

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 623**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/00** (2006.01)

**A61L 2/00** (2006.01)

**C12Q 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2003 E 03258046 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.12.2014 EP 1430831**

54 Título: **Método para la fabricación de un dispositivo médico basado en biosensor esterilizado y calibrado**

30 Prioridad:

**20.12.2002 US 324933**

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

**11.02.2015**

73 Titular/es:

**LIFESCAN, INC. (100.0%)  
1000 GIBRALTAR DRIVE  
MILPITAS, CA 95835, US**

72 Inventor/es:

**TEODORCZYK, MARIA**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 528 623 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).

**Método para la fabricación de un dispositivo médico basado en biosensor esterilizado y calibrado****Descripción**5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIONCampo de la invención

10 Esta invención se refiere, en general, a métodos de fabricación de productos sanitarios y, en particular, a métodos de fabricación de productos sanitarios esterilizados y calibrados.

Descripción de la técnica relacionada

15 La esterilización basada en la radiación de tipos específicos de productos sanitarios es común y generalizada hoy día debido a la economía y fiabilidad favorables. Dependiendo del tipo de producto sanitario que se va a esterilizar, la esterilización basada en la radiación puede lograrse utilizando radiación electromagnética o de partículas. La radiación ionizante en el espectro electromagnético (por ejemplo, rayos x gamma [y] y radiación de electrones) puede producir efectos bactericidas mediante la transferencia de energía de fotones en las ionizaciones características en o próxima a la diana biológica (por ejemplo, microorganismos perjudiciales). Además de los pares de iones positivos y negativos que se crean por tales ionizaciones características, radicales libres y moléculas activadas pueden también producirse en productos sanitarios sometidos a esterilización basada en la radiación.

20 La radiación gamma se ha utilizado comúnmente para esterilizar productos sanitarios no bioactivos, incluyendo suministros hospitalarios comunes, tales como jeringas hipodérmicas plásticas y suturas. La radiación gamma puede destruir microorganismos perjudiciales satisfactoriamente sin aumentar la temperatura del producto sanitario sometido a esterilización basada en la radiación. Por tanto, la esterilización basada en la radiación que utiliza la radiación gamma se refiere a menudo como "esterilización fría". Se ha utilizado rutinariamente una dosis estándar mínima de 25 kGy de radiación en la esterilización del producto sanitario. Esta dosis puede proporcionar un factor de seguridad equivalente a una inactivación de  $10^{-6}$  de los microorganismos más resistentes.

25 La exposición a la energía inducida por la radiación puede alterar los productos químicos, incluyendo agua, al provocar su ionización, descomposición y producción de radicales libres. En presencia del oxígeno, dichos radicales libres pueden formar radicales de peróxido de hidrógeno y / o hidropéroxilo que actúan como agentes oxidantes o reductores. Estos agentes pueden degradarse posteriormente y de otra manera alterar una variedad de productos químicos y bioquímicos (por ejemplo, enzimas).

30 La esterilización gamma podría considerarse apropiada para completar la destrucción de la flora microbiana en productos sanitarios basados en biosensores (por ejemplo, sensores de glucosa desechables que combinan punción, transferencia de la muestra y componentes de medida de la concentración de glucosa en un único producto sanitario integral). Sin embargo, la esterilización de productos sanitarios basados en biosensores que contienen reactivos específicos de analito (es decir; composiciones de reactivo para el biosensor, tales como enzimas y mediadores asociados específicos) no ha tenido éxito hasta ahora debido al hecho de que la radiación puede inducir un efecto perjudicial en composiciones de reactivo para el biosensor. Este efecto perjudicial puede alterar la química del biosensor que da como resultado la respuesta inexacta durante su uso.

35 Idealmente, los productos sanitarios basados en biosensores deben esterilizarse como un producto ensamblado y envasado. De otra manera, sería necesario un enfoque menos económico de la esterilización de los componentes individuales de los productos sanitarios basados en biosensores mediante el montaje y envasado del dispositivo en condiciones limpias y estériles.

40 La caracterización analítica de tiras reactivas del biosensor electroquímico para medir muestras de fluidos intersticiales con bajo volumen de glucosa de M. Collison et al., Clinical Chemistry 45:9 1665 – 1673 (1999), describe que las tecnologías de uso único convencional de tiras reactivas de glucosa electroquímicas y recogida de ISF pueden integrarse fácilmente para proporcionar en tiempo real el muestreo de ISF y mediciones de glucosa para aplicaciones de control diabético.

45 Por tanto, aún se necesita en el campo, un método simple y barato de fabricación de un producto sanitario basado en biosensores que proporcione un producto sanitario basado en biosensores que sea estéril y calibrado con precisión. Además, el método debe permitir la esterilización de un producto sanitario basado en biosensores montado y envasado.

RESUMEN DE LA INVENCION

50 Las realizaciones según la presente invención incluyen métodos de fabricación de un producto sanitario basado en biosensores que proporcione un producto sanitario que sea estéril y calibrado con precisión. Además, el método permite la esterilización de un producto sanitario basado en biosensores montado y envasado.

Se describe en la reivindicación 1 un método de fabricación de un producto sanitario basado en biosensores esterilizado y calibrado según una realización ejemplar de la presente invención.

5 Los procedimientos según las realizaciones ejemplares de la presente invención proporcionan la fabricación de un producto sanitario basado en biosensores estéril de manera barata evitando costos asociados con el ensamblaje de componentes del producto sanitario basado en biosensores previamente esterilizado en un medio limpio / estéril. Además, los productos sanitarios basados en biosensores de alta precisión dan lugar a la realización de la etapa de esterilización antes de la etapa de calibrado.

10

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención por referencia a la siguiente descripción detallada que describe realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y las figuras adjuntas de las cuales:

15

La Figura 1 es una vista en perspectiva de un producto sanitario basado en biosensores (es decir, un producto sanitario basado en biosensores electroquímicos) que puede utilizarse en ciertas realizaciones de la presente invención;

20

La Figura 2 es una vista en perspectiva de otro producto sanitario basado en biosensores (es decir, un producto sanitario basado en biosensores colorimétricos / fotométricos) que puede utilizarse en ciertas realizaciones de la presente invención;

25

La Figura 3 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas de un proceso según una realización ejemplar de la presente invención; y

La Figura 4 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas de un proceso según otra realización ejemplar de la presente invención.

30

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los procedimientos según las realizaciones ejemplares de la presente invención pueden emplearse para fabricar una variedad de productos sanitarios basados en biosensores esterilizados y calibrados con precisión, incluyendo, aunque no limitando a, productos sanitarios con biosensor y lanceta integrados descritos en la Solicitud de Patente de EE.UU US 20020168290 A1.

35

Las Figuras 1 y 2 ilustran un producto sanitario basado en biosensores electroquímicos y un producto sanitario basado en biosensores colorimétricos / fotométricos, respectivamente, que pueden, por ejemplo, fabricarse por procesos según las realizaciones ejemplares de la presente invención.

40

Haciendo referencia a la Figura 1, el producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100 incluye un electrodo superior 102 y un electrodo inferior 104. El electrodo superior 102 y el electrodo inferior 104 se mantienen juntos por una capa adhesiva (no se muestra). La capa adhesiva se adapta para proporcionar una zona de reacción 106. El producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100 incluye además una microaguja integrada 108 (también referida como una lanceta o una lanceta integrada).

45

Además, el producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100 incluye una composición de reactivo para el biosensor (tal como una composición de reactivo redox, no se muestra) presente en la zona de reacción 106. La composición de reactivo para el biosensor es seleccionada para interactuar con el (los) componente(s) diana(s) (por ejemplo, glucosa) en una muestra de fluido (por ejemplo, una muestra de sangre entera) durante un ensayo de la muestra de fluido. En el producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100, la composición de reactivo para el biosensor se dispone en el electrodo superior 102 y se ubica en la zona de reacción 106.

50

En la configuración de la Figura 1, el electrodo inferior 104 se adapta para servir como un contraelectrodo / electrodo de referencia, mientras que el electrodo superior 102 se adapta para servir como un electrodo de trabajo de una celda electroquímica. Sin embargo, en otras realizaciones del producto sanitario basado en biosensores electroquímicos, y dependiendo de la secuencia de voltaje aplicada a la celda electroquímica, la función de los electrodos superior e inferior puede invertirse de manera que el electrodo inferior 104 sirve como electrodo de trabajo, mientras que el electrodo superior 102 sirve como contraelectrodo / electrodo de referencia.

55

Las composiciones de reactivo para el biosensor adecuadas del producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100 incluyen, por ejemplo, una enzima y un componente activo redox (por ejemplo, un mediador). Se discuten detalles adicionales relacionados con el producto sanitario basado en biosensores electroquímicos 100 en EP - A - 1 360 931.

60

65

La Figura 2 ilustra un producto sanitario basado en biosensores colorimétricos / fotométricos 200 que incluye un sustrato de soporte 202 hecho de un material inerte, una matriz 204 para recibir una muestra, una composición de reactivo para el biosensor (no se ilustra) en la matriz 204 que incluye normalmente uno o más miembros de un sistema que produce una señal de oxidación de analito, y una capa superior 206 (por ejemplo, una capa superior transparente) que cubre al menos la matriz 204. En otras realizaciones del producto sanitario basado en biosensores colorimétricos / fotométricos, la capa superior 206 puede ser, por ejemplo, una membrana que contiene una composición impregnada de reactivo para el biosensor, en la que la matriz 204 y la capa superior 206 se incluyen mutuamente. El producto sanitario basado en biosensores colorimétricos / fotométricos 200 también incluyen una microaguja integrada 208 (también referida como lanceta o lanceta integrada).

La Figura 3 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un proceso 300 según la presente invención de fabricación de un producto sanitario basado en biosensores esterilizado y calibrado. El proceso 300 incluye la etapa de esterilización de, al menos, un producto sanitario basado en biosensores (por ejemplo, el producto sanitario de las Figuras 1 y 2 que incluyen lancetas integradas y biosensores, es decir; sensores electroquímicos y colorimétricos / fotométricos) para crear, al menos, un producto sanitario basado en biosensores esterilizado, como se describe en la etapa 310. El (los) producto(s) sanitario(s) basado en biosensores esterilizado(s) en la etapa 310 incluye(n) una composición de reactivo para el biosensor.

Una vez notificada la presente descripción, un experto en la técnica reconocerá que la presente invención puede emplearse durante la fabricación de una variedad de productos sanitarios basados en biosensores que incluyen, aunque no se limitan a, productos biosensores y lancetas integrados descritos en EP – A – 1 – 360 931.

La esterilización gamma puede considerarse apropiada para la completa destrucción de la flora microbiana dañina en los productos biosensores y lancetas integrados que combinan, punción, transferencia de muestra y medida de la concentración de la glucosa de los componentes (biosensor) en un único producto desechable integral. En dichos productos, se adapta una microaguja para penetrar una capa subcutánea de la piel, acceder a una muestra de sangre y transferir una muestra de sangre a, por ejemplo, un área de celda electroquímica del producto para determinar la concentración de glucosa. Por lo tanto, la microaguja debe proporcionarse en una condición estéril.

El proceso 300 es particularmente beneficioso para la fabricación de un producto sanitario basado en biosensores que incluye una composición de reactivo para el biosensor (por ejemplo, una composición de reactivo que incluye una enzima específica de analito y mediador asociado) cuyo rendimiento se altera después de la exposición a la radiación. Por ejemplo, se ha determinado el rendimiento analítico de la composición de reactivo para el biosensor que incluye una glucosa deshidrogenasa basada en PQQ (una enzima específica de glucosa) y ferricianuro (un mediador) al ser alterado por la exposición a la radiación gamma.

La etapa de esterilización 310 puede utilizar cualquier técnica de esterilización adecuada. Sin embargo, como se describirá con detalle a continuación, los procesos según las realizaciones ejemplares de la presente invención resultan particularmente útiles cuando se emplea una técnica basada en la radiación (por ejemplo, técnica basada en la radiación gamma). Puede utilizarse, por ejemplo, en la etapa de esterilización 310 la radiación gamma a partir de una fuente de  $Co^{60}$  y una dosis de 10 a 30 kGy.

A continuación, se calibra la composición de reactivo para el biosensor de, al menos, un producto sanitario basado en biosensores esterilizado, como se describe en la etapa 320. Para evitar las inexactitudes analíticas resultantes de los cambios en el rendimiento analítico de la composición de reactivo para el biosensor debido a la etapa de esterilización 310 (por ejemplo, cambios en el coeficiente de calibrado debido a la exposición de la composición de reactivo para el biosensor a la radiación gamma), la etapa de calibrado 320 se realiza después de la etapa de esterilización 310.

Mediante la realización de la etapa de calibrado 320 después de la etapa de esterilización 310, se compensan los efectos de la etapa de esterilización en el rendimiento analítico del producto sanitario basado en biosensores. Por ejemplo, la radiación gamma empleada en la técnica de esterilización basada en la radiación puede tener un efecto de alteración en el rendimiento analítico de las composiciones de reactivo para el biosensor que incluye una enzima específica de analito y un mediador. Sin embargo, al realizar la etapa de calibrado después de la esterilización, tales efectos se compensan durante el calibrado, proporcionando así un producto sanitario basado en biosensores calibrado con precisión. Este tipo de compensación puede ser particularmente útil en productos sanitarios basados en biosensores integrados cuando se fabrican un biosensor (por ejemplo, un biosensor de celda electroquímica o un biosensor colorimétrico / fotométrico) y una lanceta como un producto sanitario único basado en biosensores integrado.

La Figura 4 es un diagrama de flujo que ilustra una secuencia de etapas en un proceso 400 según la presente invención para fabricar un producto sanitario basado en biosensores esterilizado y calibrado. El proceso 400 incluye la etapa de montaje de una pluralidad de productos sanitarios basados en biosensores, como se describe en la etapa 410. Los productos sanitarios basados en biosensores montados en la etapa 410 pueden ser cualquier producto sanitario basado en biosensores conocido por los expertos en la técnica. Sin embargo, el proceso

400 es particularmente beneficioso para la fabricación de productos sanitarios basados en biosensores con una composición de reactivo para el biosensor y una lanceta integrada, incluyendo los ilustrados en las Figuras 1 y 2.

5 El conjunto del producto sanitario basado en biosensores puede lograrse utilizando cualquier técnica de montaje adecuada conocida por los expertos en la técnica incluyendo, aunque no limitándose a, los descritos en EP – A – 1 360 931.

10 A continuación, en la etapa 420, los productos sanitarios basados en biosensores montados en la etapa 410 se envasan para crear productos sanitarios basados en biosensores envasados. Dicho envasado abarca, por ejemplo, paquetes en forma de cartucho o productos envueltos individualmente en un paquete con formato de tarjeta.

15 Los productos sanitarios basados en biosensores envasados se esterilizan a continuación utilizando una técnica de esterilización basada en la radiación para crear una pluralidad de productos sanitarios basados en biosensores envasados y esterilizados, como se describe en la etapa 430. En la circunstancia en la que los productos sanitarios basados en biosensores incluyen una lanceta integrada, la etapa de esterilización 430 se adapta para crear una lanceta estéril.

20 A continuación, se calibra la composición de reactivo para el biosensor de los productos sanitarios basados en biosensores envasados y esterilizados, como se describe en la etapa 440. Sólo una fracción de un lote de la composición de reactivo para el biosensor utilizado para montar la pluralidad de productos sanitarios basados en biosensores requiere ser utilizada para la etapa de calibrado. Por ejemplo, una muestra (por ejemplo, una muestra seleccionada estadísticamente) de productos sanitarios basados en biosensores esterilizados y envasados puede calibrarse contra un método de referencia. De esta forma, la información de calibrado (por ejemplo, coeficiente de calibrado) puede obtenerse económicamente para los dispositivos restantes que no formaban parte de la muestra. Además, la etapa de calibrado 440 no requiere necesariamente condiciones de ambiente limpias / estériles, de este modo no hay que aumentar excesivamente el coste de fabricación.

30 El proceso 400 crea un producto sanitario basado en biosensores estéril de manera barata evitando costos asociados con el montaje de componentes previamente esterilizados de un producto sanitario basado en biosensores (por ejemplo, una lanceta previamente esterilizada y una celda de prueba electroquímica o tira reactiva fotométrica) en un ambiente limpio / estéril. Además, realizando la esterilización antes del calibrado, se produce un producto sanitario basado en biosensores de alta precisión.

35 En el proceso 300 y en el proceso 400, una etapa de esterilización precede una etapa de calibrado. Este orden secuencial particular de las etapas (es decir; una etapa de esterilización antes de una etapa de calibrado) permite la fabricación de un producto sanitario basado en biosensores esterilizado y calibrado de alta precisión y alcance, como se demuestra en los Ejemplos 1 y 2 a continuación.

40 EJEMPLO 1: efecto de la radiación gamma en la actividad enzimática de una composición de reactivo para el biosensor.

45 El paladio (pd) se pulverizó en láminas de poliéster (disponibles en CP Films, Canoga Park, CA) que se revistieron con una composición de reactivo para el biosensor sensible a la glucosa que contiene glucosa deshidrogenasa - pirroloquinolina quinona – (PPQ – GHD), pirroloquinolina quinona (PPQ), ferricianuro potásico, un tampón y otros componentes como se describen en la Tabla 1 a continuación. Esta composición de reactivo para el biosensor se describe adicionalmente en la Solicitud de la Patente EP con N° 03255680.5.

50

55

60

65

Tabla 1: composición de reactivo para el biosensor

Componente	Peso (g) en 100 mL	% de sólidos
Tampón: (citraconato, 66,7 mM): ácido citracónico	0,0273	0,0869
Tampón (tampón pH 6,8): citraconato dipotásico	1,334	4,247
Agente humectante (0,066 %): ácido plurónico P103	0,067	0,213
Detergente (0,0332 %) ácido plurónico F87	0,033	0,105
Estabilizador de enzima (1,7 mM): CaCl <sub>2</sub>	0,019	0,0605
Estabilizador (75 mM): Sacarosa	2,5673	8,174
Cofactor de enzima (484 µM): PPQ	0,016	0,051
Enzima (240 µM): PQQ - GDH	2,647	8,428
Mediador (750 mM): ferricianuro potásico	24,697	78,635
<b>Sólidos totales:</b>	<b>31,407</b>	<b>100,00</b>

Las láminas de Pd seco (tamaño 6" por 1,5") revestidas con la composición de reactivo para el biosensor de la Tabla 1 se envasaron en bolsas KAPAK (Minneapolis, MN) (1 lámina por bolsa) con desecante de gel de sílice y sellado en atmósfera de argón (Ar). Las muestras en bolsas se enviaron a un centro de esterilización junto con una muestra de control en bolsa (es decir, una lámina envasada en KPAK aunque no está irradiada). Se utilizó un irradiador Gammacell 220 (Nº de serie 254) para irradiar (es decir, esterilizar utilizando una técnica basada en la radiación), las muestras. Para tal fin, se utilizó Co<sup>60</sup> como fuente de radiación gamma. La esterilización se realizó en Johnson & Johnson Sterilization Sciences & Technology (New Brunswick, NJ).

Después de la esterilización con dosis de 10, 20 y 30 kGy de radiación gamma (sin abrir las bolsas), las muestras se devolvieron y la actividad de PQQ – GDH se analizó utilizando el método espectrofotométrico de DCIP / PES (DCIP = sal sódica de 2,6 –diclorofenol indofenol, PES = etosulfato de benzina) descrito en la Solicitud de la Patente EP Nº 03255680.5.

Las dosis de 10, 20 y 30 kGy cuando se eligieron en base a la creencia de que se utiliza comúnmente en la industria de productos sanitarios una dosis de 25 kGy de radiación gamma. Por tanto, se supuso que una dosis de 25 kGy sería suficiente para producir un producto sanitario basado en biosensores estéril adecuado, sin embargo no se realizó un análisis de la concentración de microorganismos después de la esterilización basada en la radiación. Una vez notificada la presente descripción, las dosis de radiación adecuadas para su uso en procesos según la presente invención puede determinarse fácilmente por un experto en la técnica sin experimentación indebida.

Se preparó una muestra de la lámina de Pd recién revestida con la composición de reactivo para el biosensor de la Tabla 1. La Tabla 2 muestra a continuación el efecto de la dosis de la radiación gamma en la actividad de la enzima PQQ – GDH para cada una de las muestras descritas anteriormente.

Tabla 2: efecto de la radiación gamma en la actividad de la enzima PQQ – GDH revestida en las muestras de la lámina de paladio.

Tipo de muestra	Tiempo de exposición a la radiación	Actividad de la enzima revestida	% del coeficiente de variación (n = 6)	% del cambio de la muestra libre de radiación
Muestra reciente	N / A	23,6	3,4	N / A
Muestra de control (no irradiada aunque se envía al control de esterilización)	N / A	24,1	1,5	N / A
10 kGy	48,9	21,0	1,7	- 12,9
20 kGy	97,8	21,9	1,1	- 9,1
30 kGy	146,7	20,6	2,0	- 14,5

Los datos de la Tabla 2 indican una degradación de la actividad enzimática de la composición de reactivo para el biosensor después de la radiación gamma en comparación con las muestras que no se sometieron a la radiación gamma. Si se desea, una degradación de tal actividad (pérdida de actividad) puede compensarse económicamente depositando una composición de reactivo con una actividad enzimática que es mayor en proporción a la pérdida esperada debido a la esterilización por radiación gamma. Por ejemplo, para una dosis de radiación gamma de 30 kGy, se podría emplear una composición de reactivo con una actividad enzimática mayor al 15 % para compensar la pérdida de la actividad enzimática del 14,5 %.

EJEMPLO 2: efecto del calibrado en productos sanitarios basados en biosensores antes y después de una etapa de esterilización

5 Se obtuvieron los productos sanitarios basados en biosensores de glucosa completamente montados y listos para usar incluyendo la composición de reactivo de la Tabla 1 y los electrodos de oro y paladio situados en una configuración opuesta. Antes de la esterilización por radiación gamma, estos productos se calibraron probando muestras de sangre que contienen plasma equivalente a concentraciones de glucosa de 30, 270 y 620 mg / dL, según se midió por un método de referencia - instrumento que utiliza un instrumento estándar YSI (disponible comercialmente en Yellow Springs, Ohio). Las pruebas de calibrado incluyeron muestras de sangre con niveles de hematocritos normales y elevados (es decir, niveles de hematocritos del 20 %, 42 %, y 70 %, respectivamente).

15 La etapa de calibrado de la composición de reactivo para el biosensor se basa en la recogida de la respuesta de productos múltiples de muestras de sangre de una concentración de glucosa en plasma conocida en un intervalo dinámico deseado (por ejemplo, 20 – 600 mg / dL) y correlacionando la respuesta en un método de referencia minimizando las diferencias entre las dos lecturas de glucosa. Idealmente, este sesgo entre la concentración de glucosa en sangre obtenida del producto sanitario basado en biosensores y del método de referencia de glucosa para todas las muestras de sangre debe ser cero. Sin embargo, dependiendo de la concentración de glucosa y hematocrito de sangre, el sesgo puede ser diferente a cero (por ejemplo, hasta ± 15 %). Típicamente, se obtiene la siguiente ecuación una vez que el lote de productos sanitarios basados en biosensores se haya calibrado:

$$\text{Glucosa}_{\text{YSI}} = (\text{Glucosa}_{\text{sensor}})^a + b$$

25 donde:

“Glucosa<sub>YSI</sub>” es la concentración de glucosa determinada por el instrumento de referencia YSI;

“Glucosa<sub>sensor</sub>” = concentración de glucosa determinada por un producto sanitario basado en biosensores;

30 “a” = coeficiente que produce la respuesta del sensor en línea con la concentración de glucosa determinada por el método de referencia; y

“b” = coeficiente de dispersión (intersección) (observado, por ejemplo, cuando se prueba una muestra de sangre libre de glucosa); el coeficiente “b” puede ser un número negativo o positivo.

35 La etapa de calibrado descrita anteriormente produjo los siguientes valores de coeficiente:

A = 0,0921 y b = 0,5854, cuando se realizaron antes de una etapa de esterilización. Los productos sanitarios basados en biosensores calibrados se envasaron en bolsas KAPAK que contienen desecante de gel de sílice, se sellaron y se dividieron en cuatro grupos: (i) almacenados en el envase con un ambiente de temperatura y humedad controladas (es decir, 20 – 25 °C y humedad relativa < 10 %), (ii) control de envío, (iii) esterilizados con dosis de 20 kGy, y (iv) esterilizados con dosis de 25 kGy.

40 Los últimos tres grupos de productos sanitarios basados en biosensores (es decir, grupos [ii] – [iv]) se enviaron al mismo centro de esterilización como en el Ejemplo 1. Después de la exposición a la radiación, se realizó una prueba de glucosa en sangre según el mismo protocolo que la etapa de calibrado, utilizando los coeficientes de a y b derivados de la etapa de calibrado realizados antes de la esterilización del sensor. La Tabla 3 muestra la respuesta media de los productos sanitarios basados en biosensores probados con un 20, 42 y 70 % de hematocritos de sangre en tres concentraciones de glucosa (valores YSI) y el sesgo de la respuesta media en mg / dL para la concentración baja de glucosa o en el % para las otras dos concentraciones de glucosa.

50

55

60

65

Tabla 3: respuesta de los sensores de glucosa esterilizados en una radiación gamma de 20 y 25 kGy utilizando coeficientes de calibrado obtenidos realizando un calibrado antes de la esterilización ( $a = 0,6921$ ,  $b = 0,5854$ );  $n = 18$ .

Caso	Glucosa YSI (mg / dL)	Media del sensor de glucosa (mg / dL)	Sesgo para YSI (mg / dL, o %)
20 kGy	32,7	44,5	11,8
	266,3	270,5	1,57
	606,0	565,8	- 6,64
25 kGy	32,7	45,1	12,4
	266,3	268,3	0,73
	606,0	564,2	- 6,90
Control de envío	32,7	28,1	- 4,56
	266,3	259,5	- 2,56
	606,0	571,0	- 5,77
Almacenado en un ambiente controlado	32,7	27,5	- 5,18
	266,3	264,6	- 0,65
	606,0	571,1	- 5,76

Aunque no se ha realizado un análisis adicional, excepto para una medición de la respuesta del antecedente del producto, una conjetura basada en el cambio de la actividad enzimática mostrada en el Ejemplo 1 es que la fuente primaria del incremento en el sesgo de la respuesta es la formación de ferrocianuro potásico a partir de la forma oxidada del mediador.

A continuación, se llevó a cabo el procedimiento de calibrado después del proceso de radiación gamma para demostrar que se obtuvo un producto sanitario basado en biosensores con una precisión mejorada. Dicha secuencia de proceso cuenta los cambios de rendimiento analítico resultante de la interacción de rayos gamma con la composición de reactivo para el biosensor, proporcionando de este modo una composición de reactivo para el biosensor con una respuesta precisa a través de todo el intervalo dinámico del sistema. La Tabla 4 contiene la respuesta de productos sanitarios basados en biosensores que se calibraron después de la etapa de radiación gamma.

Tabla 4: respuesta de los sensores de glucosa irradiados a 20 y 25 kGy utilizando coeficientes de calibrado derivados después de la esterilización por radiación.

$a = 0,7885$ ,  $b = 1,088$  para la dosis de 20 kGy;  $a = 0,7974$ ,  $b = 1,1242$  para la dosis de 25 kGy;  $n = 18$ .

Caso	Glucosa YSI (mg / dL)	Media del sensor de glucosa (mg / dL)	Sesgo para YSI (mg / dL, o %)
20 kGy	32,7	32,9	0,18
	266,3	275,8	3,56
	606,0	601,0	- 0,82
25 kGy	32,7	32,9	0,27
	266,3	274,4	3,02
	606,0	603,4	- 0,43

Los resultados de la Tabla 4 demostraron una mejora significativa en el sesgo de YSI en comparación con la Tabla 3, especialmente en la concentración más baja de glucosa. Por lo tanto, si se realiza una etapa de calibrado de reactivo después de la esterilización por radiación, el sesgo de respuesta en el método de referencia se minimiza ya que los parámetros de calibrado determinados durante el calibrado reflejan (compensan) cualquier cambio en la química del reactivo para el biosensor.

Se especula que, sin estar ligado, los rayos gamma provocan la formación de ferrocianuro  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  a partir del mediador de la composición de reactivo para el biosensor de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ . Cuando se prueba una muestra de sangre en el producto sanitario basado en biosensores, un aumento en la concentración reducida del mediador es interpretado por el producto como glucosa adicional. En otras palabras, se especula que la radiación gamma del producto sanitario basado en biosensores afecta a la actividad enzimática y / o integridad del mediador, generando cantidades del producto que son detectadas por el producto de forma errónea como un analito, comprometiendo de esta manera la precisión del producto. Sin embargo, si durante la fabricación, los productos sanitarios basados en biosensores se irradian primero después de la etapa de esterilización, el efecto de radiación se compensa produciendo un producto sanitario basado en biosensores de mayor precisión.

Desde que se observa un importante cambio en la respuesta en la parte de intersección del calibrado después de la radiación gamma, la composición de reactivo para el biosensor puede calibrarse en la última etapa de fabricación, evitando así procedimientos costosos de montaje de una sala limpia. En resumen, cuando se realiza una

etapa de esterilización antes de la etapa de calibrado, no está presente el sesgo observado en un proceso con la secuencia inversa.

5 Debe entenderse que pueden emplearse diversas alternativas de las realizaciones de la invención descritas en la presente en la práctica de la invención. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y que los métodos en el alcance de estas reivindicaciones estén cubiertos por el mismo.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

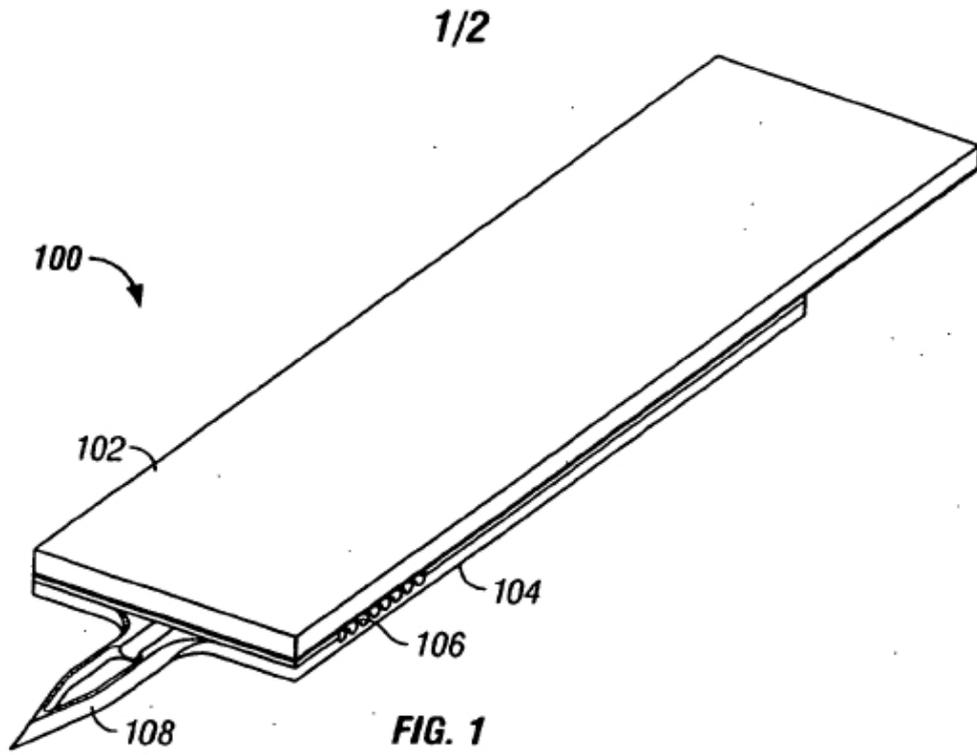
55

60

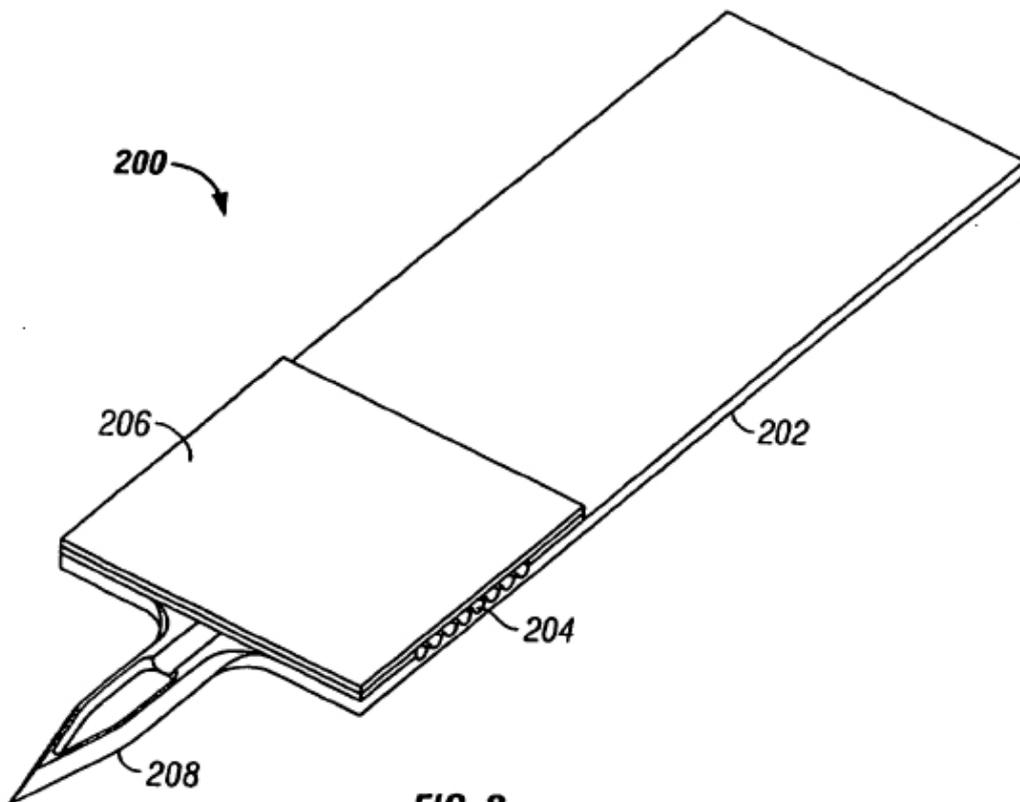
65

**Reivindicaciones**

- 5
1. Un método de fabricación de productos sanitarios basados en biosensores integrados, desechables, esterilizados y calibrados, el método comprende:
- 10 montar una pluralidad de productos sanitarios basados en biosensores que incluye cada uno un biosensor y una lanceta integrados, el biosensor incluye una composición de reactivo para el biosensor;
- 15 envasar los productos sanitarios basados en biosensores integrados desechables, creando de este modo productos sanitarios basados en biosensores esterilizados, envasados, desechables e integrados;
- 20 a partir de esto, esterilizar los productos sanitarios basados en biosensores desechables, montados, envasados e integrados, creando de este modo una pluralidad de productos sanitarios basados en biosensores esterilizados, envasados e integrados;
- a partir de esto, compensar los efectos de la etapa de esterilización en el rendimiento analítico de los productos sanitarios basados en biosensores envasados, desechables e integrados al calibrar la composición de reactivo para el biosensor de los productos sanitarios basados en biosensores envasados, desechables, esterilizados e integrados, la etapa de calibrado utiliza una fracción de los productos sanitarios basados en biosensores esterilizados, envasados, desechables e integrados para obtener la información de calibrado.
- 25
2. El método de la reivindicación 1, en el que los productos sanitarios con biosensor y lanceta integrados son productos sanitarios basados en biosensores electroquímicos.
- 30
3. El método de la reivindicación 1, en el que los productos sanitarios con biosensor y lanceta integrados son productos sanitarios basados en biosensores fotométricos.
- 35
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la etapa de esterilización utiliza una técnica de esterilización basada en la radiación.
- 40
5. El método de la reivindicación 4, en el que la etapa de esterilización utiliza una técnica de esterilización basada en la radiación gamma.
- 45
6. El método de la reivindicación 4, en el que la etapa de esterilización utiliza una dosis de radiación gamma que oscila entre 10 kGy y 30 kGy.
- 50
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la etapa de esterilización incluye la esterilización de un producto sanitario basado en biosensores con una composición de reactivo basada en un biosensor que tiene una enzima específica del analito y un mediador.
- 55
- 60
8. El método de la reivindicación 7, en el que la enzima específica de analito incluye PPQ (pirroloquinolina quinona) y un mediador que incluye ferricianuro.
- 65



**FIG. 1**  
**(Técnica anterior)**



**FIG. 2**  
**(Técnica anterior)**

2/2

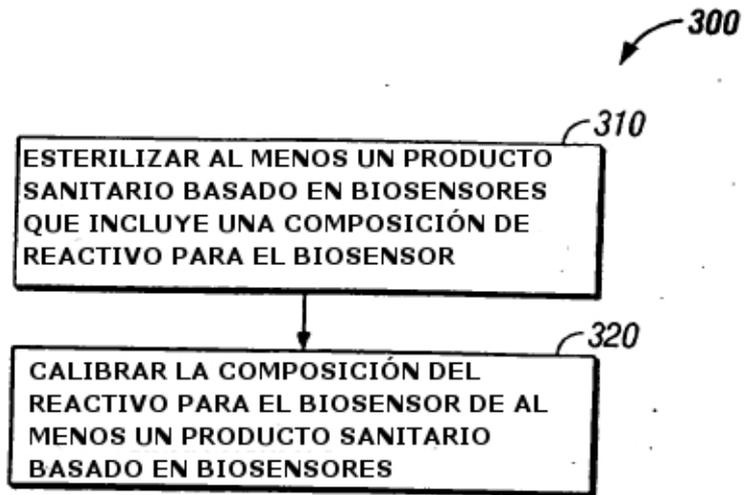


FIG. 3

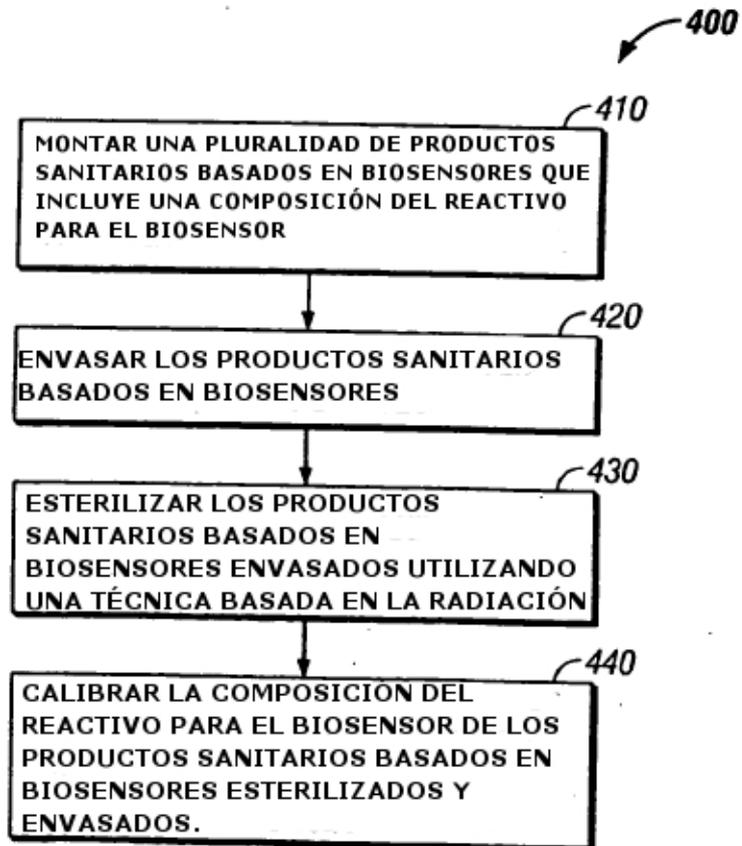


FIG. 4