

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 585 356**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/00 (2006.01)

G01N 27/49 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2007 E 07251388 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 1840219**

54 Título: **Sistemas y métodos de solución de control discriminatorio de una muestra de sangre fisiológica**

30 Prioridad:

31.03.2006 US 278333

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

05.10.2016

73 Titular/es:

**LIFESCAN, INC. (100.0%)
965 Chesterbrook Boulevard
Wayne, PA 19087, US**

72 Inventor/es:

**CHATELIER, RONALD C.;
HODGES, ALASTAIR MCINDOE;
TEODORCZYK, MARIA y
DATO, REMEDIOS**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 585 356 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

Sistemas y métodos de solución de control discriminatorio de una muestra de sangre fisiológica

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La determinación de la concentración del analito en fluidos fisiológicos (por ejemplo, un fluido de ensayo, tal como sangre o productos derivados tales como plasma) es de creciente importancia para la sociedad de hoy. Tales ensayos encuentran uso en una variedad de aplicaciones y ajustes, incluyendo ensayos de laboratorio clínico, pruebas en casa, etc., donde los resultados de tales ensayos juegan un papel prominente en el diagnóstico y manejo de una variedad de condiciones de la enfermedad. Los analitos de interés incluyen glucosa para la gestión de diabetes, colesterol para controlar las condiciones cardiovasculares, y similares.

10 Un método común para los ensayos de determinación de la concentración de analito se basa en la electroquímica. En tales métodos, una muestra líquida acuosa se coloca en una cámara de reacción de la muestra en una celda electroquímica compuesta de al menos dos electrodos, es decir, un electrodo de referencia y de trabajo, donde los electrodos tienen una impedancia que los hace adecuados para medición amperométrica o coulométrica. El componente a analizar se deja reaccionar directamente con un electrodo, o directa o indirectamente con un reactivo para formar un oxidable (o reducible) en una cantidad correspondiente a la concentración del componente a analizar, es decir, el analito. La cantidad de la sustancia oxidable (o reducible) presente se estima entonces electroquímicamente y relacionada con la cantidad de analito presente en la muestra inicial.

15 Un dispositivo automatizado, por ejemplo, un medidor de prueba electroquímico se emplea típicamente para determinar la concentración del analito en la muestra. Muchos medidores de prueba permiten ventajosamente una concentración de analito, y por lo general una pluralidad de concentraciones de analito, que se almacenan en la memoria del medidor. Esta característica proporciona al usuario la posibilidad de revisar los niveles de concentración de analito en un período de tiempo, frecuentemente como un promedio de los niveles de analito previamente recogidos, siempre que de promedio se realiza de acuerdo con un algoritmo asociado con el medidor. Sin embargo, para asegurar que el sistema está funcionando correctamente, el usuario de vez en cuando realizará la prueba de uso de un fluido de control en lugar de muestra de sangre. Tales fluidos de control (también conocidos como soluciones de control) son generalmente soluciones acuosas que tienen una concentración conocida de glucosa. El usuario puede realizar una prueba con la solución de control y comparar los resultados se muestran con la concentración conocida para determinar si el sistema está funcionando correctamente. Sin embargo, una vez que se realiza la prueba de solución de control, el nivel de concentración de glucosa del fluido de control se almacena en la memoria del medidor. De este modo, cuando un usuario tiene por objeto revisar las pruebas anteriores y/o la concentración de promedio de los resultados de pruebas anteriores, los resultados pueden estar sesgados a la concentración del nivel de analito de fluido de control.

20 Por lo tanto, es deseable ser capaz de distinguir las soluciones de control y fluidos de muestra durante una prueba. Una opción es marcar manualmente los fluidos como líquidos de prueba o de control. Sin embargo el marcado automático sería preferible ya que minimiza la interacción del usuario y aumenta la facilidad de uso.

25 Como tal, no hay interés continuo en el desarrollo de nuevos métodos y dispositivos para uso en la determinación de concentraciones de analito en una muestra. De particular interés sería el desarrollo de tales métodos y dispositivos que incluyen la capacidad para marcar de forma automática una muestra como fluido de control o el líquido de prueba y para almacenar o excluir medidas en consecuencia. De particular interés sería el desarrollo de tales métodos que son adecuados para uso con los ensayos de determinación de concentración de analito de base electroquímica.

RESUMEN

30 La presente invención proporciona generalmente sistemas y métodos para distinguir entre una solución de control y una muestra de sangre, tal como se define en la reivindicación de método 1 y la reivindicación de sistema 2.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención se obtendrá por referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en que se utilizan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

40 Figura 1A es una vista en perspectiva de una tira de ensayo a modo de ejemplo montado para su uso en el método descrito en el presente documento;

45 Figura 1B es una vista en perspectiva en despiece ordenado de la tira de ensayo de la Figura 1A;

50 Figura 1C es una vista en perspectiva ampliada de una porción proximal de la tira reactiva de la Figura 1A;

Figura 2 es una vista en planta inferior de la tira de ensayo de la Figura 1A;

Figura 3 es una vista en planta lateral de la tira de ensayo de la Figura 1A;

5 Figura 4A es una vista en planta superior de la tira de ensayo de la Figura 1 A;

Figura 4B es una vista lateral parcial ampliada de la porción proximal de la tira de prueba consistente con flechas 4A-4A de la figura 4A;

10 Figura 5 es un esquema simplificado que muestra un medidor de prueba de interfaz eléctricamente con partes de la tira de prueba;

Figura 6 muestra un ejemplo de una forma de onda potencial en la que el medidor de prueba se aplica a una serie de potenciales de circuito abierto y los potenciales de prueba para intervalos de tiempo prescrito;

15 Figura 7 muestra un transitorio de corriente generada por el medidor de prueba que está probando la tira reactiva con la forma de onda potencial de la Figura 6 con una muestra de solución de control (CS, línea de puntos) y una muestra de sangre (BL, línea sólida);

20 Figura 8 muestra la suma de los valores de corriente a 0,2 y 0,5 segundos para una solución de control, plasma, una muestra de sangre con 48% hematocrit, y una muestra de sangre es 77% cuando se aplicó un potencial de 20 mV;

25 Figura 9 es una vista ampliada de la Figura 7 que muestra una transitorio de corriente de primera prueba y una transitorio de corriente de segunda prueba para la solución de control (CS) y la sangre (BL);

30 Figura 10 es un gráfico que muestra una relación no lineal entre el % de sustrato consumido y el índice de reacción residual para las muestras de sangre que tenga varios niveles de hematocrito y de la solución de control (diamantes = 25% de sangre de hematocrito, cuadrados = 42% de sangre, triángulos = 60% de sangre de hematocrito, x = solución de control; y

35 Figura 11 es un gráfico que muestra una relación entre un índice interferente y un índice de reacción residual para una pluralidad de muestras de sangre (diamantes) y las muestras de la solución de control (cuadrados).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES ILUSTRATIVAS DE LA INVENCION

40 Los sistemas y procedimientos de la invención son adecuados para su uso en la determinación de una amplia variedad de analitos en una amplia variedad de muestras, y son particularmente adecuados para su uso en la determinación de analitos en sangre entera o derivados de los mismos, donde un analito de particular interés es la glucosa. La divulgación ofrece métodos para un medidor de prueba para determinar si la solución de control o de sangre se ha aplicado a una tira de prueba. En un aspecto, al menos dos características se utilizan para distinguir entre una muestra de sangre y una solución control. Se describen aquí estructuras de una tira de prueba ejemplar, la cual se puede utilizar con los métodos y sistemas descritos en este documento. Sin embargo, se describe adicionalmente en este documento métodos para el cálculo de un criterio de discriminación basado en al menos dos características. Además, se describe en este documento sistemas para distinguir entre una muestra de sangre y una solución control.

50 Los presentes métodos se pueden utilizar, en principio, con cualquier tipo de célula que tiene celda electroquímica separándose los electrodos primero y segundo y una capa de reactivo. Por ejemplo, una celda electroquímica puede estar en la forma de una tira de prueba. En un aspecto, la tira de ensayo incluye dos electrodos opuestos separados por una capa espaciadora fina, en la que estos componentes definen una cámara de reacción de la muestra o de la zona en la que se encuentra una capa de reactivo. Un experto en la técnica apreciará que otros tipos de tiras de prueba, incluyendo, por ejemplo, tiras de prueba con electrodos coplanares también se pueden usar con los métodos descritos en el presente documento.

60 Las figuras 1A a 4B muestran varias vistas de una tira de prueba ejemplar 62 adecuada para usarse con los métodos descritos en el presente documento. La tira de prueba 62 puede incluir un cuerpo alargado que se extiende desde un extremo proximal 80 a un extremo distal 82, y que tiene bordes laterales 56, 58. La porción proximal de cuerpo 59 puede incluir una cámara de reacción 61 que tiene electrodos y un reactivo, mientras que la porción distal de cuerpo de tira de prueba 59 puede incluir características adaptadas para comunicar eléctricamente con un medidor de prueba. El fluido fisiológico o solución de control puede ser entregado a la cámara de reacción 61 y se analizaron electroquímicamente.

65 La tira de prueba 62 comprende una primera capa de electrodo 66 y una segunda capa de electrodo 64, con una capa de separación 60 colocada entre los mismos. La primera capa de electrodo 66 puede proporcionar un

primer electrodo 166 y una primera pista de conexión 76 para conectar eléctricamente el primer electrodo 166 a un primer contacto eléctrico 67. De manera similar, la segunda capa de electrodo 64 puede proporcionar un segundo electrodo 164 y una segunda pista de conexión para conectar eléctricamente el segundo electrodo 164 con un segundo contacto eléctrico 63.

5

La cámara de reacción de muestra se define por el primer electrodo 166, el segundo electrodo 164, y el espaciador 60 como se muestra en las figuras 1A a 4B. Específicamente, el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 definen, respectivamente, la parte inferior y la parte superior de la cámara de reacción de la muestra 61. Un área de corte 68 de espaciador 60 puede definir las paredes laterales de la cámara de reacción de muestra 61. En un aspecto, la cámara de reacción 61 puede además incluir puertos 70 que proporcionan una entrada de muestra y/o un orificio de ventilación. Por ejemplo, uno de los puertos puede proporcionar una entrada de muestra de fluido y el otro puerto puede actuar como un respiradero. La cámara de reacción 61 puede tener un pequeño volumen que va desde aproximadamente de 0,1 microlitros a 5 microlitros, preferiblemente de aproximadamente 0,2 microlitros a aproximadamente 3 microlitros, y más preferiblemente de aproximadamente 0,3 microlitros hasta aproximadamente 1 microlitro. La provisión del pequeño corte de volumen de muestra 68 puede tener una superficie de entre aproximadamente 0,01 cm² a aproximadamente 0,2 cm², preferiblemente de aproximadamente 0,02 cm² a aproximadamente 0,15 cm², y más preferiblemente de aproximadamente 0,03 cm² a aproximadamente 0,08 cm². Además, los electrodos primero y segundo 166, 164 pueden estar espaciadas en el intervalo de aproximadamente 1 micra a 500 micras, preferiblemente entre aproximadamente 10 micras y 400 micras, y más preferiblemente entre aproximadamente 40 micras y 200 micras. El espaciamiento de los electrodos también puede permitir que se produzca el ciclo redox, donde el mediador oxidado genera en primer electrodo 166, pudiéndose difundir al segundo electrodo 164 a reducirse, y posteriormente difundirse de nuevo al primer electrodo 166 a oxidarse de nuevo. En el extremo distal del cuerpo de la tira de prueba 59, el primer contacto eléctrico 67 se puede utilizar para establecer una conexión eléctrica a un medidor de prueba. El segundo contacto eléctrico 63 se puede acceder por el medidor de prueba a través de una muesca en forma de U 65, como se ilustra en la Figura 2. Un experto en la técnica apreciará que la tira de prueba 62 puede incluir una variedad de contacto eléctrico alternativo configurado para conectar eléctricamente a un medidor de prueba. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. n° 6.379.513 divulga una conexión de célula electroquímica.

En una realización, la primera capa de electrodo 66 y/o segunda capa de electrodo 64 puede ser un material conductor formado a partir de materiales tales como oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio, y combinaciones de los mismos (por ejemplo, dopado de indio óxido de estaño). Además, los electrodos se pueden formar mediante la disposición de un material conductor sobre una hoja aislante (no mostrada) por una pulverización catódica, chapado no electrolítico, o un proceso de impresión de pantalla. La segunda capa de electrodo 64 puede ser un electrodo de oro pulverizado y primera capa de electrodo 66 puede ser un electrodo de paladio por bombardeo iónico. Los materiales adecuados que se pueden emplear como capa de separación 60 incluyen la variedad de materiales aislantes, tales como, por ejemplo, plásticos (por ejemplo, PET, PETG, 20 poliimida, policarbonato, poliestireno), silicio, cerámica, vidrio, adhesivos, y combinaciones de los mismos.

La capa reactiva 72 puede estar dispuesto dentro de la cámara de reacción 61 utilizando un procedimiento tal como revestimiento por ranura, dispensación desde el extremo de un tubo, de chorro de tinta, y la impresión de pantalla. Tales procesos se describen, por ejemplo, en los siguientes patentes de EE.UU. n° 6,749,887; 6.869.411; 6.676.995; y 6,830,93 4. La capa de reactivo 72 incluye al menos un mediador y una enzima y se deposita sobre el primer electrodo 166. Ejemplos de mediadores adecuados incluyen ferricianida, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de bipyridilo de osmio, y derivados de quinona. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen oxidasa de glucosa, deshidrogenasa de glucosa (GDH) basada en el cofactor de quinona de pirroloquinolina (PQQ), GDH basada en el cofactor de dinucleótido de adenina de nicotinamida, y FAD basado en GDH [E.C.1.1.99.10]. Una formulación de reactivos ejemplar, la cual sería adecuada para la fabricación de la capa de reactivo 72, se describe en la Solicitud de EE.UU. n° 10/242.951, titulado, Método de Fabricación de un Dispositivo Médico Esterilizado y Calibrado a Base Biosensor, publicado como solicitud de patente publicada de EE.UU. n° 2004/0120848.

Ya sea el primer electrodo 166 o segundo electrodo 164 puede realizar la función de un electrodo de trabajo que se oxida o reduce una cantidad limitante de mediador en función de la polaridad del potencial de prueba aplicada del medidor de prueba. Por ejemplo, si la especie de limitación de corriente es un mediador reducido, entonces se puede oxidar en primer electrodo 166, siempre y cuando un potencial suficientemente positivo se aplica con respecto al segundo electrodo 164. En tal situación, el primer electrodo 166 realiza la función del electrodo de trabajo y el segundo electrodo 164 realiza la función de un electrodo contador/de referencia. Cabe señalar que a menos que se indique lo contrario para la tira de ensayo 62, todos los potenciales aplicados por medidor de prueba 100 se indicarán aquí en adelante con respecto al segundo electrodo 164.

De manera similar, si un potencial suficientemente negativo se aplica con respecto al segundo electrodo 164, entonces el mediador reducido se puede oxidar al segundo electrodo 164. En tal situación, el segundo electrodo 164 realiza la función de electrodo de trabajo y el primer electrodo 166 realiza la función de electrodo contador/de referencia. Un primer paso en los presentes métodos puede incluir la introducción de una cantidad de muestra de fluido de interés en la tira de prueba 62 que incluye el primer electrodo 166, segundo electrodo 164 y una capa de reactivo 72. La muestra de fluido puede ser de sangre entera o un derivado o fracción del mismo, o la

65

solución de control. La muestra de fluido, por ejemplo, sangre, se dosifica en la cámara de reacción de la muestra 61 a través del puerto 70. En un aspecto, el puerto 70 y de la cámara de reacción 61 están adaptados de tal manera que la acción capilar hace que la muestra de fluido para llenar la cámara de reacción de muestra 61.

5 La Figura 5 proporciona un esquema simplificado que muestra un medidor de prueba 100 de interfaz con el primer contacto eléctrico 67 y segundo contacto eléctrico 63, que están en comunicación eléctrica con el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, respectivamente, de la tira de prueba 62. El medidor de prueba 100 está adaptado para conectar eléctricamente al primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, a través del primer contacto eléctrico 67 y segundo contacto eléctrico 63, respectivamente (como se muestra en las figuras 2 y 5). La
10 variedad de medidores de ensayo conocidos se puede utilizar con el método descrito en el presente documento. Sin embargo, en una realización del sistema de medidor de prueba incluye al menos un procesador para realizar los cálculos relacionados con discriminación entre la sangre y una muestra de control y almacenamiento de datos.

15 Como se ilustra en la Figura 5, el contacto eléctrico 67 puede incluir dos púas indicadas como 67a y 67b. El medidor de prueba 100 puede conectar por separado a púas 67a y 67b, de tal manera que cuando el medidor de prueba 100 se enlaza con la tira reactiva 62 completando un circuito. El medidor de prueba 100 puede medir la resistencia o la continuidad eléctrica entre púas 67a y 67b para determinar si la tira de prueba 62 está conectada eléctricamente al medidor de prueba 100. Un experto en la técnica apreciará que el medidor de prueba 100 puede utilizar una variedad de sensores y circuitos para determinar cuando la tira de prueba 62 está posicionada
20 correctamente con respecto al medidor de prueba 100.

El medidor de prueba 100 puede aplicar un potencial de prueba y/o una corriente entre el primer contacto eléctrico 67 y el segundo contacto eléctrico 63. Una vez que el medidor de prueba 100 reconoce que la tira 62 se ha insertado, el medidor de prueba 100 se enciende y se inicia un modo de detección de fluido. El modo de detección
25 de líquido puede causar un medidor de prueba 100 para aplicar una corriente constante de 1 microamperio entre el primer electrodo 166 y segundo electrodo 164. Debido a que la tira de prueba 62 está inicialmente seco, el medidor de prueba 100 mide una tensión máxima, que está limitado por el hardware dentro del medidor de prueba 100. Sin embargo, una vez que un usuario dosifica una muestra de fluido en la entrada 70, esto hace que la cámara de reacción de la muestra 61 a llenarse. Cuando la muestra de fluido llena el vacío entre el primer electrodo 166 y el
30 segundo electrodo 164, el medidor de prueba 100 medirá una disminución de la tensión medida (por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. n° 6,193, 873), que es inferior a un umbral predeterminado causando que el medidor de prueba 100 inicie automáticamente la prueba de glucosa. Cabe señalar que la tensión medida puede disminuirse por debajo de un umbral predeterminado cuando sólo una fracción de la cámara de reacción de la muestra 61 se ha llenado. Un método para reconocer automáticamente que se aplicó un fluido no indica necesariamente que la cámara de reacción de la muestra 61 ha sido completamente llenado, pero sólo puede
35 confirmar la presencia de un poco de líquido en la cámara de reacción de la muestra 61. Una vez que el medidor de prueba 100 determina que un fluido ha sido aplicado a la tira de prueba 62, una cantidad corta pero finita de tiempo puede ser necesaria para permitir que el fluido llene completamente la cámara de reacción de la muestra 61.

40 Una vez que el medidor de prueba 100 ha determinado que un fluido se ha dosificado sobre la tira de prueba 62, el medidor de prueba 100 puede realizar una prueba de glucosa mediante la aplicación de una pluralidad de potenciales de circuito abierto y una pluralidad de potenciales de prueba a la tira de ensayo 62 para intervalos prescritos como se muestra en la Figura 6. Un intervalo de tiempo de prueba de glucosa T_G representa una cantidad de tiempo para realizar la prueba de glucosa (pero no necesariamente todos los cálculos asociados con la prueba de la glucosa) donde el intervalo de tiempo de la prueba de glucosa T_G puede incluir un primer intervalo de tiempo en
45 circuito abierto T_{OC1} , un primer intervalo de tiempo de prueba de potencial T_1 , un segundo intervalo de tiempo T_{OC2} de circuito abierto, un segundo intervalo de tiempo de prueba de potencial T_2 , y un tercer intervalo de tiempo de prueba de potencial T_3 . El intervalo de tiempo de la prueba de glucosa T_G puede variar de aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 5 segundos. Si bien se describen dos intervalos de tiempo en circuito abierto y tres intervalos de tiempo de potenciales de prueba, un experto en la técnica apreciará que la prueba de intervalo de tiempo de tiempo de la glucosa puede comprender un número diferente de circuito abierto y probar intervalos de tiempo potenciales. Por ejemplo, el intervalo de tiempo de prueba de glucosa podría incluir un solo intervalo de tiempo de circuito abierto y/o sólo dos intervalos de tiempo de prueba de potencial.

55 Una vez que el ensayo de glucosa se ha iniciado, el medidor de prueba 100 cambia a un primer circuito abierto para un primer intervalo de tiempo de circuito abierto potencial T_{OC1} , el cual en el modo de realización ilustrado es de aproximadamente 0,2 segundos. El primer intervalo de tiempo de circuito abierto T_{OC1} puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,05 segundos a aproximadamente 2 segundos y, preferiblemente, entre aproximadamente 0,1 segundos a aproximadamente 1,0 segundos, y más preferiblemente entre aproximadamente
60 0,15 segundos a aproximadamente 0,6 segundos.

Una de las razones para implementar el primer circuito abierto es permitir suficiente tiempo para que la cámara de reacción de la muestra 61 llene o llene parcialmente con la muestra. Típicamente, a temperatura ambiente (es decir 22°C), la cámara de reacción de la muestra 61 tarda unos 0,1 segundos a aproximadamente 0,5
65 segundos para llenarse completamente con sangre. A la inversa, a temperatura ambiente (es decir 22°C), la cámara de reacción de la muestra 61 tarda unos 0,2 segundos o menos para llenar completamente con la solución de

control, donde la solución de control está formulado para tener una viscosidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 centipoise.

Mientras que las soluciones de control se componen de componentes conocidos y son generalmente uniformes, las muestras de sangre pueden variar en su composición y/o la composición. Por ejemplo, las muestras de sangre de hematocrito son más viscosas que las muestras de sangre de hematocrito bajo. Por lo tanto, mayores muestras de sangre hematocrito requieren tiempo adicional para llenarse en comparación con las muestras de sangre de hematocrito más bajo. Por lo tanto, dependiendo de una variedad de factores, la muestra de sangre de tiempo de llenado puede variar.

Después de aplicar el primer potencial de circuito abierto, el medidor de prueba 100 aplica una primera prueba de potencial E_1 entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 (por ejemplo, 0,3 voltios en la Figura 6), para un primer intervalo de tiempo de prueba de potencial T_1 (por ejemplo, de 0,15 segundos en la Figura 6). El medidor de prueba 100 mide la primera transitorio de corriente resultante, que se puede denominar como $i_a(t)$ como se muestra en la Figura 7. El primer intervalo de tiempo de potencial de prueba T_1 puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,05 segundos a aproximadamente 1,0 segundos y preferiblemente entre aproximadamente 0,1 segundos a aproximadamente 0,5 segundos, y lo más preferiblemente entre aproximadamente 0,1 segundos a aproximadamente 0,2 segundos.

Como se expondrá más adelante, una parte o la totalidad de la primera transitorio de corriente se puede utilizar en los métodos descritos en el presente documento para determinar si la solución de control o de sangre se aplicó a la tira de prueba 62. La magnitud de la primera transitorio de corriente se efectúa por la presencia de sustancias fácilmente oxidables en la muestra. La sangre contiene generalmente compuestos endógenos y exógenos que se oxidan fácilmente en segundo electrodo 164. Por el contrario, la solución de control se puede formular de tal manera que no contiene compuestos oxidables. Sin embargo, la composición de la muestra de sangre puede variar y la magnitud de la primera transitorio de corriente de las muestras de sangre de alta viscosidad será menor que las muestras de baja viscosidad (en algunos casos incluso menos que las muestras de la solución de control), ya que la cámara de reacción de la muestra 61 puede no estar completamente lleno después de 0,2 segundos. Un relleno incompleto hará que el área efectiva del primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 disminuya, lo cual a su vez hará que la primera transitorio de corriente disminuya. Así, la presencia de sustancias oxidables en una muestra, por sí misma, no es siempre un factor de discriminación suficiente, debido a variaciones en muestras de sangre.

Después de que el medidor de prueba 100 deje de aplicar la primera prueba de potencial E_1 , cambia a un segundo circuito abierto para un segundo intervalo de tiempo en circuito abierto T_{OC2} , que en este caso es de aproximadamente 0,65 segundos, como se muestra en la Figura 6. El intervalo de tiempo de circuito abierto T_{OC2} puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1 segundos a aproximadamente 2,0 segundos y preferiblemente entre aproximadamente 0,3 segundos a aproximadamente 1,5 segundos, y más preferiblemente entre aproximadamente 0,5 segundos a aproximadamente 1,0 segundos.

Una de las razones para la aplicación del segundo circuito abierto es proporcionar tiempo suficiente para que la cámara de reacción de la muestra 61 llene por completo, permitir que la capa de reactivo 72 se disuelva, y permitir el mediador reducido y mediador oxidado para reequilibrar al respectivo primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 de la perturbación causada por el primer potencial de prueba E_1 . Aunque la cámara de reacción de muestra 61 se llena rápidamente, el segundo intervalo de tiempo del circuito abierto T_{OC2} puede ser suficientemente largo para tener en cuenta las condiciones que pueden causar que tiempos de llenado aumenten tales como baja temperatura de ambiente (por ejemplo, aproximadamente 5°C) y hematocrito alto (por ejemplo, > 60% de hematocrito).

Durante la primera prueba de potencial E_1 , el mediador reducido se agota en el segundo electrodo 164 y genera en primer electrodo 166 para formar un gradiente de concentración. El segundo potencial de circuito abierto proporciona tiempo para que el perfil de concentración de mediador reducido se acerque más al estado inmediatamente antes de que se aplicó por primera vez el potencial de prueba E_1 . Como se describirá a continuación, un segundo potencial de circuito abierto suficientemente largo es útil porque puede permitir que la concentración de glucosa se calcule en presencia de interferentes.

La potencial de prueba E_1 se puede aplicar entre los electrodos para una duración entre el momento que el medidor detecte que la tira se está llenando con la muestra y antes de que se aplique un segundo potencial de ensayo E_2 . En un aspecto, la prueba de potencial E_1 es pequeña. Por ejemplo, el potencial puede ser de entre aproximadamente 1 a 100 mV, preferiblemente entre aproximadamente 5 mV y 50 mV y más preferiblemente entre aproximadamente 10 mV y 30 mV. El potencial más pequeño perturba la reducción del gradiente de concentración de mediador en menor medida en comparación con la aplicación de una diferencia de potencial más grande, pero todavía es suficiente para obtener una medida de las sustancias oxidables en la muestra. El potencial E_1 se puede aplicar a una parte del tiempo entre la detección de relleno y cuando se aplica o se puede aplicar a la totalidad de ese período de tiempo E_2 . Si E_1 se va a utilizar para una porción del tiempo, un circuito abierto se podría aplicar para la parte restante del tiempo. La combinación de número de circuito abiertos y aplicaciones potenciales de tensión

pequeñas, su orden y los tiempos aplicados no es crítica en esta forma de realización, siempre y cuando el período total durante el cual se aplica la potencial pequeña E_1 es suficiente para obtener una medida de corriente indicativa de la presencia y/o cantidad de sustancias oxidables presentes en la muestra. La pequeña potencial E_1 puede aplicarse durante todo el período entre el momento en que se detecta de llenado y cuando se aplica E_2 .

Una vez que el segundo intervalo de tiempo en circuito abierto T_{OC2} o un tiempo equivalente en el pequeño potencial E_1 ha transcurrido, al medidor de prueba 100 se aplica una segunda potencial prueba E_2 entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 para una segunda prueba de intervalo de tiempo de potencial T_2 . Durante el segundo tiempo de intervalo de potencial de prueba T_2 , metros de prueba 100 puede medir un segunda corriente de transitorio que puede ser referida como $ib(t)$. Una vez transcurrido el segundo intervalo de tiempo de potencial T_2 , el medidor de prueba 100 puede aplicar una tercera prueba de potencial E_3 de entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164 para un posible tercer intervalo de tiempo prueba T_3 , el cual puede ser denominado como $ic(t)$. El segundo intervalo de tiempo de prueba de potencial T_2 y el tercer tiempo de intervalo de prueba potencial T_3 pueden variar entre aproximadamente 0,1 segundos y 4 segundos. Para la realización mostrada en la Figura 6, el segundo intervalo de tiempo de prueba de potencial T_2 era de 3 segundos y el tercer intervalo de tiempo de prueba de potencial T_3 era de 1 segundo. Como se mencionó anteriormente, en un aspecto, un período de tiempo potencial de circuito abierto puede permitirse que transcurra entre el segundo potencial de ensayo E_2 y la tercera prueba de potencial E_3 . Alternativamente, la tercera prueba de potencial E_3 puede ser aplicado inmediatamente después de la aplicación de la segunda prueba de potencial E_2 . Tenga en cuenta que una parte de la transitorio de corriente primera, segunda o tercera, puede denominarse en general a una corriente de la celda o un valor de corriente.

En la invención, el primer potencial de prueba E_1 y el segundo potencial de prueba E_2 tienen una primera polaridad, y el tercer potencial de prueba E_3 tiene una segunda polaridad que es opuesta a la primera polaridad. El primer potencial de prueba de potencial E_1 y segundo potencial de prueba E_2 pueden ser suficientemente negativos en magnitud con respecto al segundo electrodo 164 de tal manera que el segundo electrodo 164 funciona como un electrodo de trabajo en el que se mide una corriente de oxidación limitante. Por el contrario, el tercer potencial de prueba E_3 puede ser suficientemente positivo en magnitud con respecto al segundo electrodo 164 de tal manera que el primer electrodo 166 funciona como un electrodo de trabajo en el que se mide una corriente de oxidación limitante. Una oxidación limitante se produce cuando todas las especies oxidables se han agotado en destino, en la superficie del electrodo de trabajo de tal manera que la corriente de oxidación medida es proporcional al flujo de especies oxidables de difusión de la solución a granel hacia la superficie del electrodo de trabajo. La solución a largo plazo mayor se refiere a una porción de la solución suficientemente lejos del electrodo de trabajo donde las especies oxidables no se encuentran dentro de la zona de agotamiento. El primer potencial de prueba E_1 , el segundo potencial de prueba E_2 , y tercer potencial de prueba E_3 puede variar de aproximadamente 0,6 voltios a aproximadamente 0,6 voltios (con respecto al segundo electrodo 164) cuando se utiliza un electrodo de trabajo por deposición catódica de oro o paladio y un mediador de ferricianuro. La Figura 7 muestra transitorios de corriente primera, segunda, y tercera generadas por medidor de prueba 100 y tira de prueba 62 usando una muestra de solución de control (línea de puntos) o una muestra de sangre (línea continua). La muestra de solución de control contenía una concentración de 525 mg/dl de glucosa y la muestra de sangre, conteniendo una concentración de glucosa 530 mg/dl con un hematocrito del 25%. La Figura 9 muestra una vista ampliada de las transitorios de corriente primera y segunda en la Figura 7. Las Figuras 7 y 9 muestran los transitorios de corriente resultantes al aplicar la forma de onda potencial que se muestra en la Figura 6. La descripción siguiente detalla cómo los transitorios de corriente se pueden convertir en una medida de glucosa precisa para la solución de prueba o solución de control, suponiendo que una tira de prueba tiene una cara opuesta o frente a disposición como se muestra en las Figuras 1A a 4B, y que una forma de onda potencial se aplica a la tira de prueba como se muestra en la Figura 6, una concentración de glucosa se puede calcular utilizando un algoritmo de glucosa como se muestra en la ecuación (Ec.) 1.

$$[G] = \left(\frac{i_2}{i_3} \right)^p \times (a \times i_1 - Z)$$

Ec. 1

En la ecuación 1, $[G]$ es la concentración de glucosa, i_1 es un primer valor de corriente, i_2 es un segundo valor de corriente, y i_3 es un tercer valor actual, y los términos p , Z , y a constantes de calibración empíricamente derivadas. Una derivación de la ecuación 1 se puede encontrar en una solicitud pendiente de EE.UU n° 11/240.797 (expediente judicial n° 104978-265; LFS-5073) que fue presentada el 30 de septiembre de 2005 y "MÉTODO Y APARATO PARA ANÁLISIS RÁPIDO ELECTROQUÍMICO". El valor de corriente i_1 , y segundo valor de corriente i_2 se calculan a partir de la tercera transitorio de corriente y i_3 se calculan a partir de la segunda transitorio de corriente. Un experto en la técnica apreciará que los nombres "primero", "segundo" y "tercero" se eligen por conveniencia y no reflejan necesariamente el orden en el que se calculan los valores actuales. Además, todos los valores actuales (por ejemplo, i_1 , i_2 y i_3) indicados en la Ec. 1 utilizan el valor absoluto de la corriente.

El término i_1 se puede definir para que incluya los valores máximos de corriente de los transitorios de corriente segundo y tercero para permitir concentraciones de glucosa más precisas en presencia de interferentes como se muestra en la Ec. 2.

$$i_1 = i_2 \left\{ \frac{i_{pc} - 2i_{pb} + i_{ss}}{i_{pc} + i_{ss}} \right\}$$

Ec. 2

El término i_{pb} "representa un valor máximo de corriente para el segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba T_2 y el término i_{pc} representa un valor máximo de corriente en el tercer intervalo de tiempo del potencial de tiempo T_3 . El término i_{pb} es la corriente de estado estacionario que se produce después de la aplicación del tercer potencial de prueba E_3 . Donde Ec. 2 se utiliza, el segundo intervalo de tiempo de circuito abierto potencial T_{OC2} es preferentemente suficientemente largo para permitir que la Ec. 2 compense la presencia de interferentes. Cuando el segundo intervalo de tiempo potencial de circuito abierto T_{OC2} es demasiado corto, el segundo valor máximo de corriente i_{pb} , puede llegar a ser distorsionado y puede reducir la eficacia de los cálculos de corrección interferente. El uso de valores máximos de corriente para dar cuenta de interferentes en una muestra fisiológica están descritos en una solicitud titulada "Métodos y Aparatos para analizar una muestra en presencia de interferentes" (Expediente n° 104978-323; LFS-5109) que fue presentada en el mismo día que esta solicitud.

Las ecuaciones 1 y 2 se pueden utilizar juntos para calcular una concentración de glucosa de la sangre o la solución de control. El algoritmo de la ecuación 1 y 2 se pueden utilizar para la sangre con un primer conjunto de factores de calibración (es decir, a, p, y Z) y un segundo conjunto de factores de calibración se pueden utilizar para la solución de control. Al utilizar dos conjuntos diferentes de factores de calibración, los métodos descritos en la presente memoria para discriminar entre un fluido de ensayo y una solución de control pueden mejorar la eficacia de los cálculos de concentración de analito. Además, si el medidor de prueba determina que el tipo de muestra es la solución de control, el medidor de prueba puede almacenar la concentración de glucosa resultante de la muestra de control de tal manera que un usuario puede revisar los datos de concentración de la muestra de prueba por separado de los datos de la solución de control. Por ejemplo, las concentraciones de glucosa para soluciones de control pueden ser almacenadas en una base de datos independiente, se pueden marcar, y/o descartar (es decir, no se almacenan o se almacenan durante un corto período de tiempo).

Otra ventaja de ser capaz de reconocer las soluciones de control es que un medidor de prueba puede ser programado para comparar automáticamente los resultados (por ejemplo, concentración de glucosa) de la prueba de la solución de control con la concentración de glucosa esperada de la solución de control. Por ejemplo, el medidor de prueba puede ser preprogramado con el nivel de glucosa esperada para la solución de control. Alternativamente, un usuario puede ingresar la concentración de glucosa esperada para la solución de control. Cuando el medidor de prueba reconoce una solución de control, el medidor de prueba puede comparar la concentración de glucosa de solución de control medida con la concentración de glucosa esperada para determinar si el medidor está funcionando correctamente. Si la concentración de glucosa medida está fuera del intervalo esperado, el medidor de prueba puede expedir un mensaje de aviso para alertar al usuario.

En una realización, el método descrito en el presente documento utiliza la presencia de especies redox de distinguir una solución de control a partir de una muestra de sangre. El método puede incluir la etapa de aplicar un primer potencial de prueba E_1' y el uso de uno o más valores de corriente medidos durante el potencial de prueba como un discriminador. En un aspecto, dos valores de corriente de la primera prueba de potencial E_1' se suman y se utilizan como el discriminador. La Figura 8 muestra los datos para una solución de control, plasma, una muestra de sangre con 48% de hematocrito, y una muestra de sangre es de 77% de hematocrito. Un potencial de 20 mV se aplicó durante los primeros valores de 1 segundo y actuales en el 0,2 a 0,5 segundos fueron resumidos. Como demostración en la Figura 8, los valores actuales sumados eran suficientes para distinguir entre una solución de control (que era sustancialmente desprovista de interferentes) y muestras de sangre.

En la invención, dos características de la solución de control se utilizan para distinguir las soluciones de control de la sangre - la presencia y/o concentración de las especies redox en la cinética de la muestra y de la reacción. El método descrito en este documento incluye el paso de calcular un primer valor de referencia que es representativo de la concentración redox en la muestra y un segundo valor de referencia que es representativa de la velocidad de reacción de la muestra con el reactivo. En una realización, el primer valor de referencia es una corriente de oxidación interferente y el segundo valor de referencia es un porcentaje de finalización de la reacción.

En lo que se refiere a las especies redox en la muestra, la sangre por lo general contiene diversas especies redox endógena o "interferentes", tales como el ácido ascórbico y el ácido úrico, así como interferentes exógenamente derivados tales como el ácido gentísico (ácido gentísico es un metabolito de la aspirina). Interferentes endógenos son especies químicas que pueden ser fácilmente oxidadas en un electrodo y están normalmente presentes en la sangre dentro de un rango fisiológico para individuos sanos. Interferentes derivados exógenamente también son una especie química que pueden ser fácilmente oxidados en un electrodo, pero no están normalmente presentes en la sangre a menos que sean introducidos en el cuerpo a través del consumo, la inyección, la absorción, y similares.

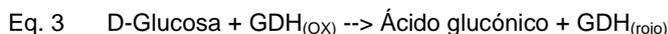
La solución de control se puede formular para ser esencialmente libre de antioxidantes o para tener una concentración relativamente alta en comparación con la concentración de interferente azul en una muestra de

sangre. Para el caso en el que la solución de control es esencialmente libre de antioxidantes, la magnitud de la primera transitorio de corriente debe ser más pequeña para solución de control para una muestra de sangre, como se muestra en la Figura 9. Para el caso en el que la solución de control tiene una concentración relativamente alta de interferentes, la magnitud de la primera transitorio de corriente debe ser mayor para la solución de control para una muestra de sangre (datos no mostrados).

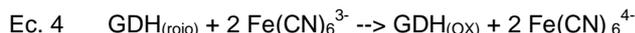
Un índice interferente puede ser calculado en base a los valores actuales dentro de la primera transitorio de corriente. El índice interferente puede incluir una suma de los valores actuales en dos puntos en el tiempo durante la primera transitorio de corriente. En un ejemplo, los valores actuales a 0,3 y 0,35 segundos pueden ser utilizados. Cuando un pequeño potencial E_1' se aplica para todo el período entre el momento en que se detecta de llenado y E_2 , el índice interferente se obtiene preferiblemente mediante la suma de dos valores durante un período más largo, por ejemplo de 0,2 segundos a 0,5 segundos. En general, el índice interferente será proporcional a la concentración interferente y no debe depender sustancialmente la concentración de glucosa. Por lo tanto, en teoría, el medidor de prueba debe ser capaz de distinguir si la muestra es sangre o solución de control basada en el índice interferente. Sin embargo, en la práctica, el uso de sólo el índice interferente no siempre suficientemente discrimina entre la sangre y la solución de control. Aunque la sangre típicamente tiene una concentración mucho más alta de interferente, hay ciertas condiciones en las que la primera transitorio de corriente de la sangre puede ser atenuada tal que es comparable a la solución de control. Estas condiciones incluyen la alta concentración de glucosa, alto hematocrito, baja temperatura, y el llenado incompleto de cámara de reacción de la muestra 61. Por lo tanto, en la invención, el factor adicional se implementa para permitir que el medidor de prueba discrimina suficientemente entre la sangre y la solución de control.

El factor adicional que se utiliza para ayudar a discriminar entre la sangre y la solución de sangre puede ser un índice de reacción residual que es una función del porcentaje de sustrato restante que habría reaccionado si se le da suficiente tiempo. El índice de reacción residual se refiere a la velocidad de reacción en que una alta velocidad de reacción puede hacer que el sustrato se agote por la reacción. Sin embargo, el índice de reacción residual también dependerá de la magnitud inicial de la concentración de sustrato.

La capa reactiva 72 puede incluir deshidrogenasa de glucosa (GDH) basada en el cofactor PQQ y ferricianuro. Cuando sangre o solución de control se dosifica en la cámara de reacción de la muestra 61, la glucosa se oxida por $GDH_{(OX)}$ y en el proceso convierte $GDH_{(OX)}$ como se muestra en la Ec.3. Tenga en cuenta que $GDH_{(OX)}$ se refiere al estado oxidado de GDH, y $GDH_{(rojo)}$ se refiere a la reducción del estado de GDH.



A continuación, $GDH_{(rojo)}$ se regenera de nuevo a su estado oxidado activo por ferricianuro (es decir, mediador oxidado o $Fe(CN)_6^{3-}$) como se muestra en la Ec. 4. En el proceso de regeneración de $GDH_{(OX)}$, ferrocianuro (es decir mediador reducido o $Fe(CN)_6^{4-}$) se genera a partir de la reacción como se muestra en la Ec. 4.



En general, la tasa de consumo de glucosa basada en las Ec. 3 y 4 es más rápida para la solución de control que la sangre. Por lo general, la solución de control es menos viscosa que la sangre, haciendo que la velocidad de reacción de las ecuaciones 3 y 4 para ser más rápida para la solución de control. Además, la velocidad de reacción es más rápida para la solución de control debido a que una porción de la glucosa presente en la muestra de sangre debe difundirse fuera de las células rojas de la sangre para participar en la ecuación 3. Este paso adicional de la difusión de glucosa de las células rojas de la sangre ralentiza la velocidad de reacción para algunos grados medibles. La Figura 9 muestra que la velocidad de reacción para la sangre es más lenta que para la solución de control como se evidencia por el hecho de que el valor absoluto general pendiente (por ejemplo, entre 1,2 y 4 segundos) para el segundo transitorio de corriente es menor para la muestra de sangre. Debido a las velocidades de reacción más rápidas en solución de control en comparación con la sangre, el índice de reacción residual para la solución de control será generalmente inferior a la de la sangre. El índice de reacción residual es un número que está relacionado con el porcentaje de glucosa que no ha sido consumido. Un índice relativamente bajo de reacción residual indicará que las reacciones de las ecuaciones 3 y 4 están a punto de finalizar. Por el contrario, un índice relativamente alto de reacción residual indicará que la reacción no está cerca de la terminación. En una realización, el índice de reacción residual puede ser una relación absoluta de un valor actual de transitorio de corriente 20th dividido por un valor actual de la segunda transitorio de corriente, como se muestra en la Ec. 5.

$$\text{Ec. 5} \quad \text{abs} \left(\frac{i(4.15)}{i(3.8)} \right)$$

Para el denominador de la ecuación 5, el valor actual en 3,8 segundos para el segundo transitorio de corriente se utiliza. El tiempo de 3,8 segundos se eligió empíricamente, sin embargo, un experto en la técnica

apreciará que otros valores de la corriente pueden ser utilizados. El valor actual hacia el final del segundo transitorio de corriente puede ser elegido.

5 Durante el segundo intervalo de tiempo actual transitorio de corriente T_2 , mediador reducido se oxida en segundo electrodo 164. Los valores de corriente medidos durante el segundo intervalo de tiempo de transitorio de corriente T_2 y se atribuyen a ferrocianuro generado por la capa reactiva 72 en un primer electrodo 166 que después difunde al segundo electrodo 164 y se oxidó. Se supone que la capa de reactivo 72 se mantiene cerca del primer electrodo 166 después de que se disuelva en la sangre haciendo que la mayor parte del ferrocianuro generado por la capa de reactivo 72 para también acercarse al primer electrodo 166. Una parte de este ferrocianuro generado puede difundir a segundo electrodo 164.

15 Para el numerador de la ecuación 5, se utilizó el valor actual en 4,15 segundos. Otros valores actuales del tercer transitorio de corriente pueden ser elegidos, se prefiere sin embargo el valor actual hacia el comienzo del tercera= transitorio de corriente. Durante el tercer transitorio de corriente de tiempo de intervalo T_3 , mediador reducido se oxida en primer electrodo 166. Los valores de corriente medidos durante el segundo intervalo de tiempo de transitorio de corriente T_2 y se atribuyen a ferrocianuro generado por la capa reactiva 72 al primer electrodo 166. Por lo tanto, los valores actuales del tercer transitorio de corriente será más grande que el segundo transitorio de corriente porque la mayoría del ferrocianuro estará cerca del primer electrodo 166, porque el primer electrodo 166 se recubrió con la capa de reactivo 72. Además, el tercer transitorio de corriente también será más grande que el segundo transitorio de corriente porque se produce más tarde en la prueba de la glucosa, lo que permite que se genere más ferrocianuro. Por lo tanto, la proporción absoluta como se muestra en la Ec. 5 será mayor si la reacción de la glucosa aún está lejos de la terminación en el momento de la medición.

25 La Figura 10 es un gráfico que muestra una relación no lineal entre el % de sustrato consumido y el índice de reacción residual para las muestras de sangre que tiene varios niveles de hematocrito y de la solución de control (diamantes = 25% de sangre de hematocrito, cuadrados = 42% de sangre, triángulos = 60% sangre de hematocrito, x = solución de control). Este gráfico muestra que el índice de reacción residual es relativamente alto cuando el % de sustrato consumido es bajo y que el índice de reacción residual es relativamente bajo cuando el % de sustrato consumido es alto para un valor determinado tipo de muestra/hematocrito. El % de sustrato consumido se deriva a

30 partir de una relación de $\frac{C_o}{YSI}$, donde C_o es la concentración de sustrato en la superficie del electrodo y YSI es la concentración de sustrato usando una técnica de referencia estándar. El término C_o se deriva utilizando la siguiente ecuación 6,

$$Eq. 6 \quad C_o = \frac{i_{ss}L}{2FAD}$$

40 donde L es la distancia entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, F es la constante de Faraday, A es el área del primer electrodo 166, y D es el coeficiente de difusión.

45 La Figura 11 un gráfico que muestra una relación entre un índice interferente y un índice de reacción residual para una pluralidad de muestras de sangre y muestras de solución de control. Mediante el trazado del índice interferente en el eje X y el índice de reacción residual en el eje Y, una segregación entre la sangre y la solución de control se puede observar. Una línea de la discriminación se puede extraer para determinar si la muestra es o bien la solución de control o de sangre. En esta realización, el índice de interferente es $i(0,3)+i(0,35)$ y el índice de reacción

50 residual es $abs\left(\frac{i(4.15)}{i(3.8)}\right)$

55 Cabe señalar que los tiempos (por ejemplo, 4,15, 3,8) en el que los valores actuales se seleccionaron para el índice de reacción residual, se han encontrado empíricamente. Se evaluó un gran número de relaciones de corriente por su capacidad para discriminar entre la sangre y muestras de solución de control. La relación que se muestra en la Ec. 5 se seleccionó debido a que se encontró que producía una separación significativa entre las muestras de solución de sangre y de control.

60 Una línea de la discriminación se deriva para permitir que el medidor de prueba determine si la muestra era de solución de control o de sangre. Para todas las muestras de la solución de control a prueba, el índice interferente se representó gráficamente frente al índice de reacción residual. A continuación, una línea se calculó mediante regresión lineal para muestras de solución de control. Después de calcular una ecuación para la línea, se calculó el sesgo perpendicular entre cada punto de datos y la línea. El sesgo perpendicular representa la distancia más corta entre el punto de datos y la línea en lugar de un sesgo vertical, que se calcula comúnmente. Una desviación estándar se determinó para todos los sesgos perpendiculares (SD). Por último, la línea se desplaza 3 unidades * SD_{perp} hacia los puntos de datos para el grupo sanguíneo. La razón de este enfoque es que los datos del grupo de

solución de control muestran muy poca dispersión y por lo tanto el "límite de confianza del 99%" del grupo de solución de control está bien definido.

En el método descrito en el presente documento, la información obtenida de este análisis estadístico del índice de reacción residual y el índice interferente puede ser utilizado por el medidor de prueba para distinguir las soluciones de control de muestras de sangre. El medidor de prueba puede calcular el índice de interferente y el índice de reacción residual y usar estos valores en asociación con la línea de discriminación derivada (o una ecuación que representa la línea de discriminación) para distinguir las soluciones de control de muestras de sangre.

Ejemplo 1

Preparación de fluido de control se describe a continuación. El fluido de control preparado se utilizó en los experimentos que producen los datos ilustrados en las Figuras 7 y 11.

- El componente de tampón de ácido citracónico 0,0833 g
- El componente de tampón de citraconato dipotasio 1,931 g
- Conservante de paraben de metil 0,050 g
- Conservante de germal II 0,400 g
- Dextrano T 500 modificador de viscosidad 3,000 g
- Agente absorbente de Pluronic 25R2 0,050 g
- 1-[(6-metoxi-4-sulfo-m-tolil)azo]-2-naftol-6-ácido sulfónico sal disódica del ácido
- Colorante (FD&C Blue nº 1) 0,100 g
- D-Glucosa Analito 50, 120, o 525 mg
- Disolvente de agua desionizada 100 g

El primer tampón citracónico pH 6,5±0,1 se preparó disolviendo cantidades requeridas de ácido citracónico y citraconato de dipotasio en agua desionizada. A continuación, se añadió Paraben de Metil y la solución se agitó hasta que el conservante se disolvió completamente. Posteriormente Dextran T 500, Germal II, Pluronic 25R2 y 1-[(6-metoxi-4-sulfo-m-tolil)azo]-2-naftol-6- sal disódica de ácido sulfónico se añadieron secuencialmente, después de la disolución completa del producto químico añadido previamente. En este punto, se verificó el pH del fluido de control, seguido de la adición de la cantidad necesaria de glucosa para obtener un nivel bajo, normal o alta de glucosa de fluido de control. Después de que la glucosa se disolvió por completo, el fluido de control se dejó a temperatura ambiente durante la noche. Por último, la concentración de glucosa se verificó utilizando un Model 2700 Select Biochemistry Analyzer fabricado por Yellow Springs Instrument Co., Inc. El tinte usado en esta solución de control tiene un color azul que reduce la posibilidad de que un usuario confunda la solución de control con la sangre, la cual normalmente es roja.

Reivindicaciones

1. Un método para distinguir entre una muestra de sangre y una muestra de solución de control, comprendiendo el método las etapas de:
- 5
- (a) introducir una muestra en una célula electroquímica, la célula electroquímica que comprende:
- (i) dos electrodos en una relación separada; y
- (ii) un reactivo;
- 10
- (b) aplicar un primer potencial de prueba (E_1), teniendo una primera polaridad, entre los electrodos, y la medición de un primer transitorio de corriente ($i_a(t)$);
- (c) aplicar un segundo potencial de prueba (E_2), teniendo la primera polaridad, entre los electrodos, y la medición de un segundo transitorio de corriente ($i_b(t)$);
- 15
- (d) aplicar un tercer potencial de prueba (E_3), teniendo una segunda polaridad, opuesta a la primera polaridad entre los electrodos, y la medición del tercer transitorio de corriente ($i_c(t)$);
- (e) calcular, en base al primer transitorio de corriente, un primer valor de referencia relacionado a la cantidad de las especies redox en la muestra;
- (f) calcular, en base a los transitorios de corriente segundo y tercero, un segundo valor de referencia relacionado con la cinética de reacción; y
- 20
- (g) determinar, basándose en los valores de referencia primero y segundo, si la muestra es una solución de control o una muestra de sangre.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el primer valor de referencia es proporcional a una concentración de un interferente en la muestra.
- 25
3. El método de la reivindicación 2, en el que el primer valor de referencia es un índice interferente calculado en base a al menos un valor actual del primer transitorio.
- 30
4. El método de la reivindicación 1, en el que el segundo valor de referencia es una función de una compleción de porcentaje de una reacción química.
5. El método de la reivindicación 4, en el que el segundo valor de referencia es un índice de reacción residual calculado en base a al menos un valor actual de la segunda transitorio de corriente y al menos un valor de corriente de la tercera transitorio de corriente.
- 35
6. El método de la reivindicación 5, en el que el índice de reacción residual se calcula en base a la relación de un segundo valor de corriente y un tercer valor actual.
- 40
7. El método de la reivindicación 1, que comprende además la etapa de medir una concentración de un analito.
8. El método de la reivindicación 7, en el que si se encuentra que la muestra es una solución de control, se marca la concentración de analito asociada con la muestra de control.
- 45
9. El método de la reivindicación 1, en el que la etapa (g) comprende además el uso de clasificación estadística para determinar si la muestra es una solución de control o una muestra de sangre.
10. El método de la reivindicación 1, en el que una ecuación que representa una línea de discriminación se utiliza en el paso (g) para evaluar los valores de referencia primero y segundo.
- 50
11. El método de la reivindicación 1, que comprende además la etapa de aplicar un primer potencial de circuito abierto a la celda electroquímica antes de la etapa de aplicación del primer potencial de prueba.
12. El método de la reivindicación 11 que comprende además la etapa de aplicar un segundo potencial de circuito abierto a la celda electroquímica después de la etapa de aplicación del primer potencial de prueba.
- 55
13. Un sistema para distinguir entre una muestra de sangre y una muestra de solución de control, comprendiendo el sistema:
- 60
- A. una tira de prueba incluyendo los contactos eléctricos para el apareamiento con un medidor de prueba y una celda electroquímica que comprende,
- (i) un primer electrodo y un segundo electrodo en una relación de separación,
- (ii) un reactivo, y;
- 65
- B. un medidor de prueba que incluye un procesador adaptado para recibir datos actuales de la tira de ensayo,

y el almacenamiento de datos que contiene criterios de discriminación de distinguir una muestra de sangre de una muestra de control basada en la concentración y de reacción cinética de antioxidantes, en el que el medidor de prueba está adaptado además para:

- 5 (a) aplicar un primer potencial, que tiene una primera polaridad, entre los electrodos, y medir un primer transitorio de corriente;
- (b) aplicar un segundo potencial, que tiene la primera polaridad, entre los electrodos, y medir un segundo transitorio de corriente;
- 10 (c) aplicar una tercera potencial, que tiene una segunda polaridad, opuesta a la primera polaridad, entre los electrodos, y medir el tercer transitorio de corriente;
- (d) calcular, en base al primer transitorio de corriente, un primer valor de referencia relacionado con la cantidad de especies redox en la muestra; y
- (e) calcular, en base a los transitorios de corriente segundo y tercero, un segundo valor de referencia relacionado con la cinética de la reacción; y
- 15 (f) determinar, basándose en los valores de referencia primero y segundo, si la muestra es una solución de control o muestra de sangre.

14. El sistema de la reivindicación 13 en el que los criterios de discriminación se deriva de un índice interferente que sea representativo de la concentración de antioxidante y un índice de reacción residual que es representativo de la cinética de reacción.

20

15. El sistema de reivindicación 14 en el que el criterio de discriminación incluye una línea de discriminación derivada empíricamente.

25 16. El sistema de reivindicación 13 que comprende además una solución de control que es sustancialmente desprovisto de especies redox.

30

35

40

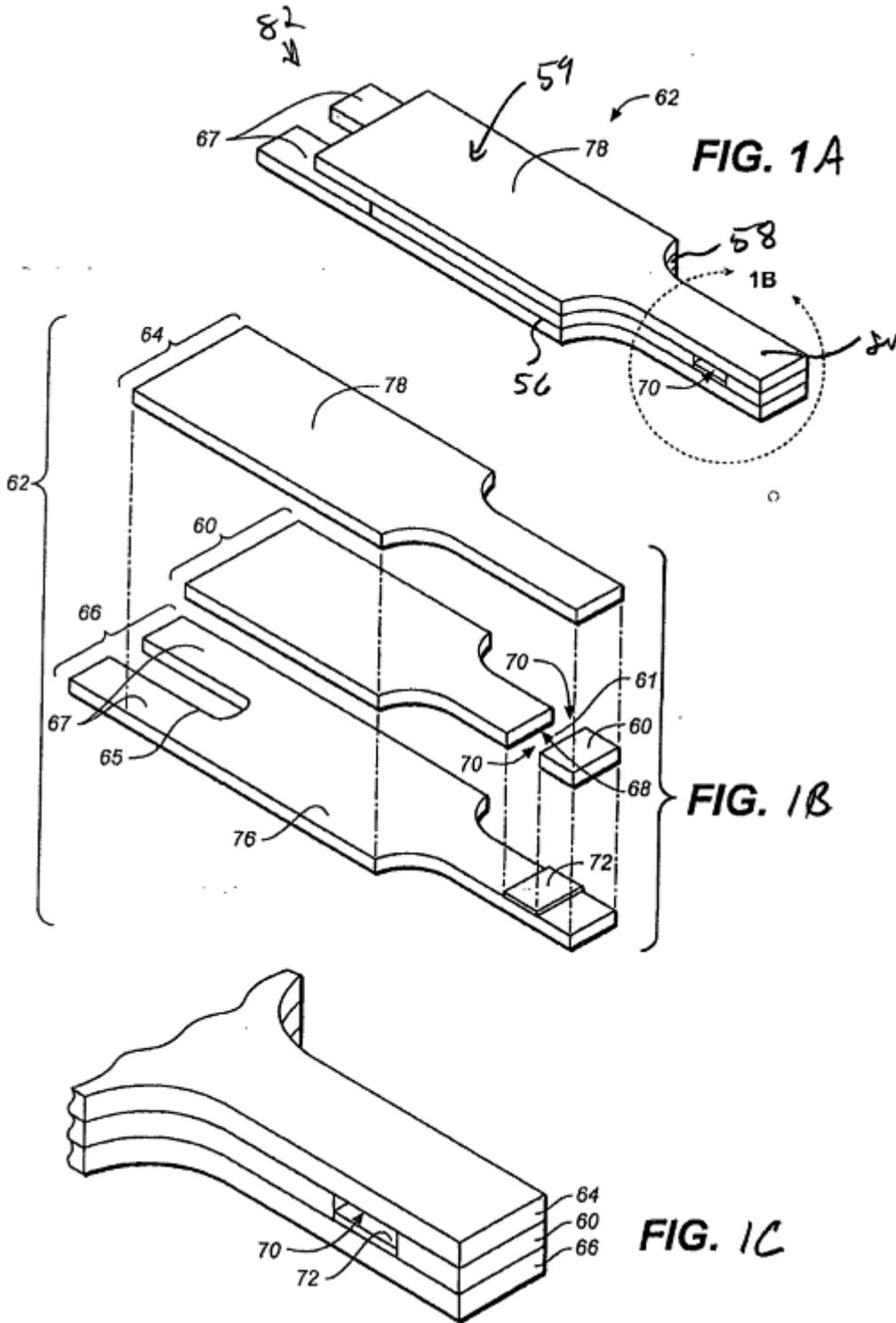
45

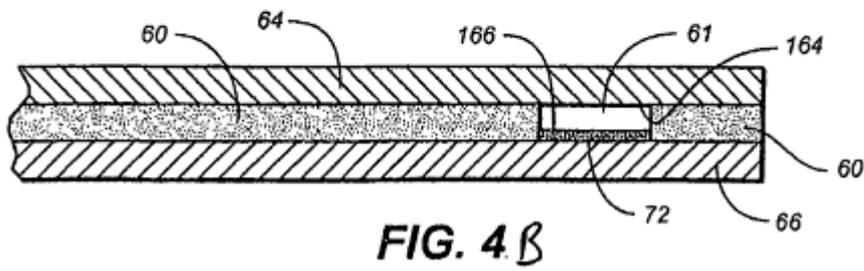
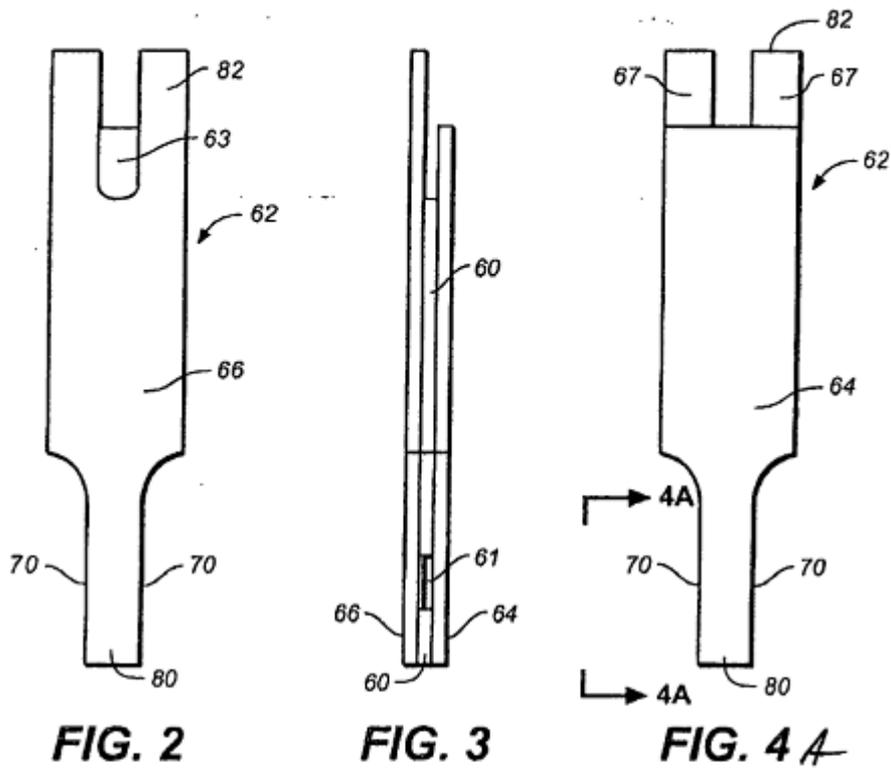
50

55

60

65





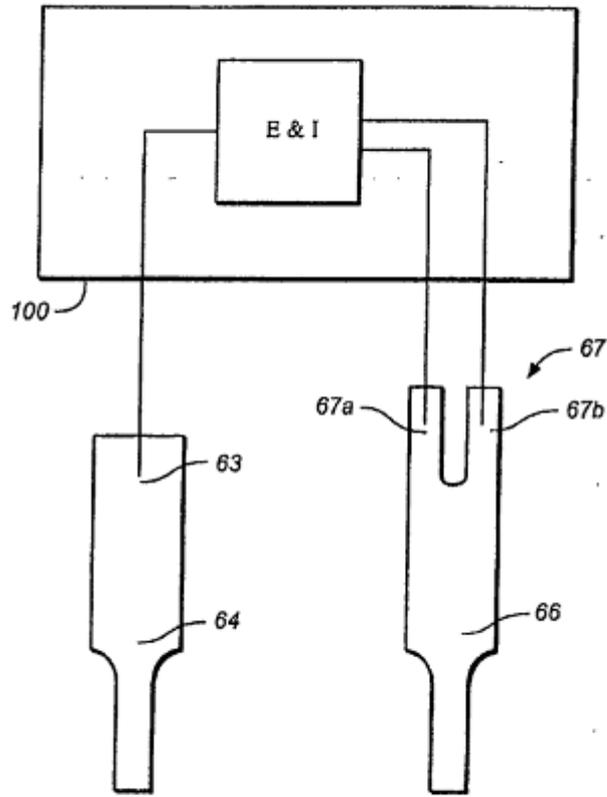


FIG. 5

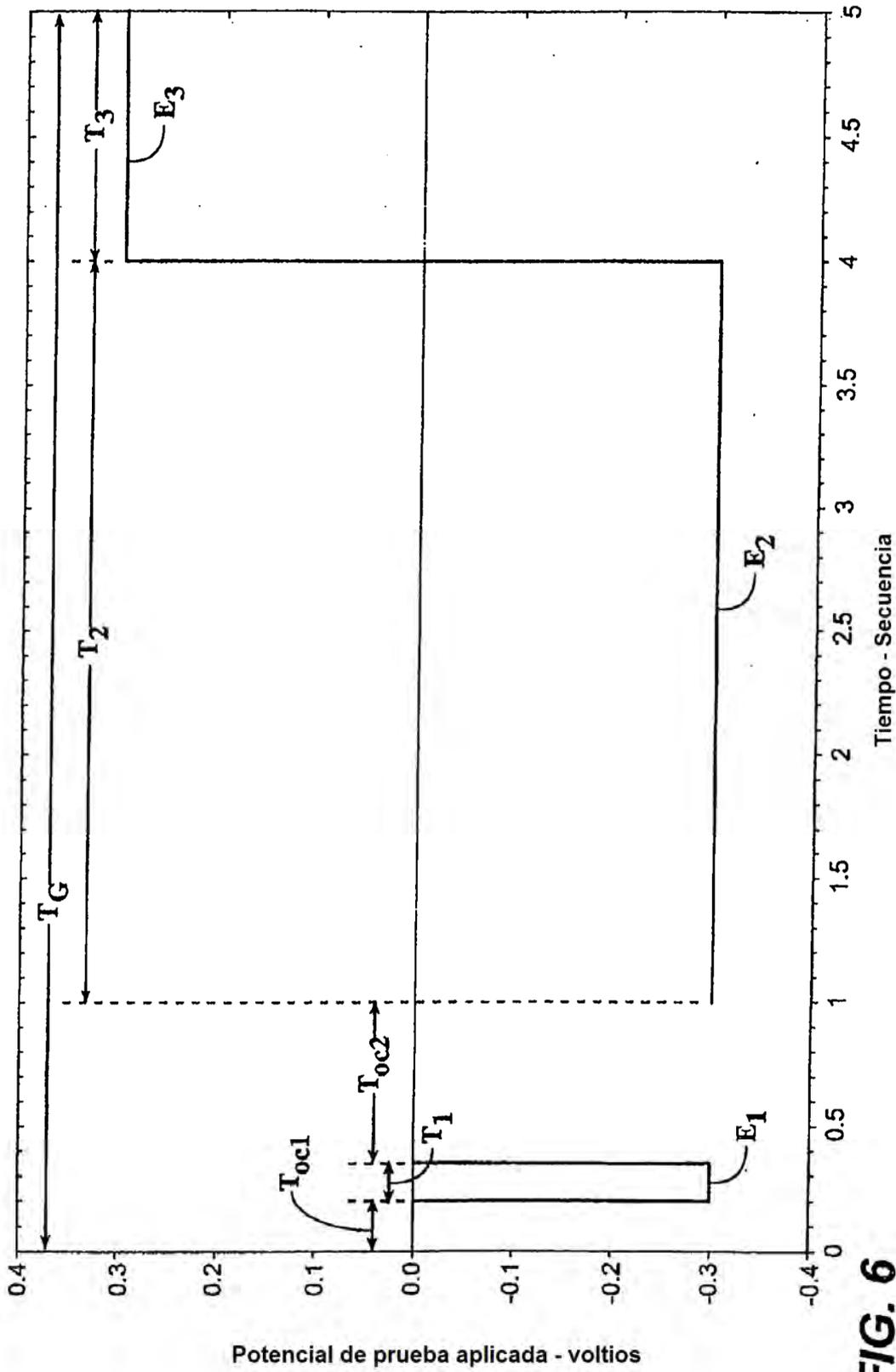


FIG. 6

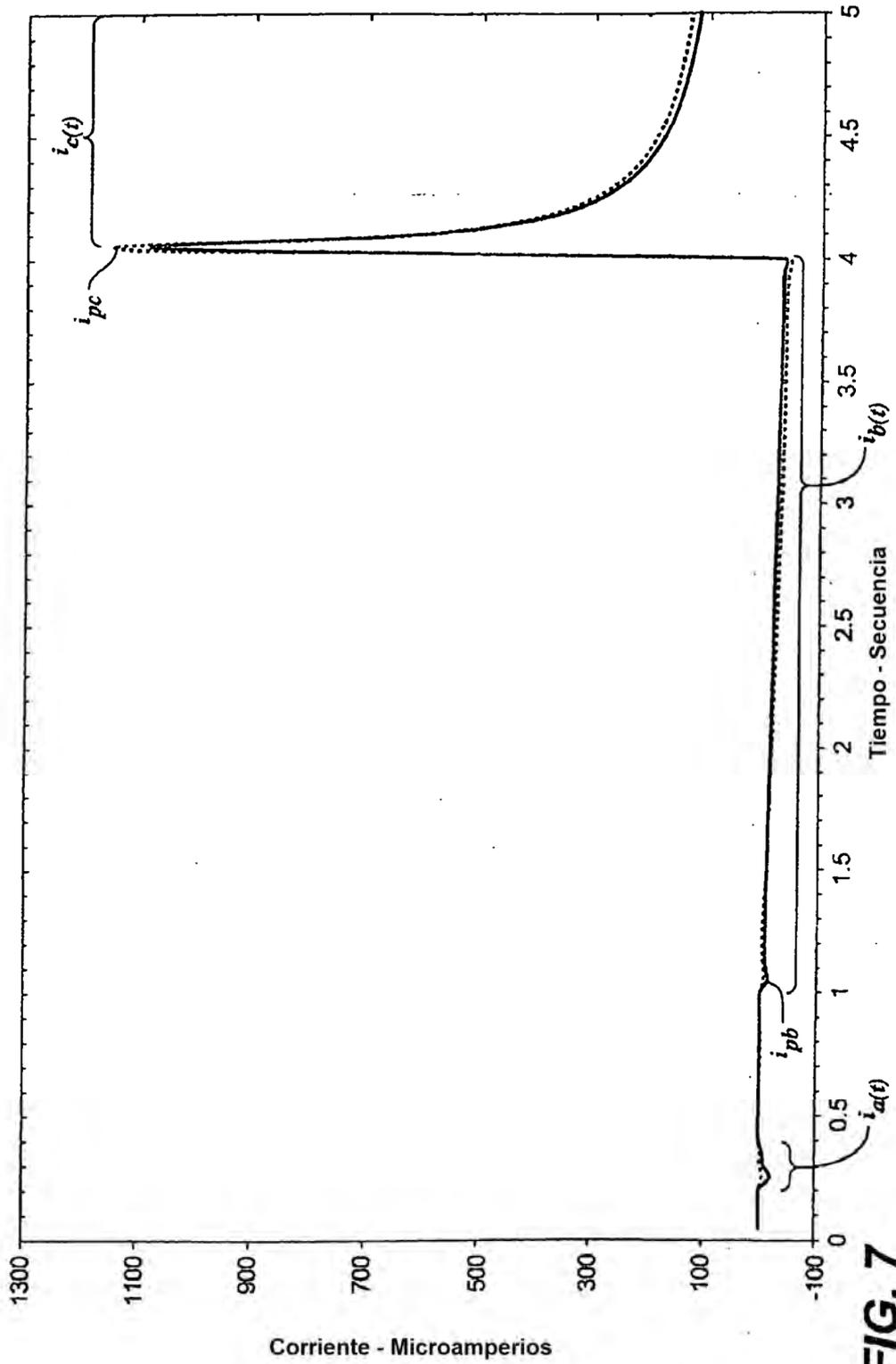


FIG. 7

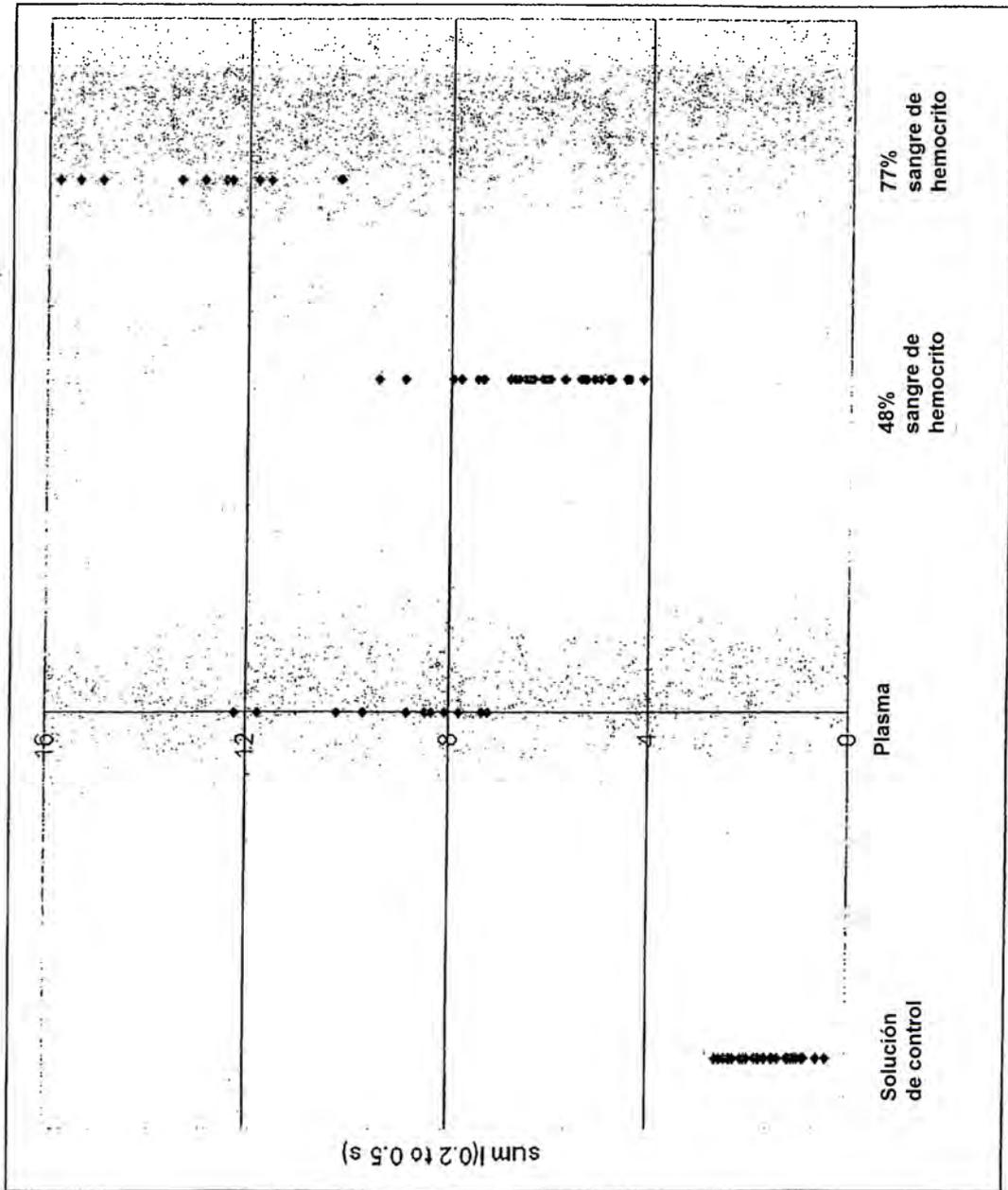


FIG. 8

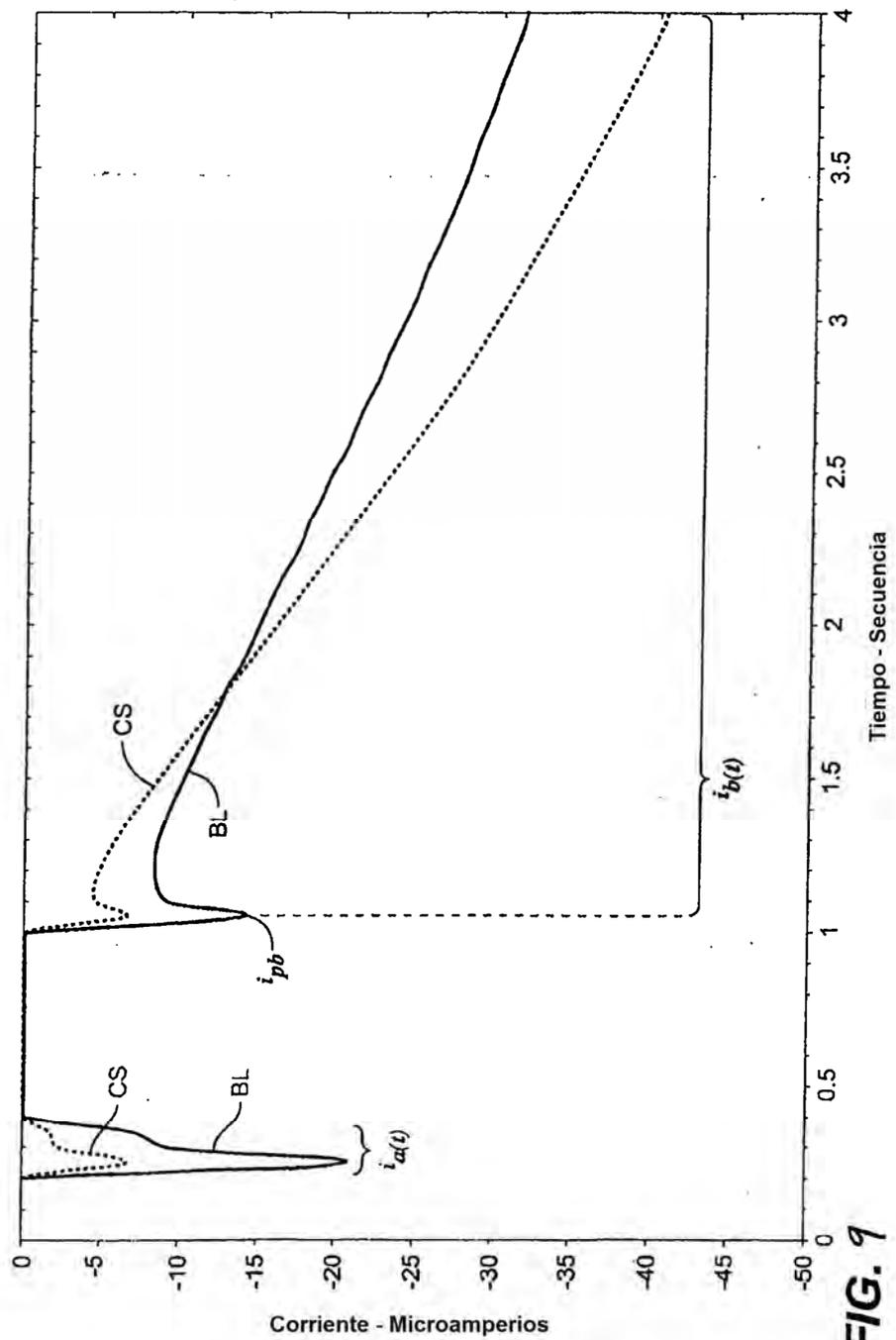


FIG. 9

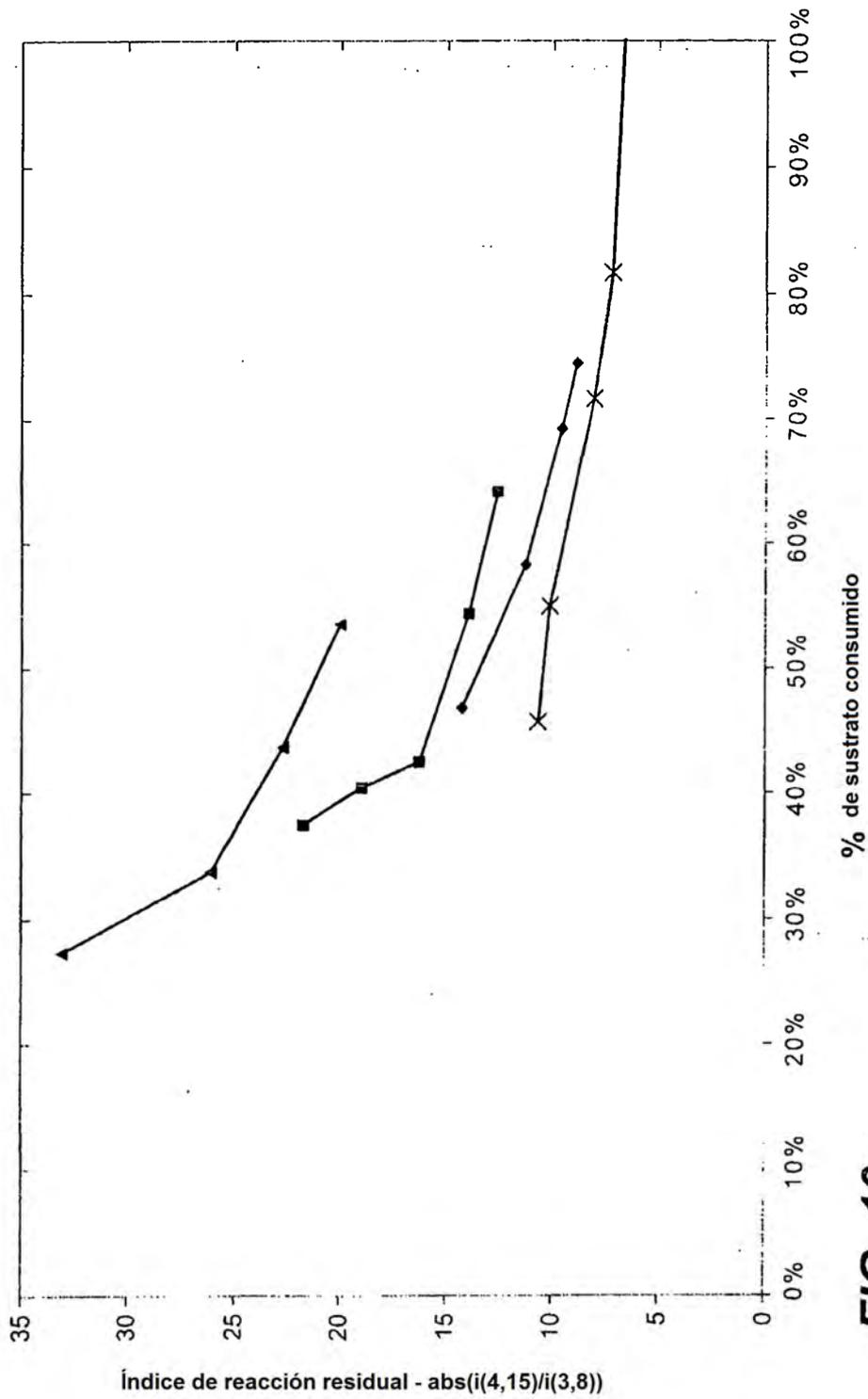


FIG. 10

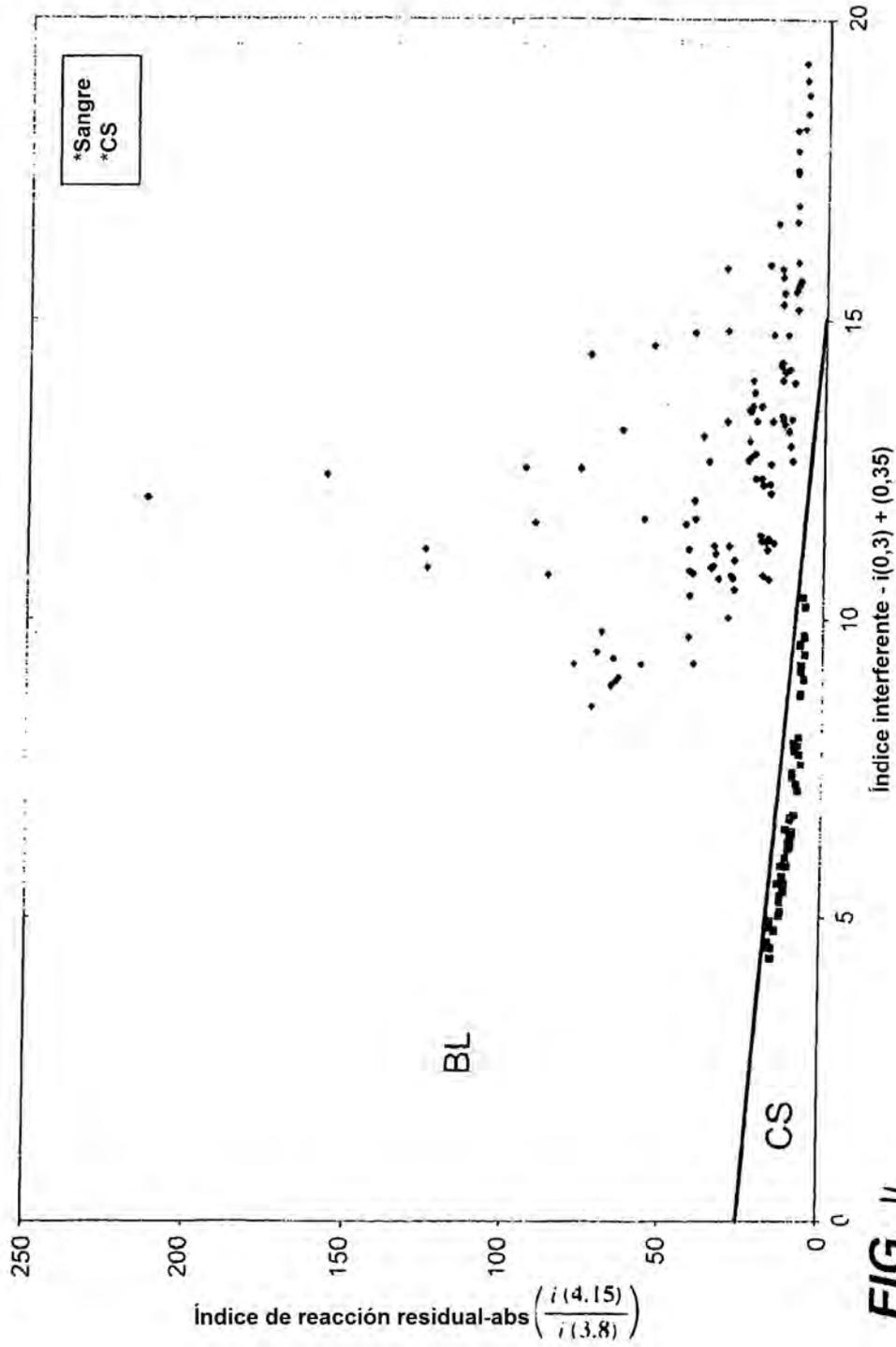


FIG. II