

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 530 566**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/00** (2006.01)

**A61B 5/15** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2002 E 10179944 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.11.2014 EP 2286720**

54 Título: **Dispositivos y procedimientos de muestreo y medición de constituyentes de fluido biológico**

30 Prioridad:

**12.06.2001 US 879188**

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

**03.03.2015**

73 Titular/es:

**LIFESCAN, INC. (100.0%)  
1000 Gibraltar Drive, Mail Stop 3D  
Milpitas, CA 95035 , US**

72 Inventor/es:

**SHARTLE, ROBERT;  
LEONG, KOON-WAH y  
KISER, ERNEST**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 530 566 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

**Dispositivos y procedimientos de muestreo y medición de constituyentes de fluido biológico**5 **Campo de la invención**

La presente invención está relacionada con dispositivos y procedimientos percutáneos de muestreo de constituyentes de fluido biológico y de medición de analitos.

10 **Antecedentes**

15 La detección de analitos en fluidos biológicos es de importancia cada vez mayor. Los ensayos de detección de analitos se usan en una variedad de aplicaciones, que incluyen pruebas de laboratorio clínico, pruebas en casa, etc., en las que los resultados de tales pruebas desempeñan una función importante en el diagnóstico y tratamiento de una variedad de condiciones de enfermedad. Analitos comunes de interés incluyen glucosa, por ejemplo, para el tratamiento de la diabetes, colesterol, y similares.

20 Una técnica común para recoger una muestra de sangre para la determinación de analito es perforar la piel al menos en la capa subcutánea para acceder a los vasos sanguíneos subyacentes con el fin de producir hemorragia localizada sobre la superficie del cuerpo. Entonces, la sangre a la que se ha accedido se recoge en un pequeño tubo para entregarse y analizarse por el equipo de prueba, frecuentemente en forma de un instrumento portátil que tiene una tira reactiva con reactivo sobre la que se coloca la muestra de sangre. La punta del dedo es el sitio más frecuentemente usado para este procedimiento de recogida de sangre debido al gran número de pequeños vasos sanguíneos localizados en su interior. Este procedimiento tiene la significativa desventaja de ser muy doloroso debido a que el tejido subcutáneo de la punta del dedo tiene una gran concentración de terminaciones nerviosas. Es común para pacientes que requieren la monitorización frecuente de un analito, para evitar tener que muestrear su sangre. Con diabéticos, por ejemplo, el fallo en medir frecuentemente su nivel de glucosa de una forma prescrita produce una ausencia de información necesaria para controlar apropiadamente el nivel de glucosa. Niveles de glucosa no controlados pueden ser muy peligrosos e incluso potencialmente mortales. Esta técnica de muestreo de sangre también conlleva el riesgo de infección y la transmisión de enfermedad al paciente, particularmente cuando se hace muy frecuentemente. Los problemas con esta técnica se agravan por el hecho de que hay una cantidad limitada de superficie de la piel que puede usarse para el frecuente muestreo de sangre.

35 Para vencer las desventajas de la técnica anterior y otras que están asociadas a un alto grado de dolor, se han desarrollado ciertos protocolos y dispositivos de detección que usan elementos de micro-perforación, micro-corte o estructuras análogas para acceder al líquido intersticial dentro de la piel. Las micro-agujas son penetradas en la piel a una profundidad inferior a la capa subcutánea de manera que se minimiza el dolor sentido por el paciente. Entonces se muestrea el líquido intersticial y se prueba para determinar la concentración del analito diana.

40 Los sistemas de muestreo con micro-agujas convencionales tienen un inconveniente porque, debido a que el líquido intersticial dentro del cuerpo humano está a una presión negativa de aproximadamente 6 mm/Hg, frecuentemente se usa algún tipo de medio mecánico o de vacío conjuntamente con los miembros de micro-perforación.

45 Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 99/27852 desvela el uso de presión de vacío y/o calor para aumentar la disponibilidad de líquido intersticial en el área de la piel en la que se aplica el vacío o calor. La presión de vacío hace que la porción de piel en la vecindad del vacío se estire e hinche con líquido intersticial, facilitando la extracción de fluido tras la entrada en la piel. Se desvela otro procedimiento en el que un elemento de calentamiento localizado se coloca encima sobre la piel, haciendo que el líquido intersticial fluya más rápidamente en esa localización, permitiendo así recoger más líquido intersticial por unidad de tiempo dada.

50 Todavía se han desarrollado otros dispositivos de detección que evitan la penetración de la piel todos. En su lugar, la capa más externa de la piel, llamada el estrato córneo, se "rompe" por un medio más pasivo para proporcionar acceso a o extracción de fluido biológico dentro de la piel. Tales medios incluyen el uso de energía de oscilación, la aplicación de reactivos químicos a la superficie de la piel, etc. Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 98/34541 desvela el uso de un concentrador de oscilaciones, tal como una aguja o alambre, que está colocado a una distancia de la superficie de la piel y se hace vibrar por medio de un transductor electro-mecánico. La aguja se sumerge en un receptáculo que contiene un medio líquido puesto en contacto con la piel. La vibración mecánica de la aguja se transfiere al líquido, creando estrés hidrodinámico sobre la superficie de la piel suficiente para romper la estructura celular del estrato córneo. Las solicitudes de patente internacionales WO 97/42888 y WO 98/00193 también desvelan procedimientos de detección de líquido intersticial usando vibración ultrasónica.

65 Así, a pesar del trabajo que ya se ha hecho en el área de la prueba de analitos mínimamente invasiva, hay un interés continuo en la identificación de nuevos procedimientos de detección de analitos que sean menos caros y eliminen la necesidad de equipo auxiliar (por ejemplo, dispositivos generadores de oscilaciones, succión y calor). Sería de particular interés el desarrollo de un sistema de detección de analitos mínimamente invasivo que fuera barato, fácil de usar, fuera integrable en un único componente y fuera seguro y eficaz.

**BIBLIOGRAFÍA RELEVANTE**

Las patentes de EE.UU. de interés incluyen: 5.161.532, 5.582.184, 5.746.217, 5.820.570, 5.879.310, 5.879.367, 5.942.102, 6.080.116, 6.083.196, 6.091.975 y 6.162.611. Otros documentos de patente y publicaciones de interés incluyen: documentos WO 97/00441, WO 97/42888, WO 98/00193 WO 98/34541, WO 99/13336, WO 99/27852, WO 99/64580, WO 00/35530, WO 00/45708, WO 00/57177, WO 00/74763 y WO 00/74765A1.

El documento WO 00/35530 A desvela un conjunto de inserción para la inserción a través de tejido. El documento WO 00/74765 A desvela un dispositivo de dispensación de fluido y un dispositivo de muestreo de fluido.

**RESUMEN DE LA INVENCION**

Sistemas y dispositivos percutáneos de muestreo de constituyentes de fluido biológico y de medición de analitos, además de procedimientos para usar los mismos, se proporcionan por la invención objeto. Una característica de los dispositivos objeto es la presencia de un medio de transferencia de constituyentes que muestrea constituyentes de fluido biológico a los que se ha accedido dentro de la piel y transfiere al menos el (los) constituyente(s) diana en su interior a una celda electroquímica para la medición de al menos un constituyente elegido como diana, por ejemplo, analito, dentro del fluido biológico. La presente invención encuentra uso en el acceso a fluidos biológicos, tales como sangre y líquido intersticial, y en el muestreo, detección y medición de diversos analitos, por ejemplo, glucosa, colesterol, electrolitos, productos farmacéuticos o drogas, y similares. La presente invención es especialmente muy apta para el muestreo de constituyentes del líquido intersticial y la medición de la concentración de glucosa dentro del líquido intersticial.

En general, los dispositivos objeto incluyen un medio que perfora la piel o que penetra la piel, al menos un medio de muestreo en forma de un medio de transferencia de constituyentes, y un medio de medición en forma de una celda electroquímica en comunicación fluida con el medio de transferencia de constituyentes.

El medio que penetra la piel incluye al menos una micro-aguja hueca que define un taladro sustancialmente anular o canal a través del interior de la estructura de la micro-aguja y que tiene un orificio de acceso por el que el fluido biológico accede y a través del cual entra el (los) dispositivo(s) diana en el dispositivo sensor. La medio que perfora la piel comprende una matriz de tales micro-agujas. La invención se define por las reivindicaciones.

La celda de medición electroquímica comprende dos electrodos en una relación separada. El espacio entre los dos electrodos define una zona de reacción en la que una muestra de fluido biológico se prueba para la concentración de un analito elegido como diana. Al menos uno de los electrodos tiene una estructura porosa en la que un primer electrodo o distal es poroso, que tiene al menos un poro u orificio a través del espesor de su estructura plana. Cada poro u orificio está alineado con un canal de la micro-aguja.

En operación, uno de los electrodos de la celda electroquímica se usa como electrodo de referencia por el cual se proporciona una señal de referencia de entrada al sensor de un medio generador de señales. El otro electrodo opera como electrodo de trabajo que proporciona una señal de salida de la celda a un medio receptor de señales. Preferentemente, el electrodo de referencia está localizado en el fondo y el electrodo de trabajo en la parte superior del dispositivo. Esta señal de salida representa la concentración del analito diana en el fluido muestreado.

El medio de transferencia de constituyentes llena la zona de reacción, los poros en el electrodo distal y al menos una porción de cada micro-canal. El medio de transferencia de constituyentes está hecho de un material o matriz de gel que es hidrófilo, es decir, tiene una alta afinidad por partículas iónicas y aniónicas dentro del fluido biológico. Opcionalmente, la matriz de gel, también denominada un hidrogel, puede configurarse para transferir solo partículas que tienen un peso molecular inferior a un peso especificado. El gel actúa transfiriendo al menos el (los) constituyente(s) del fluido biológico elegido(s) como diana a la abertura de acceso de una micro-aguja en la zona de reacción. En otras palabras, el (los) constituyente(s) elegido(s) como diana migra(n) a través de la matriz de gel hasta que se alcanza el equilibrio entre la concentración del (de los) constituyente(s) dentro del tejido y la concentración del (de los) constituyente(s) dentro de la matriz de gel. En comparación con una micro-aguja hueca que se basa únicamente en la fuerza capilar que ejerce sobre el fluido biológico como medio para transferir el fluido biológico a la celda electroquímica, el medio de transferencia de constituyentes objeto puede configurarse (es decir, presentarse en un estado completamente saturado) para eliminar la transferencia de agua y otros fluidos contenidos dentro del fluido biológico al que se ha accedido, mientras que transfiere solo constituyentes del fluido biológico. Es la configuración de la celda electroquímica la que selecciona el (los) constituyente(s) elegido(s) como diana de los restantes constituyentes a probar.

Los dispositivos objeto puede funcionar como una parte de un sistema de detección de analitos que incluye un medio para controlar los dispositivos objeto. Específicamente, se proporciona una unidad de control en la que el medio de control está eléctricamente acoplado al dispositivo sensor y funciona generando y enviando señales de entrada a la celda electroquímica y recibiendo señales de salida de la celda. Estas funciones, entre otras, pueden realizarse por un algoritmo de software programado dentro de la unidad de control que calcula automáticamente y determina la concentración del analito diana en la muestra biológica tras la recepción de una señal de salida de la

celda electroquímica.

También se proporciona por las invenciones objeto procedimientos para usar los dispositivos y sistemas objeto, además de kits para su uso en la puesta en práctica de los dispositivos, sistemas y procedimientos de la invención objeto.

La invención objeto es útil para la medición de la concentración de analito de una variedad de analitos y es particularmente apta para uso en la medición de concentración de glucosa en líquido intersticial.

## **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La Fig. 1 incluye las Fig. 1A y 1B en las que la Fig. 1A es una vista lateral en corte transversal de un dispositivo de detección de fluido biológico y de medición de analito a modo de ejemplo de la presente invención, y la Fig. 1B es una vista desde arriba en corte transversal del dispositivo de la Fig. 1A tomada a lo largo de las flechas b-b; y la Fig. 2 es una representación esquemática de un dispositivo portátil a modo de ejemplo para usar los dispositivos de detección de fluido biológico y de medición de analito de la presente invención.

## **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES PREFERIDAS**

Antes de describir adicionalmente la invención objeto, debe entenderse que la invención no se limita a las realizaciones particulares de la invención descritas más adelante, ya que pueden hacerse variaciones de las realizaciones particulares y todavía encontrarse dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. También debe entenderse que la terminología empleada es con el fin de describir realizaciones particulares, y no pretende ser limitante. En su lugar, el alcance de la presente invención se establecerá por las reivindicaciones adjuntas.

Si se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, al décimo de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente de otro modo, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido está englobado dentro de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños que pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños también están englobados dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Si el intervalo establecido incluye uno o ambos de los límites, intervalos que excluyen cualquiera de ambos de aquellos límites incluidos también están incluidos en la invención.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque cualquier estructura y procedimiento similar o equivalente a aquellos descritos en el presente documento también puede usarse en la práctica o prueba de la presente invención, ahora se describen la estructura y procedimiento preferido de uso.

Debe observarse que, como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo. Así, por ejemplo, referencia a "una tira reactiva" incluye una pluralidad de tales tiras reactivas y referencia a "el medidor" incluye referencia a uno o más medidores y equivalentes de los mismos conocidos para aquellos expertos en la materia, etc.

Las publicaciones tratadas o citadas en el presente documento se proporcionan únicamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada en el presente documento debe interpretarse como admisión de que la presente invención no tenga derecho a preceder tal publicación en virtud de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas puede ser diferentes de las actuales fechas de publicación que pueden necesitar confirmarse independientemente.

## **VISIÓN GENERAL**

Se proporcionan dispositivos y sistemas percutáneos de muestreo y medición de constituyentes de fluido biológico, además de procedimientos para usar los mismos. La presente invención encuentra uso en el acceso de fluidos biológicos, tales como sangre y líquido intersticial, y en el muestreo, detección y medición de una variedad de diferentes analitos, por ejemplo, glucosa, colesterol, electrolitos, productos farmacéuticos, drogas y similares.

En general, los dispositivos objeto (también denominados "dispositivos sensores") incluyen un medio que perfora la piel o que penetra la piel, al menos un medio de muestreo de constituyentes de fluido biológico en forma de un medio de transferencia de constituyentes, y un medio de medición de la concentración de constituyentes en forma de una celda electroquímica en comunicación fluida con el medio de transferencia de constituyentes. En ciertas realizaciones, estos componentes están integrados en una única estructura.

**MEDIO DE PENETRACIÓN DE LA PIEL**

El medio de penetración de la piel incluye al menos una micro-protuberancia hueca, por ejemplo, en forma de una micro-aguja, que define un taladro sustancialmente anular o canal a través del interior de la estructura de la micro-protuberancia y que tiene una abertura de acceso a través de la cual el fluido biológico entra en el dispositivo sensor. En muchas realizaciones, el medio que penetra la piel comprende una matriz de tales micro-agujas.

Las micro-protuberancias o micro-agujas objeto están configuradas para ser mecánicamente estables y suficientemente fuertes para penetrar el estrato córneo sin romperse o flexionarse. Preferentemente, están hechas de un material biocompatible de manera que no se produzca irritación a la piel o una respuesta del tejido no deseable. Aunque los dispositivos sensores de la invención objeto puede ser desechables, para realizaciones reutilizables, es preferible que el material de las micro-agujas y/o matrices de micro-agujas pueda resistir los ciclos de esterilización.

Las micro-agujas y/o la matriz de micro-agujas pueden formarse de o recubrirse con un material aislante, tal como un cerámico, vidrio, sílice, polímero, plásticos. Ejemplos de polímeros son poliacrilatos, epoxis, poliésteres poliéter-éter-cetona, poliésteres cristalinos líquidos, o sus materiales compuestos. Ejemplos de cerámicos son óxido de aluminio, carburo de silicio y óxido de circonio. En otras realizaciones, las micro-agujas y/ o la matriz de micro-agujas están hechas de o recubiertas con un material conductor, tal como partículas de metal sinterizado para formar un conjunto de electro-sensores. Materiales metálicos adecuados incluyen acero inoxidable, titanio, metales preciosos o aleaciones de los mismos.

La configuración general de un dispositivo sensor a modo de ejemplo de la presente invención se describirá ahora con referencia a las Fig. 1A y 1B. En la Fig. 1A, se muestra un dispositivo sensor 10 que tiene una matriz 16 de micro-agujas 12 separada por superficies de contacto con la piel 20. Cada micro-aguja 12 tiene una punta distal abierta afilada 14 para penetrar fácilmente a través de la piel y un canal 13 para acceder y permitir que fluidos biológicos entren en el dispositivo sensor 10.

La Fig. 1A muestra micro-agujas 12 tienen una configuración de forma cónica, pero, como será evidente para un experto en la materia, las micro-agujas 12 pueden tener cualquier configuración adecuada, preferentemente no tubular, tal como una configuración piramidal de 3 ó 4 lados. Los ejes de las micro-agujas 12 pueden tener una sección transversal anularmente formada o cualquier sección transversal no anular adecuada, tal como una forma poligonal.

El diámetro externo de una micro-aguja 12 está generalmente entre aproximadamente 100 a 400  $\mu\text{m}$  en la base de la aguja, y generalmente es inferior a aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  en la punta 14. El diámetro externo promedio de la micro-aguja 12 está generalmente entre aproximadamente 100 y 300  $\mu\text{m}$  y normalmente entre aproximadamente 120 y 200  $\mu\text{m}$ . El diámetro del canal 13 o diámetro interno de una micro-aguja 12 está generalmente entre aproximadamente 10 y 200  $\mu\text{m}$  en la base de la aguja.

La longitud de las micro-agujas 12 dependerá de la profundidad deseada de inserción. Más particularmente, las micro-agujas 12 tienen longitudes y tamaños dentro de ciertos intervalos dependiendo del tipo de fluido biológico (por ejemplo, líquido intersticial, sangre o ambos) deseado para el muestreo y el espesor de las capas de piel del paciente particular que se prueba. Como tales, las capas de piel diana en las que el medio que perfora la piel objeto pueden insertarse incluyen la dermis, epidermis y el estrato córneo (es decir, la capa más externa de la epidermis). En general, las micro-agujas 12 tienen una longitud de al menos aproximadamente 0,05  $\mu\text{m}$  y más normalmente de al menos aproximadamente 0,1  $\mu\text{m}$ , en las que la longitud puede ser tan grande como 500  $\mu\text{m}$  o mayor, pero normalmente no supera aproximadamente 200  $\mu\text{m}$  y más normalmente no supera aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ .

Como se ha mencionado anteriormente, más de un medio que penetra la piel puede emplearse con dispositivos sensores objeto. Puede emplearse cualquier número de micro-agujas 12 adecuado por la presente invención. El número óptimo dependerá de diversos factores que incluyen el agente que se detecta, la localización de la superficie corporal en la que se insertan las micro-agujas, y el margen de exactitud deseado. Independientemente del número micro-agujas 12, están suficientemente separadas entre sí de manera que garantizan que el estrato córneo puede ser penetrado sin excesiva presión sobre la piel. En general, las micro-agujas 12 están separadas de las micro-agujas adyacentes una distancia, es decir, la longitud de las superficie de contacto con la piel 20 es generalmente de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 2 mm, normalmente de aproximadamente 100 a 1000  $\mu\text{m}$ , y más normalmente de aproximadamente 200 a 400  $\mu\text{m}$ .

La matriz 16, que incluye micro-agujas 12 y superficies de contacto con la piel 20, puede definir una porción inferior 18a de una carcasa 18, definiéndose la porción superior por la cubierta 18b. La porción de carcasa 18a proporciona una estructura de soporte para el medio de transferencia de constituyentes 22 y, como se trata anteriormente con respecto a las micro-agujas 12, puede estar hecha de materiales aislantes o conductores. La carcasa 18b está hecha preferentemente de un material aislante tal como un plástico o un material polimérico para aislar la celda electroquímica.

**LA CELDA ELECTROQUÍMICA**

Como se trata anteriormente, el dispositivo sensor 10 comprende además medios de medición en forma de una celda de medición electroquímica. La celda de medición electroquímica comprende dos electrodos en una relación separada de forma que una superficie de un electrodo está orientada hacia una superficie del otro electrodo. Preferentemente, los electrodos son sustancialmente planos y paralelos entre sí. El espacio entre los dos electrodos define una zona de reacción en la que una muestra de fluido biológico se prueba para la concentración de un analito elegido como diana. Puede usarse un sistema de reactivos rédox o material para facilitar la elección como diana del (de los) analito(s) diana. El material de reactivo rédox se deposita sobre al menos una de las superficies opuestas de los dos electrodos, por lo que el fluido biológico presente en la zona de reacción reacciona químicamente con el material de reactivo. El material de reactivo rédox particular usado se selecciona basándose en el analito elegido como diana para la medición.

Al menos uno de los dos electrodos es poroso. Más particularmente, un primer electrodo o distal es poroso, que tiene al menos un poro u orificio a través del espesor de su estructura plana. Cada poro u orificio está alineado con un canal de la micro-aguja de manera que se forma una ruta de fluido de la abertura de acceso de la micro-aguja, a través del canal de la micro-aguja, a través del poro de electrodo y a la zona de reacción. El número de poros dependerá del número de micro-agujas empleadas por el dispositivo sensor.

El segundo electrodo o proximal puede comprender completamente un material conductor sólido o puede tener una estructura porosa, tal como un material poroso metalizado, en el que los poros atraviesan la mayoría de la estructura y son mucho más pequeños que aquellos del primer electrodo. El tamaño de poros del segundo electrodo es suficientemente pequeño para crear una fuerza capilar sobre el fluido en contacto con él haciendo así que salga el líquido dentro de la zona de reacción o escurra a través del propio segundo electrodo. Esta configuración facilita el escurrimiento continuo del fluido biológico muestreado y/o constituyentes en su interior a dentro de la celda electroquímica, purgando así o desplazando el aire dentro de la celda. La presencia de aire en la celda puede interferir con la medida del analito. Alternativamente, puede usarse un par de electrodos coplanares convencionales en lugar del electrodo superior. El dispositivo objeto puede proporcionar adicionalmente una capa de material aislante sobre el segundo electrodo para aislar la celda electroquímica y para alojar el dispositivo. Con realizaciones que tienen un electrodo proximal poroso, como se acaba de describir, pueden formarse uno o más orificios de ventilación o hacerse dentro de la carcasa adyacente al electrodo.

Puede emplearse diversos tipos de sistemas y procedimientos electroquímicos comúnmente conocidos en la técnica de la detección y medición de analitos por la presente invención, que incluyen sistemas que son amperométricos (es decir, medida de corriente), coulométricos (es decir, medida de carga eléctrica) o potenciométricos (es decir, medida de voltaje). Ejemplos de estos tipos de sistemas de medición electroquímica se describen adicionalmente en las patentes de EE.UU. n°: 4.224.125; 4.545.382; y 5.266.179; además de los documentos WO 97/18465 y WO 99/49307.

Con referencia de nuevo a las figuras, la celda electroquímica mostrada en la Fig. 1A tiene un primer electrodo o inferior 26 y un segundo electrodo o superior 28 separados entre sí. El área entre los electrodos 26 y 28 define una zona de reacción 30 de la celda en la que el fluido biológico se prueba para la concentración de un analito(s) diana. La celda puede contener adicionalmente un sistema de reactivos rédox o material seleccionado basándose en el (los) analito(s) diana particular(es). Como tal, el analito diana dentro de la zona de reacción 30 reacciona químicamente con el material de reactivo. Al menos una porción de las superficies de los electrodos que se orientan hacia la zona de reacción comprende un material altamente conductor, tal como paladio, oro, platino, plata, iridio, carbono, óxido de estaño-indio dopado, acero inoxidable y similares, o una combinación de tales materiales. El material de reactivo, que comprende una enzima oxidante y un componente mediador, se deposita sobre una o ambas de las superficies del electrodo opuestas.

Los electrodos 26 y 28 son preferentemente sustancialmente paralelos entre sí para garantizar una medición de analitos precisa, y preferentemente tienen una configuración sustancialmente plana, pero pueden tener cualquier configuración o forma adecuada tal como cuadrada, rectangular, círculo, etc. Las dimensiones de los dos electrodos son preferentemente las mismas, en los que la huella de cada electrodo 26, 28 está generalmente en el intervalo de aproximadamente 0,1 a 2 cm<sup>2</sup> y normalmente entre aproximadamente 0,25 y 1 cm<sup>2</sup>. Los electrodos son muy delgados, teniendo un espesor generalmente en el intervalo de aproximadamente 50 a 1000 Å, y más normalmente de aproximadamente 100 a 500 Å, y más normalmente de aproximadamente 150 a 300 Å. La separación entre los electrodos está generalmente en el intervalo de aproximadamente 1 a 1000 µm, y más normalmente de aproximadamente 10 a 100 µm, y más normalmente de aproximadamente 10 a 25 µm.

Refiriéndose ahora a la Fig. 1B, el primer electrodo o inferior 26 está estructuralmente soportado por el área superficial de la matriz 16 entre las micro-agujas 12, es decir, la superficie superior de las porciones que se ponen en contacto con la piel 20. Una traza del material altamente conductor del primer electrodo 26 se extiende lateralmente fuera de un borde 27 (véase la Fig. 1B) del área superficial del primer electrodo 26 sobre una superficie superior de la carcasa inferior 18a para proporcionar un primer contacto conductor 32 para acoplar eléctricamente el primer electrodo 26 a una unidad de control 52 (tratada más adelante con respecto a la Fig. 2). Alternativamente, el primer

contacto conductor 32 puede estar en forma de un anillo extendido. El primer electrodo 26 tiene orificios o poros separados 15 a lo largo de su área superficial. Los diámetros de los poros 15 oscilan generalmente de aproximadamente 25 a 200  $\mu\text{m}$ , normalmente entre aproximadamente 50 y 150  $\mu\text{m}$ , y más normalmente entre aproximadamente 100 y 150  $\mu\text{m}$ .

El segundo electrodo o superior 28 puede comprender únicamente un material conductor no poroso, formado sobre la parte inferior de la carcasa superior 18b, o un material conductor poroso tal como un material metálico sinterizado. En cualquier caso, un inserto metálico se extiende a través del espesor de la carcasa superior 18b (véase la Fig. 1A) para proporcionar un segundo contacto conductor 34 para acoplar eléctricamente el segundo electrodo 28 a una unidad de control 52 (tratada más adelante con respecto a la Fig. 2). El tamaño de los poros dentro de un segundo electrodo 28 que tiene una configuración porosa generalmente oscila de aproximadamente 0,1 a 50  $\mu\text{m}$  y normalmente de aproximadamente 0,1 a 10  $\mu\text{m}$ . La configuración porosa facilita el escurrimiento continuo del fluido biológico muestreado y/o constituyente(s) en su interior a dentro de la celda electroquímica, purgando así o desplazando el aire dentro de la celda a través de uno o más orificios de aire minúsculos dentro de la cubierta de la carcasa 18b (no mostrada). Esto es importante ya que la presencia de aire en la celda puede interferir con la medida del analito.

### **EL MEDIO DE TRANSFERENCIA DE CONSTITUYENTES**

En muchas realizaciones, el medio de transferencia de constituyentes del medio de muestreo ocupa sustancialmente el volumen entero de la zona de reacción, los poros del electrodo distal y al menos una porción de cada canal de la micro-aguja, pero puede ocupar sustancialmente o completamente el canal hasta la abertura de acceso. El medio de transferencia de constituyentes está preferentemente hecho de un material basado en agua que tiene una alta afinidad por el agua. En muchas realizaciones, el medio de transferencia de constituyentes está hecho de un material o matriz de gel hidrófilo. El gel hidrófilo ayuda al acondicionamiento de los electrodos y a reconstituir el material de reactivo en la preparación para la medición electroquímica de analitos diana.

La capacidad del medio de transferencia para absorber fluidos, particularmente agua, depende del grado al que el medio de transferencia se satura antes de exponerse al fluido. Con el fin de reducir el tiempo durante el cual la micro-aguja se inserta o aplica a la piel, el medio de transferencia de constituyentes se proporciona preferentemente en un estado completamente saturado antes de la inserción de la micro-aguja en la piel. Como tales, solo se transfieren los constituyentes no fluidos, que incluyen el uno o más constituyentes elegidos como diana, contenidos dentro del fluido biológico, eliminando así el tiempo para la transferencia preliminar de fluido biológico. Como el líquido intersticial, por ejemplo, tiene aproximadamente 98 % de agua, la reducción en el tiempo de difusión a través del gel puede ser significativa en ciertas aplicaciones.

En cuanto a entre los constituyentes que pueden difundir dentro y a través de la matriz de gel, la velocidad a la que alcanzan la zona de reacción variará dependiendo del tamaño de las moléculas de los constituyentes. Generalmente, cuanto más pequeña sea la molécula, más rápida será la tasa de difusión a través del gel. Como muchos analitos elegidos comúnmente como dianas, tales como glucosa, electrolitos, ácido ascórbico, ácido úrico, etc., tienen moléculas pequeñas, estos analitos difundirán a través de la matriz de gel más rápidamente que otros componentes del líquido intersticial compuestos de moléculas mayores.

Materiales de gel adecuados incluyen geles naturales constituidos de polímeros que se producen naturalmente, tales como agarosa, gelatina, mucopolisacárido, almidón y similares, y geles sintéticos constituidos, al menos en parte, de polímeros sintéticos, tales como cualquiera de los polímeros solubles en agua neutros o polielectrolitos (es decir, polímeros sintéticos o naturales que forman cargas iónicas cuando se disuelven en agua), tales como polivinilpirrolidona, polietilenglicol, ácido poliacrílico, poli(alcohol vinílico), poliacrilamida, y copolímeros de los mismos.

Con referencia de nuevo a las figuras, el material de gel del medio de transferencia de constituyentes 22 reside dentro y llena al menos una porción de canales de micro-aguja 13 y se extiende a través de los poros 15 en la zona de reacción 30. En muchas realizaciones, el material de gel llena completamente la zona de reacción 30 y cubre minuciosamente y se pone en contacto con las superficies opuestas del primer y segundo electrodos 26, 28, de forma que no hay bolsas de aire dentro del gel y dentro de la zona de reacción 30. Como tal, el medio de transferencia de constituyentes 22 proporciona una ruta para que los constituyentes de fluido biológico se desplacen de las puntas distales abiertas 14 a la zona de reacción 30.

### **TÉCNICAS DE FABRICACIÓN**

Un procedimiento a modo de ejemplo de fabricación de los dispositivos de la presente invención, tal como el dispositivo sensor 10 de Fig. 1, incluye las siguientes etapas. Puede usarse un procedimiento de fabricación conocido como moldeo de micro-inyecciones para hacer la carcasa inferior 18a. Primero, se proporciona un molde que tiene las dimensiones físicas deseadas de la carcasa 18a y que contiene una o más pernos centrales que tienen diámetros seleccionados para proporcionar una estructura sobre la que fabricar las micro-agujas. Como tales, los pernos centrales definirán los canales de las micro-agujas. Entonces, el molde se llena con plástico fundido bajo alta

presión y a continuación se enfría. Una vez se ha enfriado suficientemente, se retiran los pernos centrales, la estructura resultante se expulsa del molde. Materiales adecuados para fabricar las micro-agujas incluyen, pero no se limitan a, poliéter-éter-cetona, poliésteres cristalinos líquidos, nailon, poliimida, epoxis, poliacrílatos, y termoplásticos rellenos o no rellenos. El primer electrodo 26 puede entonces formarse pulverizando un metal apropiado o combinación de metales, tales como aquellos mencionados anteriormente en la descripción de los dispositivos, sobre el lado proximal de las micro-agujas.

La carcasa superior 18b puede moldearse por medio del procedimiento de micro-inyección explicado anteriormente. Para formar el electrodo superior o segundo electrodo 28, un material metálico, tal como uno o más de aquellos enumerados anteriormente, puede depositarse sobre la superficie inferior de la carcasa 18b por, por ejemplo, pulverización, deposición de plasma o técnicas de electrodeposición. Alternativamente, el segundo electrodo 28 puede prepararse mediante moldeo por inyección usando polvo metálico. Por medio de presión aplicada, una mezcla de material en gel es entonces forzada a entrar en los poros de las micro-agujas. Un reactivo, específico para el analito de interés, se deposita sobre el electrodo superior 28. Esto puede llevarse a cabo fácilmente por medio de deposición de chorro de tinta. Las porciones de carcasa resultantes 18a, 18b pueden entonces sellarse juntas para formar el dispositivo sensor 10. El primer y segundo contactos conductores 32 y 34 proporcionan los medios para acoplar eléctricamente el dispositivo sensor 10 a la unidad de control tal como la unidad de control portátil 52 de la Fig. 2. Finalmente, las micro-agujas se llenan con un material de gel adecuado.

## **REACTIVOS**

Con el fin de seleccionar y detectar el analito diana o el constituyente seleccionado para el análisis con respecto a los otros constituyentes en el fluido biológico muestreado, normalmente se emplea un reactivo redox dentro de la zona de reacción dentro de la celda electroquímica. El reactivo puede residir sobre la superficie reactiva de uno o ambos electrodos. Normalmente, esto se lleva a cabo por medio de un procedimiento de deposición por "chorro de tinta", como se conoce comúnmente en la técnica relacionada, pero también pueden usarse otras técnicas adecuadas conocidas en la técnica relevante.

El reactivo comprende una o más enzimas y un componente de mediador opcional. Las enzimas usadas en la invención oxidan el analito de interés. En muchas realizaciones, el componente de enzima del reactivo es una enzima o una pluralidad de enzimas que funcionan en sintonía para oxidar el analito de interés. En otras palabras, el componente de enzima del sistema de reactivo está constituido de una única enzima oxidante de analito o un conjunto de dos o más enzimas que funcionan en sintonía para oxidar el analito de interés. Enzimas de interés incluyen oxidasas, deshidrogenasas, lipasas, cinasas, diaforasas, quinoproteínas y similares. La enzima específica presente en el área de reacción depende del analito particular para el que se diseña el dispositivo de prueba electroquímico a detectar, en el que enzimas representativas incluyen: glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa, colesterol esterasa, colesterol oxidasa, lipoproteína lipasa, glicerol cinasa, glicerol-3-fosfato oxidasa, lactato oxidasa, lactato deshidrogenasa, piruvato oxidasa, alcohol oxidasa, bilirrubina oxidasa, uricase y similares. En muchas realizaciones en las que el analito de interés es glucosa, el componente de enzima del sistema de reactivos es una enzima oxidante de glucosa (por ejemplo, una glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa). Las cantidades de los diversos componentes puede variar, oscilando la cantidad del componente de enzima normalmente de aproximadamente el 0,1 al 10 % en peso.

Un segundo componente opcional del sistema de reactivos es un mediador constituido por uno o más agentes mediadores. Se conocen una variedad de diferentes agentes mediadores en la técnica e incluyen: ferricianuro, etilsulfato de fenazina, metilsulfato de fenazina, fenilendiamina, metilsulfato de 1-metoxi-fenazina, 2,6-dimetil-1,4-benzoquinona, 2,5-dicloro-1,4-benzoquinona, derivados de ferroceno, complejos de osmio-bipiridilo, complejos de rutenio y similares. En aquellas realizaciones en las que la glucosa es el analito de interés y la glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa son los componentes de enzima, el mediador de interés particular es el ferricianuro. Otros reactivos que pueden estar presentes en el área de reacción incluyen agentes de tamponamiento (por ejemplo, citraconato, citrato, fosfato), tampones de "Good" y similares.

## **EL SISTEMA SENSOR**

En el sistema sensor de la presente invención, los electrodos de referencia y de trabajo están en comunicación eléctrica con un medio de control que fija la señal de referencia de entrada transmitida a la celda electroquímica, recibe la señal de salida de la celda electroquímica y a continuación deriva el nivel de concentración del (de los) analito(s) elegido(s) como diana dentro del fluido biológico al que se ha accedido de la señal de salida, por ejemplo, un medio para aplicar una corriente eléctrica entre los dos electrodos, medir un cambio en la corriente con el tiempo y relacionar el cambio observado en la corriente con la concentración de analito presente en la celda electroquímica. Entonces, la concentración del analito en la sangre del paciente se deriva del nivel de concentración en el fluido biológico al que se ha accedido, cuyo valor numérico puede proporcionarse como una señal de salida a un medio de visualización.

En ciertas realizaciones, los medios de control y de visualización están íntegramente alojados dentro de una unidad de control portátil tal como la ilustrada en la Fig. 2. La unidad de control también proporciona preferentemente un

medio de aseguramiento o mantenimiento de una o más micro-agujas o una matriz de micro-agujas en una posición y disposición adecuada para la aplicación de muestreo y medición particular en cuestión.

5 Refiriéndose ahora a la Fig. 2, se muestra una representación de un sistema sensor 50 de la invención objeto. El sistema sensor 50 comprende una unidad de control portátil 52 y un dispositivo sensor tal como el dispositivo 10 de la Fig. 1 operativamente montado en el extremo distal 54 de la unidad de control 52. La unidad de control 52 tiene una carcasa 56, preferentemente hecha de un material de plástico de calidad médica o similares, que tiene una configuración de bajo perfil que aloja un medio (no mostrado) para controlar el medio de medición del dispositivo sensor 10, es decir, generar y transmitir las señales de referencia de entrada a la celda electroquímica del dispositivo 10 y recibir señales de medición de salida de la celda. Un algoritmo de software programado dentro de la unidad de control 52 calcula y determina automáticamente la concentración del analito diana en el fluido biológico al que se accede tras la recepción de la señal de salida. El nivel de concentración (entre otra información deseada) se transmite entonces a un medio de visualización externo o pantalla 58 que muestra información al usuario. Los botones de la interfaz de control 60 permiten al usuario entrar información al medio de control, tal como el tipo de analito elegido como diana para la medición.

15 El dispositivo sensor 10 está eléctricamente y físicamente acoplado a la unidad de control 52. La comunicación eléctrica entre los dos se establece por medio de contactos conductores 32 y 34 en el dispositivo 10, descritos con respecto a la Fig. 1, y señales eléctricas correspondientes (no mostradas) dentro de la unidad de control 52. Preferentemente, el dispositivo 10 y la unidad de control 52 están físicamente acoplados por un mecanismo de bloqueo y desbloqueo rápido (muchos de los cuales se conocen comúnmente y se entienden) de forma que un dispositivo sensor usado pueda sacarse fácilmente y sustituirse. La unidad de control 52 es preferentemente reutilizable y utilizable con cualquier número de dispositivos sensores de la invención objeto. Estas características facilitan realizar múltiples muestras y mediciones de una manera eficaz y rápida.

20 Un dispositivo tal como la unidad de control 52 que calcula y determina automáticamente la concentración de un analito seleccionado en fluido biológico y/o en el sistema del paciente, de forma que un usuario solo necesita insertar una micro-aguja de la invención objeto en la piel del paciente y a continuación leer el resultado de la concentración final del analito de un visualizador del dispositivo, se describe adicionalmente en la patente de EE.UU. nº 6.93.873 titulada "Sample Detection to Initiate Timing of an Electrochemical Assay".

### **PROCEDIMIENTOS DE USO**

35 También se proporciona por la invención objeto procedimientos para usar los dispositivos y sistemas objeto para determinar la concentración de un analito en una muestra fisiológica. Puede detectarse una variedad de diferentes analitos usando los sistemas de sensor objeto, en los que analitos representativos incluyen glucosa, colesterol, lactato, alcohol y similares.

40 En la práctica de los procedimientos objeto (con referencia a las figuras), la primera etapa es proporcionar un sensor 10, preferentemente particularmente configurado (es decir, que contiene el reactivo apropiado) para elegir como diana el (los) analito(s) de interés. El sensor 10 puede estar operativamente acoplado y conectado con una unidad de control 52 que puede sujetarse y controlarse manualmente por el usuario. La unidad de control 52 está programada para probar el (los) analito(s) elegido(s) como diana. El usuario coloca el sensor 10 sobre un área seleccionada de la piel del paciente y, con ligera presión, hace que la(s) micro-aguja(s) 12 del dispositivo sensor 10 penetren en la piel. La profundidad a la que las micro-agujas 12 se insertan dependerá de la longitud de las micro-agujas respectivas o por algún otro medio asociado a la unidad de sensor 10 para limitar la profundidad de inserción.

45 Tras la inserción en la piel del paciente, se hace que una cantidad (es decir, una muestra) de al menos el (los) constituyente(s) diana dentro del fluido biológico presente en las puntas abiertas 14 de micro-agujas 12 entre a través de las puntas abiertas 14 en canales 13 de las micro-agujas respectivas por medio de un mecanismo de difusión debido al gradiente de concentración del hidrogel. Los constituyentes muestreados continúan siendo absorbidos por el gel y difunden en una dirección proximal a través de los canales 13, a través de los poros 15 del primer electrodo 26 y a la zona de reacción 30. Una vez en la zona de reacción 30, el (los) constituyente(s) elegido(s) como diana o analito(s) reacciona(n) químicamente con el (los) reactivo(s) seleccionado(s) para formar productos electroactivos. A continuación, los productos electroactivos o bien se oxidan o bien se reducen por el mediador opcional o directamente por el electrodo de trabajo 28. A continuación, el nivel de la señal de salida resultante se conduce a la unidad de control por el electrodo 28. Entonces, un algoritmo de software programado dentro de la unidad de control 52 determina automáticamente el diferencial entre las señales de salida y de referencia, deriva la concentración del (de los) analito(s) elegido(s) como diana en el fluido biológico al que se ha accedido a partir de este valor diferencial, y a continuación deriva el nivel de concentración correspondiente del (de los) analito(s) seleccionado(s) en la sangre del paciente. Cualquiera o todos de estos valores pueden visualizarse por el medio de visualización o pantalla 58.

### **KITS**

65 También se describen kits para su uso en la puesta en práctica de los procedimientos objeto. Los kits incluyen al

menos un dispositivo sensor objeto que tiene una o más micro-agujas de la invención objeto. Los kits también pueden incluir una unidad de control reutilizable o desechable que puede usarse con dispositivos sensores reutilizables o desechables del kit o de otros kits de la invención objeto. Estos kits pueden incluir sensores que tienen una matriz de micro-agujas que tienen las mismas longitudes o diferentes. Ciertos kits pueden incluir diversos sensores, conteniendo cada uno los mismos reactivos o diferentes. Por tanto, más de un reactivo puede proporcionarse dentro de una única matriz de micro-agujas, en la que una o más de las micro-agujas se proveen de un primer reactivo para probar un primer analito diana y una o varias de otras micro-agujas se proveen de otros reactivos para probar otros analitos elegidos como diana. Finalmente, los kits incluyen preferentemente instrucciones para usar los sensores objeto en la determinación de una concentración de analito en una muestra fisiológica. Estas instrucciones pueden estar presentes en uno o más de los envases, una inserción de etiqueta, o recipientes presentes en los kits, y similares.

Es evidente de la descripción anterior que las invenciones objeto son fáciles de usar, eliminando componentes secundarios para potenciar la cantidad o velocidad de flujo de fluidos dentro de la piel con el fin de compensar las presiones negativas dentro de la piel. Adicionalmente, las invenciones objeto proporcionan el rápido intercambio y sustitución de sensores, reduciendo el tiempo necesario para cada actividad de muestreo y medición que es particularmente ventajoso cuando se administran múltiples pruebas a un único paciente o tienen que probarse muchos pacientes consecutivamente. Como tal, la invención objeto representa una contribución significativa al campo.

La invención objeto se muestra y describe en el presente documento en lo que se considera que son las realizaciones más prácticas y preferidas. Se reconoce, sin embargo, que pueden hacerse de la misma desviaciones, que están dentro del alcance de la invención, y que modificaciones obvias se le ocurrirán a un experto en la materia tras la lectura de la presente divulgación.

Aunque la presente invención es útil para muchas aplicaciones, el muestreo de diversos fluidos biológicos y la detección de muchos tipos de analitos, la invención se ha descrito principalmente en el contexto de la detección de analitos en líquidos intersticiales, y como que son particularmente útiles para la detección de glucosa en líquido intersticial. Así, los dispositivos y procedimientos específicos desvelados y las aplicaciones, fluidos biológicos y analitos tratados en el presente documento se consideran que son ilustrativos y no restrictivos. Modificaciones que entran dentro del significado e intervalo de equivalentes de los conceptos desvelados, tales como aquellos que se producirían fácilmente para un experto en la materia, pretenden incluirse dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un dispositivo de muestreo de constituyentes de fluido biológico y de medición de la concentración, comprendiendo dicho dispositivo:
- (a) una matriz de micro-agujas, teniendo cada micro-aguja una abertura de acceso;
  - (b) una capa de material de gel hidrófilo sobre la matriz;
  - (c) una primera capa de material conductor sobre la capa de material de gel hidrófilo, y
  - (d) una segunda capa de material conductor, en el que la primera capa de material conductor y la segunda capa de material conductor están separadas, en el que se hace que el fluido biológico presente en la abertura de acceso se transfiera al espacio entre la primera y segunda capas de material conductor, caracterizado porque la primera capa de material conductor es porosa y adicionalmente en el que las aberturas de acceso, la capa de material de gel hidrófilo y la primera capa de material conductor proporcionan una ruta de transferencia del constituyente.
- 15 2. El dispositivo de la reivindicación 1 que comprende además una capa de material aislante sobre la segunda capa de material conductor.
- 20 3. Un sistema para muestrear constituyentes de fluido biológico de la piel de un paciente y medir al menos un constituyente diana dentro de los constituyentes de fluido biológico muestreados, comprendiendo el sistema:
- (a) al menos un dispositivo según la reivindicación 1; y
  - (b) un medio de control en comunicación eléctrica con el al menos un dispositivo, comprendiendo el medio de control:
    - (1) medios para enviar una señal de entrada eléctrica al dispositivo y para recibir una señal de salida eléctrica del dispositivo, y
    - (2) un algoritmo de software que calcula automáticamente y determina la concentración del analito diana en el fluido biológico al que se ha accedido tras la recepción de la señal de salida eléctrica.
- 25 30
- 35 4. Un procedimiento para acceder a un fluido biológico dentro de la piel de un paciente, y para muestrear constituyentes en su interior y determinar la concentración de al menos un analito diana contenido en su interior, comprendiendo el procedimiento las etapas de:
- proporcionar el dispositivo de la reivindicación 1;
  - insertar al menos una micro-aguja de la matriz de micro-agujas en la piel a una profundidad seleccionada;
  - absorber en el canal de la micro-aguja los constituyentes presentes dentro del fluido biológico en el extremo distal abierto; y
  - difundir los constituyentes absorbidos y a través de un material conductor poroso en una cámara de medición.
- 40
- 45 5. El procedimiento de la reivindicación 4 que comprende además las etapas de:
- hacer que los constituyentes muestreados reaccionen químicamente con un reactivo seleccionado dentro de la cámara de medición;
  - proporcionar una primera señal a la cámara de medición; y
  - recibir una segunda señal de la cámara de medición, en el que la segunda señal eléctrica es representativa de la concentración del analito diana en el fluido biológico al que se ha accedido.
- 50
- 55 6. El procedimiento según la reivindicación 4 que comprende además las etapas de:
- ejercer una fuerza capilar sobre el fluido biológico muestreado presente en la cámara de medición; y
  - transferir los constituyentes muestreados a través de un segundo material conductor.
- 60 7. Un procedimiento para muestrear constituyentes de fluido biológico dentro de la piel de un paciente y para medir la concentración de uno o más analitos diana contenidos en su interior, comprendiendo el procedimiento las etapas de:
- proporcionar un sistema que comprende un primer dispositivo de muestreo de constituyentes y de medición de la concentración de analito según la reivindicación 1 y una unidad de control, en el que el dispositivo está operativamente acoplado a la unidad de control;
  - aplicar operativamente el primer dispositivo a la piel del paciente en el que el sistema muestrea los constituyentes de fluido biológico del paciente y mide la concentración del uno o más analitos diana en su interior;
  - quitar el primer dispositivo de la piel del paciente;
  - quitar el primer dispositivo de la unidad de control;
  - acoplar operativamente un segundo dispositivo de muestreo de constituyentes y de medición de la
- 65

## ES 2 530 566 T3

concentración de analito según la reivindicación 1 a la unidad de control; y  
repetir las etapas anteriores hasta que se ha realizado el número deseado de muestreos y mediciones.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



FIG. 2

