

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 478 255**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/487** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2011 E 11746001 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 2601520**

54 Título: **Sistema y métodos para una mayor presión para corrección de temperatura de resultados de glucosa para solución control**

30 Prioridad:

**03.08.2010 US 370211 P**  
**02.08.2010 US 370069 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.07.2014**

73 Titular/es:

**CILAG GMBH INTERNATIONAL (100.0%)**  
**Landis + Gyr-Strasse 1**  
**6300 Zug, CH**

72 Inventor/es:

**CRAGGS, ADAM;**  
**MACKINTOSH, STEPHEN y**  
**RODGERS, JAMIE**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 478 255 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Sistema y métodos para una mayor precisión para corrección de temperatura de resultados de glucosa para solución control.

5

**Antecedentes**

La determinación de concentración de analito en fluidos fisiológicos (por ejemplo, sangre o productos derivados de sangre, tales como plasma) es de una importancia cada vez más creciente en la sociedad de hoy en día. Tales ensayos encuentran uso en una variedad de aplicaciones y escenarios, que incluyen pruebas en laboratorios clínicos, pruebas domésticas, etc., donde los resultados de tales pruebas juegan un papel prominente en el diagnóstico y tratamiento de una variedad de condiciones de la enfermedad. Los analitos de interés incluyen glucosa para tratamiento de diabetes, colesterol para controlar condiciones cardiovasculares, y similares.

10

Un método común para ensayos para determinación de concentración de analito se basa en electroquímica. En tales métodos, una muestra líquida acuosa se coloca en una cámara de reacción de muestra en un sensor, por ejemplo, una célula electroquímica hecha de al menos dos electrodos, esto es, un electrodo de trabajo y un electrodo contador, donde los electrodos tienen una impedancia que los hace adecuados para medición amperiométrica y colorimétrica. Se deja que el componente que se analizará reaccione con un reactivo para formar una sustancia oxidable (o reducible) en una cantidad proporcional a la concentración de analito. La cantidad de la sustancia oxidable (o reducible) presente se estima después electroquímicamente y se relaciona con la concentración de analito en la muestra.

15

20

**Resumen**

25

Los solicitantes han descubierto que cierta corrección de temperatura existente para determinar la concentración de glucosa podría mejorarse para tener una mayor precisión. La célula electroquímica puede usarse en varios dispositivos para análisis de muestras tales como sensores o inmunosensores de glucosa. La muestra analizada puede incluir sangre. La sangre puede incluir sangre total. El analito para el que la concentración se está analizando puede incluir glucosa. El ensayo de una concentración de glucosa puede incluir una transformación física de glucosa a ácido glucónico. La enzima GDH con el co-factor de flavina adenina dinucleótido (FAD) puede usarse para catalizar la transformación de glucosa a ácido glucónico. El analito para el que la concentración se está analizando puede incluir proteína C-reactiva. El método de acuerdo con la invención trata de la determinación de una concentración de glucosa en una muestra de solución control, y el método puede conseguirse mediante: la introducción de la muestra de solución control en una célula electroquímica de un dispositivo para análisis de muestra para provocar una transformación de la glucosa en una muestra de solución control, teniendo la célula electroquímica un primer electrodo y un segundo electrodo; la determinación de una temperatura de la célula electroquímica; el cálculo de una corrección en base a la temperatura; la obtención de una concentración de glucosa; y la determinación de una concentración corregida de la glucosa en base al factor de corrección de tal manera que la concentración corregida de la solución control sea inferior a aproximadamente 6% de error en comparación con una especificación referencial. Un método conocido de corrección de temperatura para soluciones control se da en EP 2.138.841.

30

35

40

Estas y otras realizaciones, características y ventajas serán aparentes para aquellos expertos en la técnica con referencia a la siguiente descripción más detallada de varias realizaciones ejemplares de la invención junto con los dibujos acompañantes que se describen primero brevemente.

45

**Breve descripción de los dibujos**

Los dibujos acompañantes, que aquí se incorporan y constituyen parte de esta especificación, ilustran realizaciones preferentes en el presente de la invención, y, junto con la descripción general dada anteriormente y la descripción detallada más abajo, sirven para explicar características de la invención (en la que los numerales similares representan elementos similares), de los cuales

50

La FIG. 1A ilustra una vista en perspectiva de una tira de ensayo;

55

La FIG. 1B ilustra una vista en perspectiva en despiece de la tira de ensayo de la FIG. 1A;

La FIG. 1C ilustra una vista en perspectiva de una parte distal de la tira de ensayo de la FIG. 1A;

60

La FIG. 2 ilustra una vista en planta inferior de la tira de ensayo de la FIG. 1A;

La FIG. 3 ilustra una vista en planta lateral de la tira de ensayo de la FIG. 1A;

La FIG. 4 A ilustra una vista en planta superior de la tira de ensayo de la FIG. 1A;

65

La FIG. 4B ilustra una vista lateral parcial de la parte dista de la tira de ensayo consistente con las flechas 4B-4B de la FIG. 4A;

5 La FIG. 5 ilustra un esquema simplificado que muestra un medidor de ensayo que se conecta eléctricamente con las almohadillas de contacto de la tira de ensayo;

La FIG. 6 ilustra una vista en despiece de un inmunosensor;

10 La FIG. 7A ilustra una onda de voltaje de prueba en la que el medidor de ensayo aplica una pluralidad de voltajes de prueba durante intervalos prescritos de tiempo;

La FIG. 7B ilustra una corriente transitoria de prueba generada con la onda de voltaje de prueba de la FIG. 7A;

15 La FIG. 8A ilustra una onda de voltaje de prueba en la que el medidor de ensayo aplica una pluralidad de voltajes de prueba en polaridad opuesta durante los intervalos prescritos de tiempo en comparación con la FIG. 7A;

La FIG. 8B ilustra una corriente transitoria de prueba generada con los voltajes de prueba de la FIG. 8A; y

20 La FIG. 9 es un diagrama de flujo que muestra el método de acuerdo con la invención para aplicar una corrección de temperatura cuando se ha determinado la muestra para ser una solución control.

### Descripción detallada

25 La siguiente descripción detallada debería leerse con referencia a los dibujos, en los que los elementos similares en diferentes dibujos están idénticamente numerados. Los dibujos, que no son necesariamente a escala, representan realizaciones seleccionadas y no pretenden limitar el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, no a modo de limitación, los principios de la invención.

30 Como aquí se usan, los términos “alrededor de” o “aproximadamente” para cualquier valor o rango numérico indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que la parte o colección de componentes funcione para su fin planeado como aquí se describe. Además, como aquí se usan, los términos “paciente”, “huésped”, “usuario” y “sujeto” se refieren a cualquier sujeto humano o animal y no pretenden limitar los sistemas o métodos para uso humano, aunque el uso de la invención en cuestión en un paciente humano es preferente.

35 Aquellos expertos en la técnica entenderán que los sistemas y métodos específicamente aquí descritos e ilustrados en los dibujos acompañantes son realizaciones ejemplares no limitativas y que el alcance de la presente divulgación lo definen solamente las reivindicaciones.

40 Puede conseguirse la determinación de una amplia variedad de analitos en una amplia variedad de muestras, y son particularmente adecuadas para su uso en la determinación de analitos en sangre total, plasma, suero, fluido intersticial o derivados de los mismos. Un sistema de prueba de glucosa puede basarse en un diseño de célula con capa fina con electrodos opuestos y detección electroquímica de tres pulsos que es rápida (por ejemplo, tiempo de análisis de aproximadamente 5 segundos), requiere una muestra pequeña (por ejemplo, aproximadamente 0,4  $\mu$ L) y puede proporcionar una mejora fiabilidad y precisión de mediciones de glucosa en sangre. En la célula de reacción para analizar el analito, la glucosa en la muestra puede oxidarse para gluconolactona usando glucosa deshidrogenasas y un mediador electroquímicamente activo para transportar los electrodos de la enzima a un electrodo que trabaja paladio. Más particularmente, una capa de reactivo que cubre al menos uno de los electrodos en la célula de reacción puede incluir glucosa deshidrogenasa (GDH) basada en co-factor pirroloquinolina quinona (PQQ) y ferricianuro. La enzima GDH basada en el co-factor PQQ puede sustituirse por la enzima GDH basada en el co-factor flavina adenina dinucleótido (FAD). Cuando la sangre o solución control se dosifica en la cámara de reacción, GDH(ox) oxida la glucosa y en proceso convierte GDH(ox) en GDH(red), como se muestra en la transformación química T. 1 más abajo. Hay que señalar que GDH(ox) se refiere al estado oxidado de GDH, y que GDH(red) se refiere al estado reducido de GDH.

55 T. 1 
$$\text{D-Glucosa} + \text{GDH}_{(\text{ox})} \rightarrow \text{Ácido glucónico} + \text{GDH}_{(\text{red})}$$

Después, GDH(red) se vuelve a generar de vuelta a su estado oxidado por ferricianuro (esto es, medidor oxidado de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ) como se muestra en la transformación química T. 2 más abajo. En el proceso de regeneración de GDH(ox), se genera ferricianuro (esto es, mediador reducido o  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ ) a partir de la reacción como se muestra en T. 2:

60 T. 2 
$$\text{GDH}_{(\text{red})} + 2 \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} \rightarrow \text{GDH}_{(\text{ox})} + 2 \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$$

65 Puede utilizarse un potencióstato para aplicar una onda potencial de tres pulsos a los electrodos de trabajo y contadores, dando como resultado una corriente transitoria de prueba usada para calcular la concentración de glucosa. Además, la información adicional que se consigue de las corrientes transitorias de prueba puede usarse

para discriminar entre matrices de muestra y corregir la variabilidad en muestra de sangre debido a los hematocritos, variación de temperatura, componentes electroquímicamente activos e identificar posibles errores del sistema.

En principio, puede usarse cualquier tipo de células electroquímica que se haya separado de los primeros y segundos electrodos. Por ejemplo, una célula electroquímica puede tener forma de una tira de ensayo. En otro aspecto, la tira de ensayo puede incluir dos electrodos opuestos separados por un espaciador fino para definir una cámara o zona que recibe la muestra en la que el reactivo está situado. Los solicitantes señalan que otros tipos de tiras de ensayo, incluyendo, por ejemplo, tiras de ensayo con electrodos coplanares también pueden usarse con los métodos aquí descritos.

### Células electroquímicas

Las FIGS. 1A-4B muestran varias vistas de una tira de ensayo ejemplar 62. Como se muestra, la tira de ensayo 62 puede incluir un cuerpo alargado que se extiende de un extremo proximal 80 a un extremo distal 82, y que tiene bordes laterales 56, 58. La parte proximal del cuerpo 59 puede incluir una cámara de reacción de muestra 61 que tiene múltiples electrodos 164, 166 y un reactivo 72, mientras la parte distal del cuerpo de tira de ensayo 59 puede incluir características configuradas para comunicar eléctricamente con un medidor de ensayo. En uso, el fluido fisiológico o una solución control pueden administrarse a la cámara de reacción de muestra 61 para análisis electroquímico.

La tira de ensayo 62 puede incluir una primera capa de electrodo 66 y una segunda capa de electrodo 62, con una capa espaciadora 60 colocada entre ellas. La primera capa de electrodo 66 puede proporcionar un primer electrodo 166 y un primer recorrido de conexión 76 para conectar eléctricamente el primer electrodo 166 a un primer contacto eléctrico 67. Similarmente, la segunda capa de electrodo 64 puede proporcionar un segundo electrodo 164 y un segundo recorrido de conexión 78 para conectar eléctricamente el segundo electrodo 164 a un segundo contacto eléctrico 63.

La cámara de reacción de muestra 61 la define el primer electrodo 166, el segundo electrodo 164 y un espaciador 60 como se muestra en las FIGS. 1A-4B. Específicamente, el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 definen, respectivamente, la parte inferior y superior de la cámara de reacción de muestra 61. Un área recortada 68 del espaciador 60 puede definir las paredes laterales de la cámara de reacción de muestra 61. En un aspecto, la cámara de reacción de muestra 60 puede además incluir un número de puertos 70 que proporcionan una entrada y/o conducto de muestra. Por ejemplo, uno de los puertos puede proporcionar un acceso de muestra de fluido y el otro puerto puede actuar como un conducto.

La cámara de reacción de muestra 61 puede tener un volumen pequeño. Por ejemplo, el volumen puede oscilar entre aproximadamente 0,1 microlitros y aproximadamente 5 microlitros, preferentemente entre aproximadamente 0,2 microlitros y aproximadamente 3 microlitros, y más preferentemente entre aproximadamente 0,3 microlitros y aproximadamente 1 microlitros. Como aquellos expertos en la técnica apreciarán, la cámara de reacción de muestra 61 puede tener otros varios volúmenes. Para proporcionar el volumen de muestra pequeña, el recorte 68 puede tener un área que oscila entre aproximadamente 0,01 cm<sup>2</sup> y aproximadamente 0,2 cm<sup>2</sup>, preferentemente entre aproximadamente 0,02 cm<sup>2</sup> y aproximadamente 0,15 cm<sup>2</sup> y más preferentemente entre aproximadamente 0,03 cm<sup>2</sup> y aproximadamente 0,08 cm<sup>2</sup>. Similarmente, aquellos expertos en la técnica apreciarán que el recorte del volumen 68 puede tener otras varias áreas. Además, el primer y segundo electrodo 166, 164 puede estar separados en el rango de aproximadamente 1 micrón a aproximadamente 500 micrones, preferentemente en el rango de aproximadamente 10 micrones a aproximadamente 400 micrones, y más preferentemente en el rango de aproximadamente 40 micrones a aproximadamente 200 micrones. Tal rango puede variar entre otros varios valores. La pequeña separación de los electrodos también puede permitir que ocurra el ciclo de reducción/oxidación, donde el mediador oxidado generado en el primer electrodo 166 puede dispersarse al segundo electrodo 164 para reducirse, y posteriormente dispersarse de vuelta al primer electrodo 166 para oxidarse de nuevo.

En el extremo distal del cuerpo de tira de ensayo 59, puede usarse un primer contacto eléctrico 67 para establecer una conexión eléctrica con un medidor de ensayo. Puede accederse a un segundo contacto eléctrico 63 con un medido de prueba a través de una muesca en forma de U 65 como SE ilustra en la FIG. 2. Los solicitantes señalan que la tira de ensayo 62 puede incluir una variedad de contactos eléctricos alternativos configurados para conectar eléctricamente con un medidor de ensayo. Por ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 6.379.513 desvela medios de conexión con célula electroquímica.

La primera capa de electrodo 66 y/o la segunda capa de electrodo 64 pueden ser de un material conductor formado de materiales tales como oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio y combinaciones de los mismos (por ejemplo, óxido de estaño dopado con indio). Además, los electrodos pueden formarse disponiendo un material conductor en una lámina aislante (no mostrada) mediante varios procesos tales como, por ejemplo, un proceso de pulverización, chapado no electrolítico o un estampado serigráfico. La segunda capa de electrodo 64 puede ser un electrodo con oro pulverizado y la primera capa de electrodo 66 puede ser un electrodo con paladio pulverizado. Tales materiales pueden emplearse como capa espaciadora 60 incluyen varios materiales

aislantes, tales como, por ejemplo, plásticos (por ejemplo, PET, PETG, poliamida, policarbonato, poliestireno), silicio, cerámica, cristal, adhesivos y combinaciones de los mismos.

5 Una capa de reactivo 72 puede disponerse en la cámara de reacción de muestra 61 usando un proceso tal como revestimiento de ranura, dispensando desde el extremo de un tubo, inyección de tinta y estampado serigráfico. Tales procesos se describen, por ejemplo, en los siguientes números de patente de Estados Unidos: 6.749.887; 6.869.411; 6.676.995 y 6.830.934. La capa de reactivo 72 puede incluir al menos un mediador y una enzima, y puede depositarse en el primer electrodo 166. Mediadores adecuados incluyen ferricianuro, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de osmio bipyridilo y derivados de quinona. Ejemplos de enzimas incluyen glucosa oxidasa, 10 glucosa deshidrogenasa (GDH) basada en co-factor pirroloquinolina quinona (PQQ), GDH basada en co-factor nicotinamida adenina dinucleótido, y GDH basada en FAD [E.C.1.1.99.10]. Una formulación ejemplar de reactivo, que sería adecuada para hacer la capa de reactivo 72, se describe en la patente de Estados Unidos N° 7.291.256.

15 El primer electrodo 166 o el segundo electrodo 164 pueden funcionar como electrodo de trabajo que oxida o reduce una cantidad limitativa de mediador dependiendo de la polaridad del potencial de prueba aplicado del medido de prueba. Por ejemplo, si la especie limitativa de corriente es un mediador reducido, puede oxidarse en el primer electrodo 166 siempre y cuando se aplique un potencial suficientemente positivo con respecto al segundo electrodo 164. En tal situación, el primer electrodo 166 realiza la función del electrodo de trabajo y el segundo electrodo 164 realiza la función de un electrodo contador/referencial. Debería señalarse que a menos que se establezca lo 20 contrario para la tira de ensayo 62, todos los potenciales aplicados por el medido de prueba 100 se establecerán a partir de ahora con respecto al segundo electrodo 164.

25 Similarmente, si un potencial suficientemente negativo se aplica con respecto al segundo electrodo 164, entonces el medido reducido puede oxidarse en el segundo electrodo 164. En tal situación, el segundo electrodo 164 puede realizar la función del electrodo de trabajo y el primer electrodo 166 puede realizar la función del electrodo contador/referencial.

30 Inicialmente, se introduce una cantidad de la muestra de fluido de interés en la tira de ensayo 62, que incluye el primer electrodo 166, el segundo electrodo 164 y una capa de reactivo 72. La muestra de fluido puede ser sangre total o un derivado o fracción de la misma, o una solución control. La muestra de fluido, por ejemplo, sangre, puede dosificarse en la cámara de reacción de muestra 61 a través el puerto 70. En un aspecto, el puerto 70 y/o la cámara de reacción de muestra 61 pueden configurarse de tal manera que la acción capilar provoque que la muestra de fluido llene la cámara de reacción de muestra 61.

35 La FIG. 5 proporciona un esquema simplificado de un medido de prueba 100 que se conecta con un primer contacto eléctrico 67 y un segundo contacto eléctrico 63, que están en comunicación eléctrica con el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, respectivamente, de la tira de ensayo 62. El medido de ensayo 100 puede estar configurado para conectar eléctricamente con el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 por medio de un primer contacto eléctrico 67 y un segundo contacto eléctrico 63, respectivamente (como se muestra en 40 las FIGS. 2 y 5). Como aquellos expertos en la técnica apreciarán, pueden usarse una variedad de medidores de ensayo con el método aquí descrito. Sin embargo, el medido de ensayo puede incluir al menos un procesador configurado para realizar cálculos capaces de calcular un factor de corrección en vista de al menos un parámetro medido en correlación con una propiedad física de la célula electroquímica, así como estar configurado para clasificación y/o almacenamiento de datos.

45 Como se ilustra en la FIG. 5, un contacto eléctrico 67 puede incluir dos puntas 67a, 67b. En una realización ejemplar, el medido de ensayo 100 conecta por separado con las puntas 67a, 67b, de tal manera que cuando el medido de ensayo 100 conecta con una tira de ensayo 62 se completa un circuito, el medido de ensayo 100 puede medir la resistencia o continuidad eléctrica entre las puntas 67a, 67b para determinar si la tira de ensayo 62 está eléctricamente conectada con el medido de ensayo 100. Los solicitantes señalan que el medido de ensayo 100 puede usar una variedad de sensores y circuitos para determinar cuándo la tira de ensayo 62 está colocada 50 adecuadamente con respecto al medido de ensayo 100.

55 El medido de ensayo 100 puede aplicar un potencial y/o corriente de ensayo entre el primer contacto eléctrico 67 y el segundo contacto eléctrico 63. Una vez que el medido de ensayo 100 reconoce que la tira 62 se ha insertado, el medido de ensayo 100 se enciende e inicia un modo de detección de fluido. En una realización, el modo de detección de fluido provoca que el medido de ensayo 100 aplique una corriente constante de 1 microamperio entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164. Debido a que la tira de ensayo 62 está inicialmente seca, el medido de ensayo 100 mide un voltaje máximo que está limitado por el hardware en el medido de ensayo 100. Sin embargo, una vez que un usuario dosifica una muestra de fluido en la entrada 70, esto provoca que la cámara de 60 reacción 61 se llene. Cuando la muestra de fluido abarca el espacio entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, el medido de ensayo 100 medirá un descenso en el voltaje medido (por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos N° 6.193.873), que está por debajo de un umbral predeterminado que provoca que el medido de ensayo 100 inicie automáticamente la prueba de glucosa.

65

5 Debería señalarse que el voltaje medido puede descender por debajo de un umbral predeterminado cuando solamente una fracción de la cámara de reacción de muestra 61 se ha llenado. Un método para reconocer automáticamente que un fluido se ha aplicado no indica necesariamente que la cámara de reacción de muestra 61 se ha llenado por completo, sino que solamente puede confirmar la presencia de una cantidad de fluido en la cámara de reacción de muestra 61. Una vez que el medidor de ensayo 100 determina que un fluido se ha aplicado a la tira de ensayo 62, aún se requerirá un poco de tiempo, aunque no cero, para permitir que el fluido llene por completo la cámara de reacción de muestra 61.

10 Un inmunosensor 110 se ilustra en la FIG. 6. Puede formarse una pluralidad de cámaras dentro del inmunosensor, incluyendo una cámara de llenado, por la que una muestra puede introducirse en el inmunosensor, una cámara de reacción, por la que una muestra puede reaccionar con uno o más materiales deseados, y una cámara de detección, por la que puede determinarse una concentración de un componente particular de la muestra. Estas cámaras pueden estar formadas al menos en una parte de un electrodo inferior, un electrodo superior y un separador del inmunosensor. El inmunosensor puede también incluir un agujero de ventilación para permitir que el aire entre y escape del inmunosensor cuando se desee, y primeros y segundos componentes de sellado para sellar de manera selectiva primeros y segundos lados del agujero de ventilación. El primer componente de sellado también puede formar una pared de la cámara de llenado.

20 Como se ilustra, el inmunosensor 110 incluye un electrodo inferior 112 que tiene dos reactivos líquidos 130, 132 rayados en él. El electrodo inferior 112 puede formarse usando cualquier número de técnicas usadas para formar electrodos, pero en una realización una lámina de tereftalato de polietileno (PET) que está llena de sulfato de bario se cubre con pulverización de oro. Otros ejemplos no limitativos de formación de un electrodo se desvelan en la patente de Estados Unidos Nº 6.521.110 de Hodges et al., titulada "Célula Electroquímica" y presentada el 10 de noviembre, 2000.

25 De la misma manera, los reactivos líquidos 130, 132 pueden tener un número de diferentes composiciones. En una realización el primer reactivo líquido 130 incluye un anticuerpo conjugado con una enzima, tal como GDH-PQQ, en un tampón que contiene sacarosa, tal como Citraconato e iones de calcio. El segundo reactivo líquido 132 puede incluir una mezcla de ferricianuro, glucosa, y un segundo mediador, tal como etosulfato de fenazina, en un tampón ácido, tal como una solución de ácido citracónico diluido. El primer y segundo reactivo líquido 130, 132 pueden secarse en el electrodo inferior 112. Puede usarse un número de técnicas para secar los reactivos 130, 132, pero en una realización, siguiendo el rayado de los reactivos 130, 132 en el electrodo inferior 112, pueden aplicarse uno o más secadores de infrarrojo a los reactivos 130, 132. También pueden usarse uno o más secadores de aire, por ejemplo, después de los secadores de infrarrojo. Las referencias a un primer reactivo y a un primer reactivo líquido y a un segundo reactivo y a un segundo reactivo líquido aquí se usan de manera intercambiable y no son necesariamente una indicación de que los reactivos están en su forma líquida o seca en un momento determinado. Además, algunos de los componentes asociados con el primer y segundo reactivo líquido pueden usarse de manera intercambiable y/o en el primer y segundo reactivo líquido cuando se desee. A modo de ejemplo no limitativo, un anticoagulante puede asociarse con uno o ambos del primer reactivo líquido 130 y el segundo reactivo líquido 132.

40 Puede formarse una línea en el oro pulverizado entre los reactivos 130, 132, de tal manera que un borde del reactivo 132 esté muy cerca de, o toque, la línea. La línea puede aplicarse usando ablación láser o con un borde metálico afilado. La línea puede aplicarse antes de que los reactivos 130, 132 se rayen en el electrodo. La línea puede diseñarse para aislar eléctricamente la sección del electrodo inferior 112 debajo de la cámara de detección de la sección que estará debajo de la cámara de reacción. Esto puede proporcionar una mejor definición de un área del electrodo de trabajo durante el ensayo electroquímico.

50 El inmunosensor 110 también puede incluir un electrodo superior 114 que tiene una o más cuentas magnéticas 134 que contienen antígenos unidos a la superficie en las mismas. Los antígenos pueden estar configurados para reaccionar con el anticuerpo dispuesto en el electrodo inferior 112 la muestra en una cámara de reacción 118, como se describe con más detalle más abajo. Un experto en la técnica reconocerá que los componentes dispuestos en el electrodo inferior 112 y en el electrodo superior 14 pueden ser intercambiables. De este modo, el electrodo inferior 112 puede incluir una o más cuentas magnéticas 134 y el electrodo superior 114 puede incluir dos reactivos líquidos 130, 132 rayados en él. Además, aunque la longitud del electrodo 112 forma la longitud del cuerpo completo del inmunosensor 110, en otros ejemplos el electrodo puede ser solamente una parte de una capa de un inmunosensor que sirve como el electrodo inferior o superior o pueden disponerse múltiples electrodos en una única capa de un inmunosensor. Además, debido a que el voltaje aplicado al inmunosensor puede darse la vuelta y/o alternarse, cada uno del electrodo inferior y superior puede servir como el electrodo de trabajo y el electrodo contador o contador/referencial en diferentes fases. Para facilitar los fines descriptivos, en la presente solicitud el electrodo inferior se considera como el electrodo de trabajo y el electrodo superior el contador o contador/referencial.

65 Un separador 116 dispuesto entre el electrodo inferior y superior 112, 114 puede tener una variedad de formas y tamaños, pero generalmente está configurado para unir de manera deseable el electrodo inferior y superior para formar el inmunosensor 110. El separador 116 puede incluir adhesivo en ambos lados. El separador 116 puede además incluir un forro de liberación en cada lado de los dos lados del separador 116. El separador 116 puede estar

5 cortado de manera que forme al menos dos cavidades. Una primera cavidad puede estar formada para servir como una cámara de reacción 118 y una segunda cavidad puede estar formada para servir como una cámara de detección 120. El separador 116 puede estar cortado con poca presión de tal manera que la cámara de reacción 118 se alinee con los electrodos 112, 114 para permitir una reacción antígeno-anticuerpo mientras la cámara de detección 120 se alinea con los electrodos 112, 114 para permitir la determinación electroquímica de ferricianuro en ella.

10 El separador 116 puede colocarse en el electrodo inferior 112 de una manera que permite que las cuentas magnéticas 134 del electrodo superior 114 y el primer reactivo 130 del electrodo inferior 112 estén al menos parcialmente dispuestas en la cámara de reacción 118 y la combinación ferricianuro-glucosa del segundo reactivo 132 del electrodo inferior 112 esté al menos parcialmente dispuesta en la cámara de detección 120. Puede ser ventajoso incluir un anticoagulante en cada uno del primer y segundo reactivo líquido 130, 132 para que un anticoagulante se asocie con cada una de las cámaras de reacción y detección 118, 120. La combinación de uno del electrodo superior e inferior 112, 114 y el separador pueden laminarse juntos para formar un bilaminado, mientras en otros ejemplos la combinación de cada uno del electrodo inferior 112, el electrodo superior 114 y el separador 116 pueden laminarse juntos para formar un trilaminado. Alternativamente, pueden también añadirse capas adicionales.

15 Puede formarse una cámara de llenado 122 perforando un agujero en uno del electrodo inferior y superior 112, 114 y el separador 116. La cámara de llenado puede estar formada perforando un agujero en el electrodo inferior 112 y el separador 116 de tal manera que el agujero en el electrodo inferior 112 se superponga a la cámara de reacción 118. Como se muestra, la cámara de llenado 122 puede estar separada a una distancia de la cámara de detección 120. Tal configuración permite que una muestra entre en el inmunosensor 110 a través de la cámara de llenado 122 y fluya a la cámara de reacción 118 para reaccionar, por ejemplo con el primer reactivo líquido 130 que incluye el anticuerpo conjugado con una enzima en un tampón en el primer electrodo 112 y las cuentas magnéticas 134 rayadas en el electrodo superior 114, sin entrar a la cámara de detección 120 para someterse a una transformación química o física con el segundo reactivo líquido 132, por ejemplo la mezcla de ferricianuro, glucosa, y el segundo mediador en un tampón ácido.

20 Puede formarse un conducto 124 perforando un agujero a través de cada uno de los dos electrodos 112, 114 y el separador 116 de tal manera que el conducto 124 se extiende a través de todo el inmunosensor 110. El agujero puede estar formado de una manera adecuada, tal como, por ejemplo, taladrado o perforado en un número de diferentes localizaciones, pero puede superponerse a una región de la cámara de detección 1120 que está separada de la cámara de reacción 118.

25 El conducto 124 puede sellarse en un número de diferentes maneras. Un primer componente de sellado 140 puede estar situado en el electrodo inferior 112 para sellar un primer lado del conducto 124 y un segundo componente de sellado 142 está situado en el electrodo superior 114 para sellar un segundo lado del conducto 124. Los componentes de sellado puede estar hecho de y/o incluir cualquier número de materiales. A modo de ejemplo no limitativo, uno o ambos de los componentes de sellado puede ser cinta adhesiva hidrofílica o cinta Scotch®. Los lados adhesivos de los componentes de sellado pueden estar orientados al inmunosensor 110. Como se muestra, no solamente el primer componentes de sellado 140 forma un sello para conducto 124, sino que también puede formar una pared para la cámara de llenado 122 de manera que la muestra pueda contenerse en la misma. Las propiedades incorporadas en el lado adhesivo del primer componente de sellado 140 pueden estar asociadas con la cámara de llenado 122. Por ejemplo, si el primer componente de sellado 140 incluye propiedades que lo hacen hidrofílico y/o soluble en agua, la cámara de llenado puede permanecer bien mojada cuando una muestra está dispuesta en la misma. Además, los componentes de sellado 140, 142 pueden selectivamente asociarse y desasociarse con el inmunosensor 110 para proporcionar descarga y/o sellado para el inmunosensor 110 y los componentes dispuestos en el mismo como se desee.

30 Ejemplos no limitativos de inmunosensores incluyen aquellos descritos en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos N° 2003/0180814 de Hodges et al., titulada: "Ensayos de Inmunosensor Directo" y presentada el 21 de marzo, 2002, la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos N° 2004/0203137 de Hodges et al., titulada: "Inmunosensores" y presentada el 22 de abril, 2004 y la publicación de patente de Estados Unidos N° 2010/0006452.

35 El inmunosensor 110 puede estar configurado para colocarse en un medidor que está configurado para aplicar un potencial a los electrodos 112, 114 y medir una corriente que es el resultado de la aplicación del potencial. El inmunosensor puede incluir una o más lengüetas 117 para engranar con un medidor. También pueden usarse otras características para engranar el inmunosensor 110 con un medidor. El medidor puede incluir un número de diferentes características. Por ejemplo, el medidor puede incluir un imán que está configurado para mantener ciertos componentes del inmunosensor 110 en una cámara mientras otros componentes fluyen a la otra. El imán del medidor puede estar situado de tal manera que, después de colocar el inmunosensor 110 en el medidor, el imán esté dispuesto por debajo de la cámara de reacción 118. Esto puede permitir al imán ayudar a impedir que cualquier cuenta magnética 134, y más particularmente cualquier conjugado anticuerpo-enzima que esté unido a las cuentas 134, fluya a la cámara de detección 120.

Una característica alternativa del medidor incluye un elemento térmico. Un elemento térmico puede ayudar a acelerar la velocidad de reacción y ayudar a que la muestra fluya a través del inmunosensor 110 de una manera deseada reduciendo la viscosidad. Un elemento térmico también puede permitir que una o más cámaras y/o una muestra dispuesta en las mismas se calienten a una temperatura predeterminada. El calentamiento a una temperatura predeterminada puede ayudar a proporcionar precisión, por ejemplo, reduciendo o eliminando los efectos de cambio de temperatura cuando la reacción tiene lugar.

Además, un instrumento perforador también puede asociarse con el medidor. El instrumento perforador puede estar configurado para perforar al menos uno del primer y segundo componente de sellado en un momento deseado para que el aire pueda fluir fuera del agujero de ventilación y el líquido pueda fluir de la cámara de reacción a la cámara de detección.

El inmunosensor 110 y la tira de ensayo 62 también pueden estar configurados para asociarse con una unidad de control, que en la realización preferente, puede ser un microcontrolador Texas Instrument MSP-430. La unidad de control puede estar configurada para realizar una variedad de funciones. La unidad de control puede ser capaz de medir un tiempo de llenado de una muestra cuando se introduce en el dispositivo. La unidad de control puede estar configurada para determinar un valor de hematocrito de una muestra de sangre. La unidad de control puede estar configurada para calcular una concentración de un analito en la muestra en vista del tiempo de llenado. De hecho, la unidad de control puede incluir un número de diferentes características, dependiendo, al menos en parte, de la funcionalidad deseada y el método por el que el sistema está diseñado para medir el tiempo de llenado.

La unidad de control también puede medir otros aspectos del sistema. A modo de ejemplo no limitativo, la unidad de control puede estar configurada para medir una temperatura de una o más cámaras del inmunosensor o tira de ensayo. También puede estar configurada para medir una temperatura de la muestra, un color de la muestra, una capacitancia del inmunosensor o tira de ensayo o una variedad de otras características y/o propiedades de la muestra y/o el sistema. A modo de ejemplo no limitativo, la unidad de control puede estar configurada para comunicar los resultados de la determinación del tiempo de llenado, los resultados de la medición de capacitancia, los resultados de la determinación de concentración de analito y/o la medición de hematocrito al equipo exterior. Esto puede realizarse en un número de maneras. La unidad de control puede estar unida mediante cable a un microprocesador y/o monitor. La unidad de control puede estar configurada para transmitir datos sin cables de la unidad de control a un microprocesador y/o un monitor.

Otros componentes del sistema también pueden estar configurados para hacer tales mediciones. Por ejemplo, el inmunosensor o el medidor puede estar configurado para medir una temperatura de una o más cámaras del inmunosensor o tira de ensayo, medir o inferir la temperatura de una muestra, o medir, determinar o inferir una variedad de otras características y/o propiedades de la muestra y/o sistema. Aún más, un experto en la técnica reconocerá que estas características de una unidad de control pueden intercambiarse y combinarse de manera selectiva en una única unidad de control. Por ejemplo, una unidad de control puede determinar un tiempo de llenado, una capacitancia y medir una temperatura de una cámara. Pueden usarse múltiples unidades de control juntas para realizar varias funciones, basadas al menos en parte en la configuración de las varias unidades de control y las funciones deseadas que se realizarán.

#### **Prueba de Concentración de Analito**

Una vez que el medidor 100 ha determinado que un fluido se ha introducido (por ejemplo, dosificado) en la tira de ensayo 62, un medidor de ensayo 100 puede realizar una prueba de glucosa aplicando una pluralidad de potenciales de prueba a la tira de ensayo 62 durante intervalos prescritos como se muestra en la FIG. 7A. Un intervalo de tiempo de prueba de glucosa  $T_G$  representa una cantidad de tiempo para realizar la prueba de glucosa (pero no necesariamente todos los cálculos asociados con la prueba de glucosa) donde el intervalo de tiempo de prueba de glucosa  $T_G$  puede incluir un primer potencial de prueba  $E_1$  para un primer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_1$ , un segundo potencial de prueba  $E_2$  para un segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$ , y un tercer potencial de prueba  $E_3$  para un tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$ . Además, como se ilustra en la FIG. 7A, el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  puede incluir un componente de voltaje de prueba constante (DC) y un componente de voltaje de prueba superimpuesto alternante (AC) u oscilante. El componente de voltaje de prueba alterante superimpuesto puede aplicarse durante un intervalo de tiempo indicado por  $T_{cap}$ . El intervalo de tiempo de la prueba de glucosa  $T_G$  puede oscilar, por ejemplo, entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 5 segundos.

Como se ha analizado anteriormente, el primer electrodo 166 o el segundo electrodo 164 puede funcionar como electrodo de trabajo que oxida o reduce una cantidad limitativa de mediador dependiendo de la polaridad del potencial de prueba aplicado del medidor de ensayo. Debería señalarse que a menos que se establezca lo contrario todos los potenciales aplicados por el medidor de ensayo 100 se establecerán a partir de ahora con respecto al segundo electrodo 164. Sin embargo, los solicitantes señalan que los potenciales de prueba aplicados por el medidor de ensayo 100 también pueden establecerse con respecto al primer electrodo 166, en cuyo caso la polaridad de los potenciales de prueba y corrientes medidas analizadas más abajo se invertiría.



La pluralidad de valores de corriente de prueba durante el primer, segundo y tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba pueden realizarse en una frecuencia que oscila entre aproximadamente 1 medición por nanosegundo a aproximadamente una medición por 100 milisegundos. Los solicitantes señalan que los nombres “primer”, “segundo” y “tercer” se eligen por conveniencia y no reflejan necesariamente el orden en el que los potenciales de prueba se aplican. Por ejemplo, una onda de potencial donde el tercer voltaje de prueba puede aplicarse antes de la aplicación del primer y segundo voltaje de prueba. Se describe el uso de tres voltajes de prueba de una manera consecutiva, los solicitantes señalan que la prueba de glucosa puede incluir diferentes números de circuito abierto y voltajes de prueba. Los solicitantes también señalan que el intervalo de tiempo de prueba de glucosa puede incluir cualquier número de intervalo de tiempo de potencial de circuito abierto. Por ejemplo, el intervalo de tiempo de prueba de glucosa podría incluir solamente dos intervalos de tiempo de potencial de prueba y/o intervalos de tiempo de potencial de circuito abierto antes y/o después de uno o más intervalos de tiempo de potencial de prueba. La prueba de glucosa puede incluir un circuito abierto para un primer intervalo de tiempo, y un segundo voltaje de prueba para un segundo intervalo de tiempo y un tercer voltaje de prueba para un tercer intervalo de tiempo.

Como se muestra en la FIG. 7A, el medidor de prueba 100 puede aplicar un primer potencial de prueba  $E_1$  (por ejemplo, -20 mV) para un primer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_1$  (por ejemplo, en el rango comprendido entre aproximadamente 0,1 segundos y aproximadamente 3 segundos y preferentemente en el rango comprendido entre aproximadamente 0,2 segundos y aproximadamente 2 segundos, y más preferentemente en el rango comprendido entre aproximadamente 0,3 segundos y aproximadamente 1 segundo. El primer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_1$  puede ser lo suficientemente largo para que la cámara de reacción de muestra 61 pueda llenarse por completo con la muestra y también para que la capa de reactivo 72 pueda al menos disolverse o someterse a solvatación parcialmente. El primer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_1$  puede incluir cualquier otro rango deseado de tiempo.

El medidor de ensayo 100 puede aplicar un primer potencial de prueba  $E_1$  entre los electrodos durante una duración entre cuando el medidor puede detectar que la tira se está llenando con la muestra y antes de que un segundo potencial de prueba  $E_2$  se aplique. En un aspecto, el potencial de prueba  $E_1$  es pequeño. Por ejemplo, el potencial puede estar en el rango de aproximadamente -1 a aproximadamente -100 mV, preferentemente en el rango de aproximadamente -5 mV a aproximadamente -50 mV y más preferentemente en el rango de aproximadamente -10 mV a aproximadamente -30 mV. El potencial más pequeño perturba el gradiente de concentración de mediador reducido a una menor extensión en comparación con la aplicación de una mayor diferencia de potencial, pero es aún suficiente para obtener una medida de las sustancias oxidables en la muestra. El potencial de prueba  $E_1$  puede aplicarse durante una porción de tiempo entre la detección de llenado y cuando el segundo potencial de prueba  $E_2$  se aplica o puede aplicarse durante todo ese periodo de tiempo. Si el potencial de prueba  $E_1$  se va a usar durante una porción de tiempo entonces podría aplicarse un circuito abierto para el resto de tiempo. La combinación de un número de aplicaciones de circuito abierto y pequeño potencial de voltaje, su orden y veces aplicados no es crítico, pueden aplicarse siempre y cuando el periodo total durante el cual el potencial pequeño  $E_1$  se aplica sea suficiente para obtener una medición de corriente indicativa de la presencia y/cantidad de sustancias oxidables presentes en la muestra. El potencial pequeño  $E_1$  puede aplicarse durante sustancialmente todo el periodo entre cuando un relleno se detecta y cuando el segundo potencial de prueba  $E_2$  se aplica.

Durante el primer intervalo de tiempo  $T_1$ , el medidor de ensayo 100 mide la primera corriente transitoria, que puede referirse como  $i_a(t)$ . Una corriente transitoria representa una pluralidad de valores de corriente medidos por un medidor de ensayo durante un intervalo de tiempo particular de potencial de prueba. La primera corriente transitoria  $i_a(t)$  puede medirse durante un tiempo en el rango de aproximadamente 0,05 segundos a aproximadamente 1,0 segundo y preferentemente en el rango de aproximadamente 0,1 segundos a aproximadamente 0,2 segundos. La primera corriente transitoria  $i_a(t)$  puede medirse para cualquier otro rango de tiempo deseado. Como se ha analizado anteriormente, una parte o toda la corriente transitoria puede usarse para determinar si una solución control o una muestra de sangre se aplicó a la tira de ensayo 62. La magnitud de la primera corriente transitoria está afectada por la presencia de sustancias fácilmente oxidables en la muestra. La sangre normalmente contiene compuestos endógenos o exógenos que son fácilmente oxidables en el segundo electrodo 164. Por el contrario, la solución control puede formularse de tal manera que no contenga compuestos oxidables. Sin embargo, las composiciones de muestra de sangre pueden variar y la magnitud de la primera corriente transitoria para muestra de sangre de elevada viscosidad será típicamente más pequeña que las muestras de viscosidad baja (en algunos casos incluso menor que las muestras de la solución control) porque la cámara de reacción de muestra 61 puede no estar completamente llena después de aproximadamente 0,2 segundos. Un llenado incompleto provocará que el área efectiva del primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 descienda lo que a su vez puede provocar que la primera corriente transitoria se reduzca. De este modo, la presencia de sustancias oxidables en una muestra, por sí misma, no es siempre un factor suficientemente discriminatorios debido a variaciones en las muestras de sangre.

Una vez que el tiempo del primer intervalo de tiempo  $T_1$  ha pasado, el medidor de ensayo 100 puede aplicar un segundo potencial  $E_2$  entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 166 (por ejemplo, desde aproximadamente -300 mV como se ilustra en la FIG. 7A) durante un segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  (por ejemplo, aproximadamente 3 segundos como se ilustra en la FIG. 7A). El segundo potencial de

prueba  $E_2$  puede ser un valor suficientemente negativo del potencial de reducción/oxidación del mediador para que la corriente de oxidación limitativa ocurra en el segundo electrodo 164. Por ejemplo, cuando se usa ferricianuro y/o ferrocianuro como mediador, el segundo potencial de prueba  $E_2$  puede oscilar entre aproximadamente -600 mV y aproximadamente -300 mV. De la misma manera, el intervalo de tiempo indicado como  $T_{cap}$  en la FIG. 6 puede también durar un rango de tiempos, puede tener una duración de aproximadamente 20 milisegundos. El componente de voltaje de prueba alternante superimpuesto puede aplicarse después de aproximadamente 0,3 segundos a aproximadamente 0,32 segundos después de la aplicación del segundo voltaje de prueba  $V_2$ , e induce dos ciclos de una onda senoidal que tiene una frecuencia de aproximadamente 109 Hz con una amplitud de aproximadamente +/- 50 mV. Durante el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$ , el medidor de ensayo 100 puede medir una segunda corriente transitoria  $i_b(t)$ .

El segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  puede ser suficientemente largo para controlar la velocidad de generación de mediador reducido (por ejemplo, ferrocianuro) en la cámara de reacción de muestra 61 en base a la magnitud de una corriente de oxidación limitativa. El mediador reducido puede generarse mediante una serie de reacciones químicas en la capa de reactivo 72. Durante el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$ , una cantidad limitativa de mediador reducido se oxida en el segundo electrodo 164 y una cantidad no limitativa de mediador oxidado se reduce en el primer electrodo 166 para formar un gradiente de concentración entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164. Como se describirá, el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  debería ser suficientemente largo para que una cantidad suficiente de ferricianuro pueda generarse en el segundo electrodo 164. Una cantidad suficiente de ferricianuro puede requerirse en el segundo electrodo 164 para que una corriente limitativa pueda medirse para ferrocianuro oxidante en el primer electrodo 166 durante el tercer potencial de prueba  $E_3$ . El segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  puede oscilar entre aproximadamente 0 segundos y aproximadamente 60 segundos y preferentemente oscilar entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 10 segundos, y más preferentemente entre aproximadamente 2 segundos y aproximadamente 5 segundos.

La FIG. 7B muestra un pico relativamente pequeño  $i_{pb}$  en el comienzo del segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  seguido de un incremento gradual de un valor absoluto de una corriente de oxidación durante el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba (por ejemplo, en el rango de aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 4 segundos). El pico pequeño ocurre debido a una disminución de mediador reducido aproximadamente en 1 segundo. El incremento gradual en la corriente de oxidación se atribuye a la generación de ferrocianuro por la capa de reactivo 72 seguido de su difusión al segundo electrodo 164.

Después de que segundo intervalo de tiempo de potencial  $T_2$  ha pasado, el medidor de ensayo 100 puede aplicar un tercer potencial de prueba  $E_3$  entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 durante un tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$  (por ejemplo, en el rango de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 segundos como se ilustra en la FIG. 6). Durante el tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$ , el medidor de prueba 100 puede medir una tercera corriente transitoria, que puede referirse como  $i_c(t)$ . El tercer potencial de prueba  $E_2$  puede ser un valor suficientemente positivo del potencial de reducción/oxidación del mediador para que una corriente de oxidación limitativa se mida en el primer electrodo 166. Por ejemplo, cuando se usa ferricianuro y/o ferrocianuro como mediador, el tercer potencial de prueba  $E_3$  puede oscilar entre aproximadamente cero mV y aproximadamente 600 mV, y más preferentemente aproximadamente 300 mV.

El segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  y el tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$  puede cada uno oscilar entre aproximadamente 0,1 segundos y aproximadamente 4 segundos. Como se muestra en la FIG. 7A, el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$  fue aproximadamente de 3 segundos y el tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba fue aproximadamente de 1 segundo. Como se ha mencionado anteriormente, puede permitirse que pase un periodo de tiempo de potencial de circuito abierto entre el segundo potencial de prueba  $E_2$  y el tercer potencial de prueba  $E_3$ . Alternativamente, el tercer potencial de prueba  $E_3$  puede aplicarse después de la aplicación del segundo potencial de prueba  $E_3$ . Hay que señalar que una parte de la primera, segunda o tercera corriente transitoria puede ser referida generalmente como una corriente de célula o un valor de corriente.

El tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$  puede ser suficientemente largo para controlar la difusión de un mediador reducido (por ejemplo, ferrocianuro) cerca del primer electrodo 166 en base a la magnitud de la corriente de oxidación. Durante el tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$ , una cantidad limitativa de mediador reducido se oxida en el primer electrodo 166 y una cantidad no limitativa de mediador oxidado se reduce en el segundo electrodo 164. El tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$  puede oscilar entre aproximadamente 0,1 segundos y aproximadamente 5 segundos y preferentemente oscilar entre aproximadamente 0,3 segundos y aproximadamente 3 segundos y más preferentemente oscilar entre aproximadamente 0,5 segundos y aproximadamente 2 segundos.

La FIG. 7B muestra un pico relativamente grande  $i_{pc}$  en el comienzo del tercer intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_3$  seguido de un descenso a una corriente en estado constante. El primer potencial de prueba  $E_1$  y el segundo potencial de prueba  $E_2$  pueden tener una primera polaridad, y el tercer potencial de prueba  $E_3$  puede tener una segunda polaridad, que es opuesta a la primera polaridad. Sin embargo, los solicitantes señalan que la

polaridad del primer, segundo y tercer potencial de prueba puede elegirse dependiendo de la manera en la que la concentración de analito se determina y/o dependiendo de la manera en la que las muestras de prueba y las soluciones control se distinguen.

## 5 Medición de Capacitancia

Puede medirse una capacitancia, que esencialmente es una capacitancia iónica de doble capa que es resultado de la formación de capas iónicas en la interfaz líquida del electrodo. Puede usarse una magnitud de capacitancias para determinar si la muestra es una solución control o una muestra de sangre. Por ejemplo, cuando una solución control está en la cámara de reacción, la magnitud de la capacitancia medida puede ser mayor que la magnitud de la capacitancia medida cuando la muestra de sangre está en la cámara de reacción. Como se analizará con más detalle más abajo, una capacitancia medida puede usarse en varios métodos para corregir los efectos de una propiedad física de la célula electroquímica en mediciones hechas usando la célula electroquímica. Por ejemplo, la capacitancia medida puede relacionarse con al menos uno de una edad de la célula electroquímica y una condición de almacenamiento de la célula electroquímica.

A modo de ejemplo no limitativo, los métodos y mecanismos para realizar mediciones de capacitancia en tiras de ensayo pueden encontrarse en las patentes de Estados Unidos números 7.195.704 y 7.199,594. Un voltaje de prueba que tiene un componente contante y una componente oscilante puede aplicarse a la tira de ensayo. En tal caso, la corriente de prueba resultante puede procesarse matemáticamente, como se describe con más detalle más abajo, para determinar el valor de capacitancia.

Generalmente, cuando una corriente de prueba limitativa ocurre en un electrodo de trabajo que tiene un área bien definida (esto es, un área que no cambia durante la medición de capacitancia), pueden realizarse mediciones de capacitancia más exactas y precisas en un tira de ensayo electroquímica. Un electrodo con un área bien definida que no cambia con el tiempo puede ocurrir cuando hay un sello hermético entre el electrodo y el espaciador. La corriente de prueba es relativamente constante cuando la corriente no está cambiando rápidamente debido a la oxidación de glucosa o la descomposición electroquímica. Alternativamente, cualquier periodo de tiempo cuando un incremento en la señal, que podría verse debido a la oxidación de glucosa, se equilibra de manera efectiva por un descenso en la señal, que acompaña a la descomposición electroquímica, también puede ser un intervalo de tiempo apropiado para medir capacitancia.

Un área del primer electrodo 166 puede cambiar potencialmente con el tiempo después de dosificar la muestra si la muestra se filtra entre el espaciador 60 y el primer electrodo 166. La capa de reactivo 72 puede tener un área mayor que el área recortada 68 que provoca que una parte de la capa de reactivo 72 está entre el espaciador 60 y la primera capa de electrodo 66. Bajo ciertas circunstancias, la interposición de una parte de la capa de reactivo 72 entre el espaciador 60 y la primera capa de electrodo 66 puede permitir que le área húmeda del electrodo aumente durante una prueba. Como resultado, puede darse una fuga durante una prueba lo que provoca que el área del primer electrodo aumente con el tiempo, lo que a su vez puede distorsionar una medición de capacitancia.

Por el contrario, un área del segundo electrodo 164 puede ser más estable con el tiempo en comparación con el primer electrodo 166 porque no hay capa de reactivo entre el segundo electrodo 164 y el espaciador 60. De este modo, la muestra tiene menos posibilidades de filtrarse entre el espaciador 60 y el segundo electrodo 164. Una medición de capacitancia que usa un corriente de prueba limitativa en el segundo electrodo 164 puede de este modo ser más precisa porque el área no cambia durante la prueba.

Como se ha analizado anteriormente y como se muestra en la FIG. 7A, una vez que se detecta líquido en la tira de ensayo, el primer potencial de prueba  $E_1$  (por ejemplo, -20 mV) puede aplicarse entre los electrodos durante aproximadamente 1 segundo para controlar el comportamiento de llenado del líquido y para distinguir entre solución de control y sangre. En la Ecuación 1, la corriente de prueba se usa desde aproximadamente 0,05 a 1 segundo. El primer potencial de prueba  $E_3$  puede ser relativamente bajo de tal manera que la distribución de ferrocianuro se distribuya lo menos posible por las reacción electroquímicas que ocurren en el primer y segundo electrodo.

Un segundo potencial de prueba  $E_2$  (por ejemplo, -300 mV) que tiene una mayor magnitud absoluta puede aplicarse después del primer potencial  $E_1$  de tal manera que pueda medirse una corriente limitativa en el segundo electrodo 164. El segundo potencial de prueba  $E_2$  puede incluir un componente de voltaje CA y un componente de voltaje CC. El componente de voltaje CA puede aplicarse en una cantidad predeterminada de tiempo después de la aplicación de la segundo potencial de prueba  $E_2$ , y además, puede ser una onda senoidal que tiene una frecuencia de aproximadamente 109 Hercios y una amplitud de aproximadamente +/- 50 milivoltios. En una realización preferente, la cantidad predeterminada de tiempo puede oscilar entre aproximadamente 0,3 segundos y aproximadamente 0,4 segundos después de la aplicación del segundo potencial de prueba  $E_2$ . Alternativamente, la cantidad predeterminada de tiempo puede ser un tiempo donde la corriente transitoria de prueba como una función de tiempo tiene una pendiente de aproximadamente cero. La cantidad predeterminada de tiempo puede ser un tiempo requerido para un valor pico de corriente (por ejemplo,  $i_{pb}$ ) para descomponerse en aproximadamente 50%.

Como para el componente CC, puede aplicarse al comienzo del primer potencial de prueba. El voltaje CC puede tener una magnitud suficiente para provocar una corriente limitativa de prueba en el segundo electrodo como, por ejemplo, aproximadamente -300 mV con respecto al segundo electrodo.

5 Consistente con la FIG. 4B, la capa de reactivo 72 no está cubierta en el segundo electrodo 164, lo que provoca que la magnitud de la corriente del pico absoluto  $i_{pb}$  sea relativamente baja en comparación con la corriente del pico absoluto  $i_{pc}$ . La capa de reactivo 72 puede estar configurada para generar un mediador reducido en presencia de un analito, y la cantidad del mediador reducido próximo al primer electrodo puede contribuir a la corriente del pico absoluto relativamente alta  $i_{pc}$ . Al menos la parte de enzima de la capa de reactivo 72 puede estar configurada para no dispersarse del primer electrodo al segundo electrodo cuando la muestra se introduce en la tira de ensayo.

15 La corrientes de prueba después de  $i_{pb}$  tienen a fijarse en una región plana aproximadamente a los 1,3 segundos, y entonces la corriente aumenta de nuevo cuando el mediador reducido generado en el primer electrodo 166, que puede estar cubierto por la capa de reactivo 72, se dispersa al segundo electrodo 164, que no está cubierto por la capa de reactivo 71. Una medición de capacitancia puede realizarse en una región relativamente plana de los valores de corriente de prueba, que pueden realizarse desde aproximadamente 1,3 segundos a aproximadamente 1,4 segundos. Generalmente, si la capacitancia se mide antes de 1 segundo, entonces la medición de capacitancia puede interferir con el primer potencial de prueba relativamente bajo  $E_1$  que puede usarse para medir la primer corriente transitoria  $i_a(t)$ . Por ejemplo, un componente de voltaje oscilante en el orden de +/- 50 mV superimpuesto en un componente de voltaje constante de -20 mV puede provocar una significativa perturbación de la corriente de prueba medida. No solamente el componente de voltaje oscilante interfiere con el primer potencial de prueba  $E_2$ , sino que también puede perturbar de manera significativa las corrientes de prueba medidas a aproximadamente 1,1 segundos, que a su vez pueden interferir con la corrección de antioxidantes. Después de una gran cantidad de pruebas y experimentos, finalmente se determinó que, sorprendentemente, la medición de la capacitancia desde aproximadamente 1,3 segundos a aproximadamente 1,4 segundos dio como resultado una medición precisa que no interfirió con la prueba de discriminación de solución control/sangre o el algoritmo de glucosa en sangre.

20 Después del segundo potencial de prueba  $E_2$ , el tercer potencial de prueba  $E_3$  (por ejemplo, +300 mV) puede aplicarse provocando que la corriente de prueba pueda medirse en el primer electrodo 166, que puede estar cubierto con la capa de reactivo 72. La presencia de una capa de reactivo en el primer electrodo puede permitir la penetración de líquido entre la capa espaciadora y la capa de electrodo, que puede provocar que el área del electrodo aumente.

30 Como se ilustra en la FIG. 7A, puede aplicarse un voltaje de prueba CA de 109 Hz ( $\pm 50$  mV pico-a-pico) durante 2 ciclos durante el intervalo de tiempo  $T_{cap}$ . El primer ciclo puede usarse como un pulso de acondicionamiento y el segundo ciclo puede usarse para determinar la capacitancia. El cálculo aproximado de capacitancia puede obtenerse sumando la corriente de prueba con una parte de onda de corriente alterna (CA), restando la compensación de corriente directa (CD) y normalizando el resultado usando la amplitud de voltaje de prueba de CA y la frecuencia de CA. Este cálculo proporciona una medición de la capacitancia de la tira, que está dominada por la cámara de muestra de tira cuando se llena con la muestra.

40 La capacitancia puede medirse sumando la corriente de prueba con un cuarto de la onda de CA en cualquier lado del punto en el tiempo cuando el voltaje de CA de entrada cruza la compensación de CD, esto es, cuando el componente de CA del voltaje de entrada es cero (el cero cruzando el punto). Una derivación de cómo esto se traduce a una medición de la capacitancia se describe con más detalle más abajo. La Ecuación 1 muestra la magnitud de corriente de prueba como una función de tiempo durante el intervalo de tiempo  $T_{cap}$ :

50 Ec. 1 
$$i(t) = i_o + st + I \sin(\omega t + \phi)$$

donde los términos  $i_o + st$  representan la corriente de prueba provocada por el componente de voltaje de prueba constante. Generalmente, el componente de corriente CD se considera como cambiante de manera lineal con el tiempo (debido a la reacción de glucosa en desarrollo que genera ferrocianuro) y de este modo está representada por una constante  $i_o$ , que es la corriente CD en tiempo cero (el punto que cruza cero), y  $s$ , la pendiente del cambio de corriente CD con el tiempo. El componente de corriente de CA está representado por  $I \sin(\omega t + \phi)$ , donde  $I$  es la amplitud de la onda de corriente,  $\omega$  es su frecuencia y  $\phi$  es su cambio de fase en relación con la onda de voltaje de entrada. El término  $\omega$  puede también expresarse como  $2\pi f$ , donde  $f$  es la frecuencia de la onda de CA en Hercios. El término  $I$  también puede expresarse como se muestra en la Ecuación 2:

60 Ec. 2 
$$I = \frac{V}{|Z|}$$

donde  $V$  es la amplitud de la señal de voltaje aplicada y  $|Z|$  es la magnitud de la impedancia compleja. El término  $|Z|$  también puede expresarse como se muestra en la Ecuación 22:

65 
$$|Z| = \frac{R}{\sqrt{1 + \tan^2 \phi}} = \frac{R}{\sqrt{1 + \omega^2 R^2 C^2}}$$

Ec. 3

donde R es la parte real de la impedancia y C es la capacitancia.

5 La Ecuación 1 puede integrarse de una longitud de onda de cuarto antes del punto que cruza cero a una longitud de onda de cuarto después de que cero cruce el punto para producir la Ecuación 4:

Ec. 4 
$$\int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} i(t) dt = i_o \left[ t \right]_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} + \frac{S}{2} \left[ t^2 \right]_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} + I \int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} \sin(\omega t + \phi) dt,$$

10 que puede simplificarse a Ecuación 5:

Ec. 5 
$$\int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} i(t) dt = \frac{i_o}{2f} + \frac{I \sin \phi}{\pi f}.$$

15 Sustituyendo la Ec. 2 por la Ec. 1, después por Ec. 4, y después reorganizando, la Ecuación 6 da como resultado:

Ec. 6 
$$C = \frac{1}{2V} \left( \int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} i(t) dt - \frac{i_o}{2f} \right).$$

20 El término integral en la Ecuación 6 puede ser aproximado usando una suma de corrientes mostradas en una Ecuación 7:

Ec. 7 
$$\int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} i(t) dt \approx \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n i_k$$

25 donde las corrientes de prueba  $i_k$  se suman de una longitud de onda de un cuarto antes del punto que cruza cero a una longitud de onda de un cuarto que pasa el punto que cruza cero. La sustitución de la Ecuación 7 por la Ecuación 6 produce la Ecuación 8:

Ec. 8 
$$C = \frac{\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n i_k - i_o}{4Vf},$$

35 en la que la corriente de compensación de CD  $i_o$  puede obtenerse promediando de la corriente de prueba y un ciclo completo de seno alrededor del punto que cruza cero.

40 Las mediciones de capacitancia pueden obtenerse sumando la corrientes no alrededor del punto que cruza el voltaje cero, sino más bien alrededor del componente máximo de CA de la corriente. De este modo, en la Ecuación 7, más que la suma de una longitud de onda de un cuarto en cualquier lado del punto que cruza el voltaje cero, la corriente de prueba puede sumarse en una longitud de onda de un cuarto alrededor de la corriente máxima. Esto es equivalente a asumir que el elemento del circuito equivalente a la excitación de CA es un capacitador puro, de manera que  $\phi$  es  $\pi/2$ . De este modo, la Ecuación 5 puede reducirse a la Ecuación 9:

Ec. 9 
$$\int_{-\frac{1}{4f}}^{\frac{1}{4f}} i(t) dt = \frac{i_o}{2f} + \frac{I}{\pi f}.$$

50 Esto es una suposición razonable en este caso ya que el electrodo no cubierto está polarizado de tal manera que el componente de CD o real de la corriente que fluye es independiente del voltaje aplicado sobre un rango de valores usados en la excitación de CA. Por consiguiente, la parte real de la impedancia que responde a la excitación de CA es infinita, lo que implica un elemento capacitativo puro. La Ecuación 9 puede usarse entonces con la Ecuación 6 para producir una ecuación simplificada de capacitancia que no requiere una aproximación integral. El resultado neto es que las mediciones de capacitancia cuando suman las corrientes no alrededor del punto que cruza el voltaje, sino más bien alrededor del componente máximo de CA de la corriente, fueron más precisos.

**Prueba de Discriminación Solución Control/Sangre**

60 Puede realizarse una prueba de discriminación de solución control (SC)/sangre. Si la prueba de discriminación SC/sangre determina que la muestra es sangre, entonces pueden realizarse una serie de etapas que pueden incluir: la aplicación de un algoritmo de glucosa en sangre, corrección de hematocrito, corrección de temperatura de sangre, y revisiones de error; y si la prueba de discriminación de SC/sangre determina que la muestra es SC (esto es, no sangre), entonces pueden realizarse una serie de etapas que pueden incluir: la aplicación de un algoritmo de glucosa en SC, una corrección de temperatura de SC y revisiones de error y se describe en relación con las Figuras 8-15 de la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos N°

2009/0301899. Si no hay errores, entonces, el medidor de ensayo produce una concentración de glucosa, pero si hay errores, entonces la prueba puede generar un mensaje de error.

5 Las características de una solución control (SC) pueden usarse para distinguir las soluciones control de sangre. Por ejemplo, la presencia y/o concentración de especies de reducción/oxidación en la muestra, la cinética de la reacción y/o capacitancia pueden usarse para distinguir las soluciones control de sangre. El método puede incluir la etapa de calcular un primer valor de referencia que es representativo de la concentración de reducción/oxidación en la muestra y un segundo valor de referencia que es representativo de la velocidad de reacción de la muestra con el reactivo. El primer valor de referencia es una corriente de oxidación interferente y el segundo valor de referencia es un porcentaje de terminación de reacción.

10 Una prueba de discriminación SC/sangre puede incluir un primer valor de referencia y un segundo valor de referencia. El primer valor de referencia puede calcularse en base a los valores de corriente en el primer intervalo de tiempo  $T_1$  y el segundo valor de referencia puede basarse en valores de corriente durante el segundo intervalo de tiempo  $T_2$  y el tercer intervalo de tiempo  $T_3$ . El primer valor de referencia puede obtenerse realizando una suma de los valores de corriente obtenidos durante la primera corriente transitoria de tiempo cuando se usa la onda de voltaje de prueba de la FIG. 7A. a modo de ejemplo no limitativo, un primer valor de referencia  $i_{sum}$  puede representarse mediante la Ecuación 10:

20 Ec. 10 
$$i_{sum} = \sum_{t=0,05}^1 i(t)$$

25 donde  $i_{sum}$  es la suma de los valores de corriente y  $t$  es un tiempo. El segundo valor de referencia, algunas veces referido como el índice de reacción residual, puede obtenerse mediante una proporción  $Y$  de valores de corriente durante el segundo intervalo de tiempo y el tercer intervalo de tiempo, como se muestra en la Ecuación 11:

30 Ec. 11 
$$Y = \text{abs} \left( \frac{i(3,8)}{i(4,15)} \right)$$

35 donde  $\text{abs}$  representa una función de valor absoluto y 3,8 y 4,15 representan el tiempo en segundos del segundo y tercer intervalo de tiempo, respectivamente, para este ejemplo particular.

40 Puede usarse un criterio de discriminación para determinar si la muestra es solución control o sangre en base al primer valor de referencia de Ec. 10 y el segundo valor de referencia de Ec. 11. Por ejemplo, el primer valor de referencia de Ec. 10 puede compararse con un umbral predeterminado y el segundo valor de referencia de Ec. 11 puede compararse con una función de umbral predeterminado. El umbral predeterminado puede ser, por ejemplo, aproximadamente 12 microamperios. La función de umbral predeterminado puede basarse en una función que usa el primer valor de referencia de Ec. 10. Más específicamente, como lo ilustra la Ec. 12, donde el valor calculado de cualquiera de  $i_{sum}$  en Ec. 10 está representado por  $X$ , la función de umbral predeterminado  $F_{pdt}$  puede ser:

45 Ec. 12 
$$F_{pdt} = Z \frac{X-12}{X}$$

50 donde  $Z$  es una constante tal como, por ejemplo, aproximadamente 0,2. De este modo, la prueba de discriminación SC/Sangre puede identificar una muestra como sangre si  $i_{sum}$ , como se muestra en la Ec. 10, es superior o igual al umbral predeterminado, por ejemplo, aproximadamente 12 microamperios, y si la proporción de  $Y$  de los valores de corriente durante el segundo intervalo de tiempo y el tercer intervalo de tiempo, como se muestran en la Ec. 11, es inferior al valor de la función de umbral predeterminado  $F_{pdt}$ , si no la muestra una solución control.

### Algoritmo de Glucosa en Sangre

55 Si la muestra se identifica como una muestra de sangre, puede realizarse un algoritmo de glucosa en sangre en los valores de corriente de prueba. Asumiendo que una tira de ensayo tiene una cara opuesto o una disposición orientada como la mostrada en las FIGS. 1A-4B, y que la onda de potencial se aplica a la tira de ensayo como se muestra en la FIG. 7A o FIG. 8A, puede calcularse una concentración de glucosa  $[G]$  usando un algoritmo de glucosa como se muestra en la Ec. 13:

60 Ec. 13 
$$[G] = \left( \frac{i_2}{i_3} \right)^p (a|i_1| - Z)$$

65 En la Ec. 13,  $[G]$  es la concentración de glucosa,  $i_1$  es un primer valor de corriente,  $i_2$  es un segundo valor de corriente, e  $i_3$  es un tercer valor de corriente, y los términos  $p$ ,  $Z$  y  $a$  son constantes de calibración empíricamente derivadas. Una derivación de Ec. 13 puede encontrarse en una solicitud de patente publicada pendiente de Estados

Unidos N° 2007/0074977. Todos los valores de prueba (por ejemplo,  $i_1$ ,  $i_2$  e  $i_3$ ) en la Ecuación 13 usan el valor absoluto de la corriente. El primer valor de corriente  $i_1$  y el segundo valor de corriente  $i_2$  se calculan a partir de la tercera corriente transitoria y el tercer valor de corriente  $i_3$  se calcula a partir de la segunda corriente transitoria. Los solicitantes señalan que los nombres "primer", "segundo" y "tercero" se eligen por conveniencia y no necesariamente reflejan el orden en el que los valores de corriente se calculan. Además, todos los valores de corriente (por ejemplo,  $i_1$ ,  $i_2$  y  $i_3$ ) establecidos en la Ec. 13 usan el valor absoluto de la corriente.

El término  $i_1$  puede definirse para incluir valores de corriente pico de la segunda y tercer corriente transitoria para permitir una concentración de glucosa más precisa como se muestra en la Ec. 14.

$$\text{Ec. 14} \quad i_1 = i_2 \left\{ \frac{i_{pc} - 2i_{pb} + i_{ss}}{i_{pc} + i_{ss}} \right\}$$

El término  $i_{pb}$  representa un valor de corriente pico para el segundo intervalo de tiempo potencial de prueba T2 y el término  $i_{pc}$  representa un valor de corriente pico para el tercer intervalo de tiempo potencial de prueba T3. El término  $i_{ss}$  es una estimación de la corriente en estado constante, que es la corriente prevista que ocurra en tiempo largos después de la aplicación del tercer potencial de prueba E3 en ausencia de reacciones químicas en curso. Algunos ejemplos de métodos para calcular  $i_{ss}$  pueden encontrarse en las patentes de Estados Unidos números 5.942.102 y 6.413.410. El uso de valores de corriente pico para representar interferentes en una muestra fisiológica se describen en la solicitud de patente publicada de Estados Unidos N° 2007/0227912.

La Ec. 13 y Ec. 14 pueden usarse juntas para calcular una concentración de glucosa para sangre o una solución control. El algoritmo de la Ec. 13 y Ec. 14 pueden usarse para sangre con un primer conjunto de factores de calibración (esto es,  $a$ ,  $p$  y  $Z$ ) y un segundo conjunto de factores de calibración puede usarse para la solución control. Cuando se usan dos conjuntos diferentes de factores de calibración, los métodos aquí descritos para discriminar entre un fluido de prueba y una solución control pueden mejorar la efectividad de los cálculos de concentración de analito.

Aunque el ejemplo ilustrado en las Figs. 7A y 7B muestran la polaridad del primer y segundo voltaje aplicados como negativa con un tercer voltaje aplicado como negativo, los voltajes aplicados pueden ser de polaridad opuesta ilustrados en la Fig. 7 A siempre y cuando la magnitud y ritmo de los voltajes aplicados sean iguales. Por ejemplo, en las Figs. 8A y 8B, la polaridad del primer y segundo voltaje aplicado es positiva con la polaridad del tercer voltaje aplicado como negativa. En ambos casos, el cálculo de la glucosa es el mismo porque solamente los valores absolutos de las corrientes transitorias que resultan de la muestra se utilizan en tales cálculos.

Además, si el medidor de ensayo determina que la muestra es solución control (en oposición a la sangre), el medidor de ensayo puede almacenar la concentración resultante de glucosa de la muestra control de tal manera que un usuario pueda revisar los datos de concentración de muestra de prueba por separado de los datos de solución control. Por ejemplo, las concentraciones de glucosa para soluciones control pueden almacenarse en una base de datos separadas, puede marcarse y/o descartarse (esto es, no almacenarse o almacenarse durante un periodo corto de tiempo).

Otra ventaja de ser capaz de reconocer una solución control es que un medidor de ensayo puede programarse para comparar automáticamente los resultados (por ejemplo, concentración de glucosa) de la prueba de la solución control con la concentración esperada de glucosa de la solución control. Por ejemplo, el medidor de ensayo puede pre-programarse con los niveles esperados de glucosa para la solución control. Cuando el medidor de ensayo reconoce una solución control, el medidor de ensayo puede comparar la concentración de glucosa de la solución de control medida con la concentración de glucosa esperada para determinar si el medidor está funcionando apropiadamente. Si la concentración de glucosa medida está fuera del rango esperado, el medidor de ensayo puede generar un mensaje de advertencia para alertar al usuario.

### Corrección del Tiempo de Llenado

La concentración de analito puede corregirse en base al tiempo de llenado de la muestra. Una muestra puede introducirse en una célula electroquímica de un dispositivo que analiza muestras que tiene un electrodo de trabajo y un electrodo contador. Puede aplicarse un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y contador de la célula electroquímica y puede determinarse un tiempo de llenado de la muestra en, por ejemplo, un espacio capilar de la célula electroquímica. Un tiempo de pre-pulso puede calcularse en vista de al menos el tiempo de llenado de la muestra y puede aplicarse un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el electrodo contador durante una duración de tiempo igual al tiempo de pre-pulso. Entonces puede determinarse una concentración del analito en la muestra. Al calcular el tiempo de pre-pulso del tiempo de llenado, pueden conseguirse resultados más exactos para la concentración de analito. Por ejemplo, pueden explicarse errores, tal como aquellos que resultan de variar los niveles de hematocritos en las muestras, llevando a una determinación más exacta de las concentraciones de los analitos en las muestras. En una realización alternativa para detectar una concentración de un analito en una

muestra, pueden corregirse errores en base a una velocidad de llenado inicial predeterminada en lugar de un tiempo de llenado predeterminado.

### Corrección de Temperatura

5

Puede aplicarse una corrección de temperatura de sangre a los valores de corriente de prueba para proporcionar una concentración de analito con una mejor precisión debido a un efecto reducido de temperatura. Un método para calcular una concentración de analito con temperatura corregida puede incluir medir un valor de temperatura y calcular un valor de corrección de temperatura  $C_T$ . El valor de corrección de temperatura  $C_T$  puede basarse en un valor de temperatura y una concentración de analito, por ejemplo, una concentración de glucosa. Por consiguiente, el valor de corrección de temperatura  $C_T$  puede después usarse para corregir la concentración de analito para temperatura.

10

15

Inicialmente, puede obtenerse una concentración de analito no corregida para temperatura, tal como la concentración de glucosa [G] de la Ecuación 13, más arriba. También puede medirse un valor de temperatura. La temperatura puede medirse usando un termistor u otro dispositivo de lectura de temperatura que esté incorporado en un medidor de ensayo, o por medio de cualquier número de otros mecanismos o medios. Posteriormente, puede realizarse una determinación para determinar si el valor de temperatura T es mayor que un primer umbral de temperatura  $T_1$ . Por ejemplo, el umbral de temperatura  $T_1$  puede ser aproximadamente 15 °C. Si el valor de temperatura T es mayor que 15 °C, entonces puede aplicarse una primera función de temperatura para determinar el valor de corrección de temperatura  $C_T$ . Si el valor de temperatura T no es mayor que 15 °C, entonces puede aplicarse una segunda función de temperatura para determinar el valor de corrección de temperatura  $C_T$ .

20

25

La primera función de temperatura para calcular el valor de corrección de temperatura  $C_T$  puede tener la forma de la Ecuación 15:

$$\text{Ec. 15} \quad C_T = -K_9(T - T_{RT}) + K_{10} \times [G](T - T_{RT})$$

30

donde  $C_T$  es el valor de corrección,  $K_9$  es una constante novena (por ejemplo, 0,57), T es un valor de temperatura,  $T_{RT}$  es un valor de temperatura ambiente (por ejemplo, 22 °C),  $K_{10}$  es una constante décima (por ejemplo, 0,00023) y [G] es la concentración de glucosa. Cuando T es aproximadamente igual a  $T_{RT}$ ,  $C_T$  es aproximadamente cero. En algunos casos, la primera función de temperatura puede configurarse para tener esencialmente ninguna corrección a temperatura ambiente de tal manera que la variación pueda reducirse bajo condiciones rutinarias de ambiente. Otra función de temperatura para calcular otro valor de corrección  $C_T$  puede tener la forma de la Ecuación 16:

35

$$\text{Ec. 16} \quad C_T = -K_{11}(T - T_{RT}) - K_{12} \times [G] T - T_{RT} - K_{13} \times [G](T - T_1) + K_{14} \times [G](T - T_1)$$

40

donde  $C_T$  es el valor de corrección,  $K_{11}$  es una constante undécima (por ejemplo, 0,57), T es un valor de temperatura,  $T_{RT}$  es un valor de temperatura ambiente,  $K_{12}$  es una constante duodécima (por ejemplo, 0,00023), [G] es una concentración de glucosa,  $K_{13}$  es una constante decimotercera (por ejemplo, 0,63),  $T_1$  es un primer umbral de temperatura y  $K_{14}$  es una constante decimocuarta (por ejemplo, 0,0038).

45

Después de calcular  $C_T$  usando la Ecuación 15 o la Ecuación 16, puede realizarse un par de funciones de truncamiento para asegurar que  $C_T$  se limite a un rango predeterminado, mitigando de esta manera el riesgo de un valor atípico.  $C_T$  puede limitarse para tener un rango de -10 a +10. Por ejemplo, puede realizarse una determinación para determinar si  $C_T$  es mayor que 10. Si  $C_T$  es mayor que 10, entonces  $C_T$  se fija en 10. Si  $C_T$  no es mayor que 10, entonces se realiza una determinación para determinar si  $C_T$  es menor que -10.  $C_T$  puede fijarse en -10 si  $C_T$  es menor que -10. Si  $C_T$  es ya un valor entre -10 y +10, entonces generalmente no hay necesidad de truncamiento.

50

Una vez que se determina  $C_T$ , puede calcularse una concentración de glucosa con temperatura corregida. Por ejemplo, puede realizarse una determinación para determinar si la concentración de glucosa no corregida para temperatura (por ejemplo, [G]) es inferior a 100 mg/dL. Si [G] es inferior a 100 mg/dL entonces puede usarse una Ecuación 17 para calcular la concentración de glucosa con temperatura corregida  $G_T$  añadiendo el valor de corrección  $C_T$  a la concentración de glucosa [G]:

55

$$\text{Ec. 17} \quad G_T = [G] + C_T.$$

60

Si [G] es inferior a 100 ml/dL, entonces puede usarse una Ecuación 18 para calcular la concentración de glucosa con temperatura corregida  $G_T$  dividiendo  $C_T$  entre cien, añadiendo uno; y después multiplicando por la concentración de glucosa [G]:

$$\text{Ec. 18} \quad G_T = [G] * [1 + 0.01 \times C_T].$$

65

Una vez que se determina que la concentración de glucosa se ha corregido para los efectos de temperatura, la concentración de glucosa puede generarse, por ejemplo, en un monitor.



De acuerdo con la presente invención, una corrección de temperatura de solución control (SC)  $C_T$  se aplica a un valor de corriente de prueba que es diferente de la corrección de temperatura de glucosa en sangre. Una vez que el medidor identifica que una solución de control se ha aplicado a la tira de ensayo, el medidor puede aplicar el tipo apropiado de corrección de temperatura. La corrección de temperatura de solución control puede proporcionar una concentración de analito con una mejor precisión debido a un efecto reducido de temperatura.

La FIG. 9 ilustra el método 1900 de acuerdo con la invención para determinar la etapa 1902 de una concentración de una solución control ("SC"), cuyos valores corregidos para temperatura pueden incluir una primera y una segunda función de temperatura. Una primera función de temperatura puede usarse cuando la temperatura ambiente está dentro de un rango predeterminado. Una segunda función de temperatura puede usarse cuando la temperatura ambiente está fuera de un rango predeterminado. Por ejemplo, el rango predeterminado puede oscilar entre aproximadamente 19 °C y 25 °C (esto es  $19\text{ °C} \leq T \leq 25\text{ °C}$ ) en la etapa 1906. Como se muestra en la etapa 1906, si la temperatura medida  $T$  en la etapa 1904 está dentro del rango predeterminado, se utiliza la primera función de temperatura. La primera temperatura puede tener la forma de la Ecuación 16A y calcularse en la etapa 1908 de la Fig. 9.

$$\text{Ec. 16A} \quad C_T = A_{CS} \times T + B_{CS} \times [G] \times T + C_{CS} \times [G] + D_{CS}$$

Los términos son constantes empíricamente derivadas, que en este ejemplo,  $A_{CS} \sim (-0,47)$ ,  $B_{CS} \sim (-0,02)$ ,  $C_{CS} \sim 0,04$  y  $D_{CS} \sim 10,3$ . Una vez que se determina  $C_T$  usando la Ec. 16A, puede calcularse una concentración de glucosa con temperatura corregida para CS usando las etapas 1910, 1912, 1914, 1916, 1918, 1920, 1922 y 1960, como se ilustra en la FIG. 9. En particular, donde el factor de corrección  $C_T$  se calcula en la etapa 1980 siendo mayor que 10 en la etapa 1910 entonces tal factor de corrección se fija en 10 en la etapa 1912. Por otro lado, si el  $C_T$  es menor que -10 en la etapa 1914 entonces  $C_T$  se fija igual a -10 en la etapa 1916. Donde se determina que  $C_T$  está entre -10 y 10 entonces se determina si la concentración de glucosa  $[G]$  es inferior a 100 mg/dL o superior/igual a 100 mg/dL en la etapa 1918. Si la concentración de glucosa  $[G]$  es superior o igual a 100 mg/dL en la etapa 1918, la concentración de glucosa con temperatura corregida  $G_T$  se calcula en la etapa 1920 usando la Ec. 17. Si no, la concentración de glucosa con temperatura corregida  $G_T$  se calcula en la etapa 1922 y el resultado de 1920 o 1922 se proporcionó en la etapa 1960 al procesador del medidor.

Donde la temperatura ambiente está fuera del rango predeterminado (esto es,  $T \leq 19\text{ °C}$  o  $T \geq 25\text{ °C}$ ), como se determina en la etapa 1906, la segunda función de temperatura puede usarse en la etapa 1924, que tiene la forma de la Ecuación 16B.

$$\text{Ec. 16B} \quad C_T = J_{CS} * [G] + K_{CS} * T + L_{CS} * [G]^2 + M_{CS} * [G] * T + P_{CS} * T^2 + H_{CS}$$

Los términos  $J_{CS}$ ,  $K_{CS}$ ,  $L_{CS}$ ,  $M_{CS}$ ,  $P_{CS}$  y  $H_{CS}$  son constantes empíricamente derivadas (que en este ejemplo son las siguientes:  $H_{CS} \sim 12,6$ ;  $J_{CS} \sim 0,23$ ;  $K_{CS} \sim (-1,7)$ ;  $L_{CS} \sim (-0,0002)$ ;  $M_{CS} \sim (-0,006)$  y  $P_{CS} \sim 0,03$ ). Después de calcular  $C_T$  usando la Ecuación 16B, puede realizarse una subrutina de truncamiento (etapas 1926, 1928, 1930, 1932, 1934, 1936, 1938, 1940, 1942) para asegurar que  $C_T$  se limite a un rango predeterminado, mitigando de este modo el riesgo de un valor atípico. En una realización donde  $[G]$  es inferior a aproximadamente 100 mg/dL,  $C_T$  puede limitarse para tener un rango de -15 a +15. Por ejemplo, puede realizarse una determinación para determinar si  $C_T$  es mayor que 15. Si  $C_T$  es mayor que 15, entonces  $C_T$  se fija en 15 (etapas 1926, 1928). En la etapa 1926, Si  $C_T$  no es mayor que 15, entonces se realiza una determinación para determinar si  $[G]$  es inferior a 100 mg/dL y  $C_T$  es inferior a -15.  $C_T$  puede fijarse en -15 si  $[G]$  es inferior a 100 mg/dL y  $C_T$  es inferior a -15. Si  $C_T$  es ya un valor entre aproximadamente -15 y aproximadamente +15, y  $[G]$  inferior a aproximadamente 100 mg/dL, entonces generalmente no hay necesidad de truncamiento. Sin embargo, donde  $[G]$  no es inferior a aproximadamente 100 mg/dL, esto es,  $[G]$  es igual o superior a 100 mg/dL, entonces se aplican las Ecuación 16C y 16D.

$$\text{Ec. 16C} \quad \text{Si } \{C_T / [G]\} > 0,15, \text{ entonces } C_T = 0,15 \times [G]$$

$$\text{Ec. 16D} \quad \text{Si } \{C_T / [G]\} > -0,15, \text{ entonces } C_T = -0,15 \times [G]$$

Una vez que se determina  $C_T$  usando las Ecuaciones 16B, 16C y 16D con el apropiado truncamiento aplicado, puede calcularse una concentración de glucosa con temperatura corregida para SC usando Ec. 17 en la etapa 1642 con el resultado de tal concentración de glucosas para la solución control proporcionada en la etapa 1960.

#### EJEMPLO 1

Lo siguiente mostrará un ejemplo de mediciones de SC usando un método de corrección de temperatura descrito en relación con la Figura 9. Las muestras de SC se analizaron en tres niveles de de glucosa, que fueron 50 mg/dL, 120 mg/dL y 350 mg/dL. Se analizaron tres lotes diferentes de tiras de ensayo. Para cada lote de tiras, se analizaron aproximadamente de 23 a 70 tiras en cada nivel de glucosa de SC en un amplio rango de niveles de temperatura y humedad. Las combinaciones de temperatura y humedad que fueron analizadas fueron 5 °C/20%

## ES 2 478 255 T3

humedad relativa (HR), 10° C/70% HR, 22 °C/10% HR, 22 °C/50% HR, 22 °C/90% HR, 35 °C/70% HR y 45 °C/10% HR.

5 Aproximadamente se probaron 2.916 sensores para medir una pluralidad de concentraciones de glucosa en tiempo de SC usando varios lotes de tiras y varios niveles de glucosa, temperatura y humedad. La Tabla 1 más abajo muestra que el uso de las Ecuaciones 16 A y 16B dio como resultado > 95% de tiras analizadas que tenían la concentración de glucosa medida dentro de la especificación. Aquí, la especificación del producto requirió que los niveles de glucosa de SC medidos en 50 mg/dL necesitaban estar dentro de  $\pm 12$  mg/dL del valor normal (que en cada caso es 50 mg/dL). Similarmente, la especificación del producto requirió que los niveles de glucosa de SC medidos en 120 y 350 mg/dL necesitaban estar dentro de  $\pm 15\%$  del valor nominal (que en este caso fue 120 y 350 mg/dL, respectivamente). Como puede verse, solamente un lote tiene menos del 95% de la especificación referencial que cumple el lote. En otras palabras, el error es inferior al 6% y particularmente no superior a un error del 5%.

15 Tabla 1

Temperatura Diana (°C)	Humedad Relativa (HR)	Lote	% cumplimiento de especificación referencial	
20	5	20	1	100
	5	20	2	100
	5	20	3	100
25	10	70	1	100
	10	70	2	100
	10	70	3	100
30	22	10	1	100
	22	10	2	100
	22	10	3	98,6
35	22	50	1	100
	22	50	2	99,5
	22	50	3	100
40	22	90	1	100
	22	90	2	97,2
	22	90	3	100
45	35	70	1	100
	35	70	2	100
	35	70	3	100
50	45	10	1	94,8
	45	10	2	96
	45	10	3	96

55 Además, la Tabla 2 muestra que los resultados de la Tabla 1 son reproducibles.

Tabla 2

	Temperatura Diana (°C)	Humedad Relativa (HR)	Lote	% cumplimiento de especificación referencial
5	5	20	1	99,4
10	5	20	2	100
	5	20	3	100
	10	70	1	100
15	10	70	2	100
	10	70	3	100
	22	10	1	99,4
20	22	10	2	99,4
	22	10	3	100
	22	50	1	100
	22	50	2	100
25	22	50	3	100
	22	90	1	100
	22	90	2	100
30	22	90	3	100
	35	70	1	100
	35	70	2	100
35	35	70	3	100
	45	10	1	99,4
	45	10	2	100
40	45	10	3	100

## EJEMPLO 2

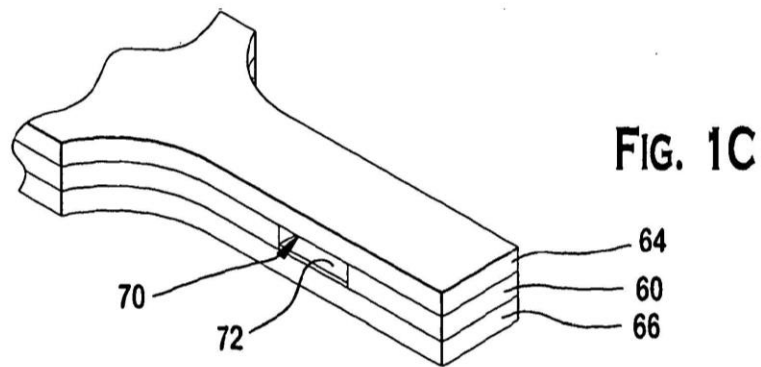
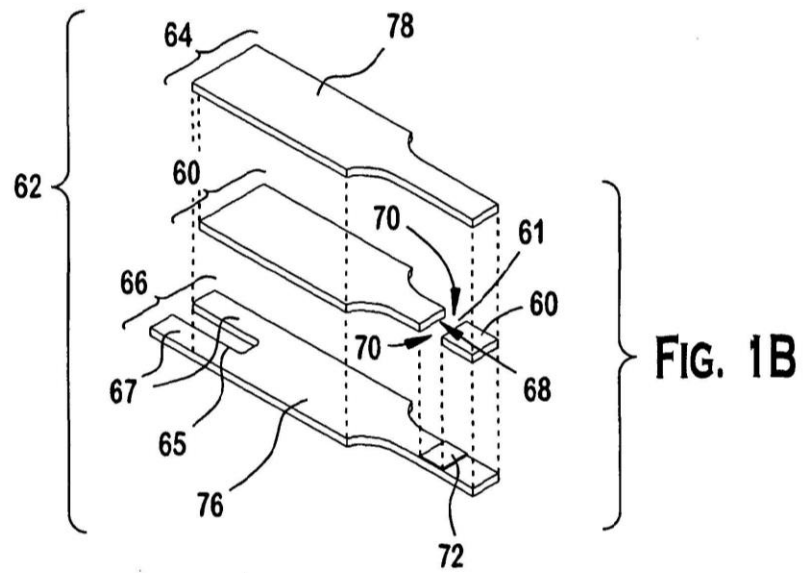
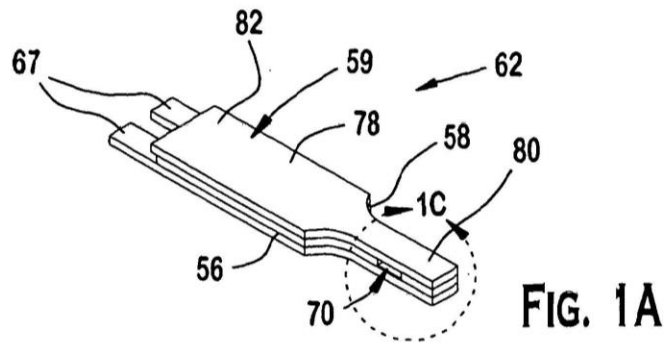
45 Lo siguiente proporciona una realización para la preparación de solución control. Esta preparación es no limitativa ya que otras varias preparaciones y/o soluciones control pueden utilizarse con el sistema y método actualmente desvelado. La solución control incluyó componente tampón de ácido citracónico en aproximadamente 0,08 g, componente tampón de citraconato de dipotasio en aproximadamente 1,9 g, conservante de metil parabeno en aproximadamente 0,5 g, conservante Germal II en aproximadamente 0,40 g, modificador de viscosidad Dextran T-500 en aproximadamente 3,0 g, Agente que absorbe la humedad Pluronic 25R2 en aproximadamente 0,05 g, tinte 1-[(6-metoxi-4-sulfo-m-tolil)azo]-2-naftol-6 ácido sulfónico sal disodio (Azul FD&C N° 1) en aproximadamente 0,10 g, Analito D-Glucosa 50, 120 o 525 mg y disolvente de agua desionizada en aproximadamente 100 g.

50 Primero el tampón citracónico de pH en aproximadamente  $6,5 \pm 0,1$  se preparó disolviendo las cantidades necesarias de ácido citracónico y citraconato de dipotasio en agua desionizada. Después, se añadió metil parabeno y la solución se agitó hasta que el conservante se disolvió por completo. Posteriormente, se añadieron secuencialmente Dextran T-500, Pluronic 25R2 y 1-[(6-metoxi-4-sulfo-m-tolil)azo]-2-naftol-6 ácido sulfónico sal disodio, siguiendo una completa disolución de las sustancias químicas previamente añadidas. En este punto, el pH del fluido control se verificó, seguido de la adición de la cantidad requerida de glucosa para obtener un nivel de glucosa bajo, normal o alto del fluido control. Después de disolver la glucosa por completo, el fluido control se dejó a temperatura ambiente durante la noche. Finalmente, la concentración de glucosa se verificó usando un Analizador de bioquímica Modelo 2700 Select fabricado por Yellow Springs Instruments Co., Inc. El tinte usado en esta solución control tiene un color azul, lo que reduce la posibilidad de que un usuario confunda la solución control con sangre.

65

## REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar una concentración de glucosa en una muestra de solución control, comprendiendo el método:
- 5 introducir la muestra de solución control en una célula electroquímica de un dispositivo que analiza muestras para provocar una transformación de la glucosa en la muestra de solución control, teniendo la célula electroquímica un primer electrodo y un segundo electrodo;
- 10 determinar una temperatura de la célula electroquímica;
- 15 calcular una corrección en base a la temperatura;
- obtener una concentración de glucosa; y
- determinar una concentración corregida de la glucosa en base al factor de corrección, donde el cálculo comprende la evaluación de si la temperatura determinada está dentro de un primer rango y si es cierto el factor de corrección se calcula con la siguiente ecuación:  $C_T = A_{CS} \times T + B_{CS} \times [G] \times T + C_{CS} \times [G] + D_{CS}$ , donde  $[G]$  comprende la concentración de glucosa,  $T$  comprende la temperatura determinada y donde el primer rango comprende una temperatura de 10 grados Celsius a 25 grados Celsius.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el cálculo comprende la evaluación de si la temperatura determinada está dentro de un primer rango y si es falso, calcular el factor de corrección con la siguiente ecuación:  $C_T = J_{CS} \times [G] + K_{CS} \times T + L_{CS} \times [G]^2 + M_{CS} \times [G] \times T + P_{CS} \times T^2 + H_{CS}$ , y los términos  $J_{CS}$ ,  $K_{CS}$ ,  $L_{CS}$ ,  $M_{CS}$ ,  $P_{CS}$  y  $H_{CS}$  comprenden constante empíricamente derivadas.
3. El método de la reivindicación 2, en el que el factor de corrección se limita a un rango de aproximadamente -15 a aproximadamente +15.
4. El método de la reivindicación 2, en el que la evaluación comprende la determinación de si el factor de corrección es mayor que 15 y si es cierto entonces el factor de corrección se fija en un valor de aproximadamente 15, si no, si el factor de corrección no es mayor que 15, entonces se determina si la concentración de glucosa es inferior a aproximadamente 100 mg/dL y el factor de corrección es inferior a -15.
5. El método de la reivindicación 4, en el que  $C_T$  puede fijarse en -15 si  $[G]$  es inferior a 100 mg/dL y  $C_T$  es menor que -15.
6. El método de la reivindicación 4, que además comprende la determinación de si ambas condiciones de (a) el factor de corrección comprende un valor de aproximadamente -15 aproximadamente +15 y (b) la concentración de glucosa comprende un valor igual o superior a 100 mg/dL se cumplen, y si es cierto, un valor resultante de una división del factor de corrección entre la concentración de glucosa es superior a aproximadamente 0,15 entonces el factor de corrección se fija en un valor igual a aproximadamente el producto de 0,15 veces la concentración de glucosa, si no, si tal valor es inferior a 0,15 entonces el factor de corrección se fija igual aproximadamente al producto de -0,15 veces la concentración de glucosa.



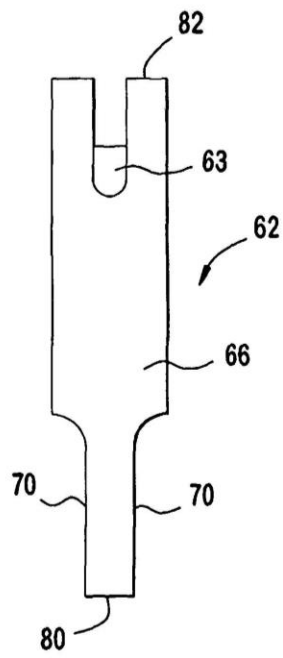


FIG. 2

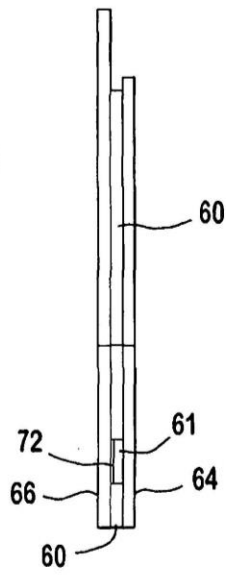


FIG. 3

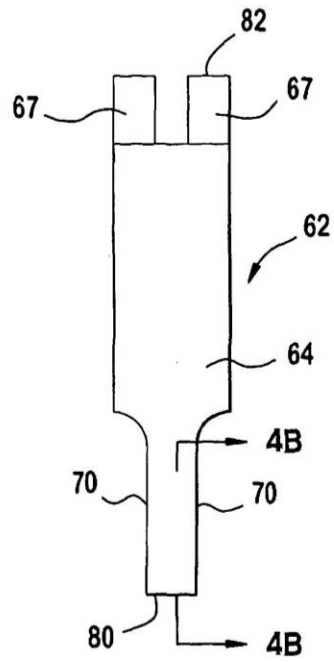


FIG. 4A

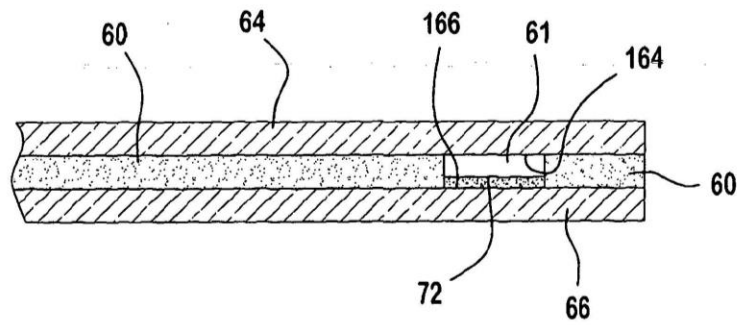


FIG. 4B

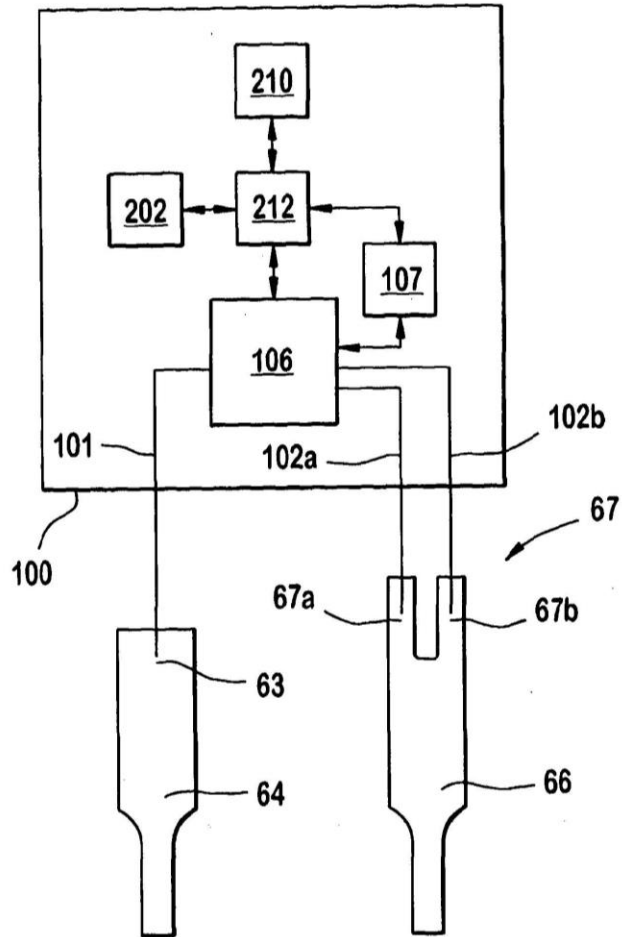


FIG. 5

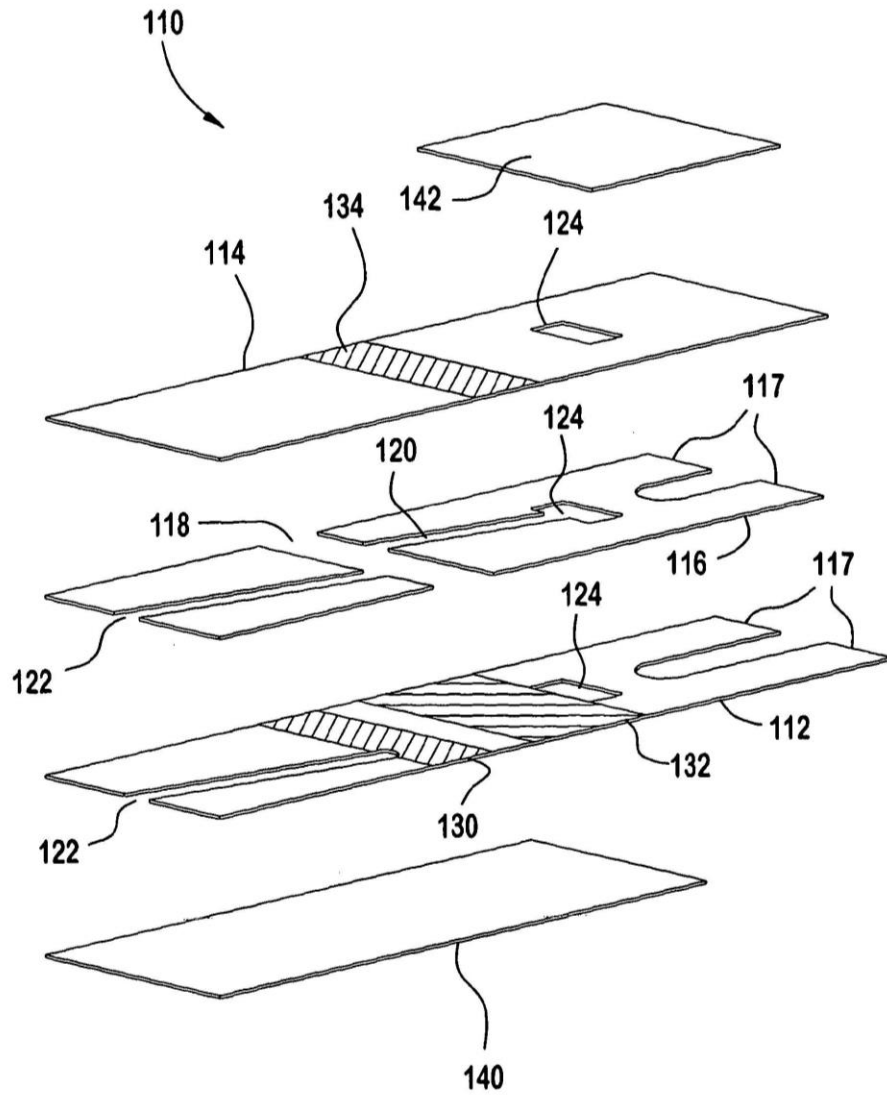


FIG. 6



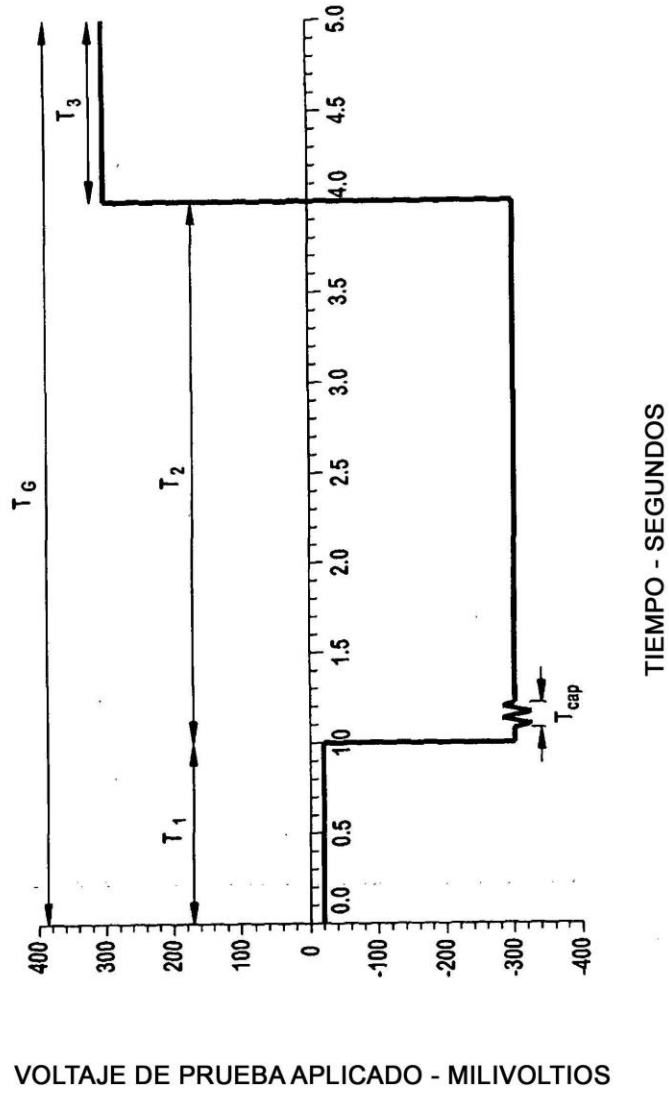


FIG. 7A

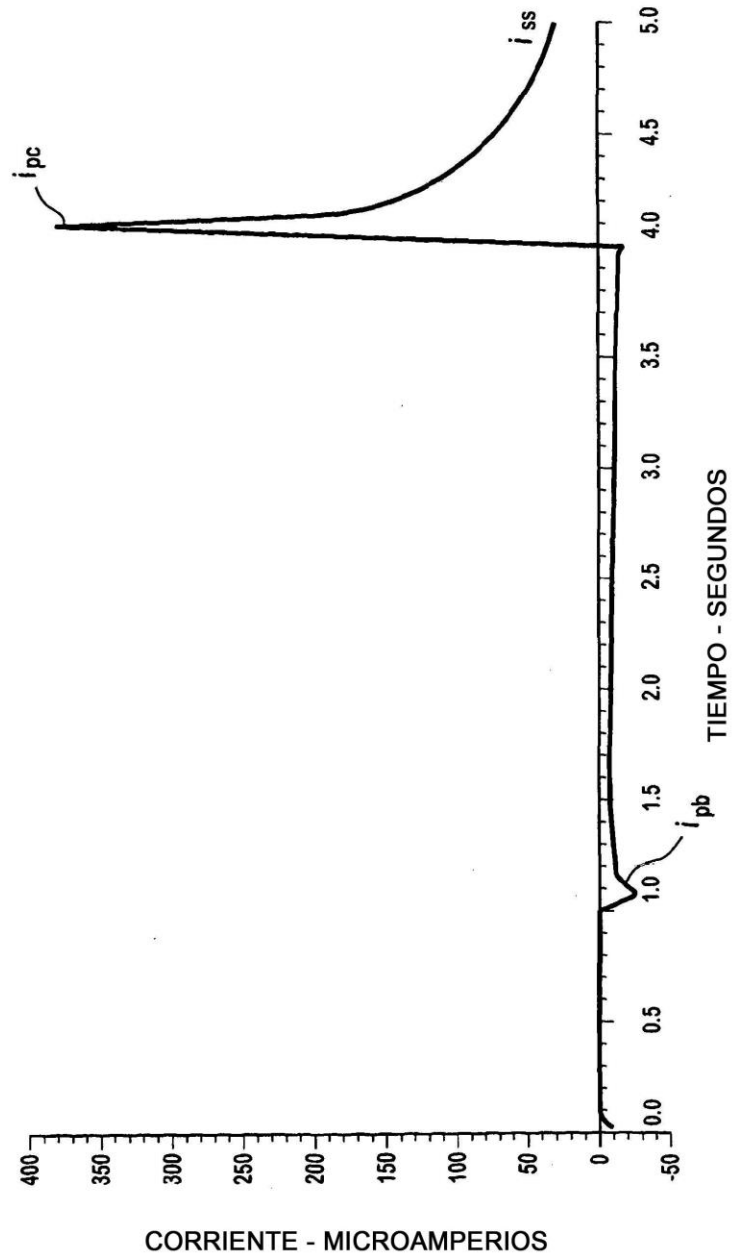


FIG. 7B

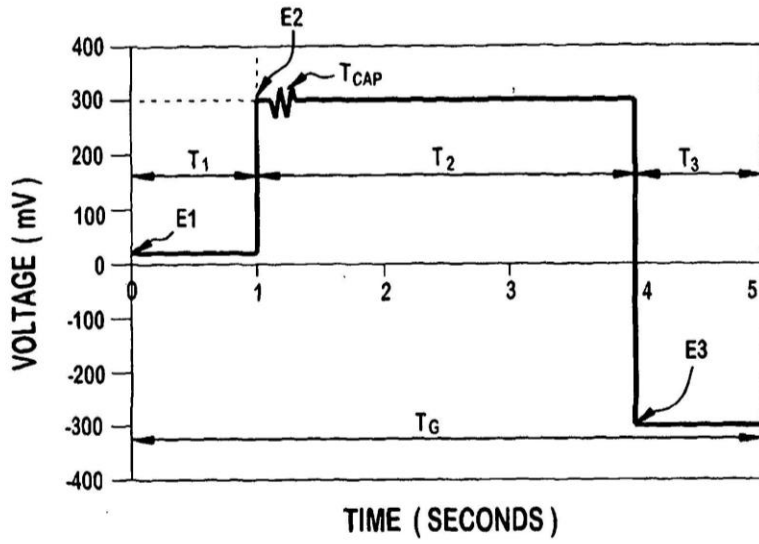


FIG. 8A

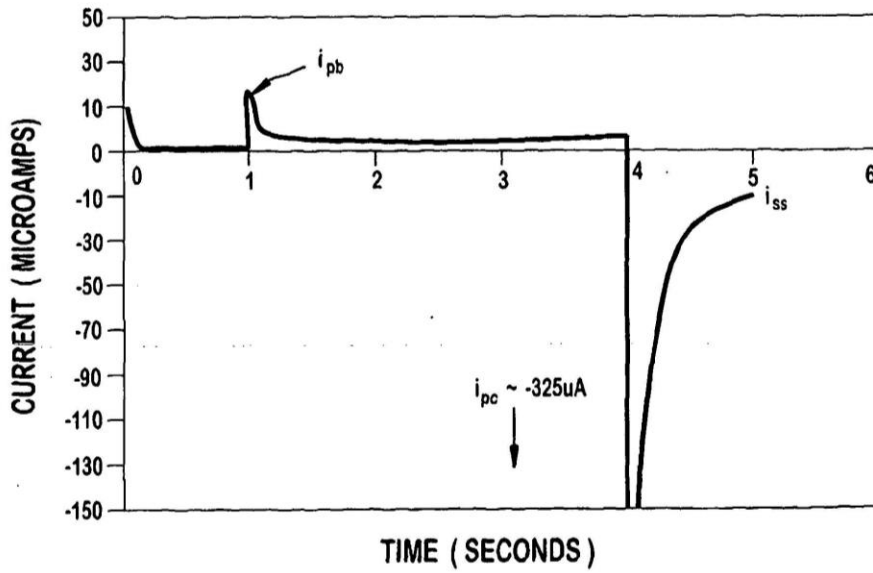
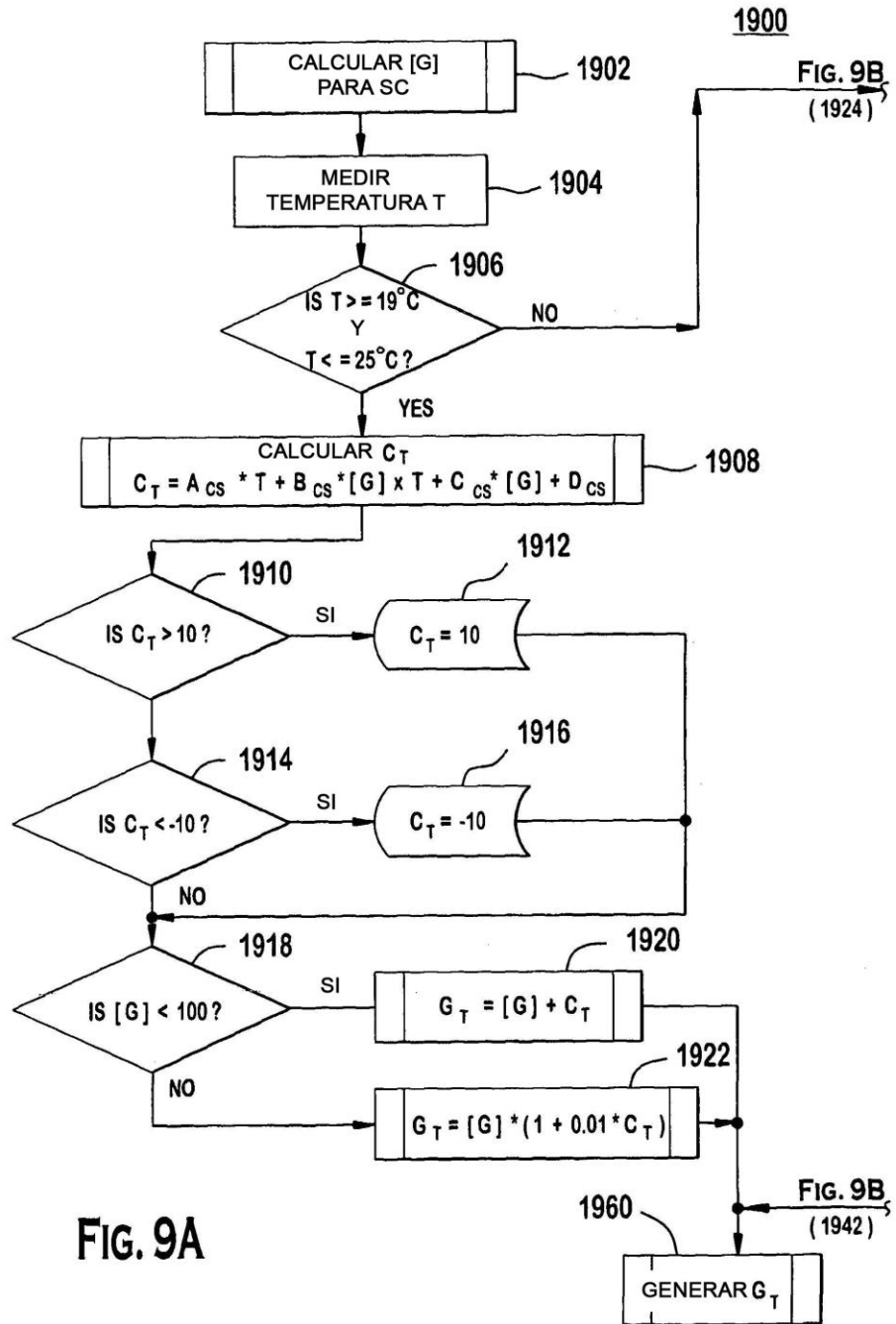
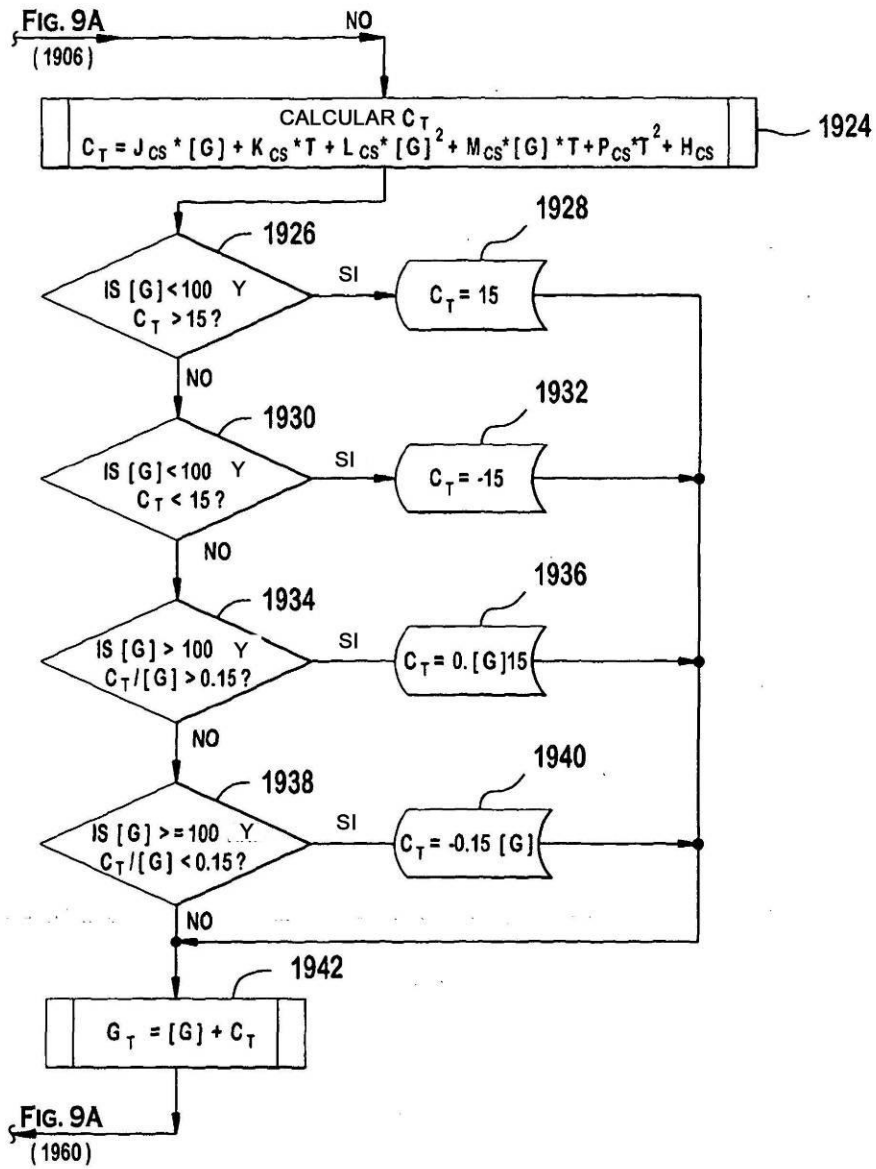


FIG. 8B





**FIG. 9B**