

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 135**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/54 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2010** **E 10725240 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.01.2016** **EP 2432894**

54 Título: **Método de calibración de sensor de glucosa**

30 Prioridad:

18.05.2009 US 213208 P

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

24.05.2016

73 Titular/es:

LIGHTSHIP MEDICAL LIMITED (100.0%)
8 Clifford Street
London W1S 2LQ, GB

72 Inventor/es:

CRANE, BARRY COLIN y
PATERSON, WILLIAM

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 571 135 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

Método de calibración de sensor de glucosa

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método de calibración de un sensor de glucosa, además de kits de calibración para su uso en este método y kits de sensor que pueden calibrarse por este método.

10 Antecedentes a la invención

El uso de sensores de glucosa en el campo médico es generalizado. La monitorización regular de niveles de glucosa en sangre de pacientes diabéticos en casa, además del uso de monitorización de glucosa en unidades de cuidado intensivo, son dos ejemplos primarios. El objetivo usual en desarrollar un sensor de glucosa es producir una señal electrónica digital, que es proporcional a la concentración de glucosa. El sensor normalmente comprende dos componentes principales, una parte química o biológica que reacciona o se compleja con la glucosa (idealmente específicamente) para formar nuevos productos químicos o biológicos o cambios en energía que pueden detectarse por medio del segundo componente, un transductor. Puede decirse que el componente químico/biológico actúa de receptor/indicador de glucosa. Puede usarse una variedad de métodos de transducción que incluyen electroquímicos (tales como potenciométricos, amperométricos, conductimétricos, impedimétricos), ópticos, calorimétricos y acústicos. Después de la transducción, la señal normalmente se convierte en una señal digital electrónica.

Como la señal generada por la reacción química/biológica con el analito es normalmente dependiente no solo de la concentración del analito, sino también de las características del propio sensor, tales sensores normalmente requieren calibración antes de poder ser utilizados cuantitativamente. La forma en la que la señal varía con la concentración de analito determina la forma de la curva de calibración (señal frente a concentración de analito) y puede definir el número de puntos de calibración. Curvas de calibración típicas pueden ser línea recta, exponencial, en forma de s, etc., y el principio de la calibración se aplica a todas las metodologías de transducción para sensores químicos o biológicos.

Idealmente, el sensor debería calibrarse justo antes de su uso, ya que algunas características del sensor que pueden afectar la curva de calibración varían con el tiempo (efecto de envejecimiento). Es frecuente el caso que el tiempo entre la fabricación del sensor y el uso puede ser de muchos meses, de modo que la calibración en el punto de fabricación puede conducir a inexactitudes en el resultado final. Esto significa que el profesional clínico asistente o enfermera, o el usuario en casa, requerirán realizar ellos mismos la calibración. Con el fin de maximizar el cumplimiento por el usuario, el proceso de calibración debe ser simple de realizar, idealmente invisible para la persona que realiza la calibración, y completarse rápidamente.

Las técnicas de calibración típicas actualmente en uso requieren insertar el sensor en tres soluciones que tienen concentraciones diferentes, pero conocidas, de glucosa (una de las cuales puede ser cero), una lectura que va a tomarse para cada solución, y una curva de calibración que va a generarse. Como la glucosa tiene una tendencia a degradarse cuando se esteriliza en una solución acuosa, comúnmente las soluciones de glucosa deben prepararse en el momento de la calibración mediante la adición de glucosa sólida al agua o una solución tal como solución salina. El proceso de calibración entero es, por tanto, tanto complicado como requiere tiempo. La calibración de muchos sensores de glucosa actualmente disponibles podría completarse en 25 minutos o más. Por tanto, existe la necesidad de una técnica de calibración más rápida para un sensor de glucosa, con el fin de mejorar el cumplimiento por el usuario.

El documento EP 0 560 336 desvela un catalizador hecho de fosfato y un biosensor que incluye el mismo.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han encontrado que el tiempo necesario para la calibración de un sensor de glucosa puede reducirse preparando las soluciones de calibración de una manera particular. Específicamente, las soluciones de calibración se preparan mediante la adición de tanto alfa como beta glucosa al agua o una solución acuosa.

Como es bien sabido, la glucosa existe en dos formas predominantes (isómeros), llamadas las formas alfa y beta. En solución acuosa, las dos formas se equilibrarán por mutarrotación de la molécula de glucosa. La relación resultante de las dos formas será aproximadamente 64:36 (beta:alfa). En el estado sólido, sin embargo, la glucosa se suministra normalmente en la forma alfa. Esto significa que cuando se añade alfa glucosa a agua o una solución acuosa, necesita un periodo de tiempo para que se equilibren las dos formas (el equilibrio completo puede ser cuestión de horas).

Los sensores de glucosa contienen un receptor que tiene una afinidad por la glucosa. Tales receptores normalmente también tienen una mayor afinidad por tanto la forma alfa como beta. Esto significa que cuando la calibración se lleva a cabo por la técnica usual de adición de alfa glucosa al agua, la velocidad a la que la señal del sensor se

estabiliza en la solución resultante depende de la velocidad de mutarrotación.

Los presentes inventores han mostrado que, con la preparación de soluciones de calibración para un sensor de glucosa añadiendo tanto las formas alfa como beta al agua o una solución acuosa, puede reducirse la velocidad de estabilización de la señal del sensor y, por tanto, la velocidad de calibración.

La presente invención, por consiguiente, proporciona un método de calibración de un sensor de glucosa, método que comprende:

- (a) preparar una primera solución de calibración que contiene glucosa combinando agua o una solución acuosa con alfa y beta glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
- (b) exponer un sensor de glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa, dejar que se estabilice la señal del sensor, y determinar la salida del sensor;
- (c) exponer el sensor de glucosa a una o más soluciones de calibración adicionales que tienen diferentes concentraciones de glucosa entre sí y respecto de dicha primera solución de calibración que contiene glucosa (siendo dicha concentración de glucosa diferente opcionalmente cero), dejar que se estabilice la señal del sensor, y determinar la salida del sensor para la o cada solución de calibración; y
- (d) determinar una curva de calibración de los datos de salida del sensor recogidos en las etapas (b) y (c);

en el que las cantidades relativas de la alfa y beta glucosa proporcionadas en forma sólida son del 10 al 90 % de alfa y del 90 al 10 % de beta.

La etapa (c) puede llevarse a cabo tanto antes como después de las etapas (a) y/o (b).

También se proporciona un kit de calibración que comprende

- un primer compartimento (1) que contiene agua o una solución acuosa;
- un segundo compartimento (2) que contiene glucosa en forma sólida; y
- un tercer compartimento (3) opcional que contiene glucosa en forma sólida,

en el que al menos uno del segundo y tercer compartimentos contiene alfa glucosa y al menos uno del segundo y tercer compartimentos contiene beta glucosa, y en el que el primer compartimento está separado del (de los) compartimento(s) que contiene(n) glucosa por un material divisor impermeable al agua;

y en el que las cantidades relativas de la alfa y beta glucosa son del 10 al 90 % de alfa y del 90 al 10 % de beta.

También se proporciona un kit de sensor de glucosa que comprende un sensor de glucosa y el kit de calibración de la invención.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 representa un kit de calibración según la invención para llevar a cabo una calibración de dos puntos.

La Figura 2 representa un kit de calibración de la invención para llevar a cabo una calibración de tres puntos.

La Figura 3 representa un sensor de glucosa para su uso con la invención.

La Figura 4 representa un kit de sensor según la invención.

Descripción detallada de la invención

Método de calibración

La calibración puede llevarse a cabo como una calibración de dos puntos, usando dos puntos de datos para generar la curva de calibración, pero más normalmente se lleva a cabo usando tres o más puntos de datos. De estos puntos de datos, uno normalmente se genera usando una concentración de analito cero. La invención se describirá en gran medida con referencia a una calibración estándar de tres puntos usando concentración de glucosa cero como uno de los puntos de datos. Sin embargo, debe entenderse que la presente invención puede usarse igualmente con calibración de dos puntos o calibración de cuatro o más puntos, y el uso de una concentración de glucosa cero como uno de los puntos de calibración no es esencial.

El método de la invención implica proporcionar dos o más, típicamente tres, soluciones de calibración que tienen concentraciones de glucosa diferentes. Tras cualquier preparación necesaria de cada solución de calibración, se deja estabilizar la señal del sensor en presencia de la solución de calibración y se toma una lectura de la salida del sensor. Entonces se usa un algoritmo de calibración adecuado para generar una curva de calibración. El experto estaría familiarizado con el uso de algoritmos para generar una curva de calibración de este modo.

Cada solución de calibración debe tener una concentración de glucosa diferente. El experto sería capaz de

determinar concentraciones adecuadas de glucosa para cada solución. Concentraciones típicas deben incluir cero y concentraciones en el extremo superior e inferior de aquellas que es probable que vayan a medirse por el sensor. En el ejemplo de calibración de un sensor de glucosa para su uso con pacientes de cuidados intensivos o diabéticos, una solución de calibración normalmente tiene una concentración cero, mientras que las segunda y tercera soluciones de calibración normalmente tienen concentraciones de, por ejemplo 5 mmolL^{-1} y 10 mmolL^{-1} respectivamente, o 5 mmolL^{-1} y 15 mmolL^{-1} respectivamente. Concentraciones alternativas podrían, sin embargo, seleccionarse dependiendo del uso final del sensor. El volumen de agua o solución acuosa usado, y la cantidad de glucosa, deben elegirse según las concentraciones finales deseadas de las soluciones de calibración.

Al menos una, y preferentemente al menos dos, más preferentemente todas, de las soluciones de calibración que contienen glucosa se prepara mezclando agua o una solución acuosa con glucosa sólida, normalmente en el punto de uso. El agua o solución acuosa puede ser agua pura, solución salina o una solución isotónica. Se prefieren soluciones isotónicas. La glucosa comprende tanto alfa como beta glucosa. Ambas formas de glucosa están comercialmente disponibles. Por ejemplo, la beta glucosa está disponible de TCI Europe BV (código de producto G0047, CAS N.º 28905-12-6) y puede producirse según los métodos descritos por Whistler y Buchanan (The Journal of Biological Chemistry 1938 "Preparation of *-glucose").

La alfa y beta glucosa pueden mezclarse antes de la adición al agua o solución acuosa, o pueden añadirse por separado. Si se añaden por separado, esta adición puede ser simultánea o en momentos diferentes. Preferentemente, la alfa y beta glucosa se mezclan antes de la adición al agua o solución acuosa, o se añaden a la misma vez o sustancialmente a la misma vez. La glucosa puede proporcionarse en forma de un polvo o comprimido o, si se desea, una cápsula de liberación lenta. Cada comprimido o cápsula puede contener tanto alfa como beta glucosa, o pueden proporcionarse comprimidos separados o cápsulas que contienen la alfa y beta glucosa.

La proporción de alfa con respecto a beta glucosa está preferentemente en o es aproximadamente el nivel de equilibrio del 36 % de alfa con respecto al 64 % de beta, por ejemplo, aproximadamente 30 al 40 % de alfa y aproximadamente 60 al 70 % de beta. Sin embargo, las cantidades relativas de alfa y beta glucosa pueden variar del 10 al 90 %, preferentemente 20 al 70 %, y más preferentemente 25 al 50 % de alfa; y del 10 al 90 %, preferentemente 30 al 80 % y más preferentemente 50 al 75 % de beta.

En una realización de la invención, la solución se mezcla después de la adición de la glucosa con el fin de aumentar la velocidad de solución. La mezcla no solo ayuda a acelerar el proceso de calibración, sino que también garantiza que la totalidad de la glucosa sólida se disuelve en la solución de calibración. Esto es importante para proporcionar una calibración precisa.

Se proporcionan varias disposiciones de mezcla diferentes, que incluyen medios mecánicos, magnéticos o electromagnéticos, y ultra-sonicación. Por ejemplo, puede proporcionarse una paleta magnética móvil dentro del primer compartimento de calibración y proporcionarse un electroimán alrededor del compartimento. El movimiento del campo electromagnético genera el movimiento de la paleta y produce mezcla del contenido de la cámara. Alternativamente, puede usarse una paleta mecánicamente operada. Realizaciones particulares de medios de mezcla se describen adicionalmente en el documento WO 2008/001091.

Tras la preparación de la solución de calibración, el sensor se expone a la solución y se toma una lectura de salida. En una realización, el sensor está en contacto con el agua o solución acuosa antes de la adición de la glucosa. En una realización alternativa, la glucosa se añade en una primera etapa y el sensor se expone posteriormente a la solución resultante. El uso de una mezcla de alfa y beta glucosa garantiza una estabilización más rápida de la lectura de salida del sensor y permite que la lectura se haga más rápidamente.

La presente invención permite que la calibración de un sensor de glucosa se lleve a cabo muy rápidamente. Por ejemplo, normalmente puede tomarse una lectura de salida del sensor en un periodo de hasta 5 minutos, preferentemente hasta 2 minutos, 90 segundos o incluso hasta 60 segundos después de la adición, de la glucosa sólida al agua o solución acuosa. El proceso de calibración entero puede, por tanto, estar completo en hasta 10 minutos, por ejemplo, hasta 5 minutos o incluso hasta 2 minutos. Estos cortos tiempos se logran debido a que el uso de una mezcla de alfa y beta glucosa conduce a que se forme un equilibrio en la solución muy rápidamente. Si se usan proporciones en equilibrio de alfa y beta glucosa (36:64 de alfa:beta), el equilibrio se logra tan pronto como la glucosa se disuelve en el agua o solución acuosa. El lograr una lectura estable del sensor depende entonces solo del tiempo de respuesta del sensor. La formación de un equilibrio en la solución ya no es necesariamente una etapa determinante de la velocidad del proceso de calibración.

En una realización de la invención, las diversas soluciones de calibración pueden prepararse por separado, mediante la adición de la cantidad de glucosa relevante para separar volúmenes de agua o solución acuosa. Sin embargo, en una realización preferida, se usa un único volumen de agua o solución acuosa para proporcionar dos o más, preferentemente al menos tres, y lo más preferentemente todas, las soluciones de calibración. En esta realización normalmente se proporciona una solución de calibración de glucosa cero que comprende agua o una solución acuosa que tiene concentración de glucosa sustancialmente cero. A continuación se añade una cantidad de glucosa sólida, que comprende tanto alfa como beta glucosa, a esta solución para proporcionar una primera solución

de calibración que contiene glucosa que tiene una primera concentración de glucosa. A continuación se añade otra cantidad de glucosa para proporcionar una segunda solución de calibración que contiene glucosa que tiene una segunda concentración de glucosa. En esta realización, el método comprende al menos las siguientes etapas:

- 5 - exponer el sensor a una solución de calibración de glucosa cero que comprende agua o una solución acuosa y que no contiene glucosa y determinar la salida del sensor;
- preparar una primera solución de calibración que contiene glucosa combinando dicha solución de calibración de glucosa cero con alfa y beta glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
- 10 - exponer el sensor de glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa y determinar la salida del sensor;
- preparar una segunda solución de calibración que contiene glucosa añadiendo otra cantidad de alfa y beta glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
- determinar la salida del sensor para la segunda solución que contiene glucosa resultante; y
- 15 - determinar una curva de calibración de los datos de salida del sensor obtenidos.

En un aspecto de esta realización, las etapas de añadir glucosa a la solución se llevan a cabo con el sensor ya en posición dentro de la solución. En este aspecto, el sensor se expone inmediatamente a la solución de calibración resultante tan pronto como ha tenido lugar la adición. Por tanto, no se requiere acción por parte del usuario para exponer el sensor a las soluciones. Este aspecto ayuda a reducir el tiempo global necesario para calibrar el sensor, ya que la salida del sensor puede leerse tan pronto como la señal se haya estabilizado.

Más detalles de métodos particulares de llevar a cabo el método de la invención se tratan con respecto a las realizaciones particulares a continuación.

25 *Kit de calibración*

La invención también proporciona un kit de calibración para su uso en el método de la invención. El kit de calibración incluye al menos dos compartimentos, el primero que contiene el agua o solución acuosa y el segundo y compartimentos adicionales opcionales que contienen glucosa sólida. El kit se usa insertando el sensor de glucosa en el primer compartimento y, normalmente, determinando la salida del sensor. Entonces se rompe el material que divide el primer y segundo compartimentos para permitir la mezcla de la glucosa y el agua o solución acuosa, proporcionándose así una solución de calibración que contiene glucosa que tiene una concentración de glucosa elegida. Una vez ha tenido lugar la mezcla, la salida del sensor se determina de nuevo. Esto proporciona dos puntos de calibración, que pueden usarse para generar una curva de calibración.

En una realización típica, la alfa y beta glucosa se proporcionan juntas en el mismo compartimento, normalmente la alfa y beta glucosa están mezcladas. También se prevé, sin embargo, que la alfa y beta glucosa se proporcionen en compartimentos separados. En este caso, el material rompible que separa el primer compartimento de tanto el compartimento de la alfa glucosa como el compartimento de la beta glucosa se rompe antes de que tenga lugar la segunda lectura de salida del sensor. Normalmente, a ambos compartimentos se accede sustancialmente a la misma vez, para evitar cualquier retraso de tiempo en el equilibrio de la solución de glucosa resultante. Las realizaciones adicionales descritas en el presente documento se refieren a la alfa glucosa y beta glucosa que están presentes en el mismo compartimento.

El número de compartimentos presentes en el kit de calibración dependerá de (a) si la alfa y beta glucosa se proporcionan en el mismo compartimento o compartimentos diferentes, y (b) el número de puntos de calibración que va a usarse. En el kit de calibración preferido en el que la alfa y beta glucosa se proporcionan en el mismo compartimento, una calibración de tres puntos normalmente implicará dos compartimentos que contienen glucosa separados, cada uno de los cuales separado del primer compartimento por un material divisor impermeable al agua.

Con el fin de proporcionar estabilidad mejorada durante el almacenamiento, la glucosa sólida presente en el kit de calibración normalmente se almacena en una atmósfera de gas inerte. Esto ayuda a evitar la degradación de la glucosa inducida por el oxígeno.

El material divisor que separa el (los) compartimento(s) que contiene(n) glucosa del compartimento que contiene agua puede ser cualquier material que pueda romperse, rasgarse o eliminarse haciendo que se mezclen el contenido del primer y segundo compartimentos. En una realización, el material divisor es un material elastomérico que se mantiene bajo tensión de manera que al perforarlo con una aguja el material se rasgará completamente. Cauchos naturales o sintéticos son ejemplos de tales materiales. En una realización alternativa, el material es rígido, pero está marcado con líneas de fractura de forma que al perforarlo con una aguja se fracture fácilmente en componentes. Los plásticos y cerámicos son ejemplos de materiales rígidos adecuados. Ambos de estos tipos de material divisor proporcionan una gran abertura entre el primer y segundo compartimentos, permitiendo la rápida mezcla del contenido de los compartimentos. Materiales divisores alternativos incluyen láminas metálicas (por ejemplo, lámina de aluminio) que pueden recubrirse con plástico.

El material divisor debe ser impermeable al agua y la glucosa para evitar fugas entre los dos compartimentos de la

cámara de calibración. En una realización, una superficie del material divisor está metalizada para ayudar a prevenir la difusión del agua. La superficie metaliza normalmente está en contacto con el segundo compartimento, que está preferentemente bajo una atmósfera de gas inerte.

- 5 El kit de calibración de la invención se describirá a continuación con referencia a varias realizaciones diferentes, pero la invención no pretende limitarse a estas realizaciones particulares.

Realización 1

- 10 Una primera realización de un kit de calibración según la invención se representa en la Figura 1. Este kit de calibración proporciona una calibración de dos puntos. El kit de calibración 10 comprende dos compartimentos 101 y 102, que están separados por un material divisor impermeable al agua 11, por ejemplo, un material divisor rasgable. El primer compartimento 101 contiene agua o una solución acuosa. Normalmente, este compartimento contiene una solución isotónica y no contiene glucosa. Así, la detección de la concentración de glucosa en este compartimento
15 normalmente proporciona una lectura de cero.

- El segundo compartimento contiene una fuente de glucosa 12 en forma sólida. En esta realización, el segundo compartimento contiene una mezcla de formas alfa y beta de glucosa. El segundo compartimento puede estar bajo atmósfera de gas inerte (por ejemplo, nitrógeno seco) para evitar la degradación por irradiación inducida por oxígeno
20 el caso de que el kit de calibración se esterilice por irradiación.

- La calibración de un sensor de glucosa puede llevarse a cabo exponiendo el sensor al primer compartimento 101 que contiene el agua o solución acuosa. En la realización representada en la Figura 1, el sensor está representado dentro de compartimento 101. Sin embargo, en realizaciones alternativas, el sensor puede proporcionarse por separado. En este caso, para permitir que el sensor se inserte, la pared externa 13 del primer compartimento
25 normalmente es al menos en parte perforable. Por ejemplo, la pared externa 13 puede ser un diafragma que puede ser perforado por una aguja. El sensor puede insertarse en el primer compartimento a través de o dentro de la aguja. Una vez la región de detección está en su sitio dentro del primer compartimento, se toma una primera lectura de la salida del sensor.

- En un aspecto alternativo de esta realización, se proporciona un sellado entre el sensor y el primer compartimento. El romper el sellado, por ejemplo, por el movimiento del sensor o una parte de la pared externa 13 del primer compartimento, hace que el contenido del primer compartimento circule alrededor del sensor, exponiendo así el sensor al agua o solución acuosa.
30

- El material divisor que separa el primer y segundo compartimentos es entonces roto o retirado, permitiendo que se mezclen los contenidos de estos compartimentos. Con el fin de mantener la esterilidad, el material divisor normalmente se rompe o retira sin abrir el kit de calibración sellado. Así, el material se rompe, por ejemplo, moviendo la aguja 31 en la dirección de la flecha a través del material divisor. Esto puede lograrse, por ejemplo, por depresión de un émbolo unido a la aguja 31, tanto manualmente como por un proceso automatizado. La aguja es aquí de sustancialmente la misma circunferencia que el segundo compartimento, de forma que el analito se empuja a través del material divisor en el primer compartimento, ayudando en la mezcla.
35 40

- En un aspecto alternativo de esta realización, el sensor se inserta en el primer compartimento dentro de una aguja, y la aguja, que contiene el sensor, puede entonces empujarse hacia adelante para romper el material divisor.
45

- Una vez se mezclan los contenidos de los dos compartimentos, se proporciona otra solución de calibración que tiene una mayor concentración de glucosa que la primera solución de calibración. La salida del sensor de una lectura tomada en esta solución puede tomarse tan pronto como la señal del sensor se estabilice, proporcionando así un segundo punto de calibración. El uso de tanto alfa como beta glucosa, en vez de alfa glucosa sola, proporciona estabilización más rápida y, por tanto, puede hacerse más rápidamente una lectura de la salida del sensor.
50

- En un proceso automatizado, una o más de las etapas de exponer el sensor al primer compartimento y retirar o romper el material divisor 11 puede estar accionado por una máquina. A este respecto puede usarse un motor de etapas o un motor de etapas unido a un tornillo sin fin.
55

- Los sensores invasivos normalmente operan en un intervalo de temperatura de 35-39 °C. Sin embargo, la calibración normalmente se lleva a cabo a temperatura ambiente. Muchos sensores son sensibles a la variación de temperatura, en cuyo caso una curva de calibración generada a temperatura ambiente se desplazará a un conjunto diferente de valores a, digamos, 37 °C. En una realización, por tanto, puede proporcionarse un elemento calefactor (14 en la Figura 1) para aumentar la temperatura dentro de la cámara de calibración a 37 °C antes de la calibración.
60

- A continuación se describen varias realizaciones alternativas de la invención. Cada una de estas realizaciones es la misma que la primera realización, excepto como se describe particularmente.
65

Realización 2

Una calibración preferida incluirá tres puntos de calibración con el fin de proporcionar un mejor ajuste en la curva de calibración. Para proporcionar tres puntos de calibración se necesitan tres soluciones de calibración separadas que tienen concentraciones de glucosa diferentes.

En una realización, se proporciona una calibración de tres puntos que incluye en el segundo compartimento 102 una cápsula de liberación lenta (no representada) diseñada para liberar glucosa en el agua o solución acuosa solo después del transcurso de un periodo de tiempo. La cápsula de liberación lenta en esta realización se proporciona además de la fuente de glucosa 12. Con el desgarrar/rotura/retirada del material divisor 11, la fuente de glucosa 12 se disolverá en el agua o solución acuosa para permitir tomar una lectura del sensor para esta primera solución que contiene glucosa. La cápsula de liberación lenta se diseña de forma que su contenido sea liberado en la solución solo después de que se haya tomado esta lectura, correspondiente a la primera solución que contiene glucosa. Así, un monitor que detecta la salida del sensor observará un primer aumento en la concentración de glucosa a medida que se disuelve la primera fuente de glucosa, seguido de un segundo aumento distinto en la concentración de glucosa tras la rotura de la cápsula de liberación lenta.

Con el fin de evitar largos tiempos de calibración, se prefieren cápsulas que se disuelven en el intervalo de aproximadamente 1 a 5 minutos. Las cápsulas de poli(óxido de etileno) son ejemplos de materiales adecuados. El tiempo de liberación preciso de la cápsula puede controlarse por la variación del espesor de la cápsula de un modo que es muy conocido en la técnica.

Realización 3

Una realización alternativa de la cámara de calibración se representa en la Figura 2. En esta realización están presentes tres compartimentos, 101, 102 y 103. Un material divisor 11, 11a separa cada compartimento. Esta realización proporciona una calibración de tres puntos por un medio diferente. Tras tomarse la primera lectura del agua o solución acuosa en el compartimento 101, el material divisor 11 del segundo compartimento 102 se perfora por la aguja 31. La mezcla de los contenidos de los compartimentos 101 y 102 proporciona una primera solución de calibración que contiene glucosa. Se toma una lectura de la salida del sensor una vez se estabiliza la señal del sensor. Entonces se perfora el material divisor 11a del tercer compartimento 103 por la aguja 31a. Esto hace que la glucosa 12a se mezcle con la primera solución de calibración que contiene glucosa para proporcionar una segunda solución de calibración que contiene glucosa con una mayor concentración de glucosa. La tercera lectura de la salida del sensor puede tomarse una vez se establece la señal del sensor.

Kit de sensor

La presente invención proporciona un kit de sensor, que incorpora un sensor de glucosa y el kit de calibración de la invención como se ha descrito anteriormente. El kit de sensor permite proporcionar el kit de sensor y de calibración al usuario en forma estéril y en un formato muy fácil de usar. Además, el kit de sensor permite que el usuario mantenga fácilmente la esterilidad del kit de calibración y la región de detección del sensor durante la calibración.

El sensor normalmente tiene una región de detección, que es la parte del sensor que se pone en contacto con la muestra durante el análisis. En una realización, la región de detección del sensor está localizada dentro del primer compartimento del kit de calibración. Esto significa que la región de detección está en contacto con el agua o solución acuosa proporcionados dentro de ese compartimento. Esto puede tener ventajas en términos de almacenamiento del sensor, ya que algunos sensores se guardan beneficiosamente en solución en vez de en forma seca. Además, al recibir el kit de sensor, el usuario pueden inmediatamente tomar una lectura de la salida del sensor para la solución en el primer compartimento y no se necesita acción adicional por parte del usuario para exponer el sensor a las diversas soluciones.

La naturaleza del sensor para su uso con la presente invención no está particularmente limitada. El sensor puede ser un sensor invasivo o implantable, o puede ser para medición *in vitro* del contenido de glucosa. Los sensores pueden diseñarse para la medición del contenido de glucosa de fluidos fisiológicos tales como sangre o fluido intersticial, o para la medición de glucosa en otros tipos de muestra.

En una realización, el sensor es un sensor óptico que comprende un receptor de glucosa, un fluoróforo asociado al receptor de glucosa, un emisor de luz y un detector. Normalmente se proporciona una guía de onda, por ejemplo, una fibra óptica, para transmitir la luz al y del emisor o detector. La fluorescencia del fluoróforo se altera cuando la glucosa se une al receptor. Así, la unión de glucosa al receptor genera una señal detectable que es sensible a la concentración de glucosa. La señal detectada puede ser, por ejemplo, la intensidad de la fluorescencia emitida, o la vida de la fluorescencia.

Un ejemplo de un sensor de glucosa de fibra óptica para su uso con la invención se representa en la Figura 3. El sensor 1 comprende una punta 4 que puede adaptarse para la inserción en un paciente, por ejemplo, inserción en un vaso sanguíneo a través de una cánula. La punta incluye una región de detección 3 en la que están dispuestos el

receptor de glucosa y opcionalmente un sensor de temperatura. El receptor de glucosa está inmovilizado sobre o en una fibra óptica, de forma que una señal emitida por el receptor se transmite a través de la fibra óptica. La fibra óptica se extiende a través del cable 7 al conector 8, que está adaptado para emparejarse con un monitor apropiado (no representado). El monitor normalmente incluye cable óptico adicional que se encaja con el conector en un extremo y en el otro se bifurca para conectarse a (a) una fuente de luz apropiada para el sensor óptico y (b) un detector para la señal emitida. La conexión eléctrica con cualquier sensor de temperatura también se proporciona mediante el conector 8 y se proporciona equipo de detección apropiado por el monitor.

La región de detección del sensor típicamente está recubierta con una membrana que debe permitir la difusión de glucosa del fluido de alrededor al receptor y, para uso *in vivo*, debe ser hemocompatible.

El receptor de glucosa para un sensor fluorescente tal puede ser de cualquier grupo o compuesto que tenga una afinidad por la glucosa. Las especies de ácido borónico están particularmente concebidas para su uso como receptor de glucosa. El experto en la materia estaría familiarizado con el uso de especies de ácido borónico y fluoróforos en la detección óptica de glucosa. Ejemplos de conjugados de receptor de glucosa/fluoróforo apropiados, sin embargo, se encuentran en el documento US 6.387.672, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

El receptor y fluoróforo normalmente se inmovilizan a la fibra óptica en un hidrogel que permite la difusión de agua y glucosa al compuesto de receptor. Poliacrilamida reticulada o polihidroxietilmetacrilato (p-HEMA) son ejemplos de hidrogeles que pueden usarse.

Otros ejemplos de sensores que son adecuados para su uso en la presente invención se describen, por ejemplo, en el documento US 2009/0018418.

Una realización del kit de sensor de la invención se representa en la Figura 4. El kit incluye un recipiente 20, que acomoda el sensor 1 y kit de calibración 10. El kit de calibración 10 normalmente está fijado en una posición bloqueada dentro del recipiente. El sensor está contenido dentro de la carcasa de sensor 21 y aquí se representa con la región de detección 3 del sensor dentro del primer compartimento 101 del kit de calibración.

Se proporcionan medios para romper los materiales divisores que separan el compartimento 101 de los compartimentos 102 y 103, por ejemplo, las agujas 31 y 31a como se representa en la Figura 2. Tales medios normalmente se extienden fuera de la carcasa 20 para permitir la manipulación del usuario de estos medios sin romper el sellado del recipiente y así sin pérdida de esterilidad.

La carcasa de sensor que contiene el sensor es en un aspecto lateralmente móvil dentro del recipiente, es decir, en una dirección izquierda / derecha como se representa en la Figura 4. Puede proporcionarse un canal guía para garantizar que el movimiento de la carcasa del sensor se limite a esta dirección lateral y para limitar el movimiento libre de la carcasa. De esta forma, el sensor puede moverse dentro del kit de sensor, por ejemplo, un sensor proporcionado fuera del kit de calibración 10 puede moverse lateralmente de manera que esté dentro del kit de calibración. Con el fin de mantener la esterilidad del dispositivo, es ventajoso ser capaz de mover el sensor y la carcasa de sensor sin romper el sellado del recipiente. En la realización representada en la Figura 4, esto puede lograrse comprimiendo el brazo compresible 26. Esto hace que la carcasa de sensor que contiene el sensor se mueva lateralmente dentro del recipiente. El brazo compresible puede configurarse en la forma de un fuelle compresible.

El recipiente 20 normalmente está sellado con una tapa permeable al gas (no representada).

Otros ejemplos de características y realizaciones particulares de los kits de calibración y kits de sensor que pueden usarse con el método de la invención se describen en los documentos WO 2008/001091 y US 2009/018426.

REIVINDICACIONES

1. Un método de calibración de un sensor de glucosa, método que comprende:

- 5 (a) preparar una primera solución de calibración que contiene glucosa combinando agua o una solución acuosa con alfa y beta glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
 (b) exponer un sensor de glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa, dejar que se establezca la señal del sensor, y determinar la salida del sensor;
 10 (c) exponer el sensor de glucosa a una o más soluciones de calibración adicionales que tienen diferentes concentraciones de glucosa entre sí y respecto de dicha primera solución de calibración que contiene glucosa, dejar que se establezca la señal del sensor, y determinar la salida del sensor para la o cada solución de calibración; y
 (d) determinar una curva de calibración a partir de los datos de salida del sensor recogidos en las etapas (b) y (c);
 15 en el que las cantidades relativas de la alfa y beta glucosa proporcionadas en forma sólida son del 10 al 90 % de alfa y del 90 al 10 % de beta.

2. Un método según la reivindicación 1, en el que la etapa (c) implica exponer el sensor de glucosa a dos o más soluciones de calibración.

20 3. Un método según la reivindicación 1 o 2, que comprende además preparar al menos una de la una o más soluciones de calibración adicionales usadas en la etapa (c) combinando agua o una solución acuosa con alfa y beta glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida.

25 4. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la primera solución de calibración que contiene glucosa de la etapa (a), y opcionalmente la o cada solución de calibración que contiene glucosa de la etapa (c), se prepara usando del 25 al 50 % de alfa glucosa y del 50 al 75 % de beta glucosa.

30 5. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la determinación de la salida del sensor en la etapa (b) se lleva a cabo en el plazo de 2 minutos desde que se combina la glucosa sólida y agua o solución acuosa.

35 6. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el método comprende al menos las siguientes etapas:

- exponer el sensor a una solución de calibración de glucosa cero que comprende agua o una solución acuosa y que no contiene glucosa y determinar la salida del sensor;
- preparar una primera solución de calibración que contiene glucosa combinando dicha solución de calibración de glucosa cero con alfa y beta glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
- 40 - exponer el sensor de glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa y determinar la salida del sensor;
- preparar una segunda solución de calibración que contiene glucosa añadiendo otra cantidad de alfa y beta glucosa a dicha primera solución de calibración que contiene glucosa, proporcionándose la alfa y beta glucosa en forma sólida;
- 45 - determinar la salida del sensor para la segunda solución que contiene glucosa resultante; y
- determinar una curva de calibración de los datos de salida del sensor obtenidos.

7. Un kit de calibración que comprende

- 50 - un primer compartimento (1) que contiene agua o una solución acuosa;
 - un segundo compartimento (2) que contiene glucosa en forma sólida; y
 - un tercer compartimento (3) opcional que contiene glucosa en forma sólida, en el que al menos uno del segundo y tercer compartimentos contiene alfa glucosa y al menos uno del segundo y tercer compartimentos contiene beta glucosa, y en el que el primer compartimento está separado del (de los) compartimento(s) que
 55 contiene(n) glucosa por un material divisor impermeable al agua;
 y en el que las cantidades relativas de alfa y beta glucosa son del 10 al 90 % de alfa y del 90 al 10 % de beta.

8. Un kit de calibración según la reivindicación 7 que tiene tanto un segundo como un tercer compartimentos, en el que tanto el segundo como el tercer compartimentos contienen una mezcla de alfa y beta glucosa.

60 9. Un kit de calibración según la reivindicación 7 u 8, en el que la relación de alfa glucosa: beta glucosa en el o cada compartimento que contiene glucosa es la misma o diferente y está en el intervalo 25:75 a 50:50.

65 10. Un kit de sensor de glucosa que comprende un sensor de glucosa y un kit de calibración según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.

11. Un kit de sensor de glucosa según la reivindicación 10, en el que el sensor de glucosa comprende una porción de detección que comprende un receptor para glucosa, estando dicha porción de detección localizada dentro del primer compartimento del kit de calibración.

5 12. Un kit de sensor de glucosa según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, en el que el sensor de glucosa comprende:

- 10
- un receptor de glucosa que tiene una afinidad por glucosa;
 - un fluoróforo asociado a dicho receptor de glucosa, alterándose la fluorescencia de dicho fluoróforo en presencia de glucosa;
 - un emisor de luz; y
 - un detector.

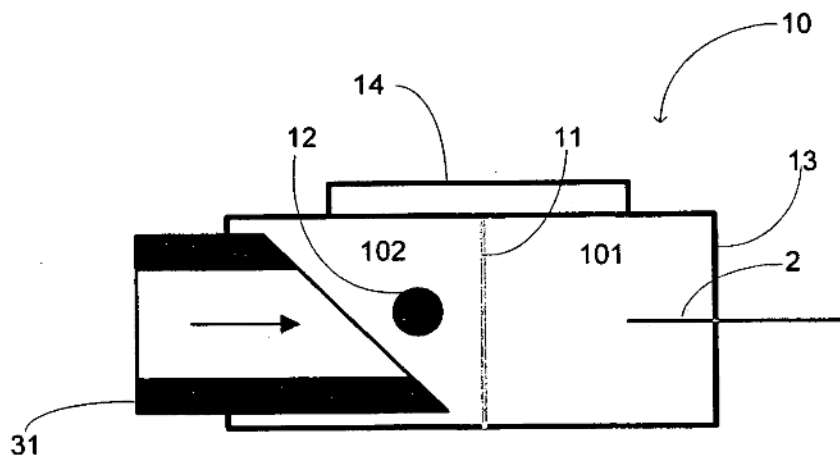


Figura 1

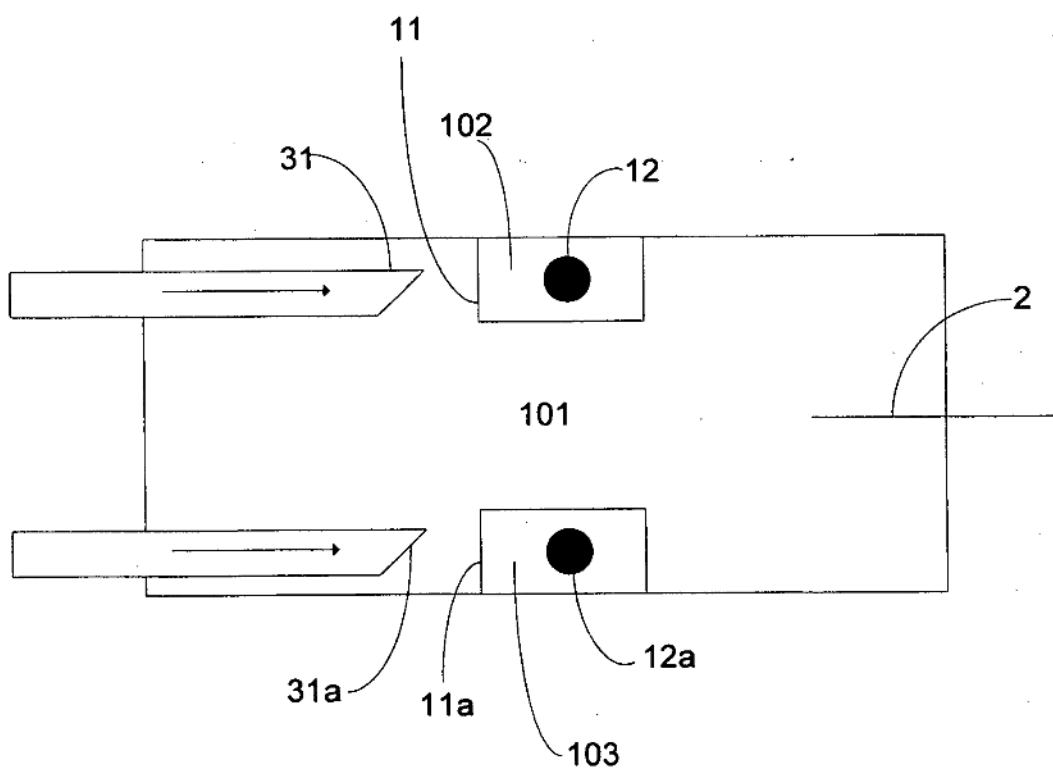


Figura 2

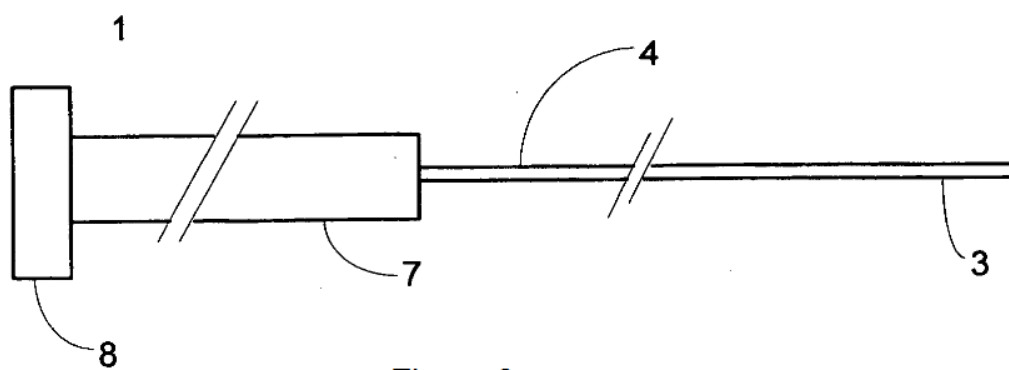


Figura 3

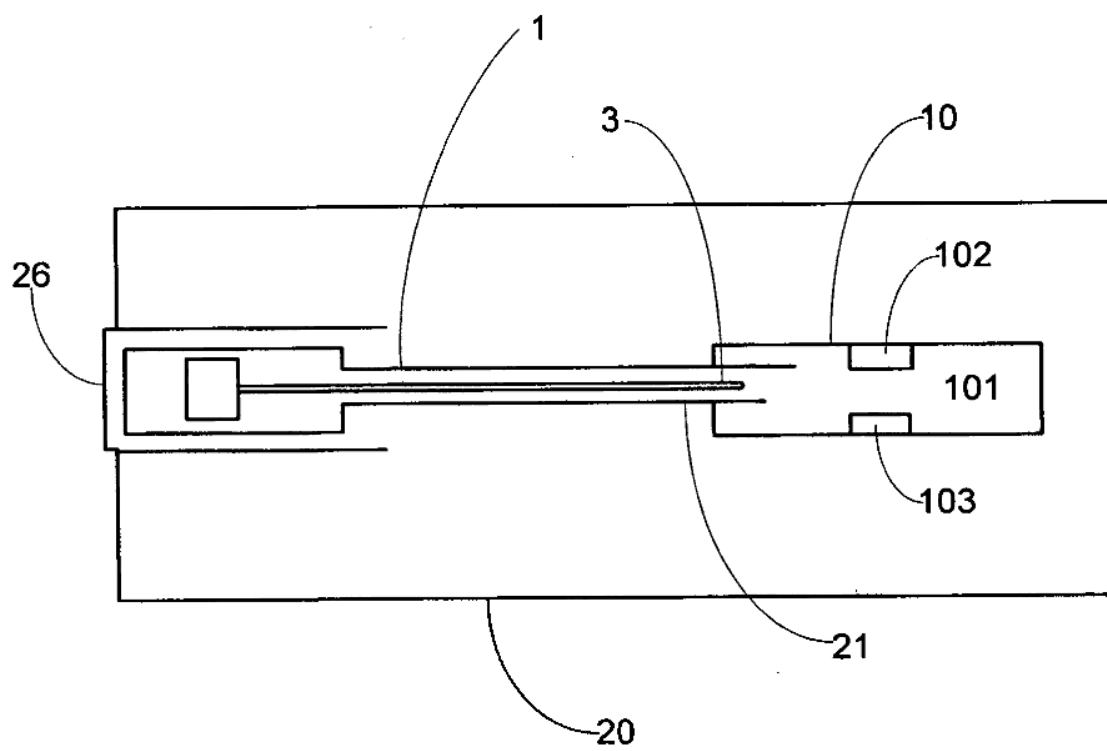


Figura 4