n es el número de electrones que se intercambian por ión que se somete a una reacción de oxidación/reducción;

F es la constante de Faraday;

D es un coeficiente de difusión estimado en centímetro²/segundo; y

r_d es el radio del microelectrodo en centímetros.

15. El sistema de la reivindicación 14, en el que un coeficiente de difusión efectiva se usa para discriminar entre una muestra de fluido de sangre completa y una muestra de fluido de disolución de control comparando el coeficiente de difusión efectiva con un intervalo de aceptación para sangre completa y un intervalo de aceptación para la disolución de control y el coeficiente de difusión efectiva se usa para determinar si una tira de prueba se forma con una pluralidad de microelectrodos sustituyendo el coeficiente de difusión efectiva en una ecuación de la forma:

$$\tilde{D} = D \exp \left\{ \theta \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right\}$$

En la que:

$\tilde{D}$ es un coeficiente de difusión efectiva corregido en temperatura en centímetro²/segundo;

D es un coeficiente de difusión estimado efectivo en centímetro²/segundo;

θ es una constante conocida para la difusión en función de la temperatura;

T es la temperatura en Kelvin de la muestra de fluido tal como se mide por el medidor de prueba; y

T_0 es una temperatura de referencia en Kelvin.

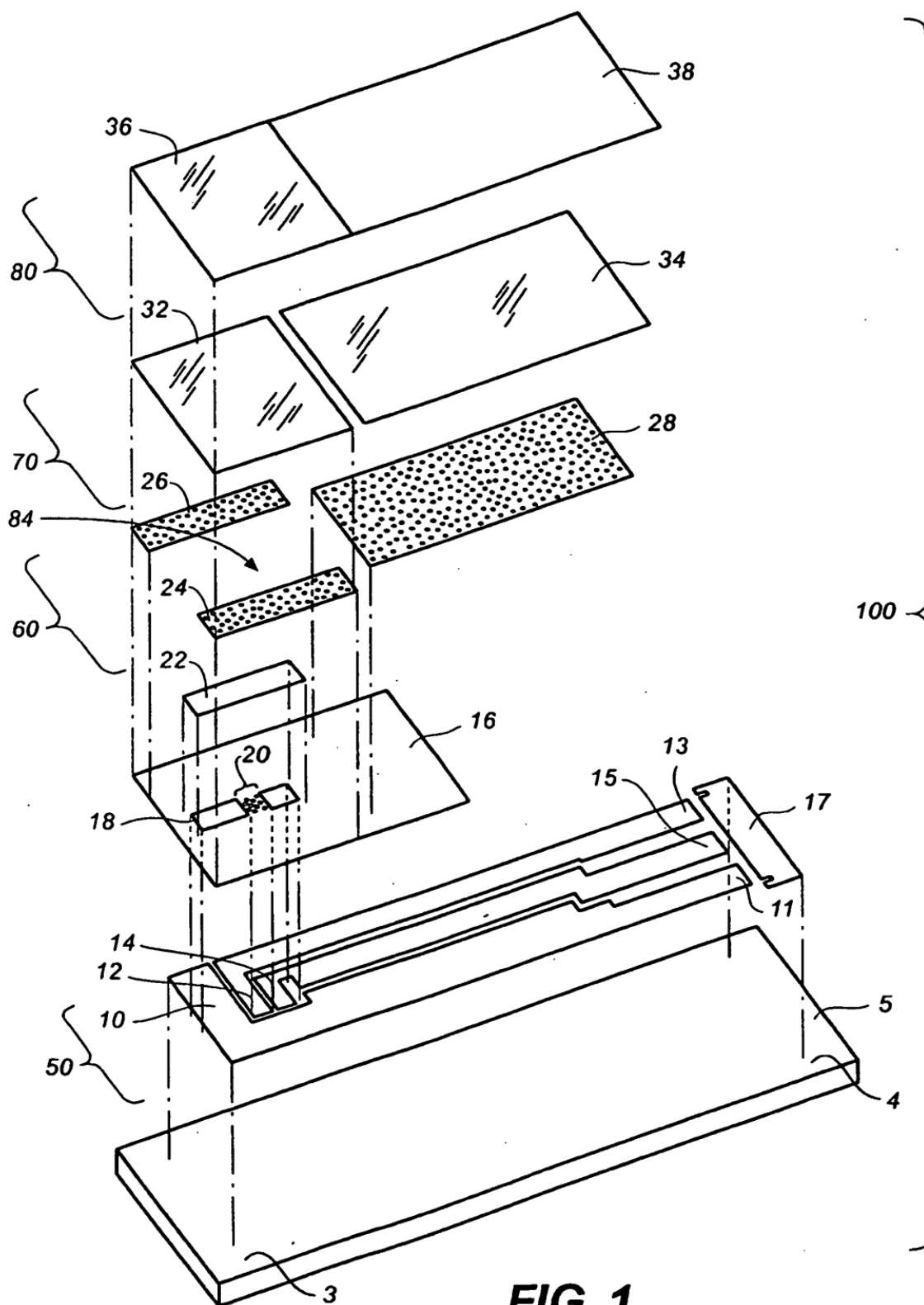


FIG. 1

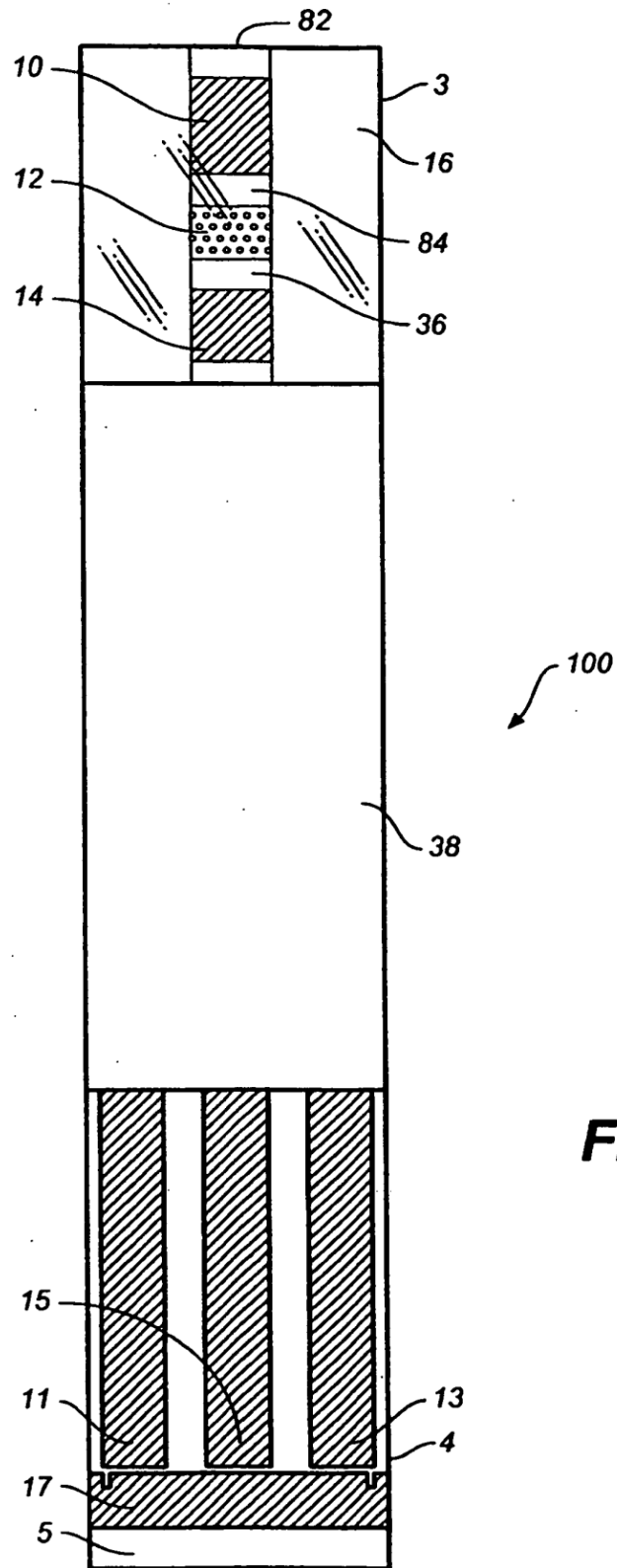


FIG. 2

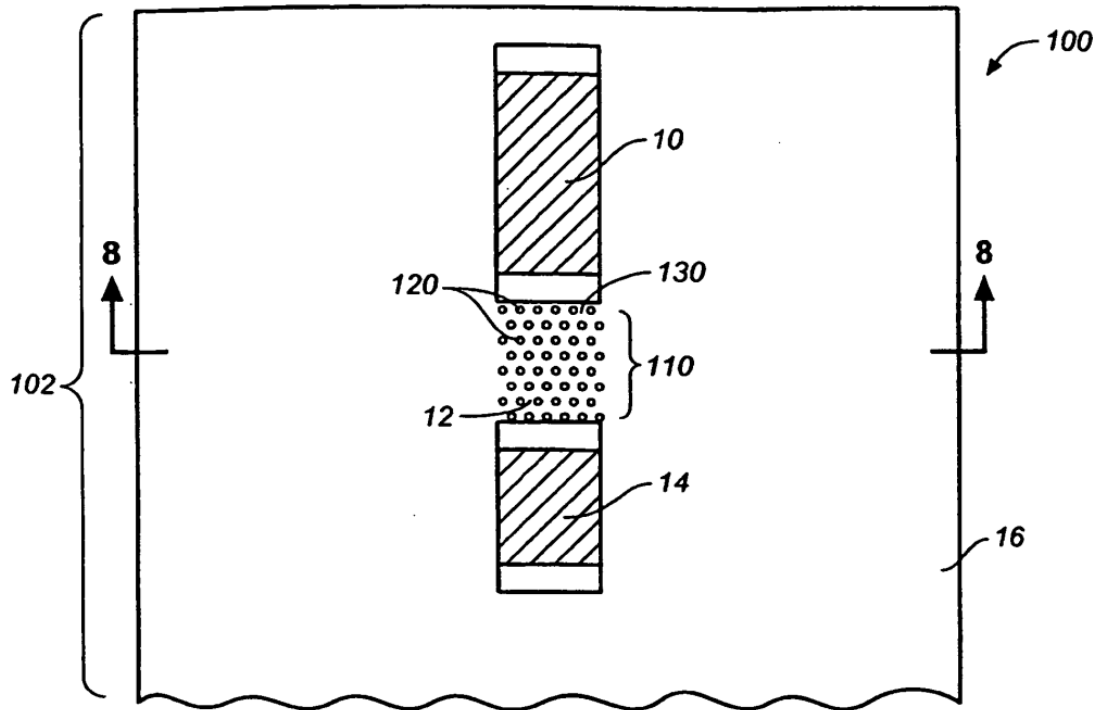


FIG. 3

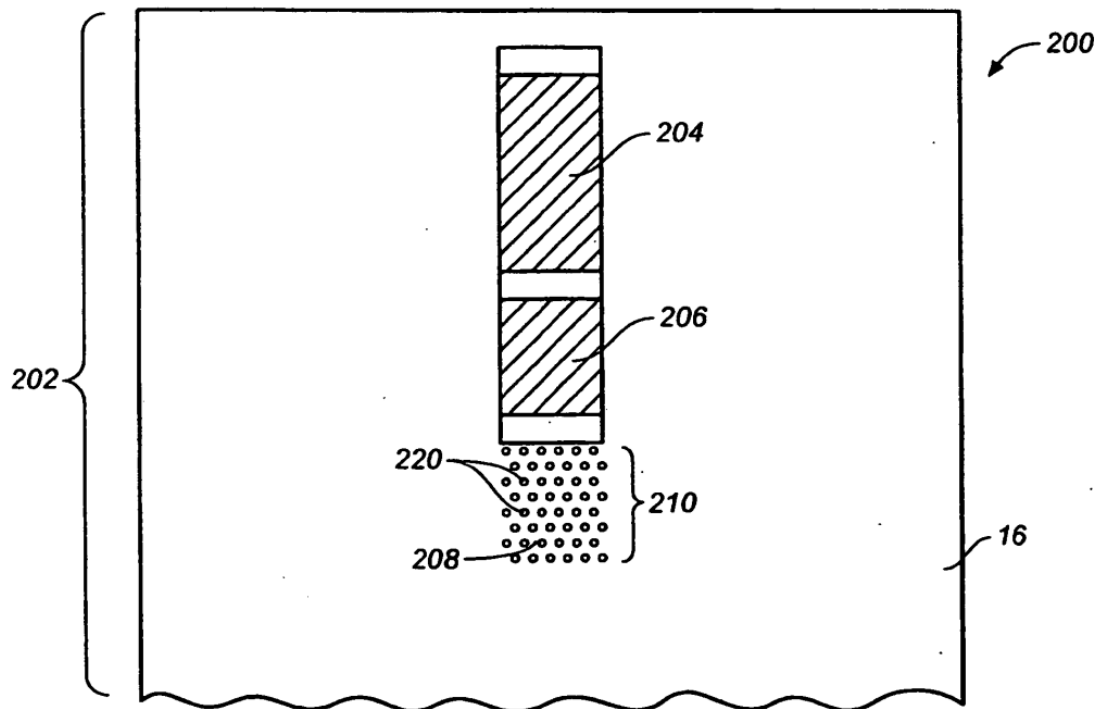


FIG. 4

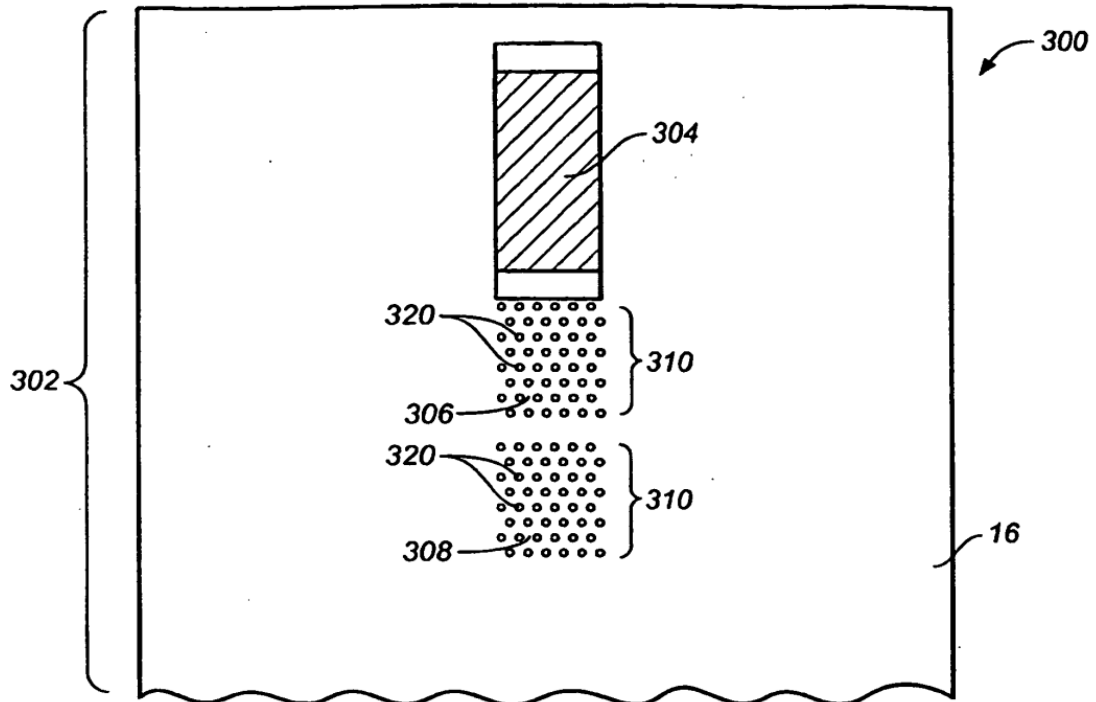


FIG. 5

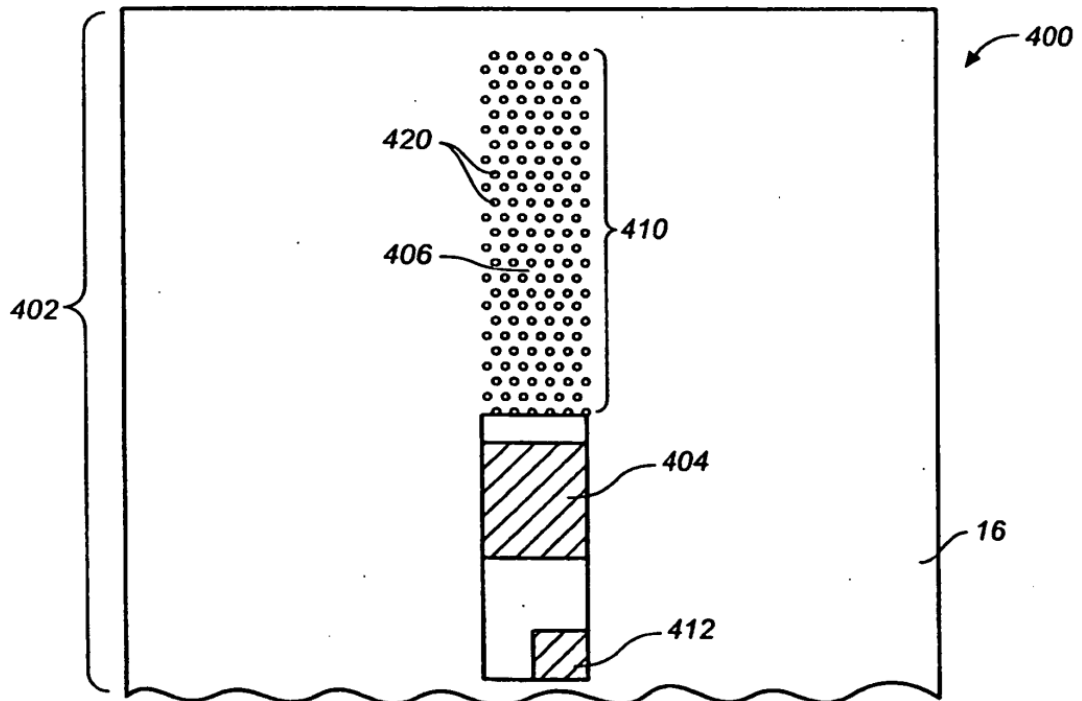


FIG. 6

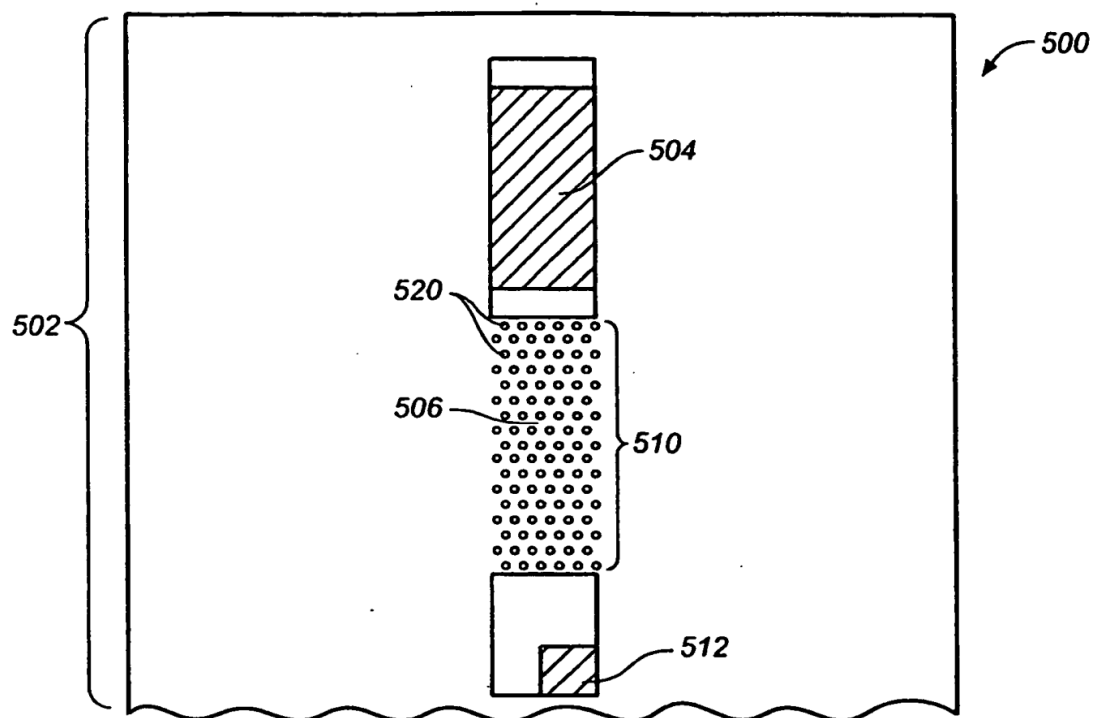


FIG. 7

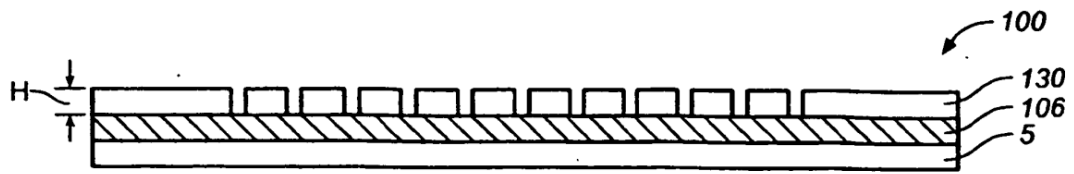


FIG. 8

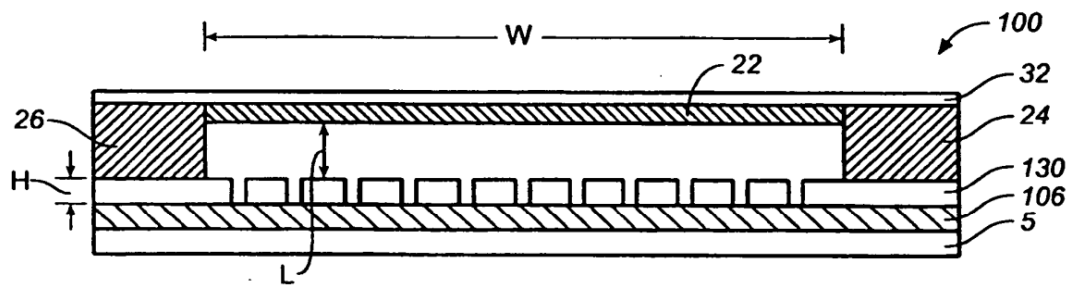


FIG. 9

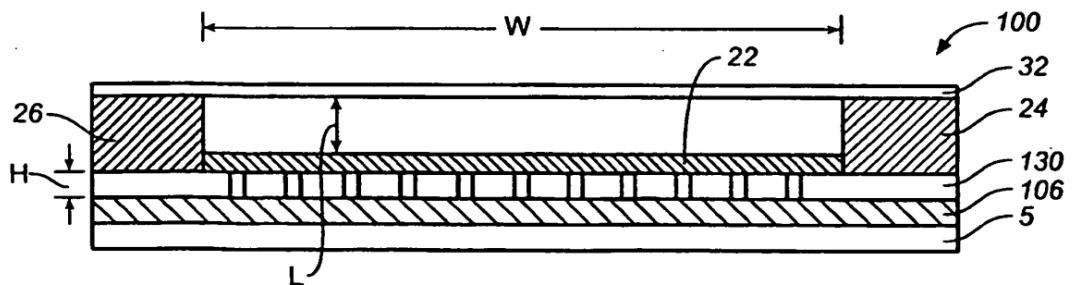


FIG. 10

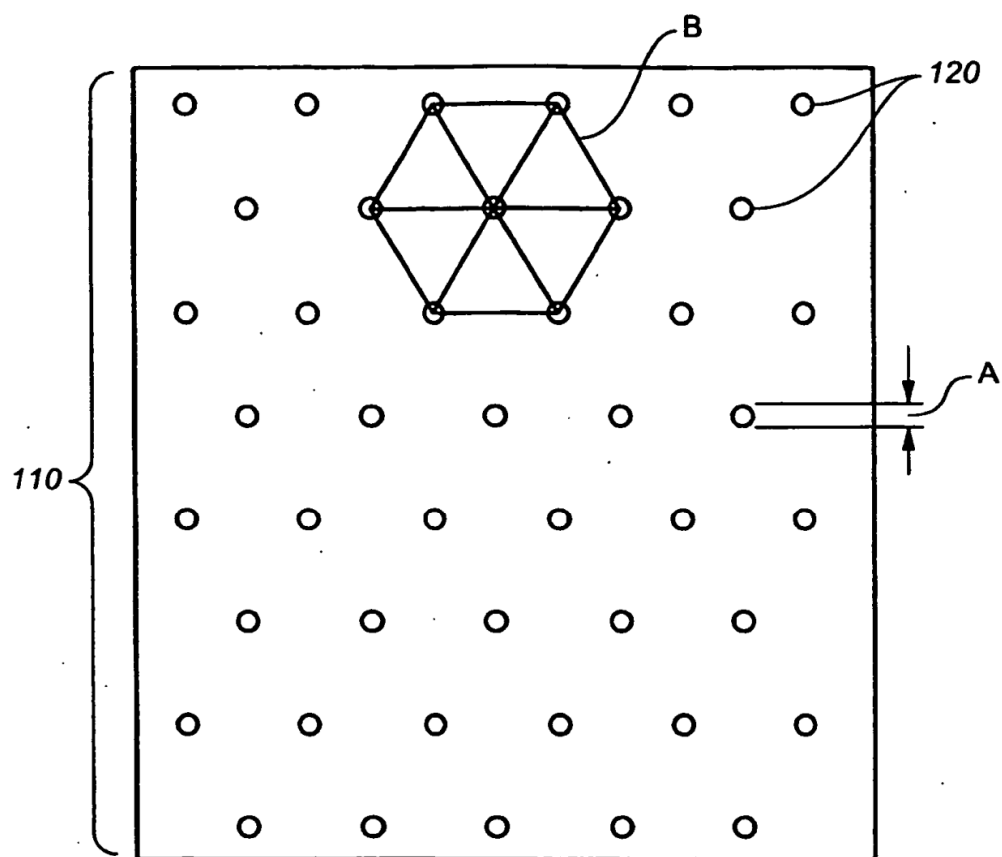


FIG. 11

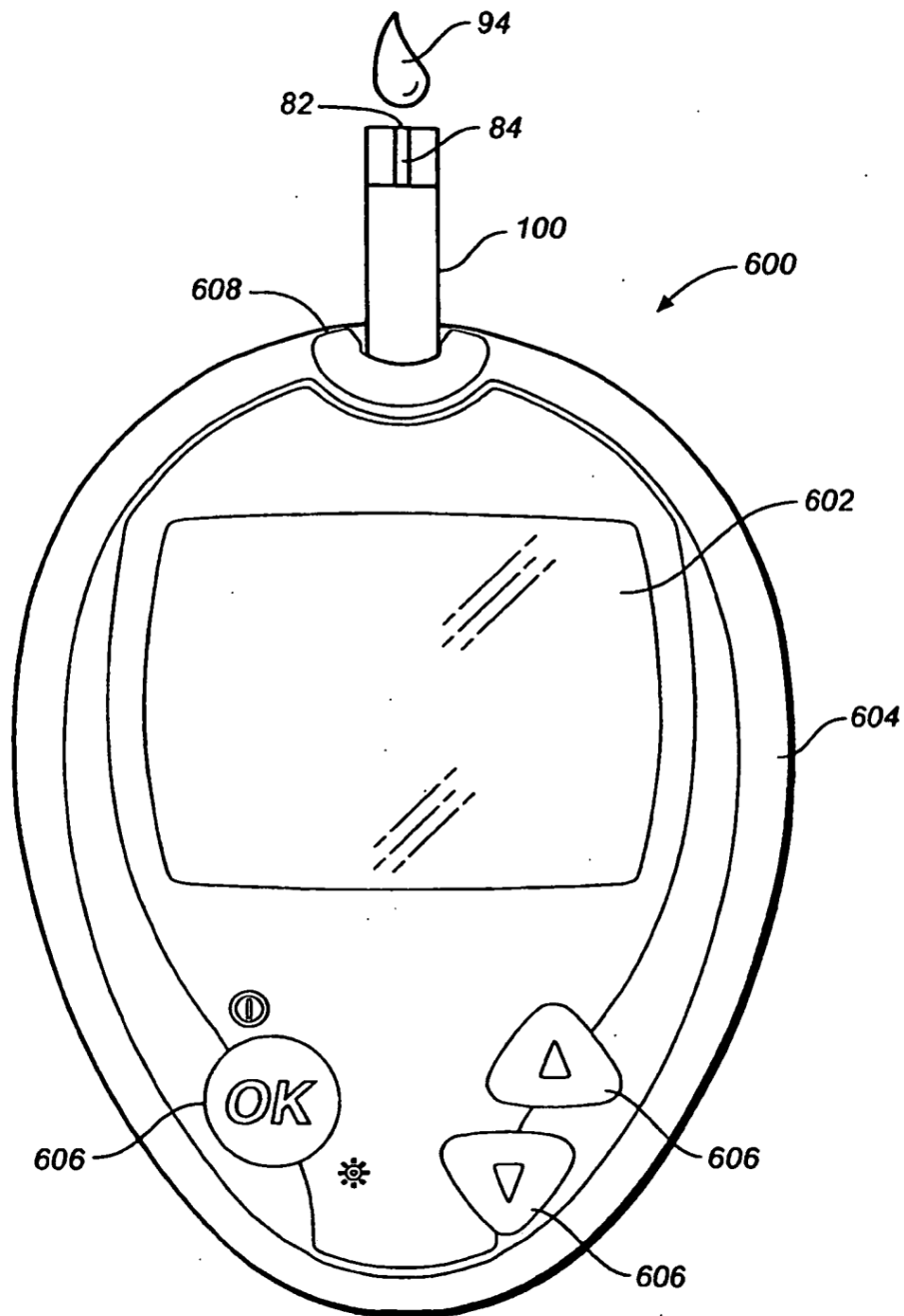


FIG. 12

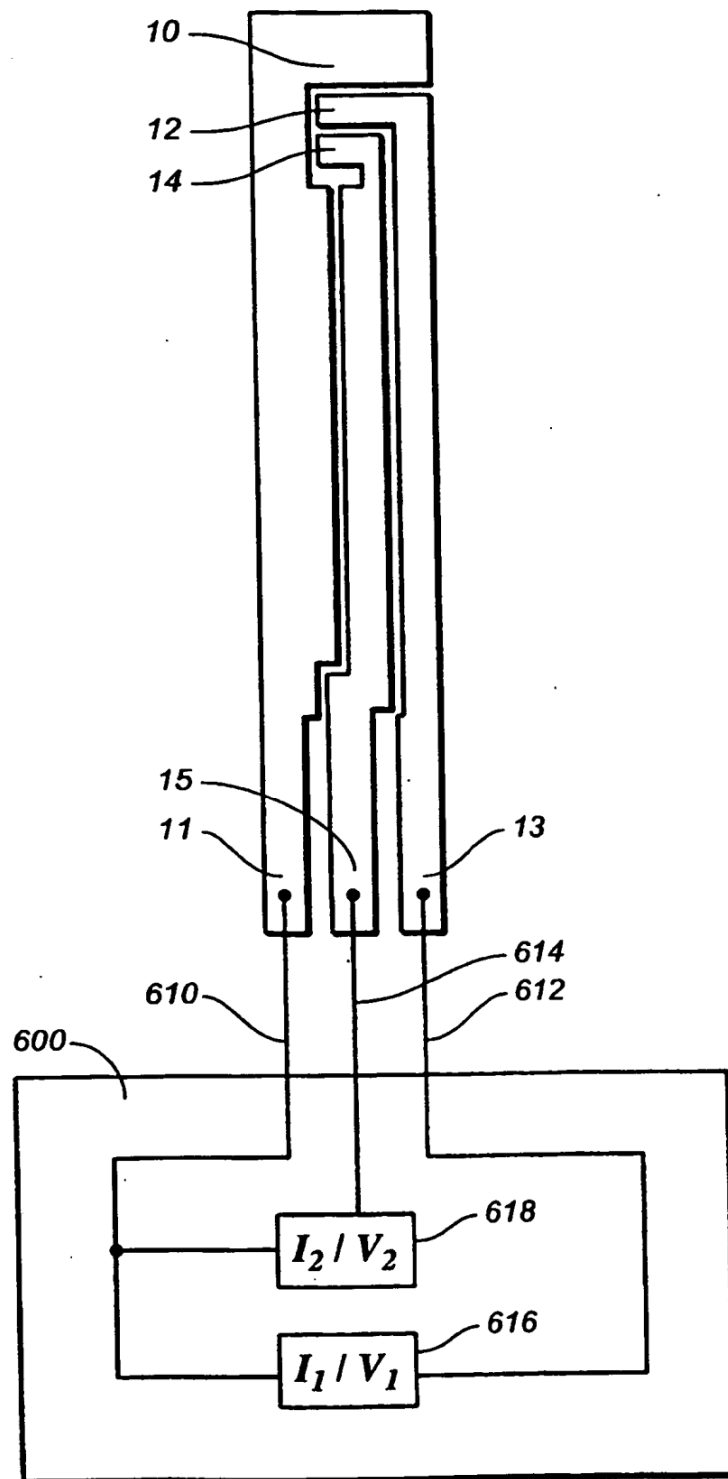


FIG. 13

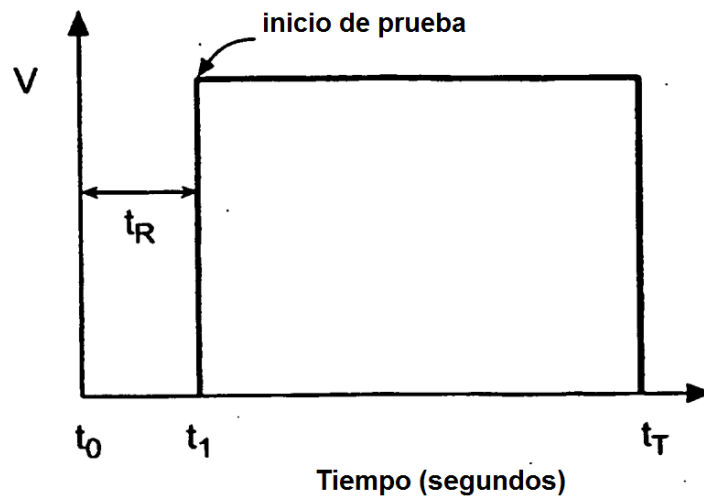


FIG. 14

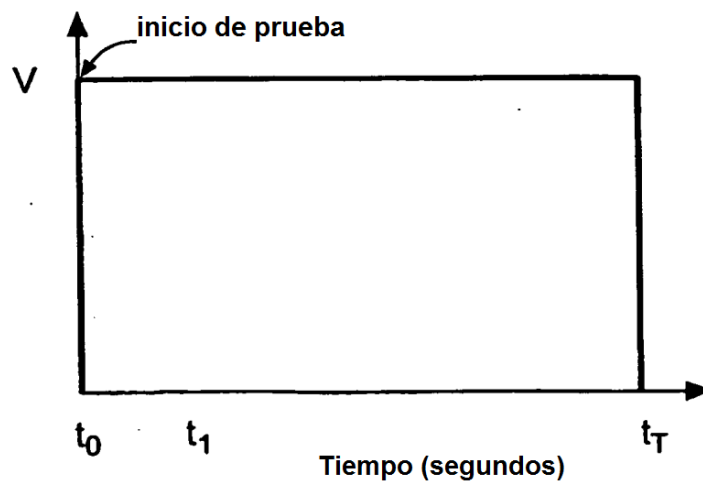


FIG. 15

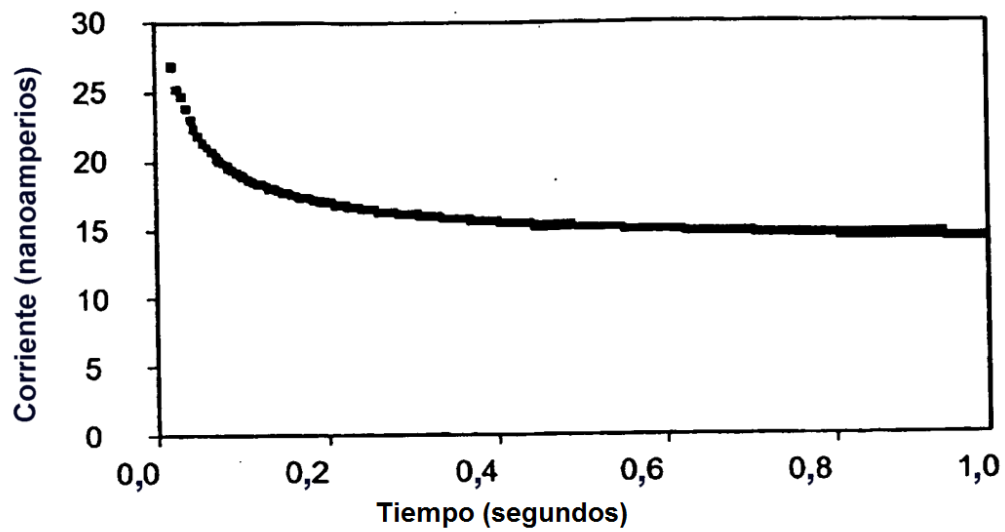


FIG. 16

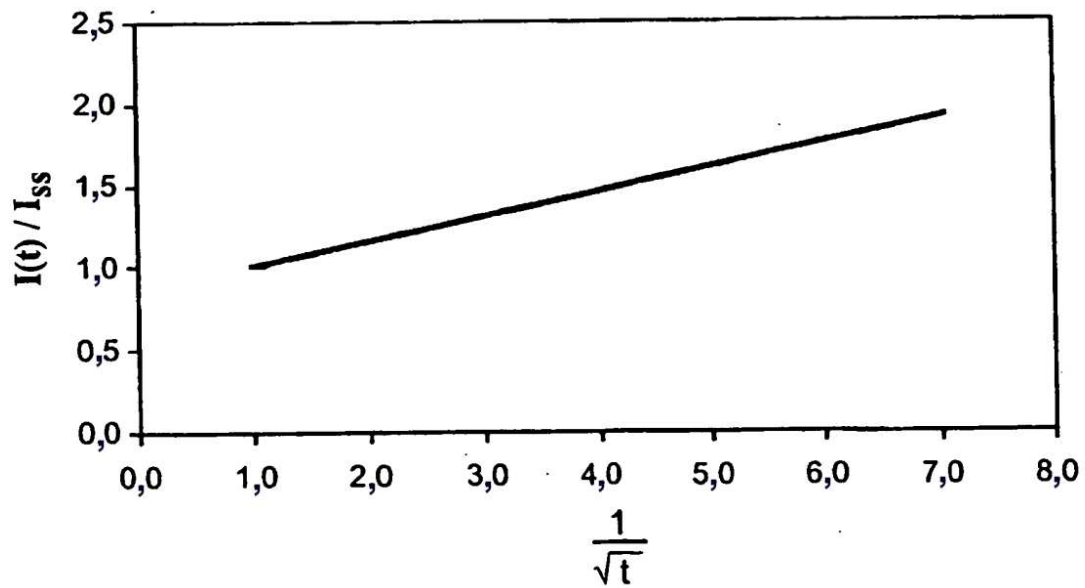


FIG. 17

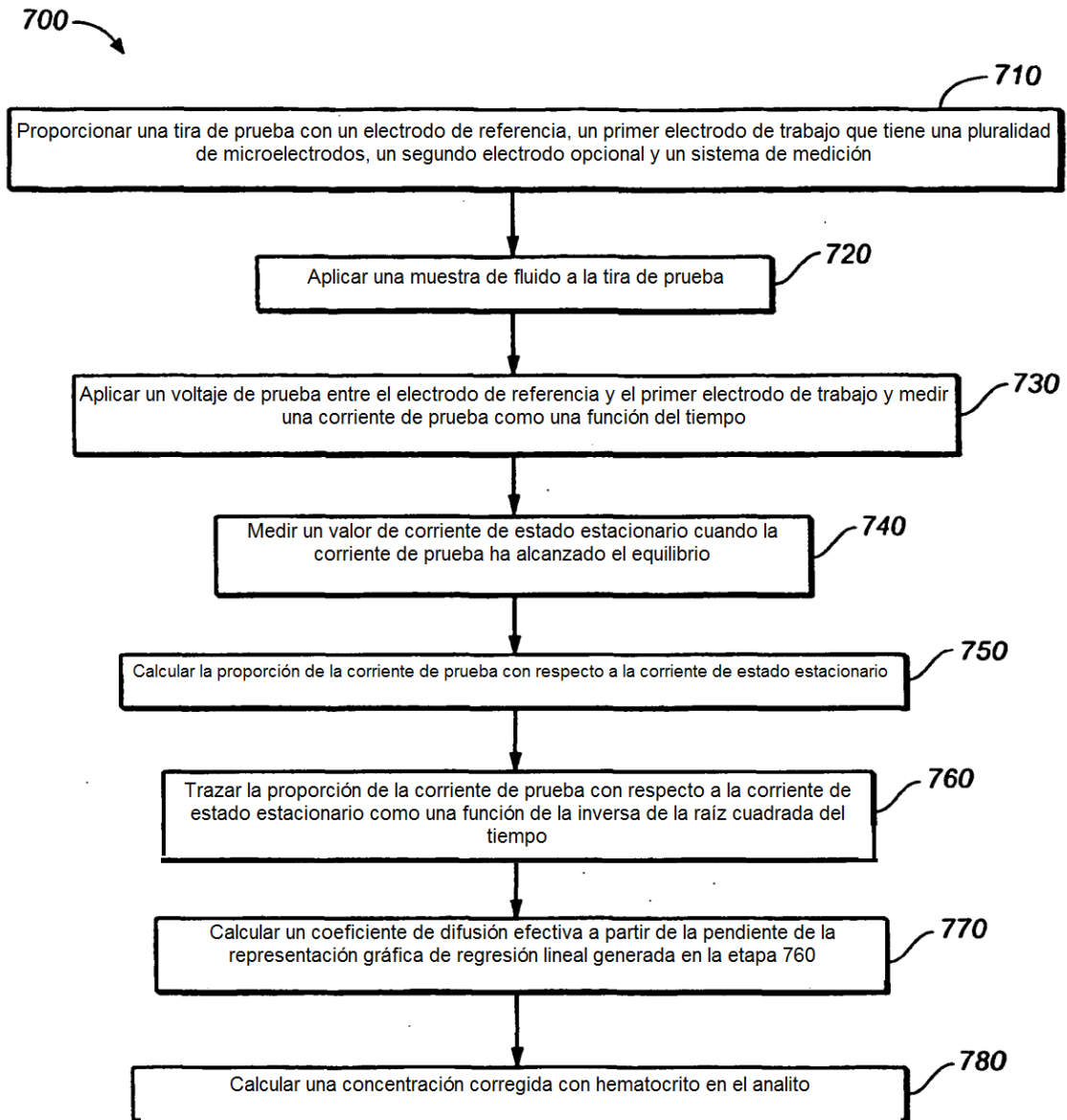


FIG. 18

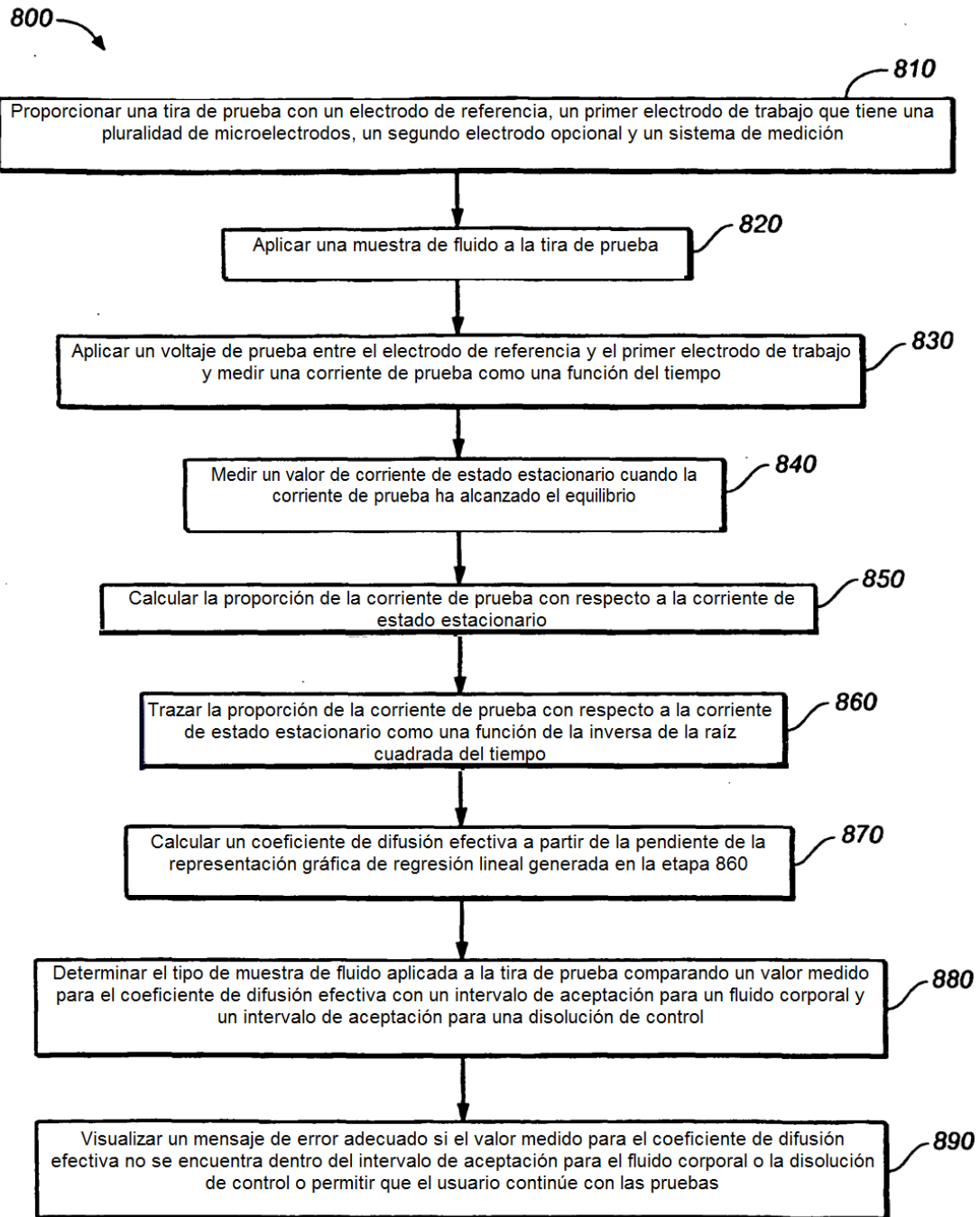


FIG. 19

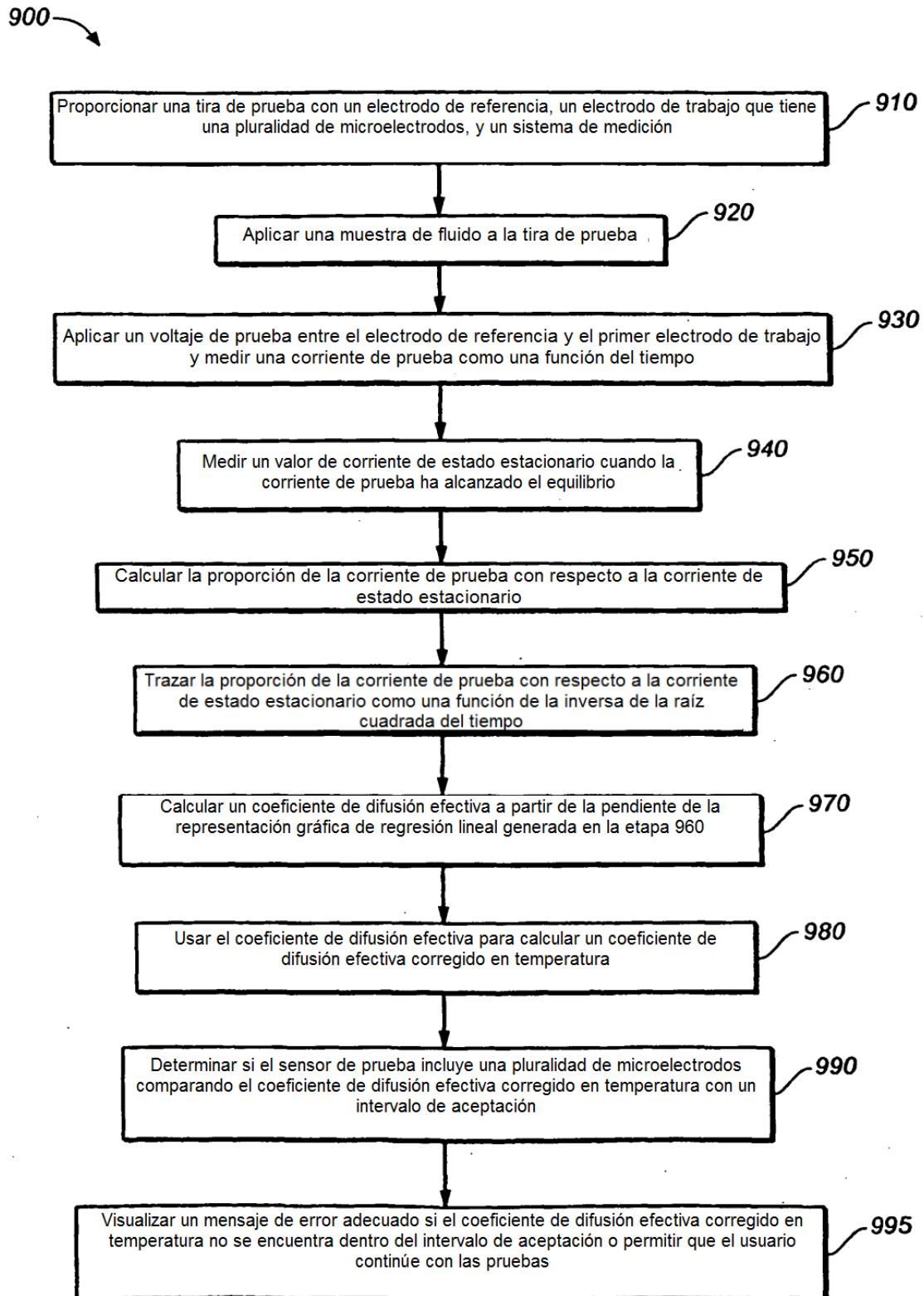


FIG. 20

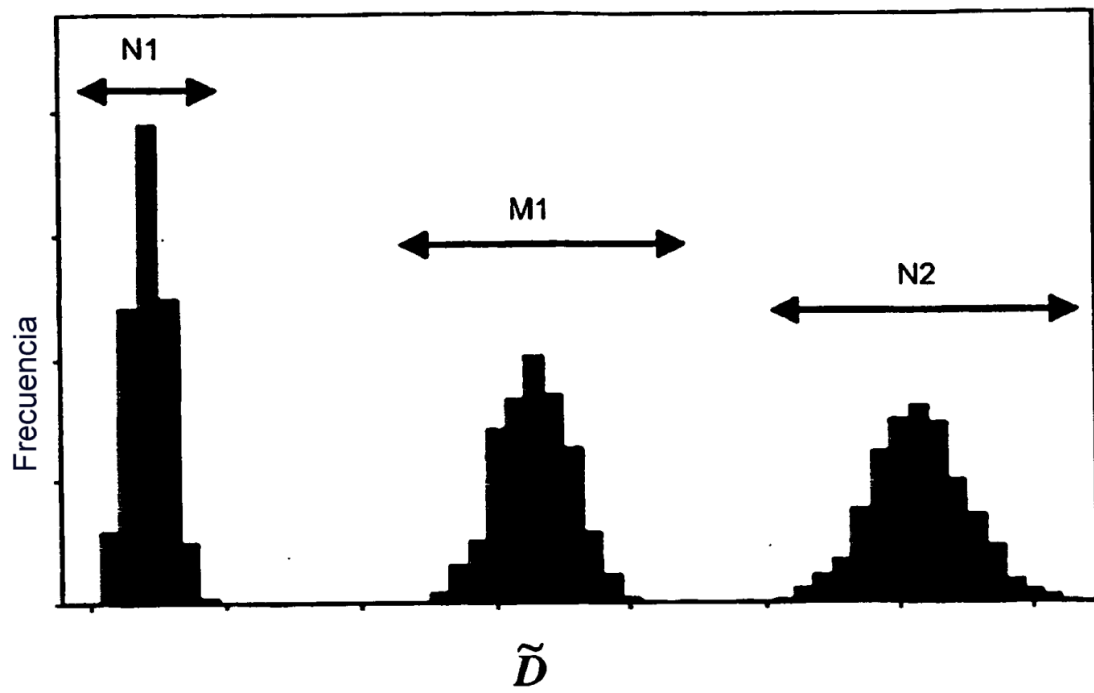


FIG. 21

