

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 157**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/00 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2013** **E 13196640 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016** **EP 2746759**

54 Título: **Método de detección de la concentración de un analito en una muestra con una tira reactiva**

30 Prioridad:

23.12.2012 US 201261745644 P

09.12.2013 TW 102145169

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

23.03.2017

73 Titular/es:

TYSON BIORESEARCH, INC. (100.0%)
5F, No. 22, Kedong Road III, Science Park,
Chunan Town
Miaoli Hsien 35053, TW

72 Inventor/es:

LEE, CHENG-CHE;
CHEN, WEN-HUANG;
TSAI, HAN-CHING y
YANG, CHEN-YU

74 Agente/Representante:

ZEA CHECA, Bernabé

ES 2 606 157 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 detección de la concentración de un analito en una muestra con una tira reactiva

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a un método de una tira reactiva que detecta la concentración de un analito de una muestra y una tira reactiva con tres electrodos de acuerdo con las reivindicaciones.

10 Antecedentes de la invención

[0002] Biosensores electroquímicos se han usado habitualmente para determinar la concentración de diversos analitos a partir de muestras de ensayo, tales como glucosa, ácido úrico y colesterol en líquidos biológicos. Por ejemplo, en ensayos de muestras biológicas, la tira reactiva puede insertarse en un glucosímetro, y una muestra de líquido se deja caer gota a gota sobre una tira reactiva y se introduce en una cámara de muestra para determinar la concentración del analito en la muestra biológica.

[0003] En los últimos años, el número de personas con diabetes está aumentando. La monitorización de la concentración de glucosa es importante en la vida diaria para los pacientes diabéticos. Pruebas rutinarias 3-4 veces cada día y controlar una concentración de glucosa en sangre estable pueden reducir el riesgo de daños graves, tales como pérdida de visión e insuficiencia renal. Se espera la medición precisa de la glucemia.

[0004] Sin embargo, los biosensores pueden proporcionar los resultados del ensayo que incluyen los múltiples errores analíticos. Cuando la muestra de ensayo es sangre completa, estas fuentes de error pueden proceder de características físicas de la sangre completa (por ejemplo, interferencias), factores ambientales (por ejemplo, temperatura), y condiciones de funcionamiento (por ejemplo, nivel de llenado bajo). Las características físicas de la sangre incluyen interferencias, tales como hematocrito (relación del volumen de glóbulos rojos respecto al volumen total de sangre), ácido ascórbico, ácido úrico, colesterol, y similares.

[0005] Por ejemplo, el intervalo de hematocrito normal para un ser humano típico es de aproximadamente el 35 % al 55 %. Sin embargo, en algunos casos especiales, el hematocrito puede variar del 10 % al 70 % e inducir un error grande en la medición de la glucemia. A hematocrito elevado, los glóbulos rojos pueden obstaculizar la reacción de la enzima y mediadores, e incluso reducir la tasa de difusión de los mediadores al electrodo de trabajo, dando como resultado la lectura de glucemia baja. A la inversa, un bajo hematocrito puede dar como resultado la lectura de glucemia elevada.

[0006] Existen muchos métodos para minimizar el error analítico del efecto del hematocrito. Por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º 5951836 desvelaba una formulación de reactivos que usa partículas de sílice para filtrar glóbulos rojos. La patente de Estados Unidos N.º 5628890 desvelaba reducir el efecto del hematocrito usando una separación amplia en combinación con capas de malla para distribuir la muestra de sangre. La patente de Estados Unidos N.º 8388821 desvelaba un método para medición relacionada con el hematocrito proporcionando una pluralidad de microelectrodos en un electrodo de trabajo. La publicación estadounidense N.º 2011/0139634 desvelaba concentración de analito corregida por hematocrito usando dos conjuntos de electrodos, que aplican señal de CC y señal de CA, por separado. Los métodos anteriores presentan algunas desventajas, tales como un coste de fabricación elevado, un proceso complejo y una gran cantidad de muestra.

[0007] Además, la temperatura durante la medición es otra fuente de error analítico. Dado que la reacción enzimática es una reacción dependiente de la temperatura, el cambio de temperatura durante la medición tiene influencia sobre la precisión de la medición.

[0008] Además, centrándose en la técnica anterior propuesta para detectar concentración de un analito de una muestra, el documento WO 2012/084194 A1 (D1). La segunda señal de CC, o señal de análisis, se usa para analizar los niveles de analito, que pueden determinarse compensando el tiempo de reacción y/o diversas fuentes de corriente de un blanco basada en la primera respuesta al primer pulso, en el que diversas fuentes de corriente de un blanco incluyen mediador reducido, impurezas en el reactivo, compuestos interferentes presentes en la sangre (electroactivos), y otros azúcares interferentes, pero no hematocrito y temperatura. Además, también desvela "los efectos de los factores de confusión pueden eliminarse midiendo la impedancia de la muestra de sangre para una excitación por CA, en solitario o en combinación con una excitación por C", en el que existen señales de CA (corriente alterna) entre la primera señal de CC y la segunda señal de CC. Dicha técnica incluye aplicar una señal de potencial eléctrico que tiene un componente de CA a la muestra". Es decir, el documento D1 no puede eliminar las influencias de temperatura y hematocrito sin componente de CA. Por lo tanto, el documento D1 necesita señales más complicadas (señales de CC y señales de CA) para eliminar las influencias de un mediador reducido, impurezas en el reactivo, compuestos interferentes presentes en la sangre, otros azúcares interferentes, temperatura y hematocrito.

[0009] En resumen, los métodos mencionados anteriormente proporcionados por la técnica anterior no son buenas

elecciones para un usuario.

Sumario de la invención

5 **[0010]** La presente invención pretende proporcionar un método de una tira reactiva con tres electrodos que detectan concentración de un analito de una muestra que puede utilizar una señal eléctrica que tiene diferentes polaridades durante diferentes periodos para detectar la concentración de un analito de una muestra.

10 **[0011]** Esto se consigue mediante un método de una tira reactiva que detecta la concentración de un analito de una muestra de acuerdo con las reivindicaciones. Las reivindicaciones dependientes se refieren a desarrollos y mejoras adicionales correspondientes.

15 **[0012]** Tal como se verá más claramente a partir de la descripción detallada que sigue a continuación, se desvela el método reivindicado de una tira reactiva que detecta concentración de un analito de una muestra. El método incluye colocar la muestra en una región de reacción de la tira reactiva, en la que el analito reacciona con una enzima para generar una pluralidad de electrones, y la pluralidad de electrones son transferidos a un electrodo de trabajo de la región de reacción a través de un mediador; aplicar una señal eléctrica al electrodo de trabajo; medir una primera corriente a través del electrodo de trabajo durante un primer periodo; generando el mediador durante un segundo periodo un intermedio de acuerdo con la señal eléctrica; medir, durante un tercer periodo, una segunda corriente a través del electrodo de trabajo; calcular la concentración inicial del analito de acuerdo con la primera corriente; calcular un factor de difusión del intermedio en la muestra de acuerdo con la segunda corriente; y corregir la concentración inicial para generar una nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión.

Breve descripción de los dibujos

25 **[0013]** La presente invención se ilustra adicionalmente a modo de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos adjuntos a la misma:

La figura 1 es un diagrama en despiece ordenado que ilustra una tira reactiva,
 30 La figura 2 es un diagrama que ilustra una sección transversal de la tira reactiva,
 La figura 3 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos,
 La figura 4 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos,
 La figura 5 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos, una región de reacción y un medidor,
 La figura 6 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos, una región de reacción y un medidor,
 35 La figura 7 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos, una región de reacción y un medidor,
 La figura 8 es un diagrama que ilustra una estructura de la tira reactiva,
 La figura 9 es un diagrama que ilustra una tira reactiva con tres electrodos,
 La figura 10 es un diagrama que ilustra la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante un primer periodo, un segundo periodo y un tercer periodo,
 40 La figura 11 es un diagrama que ilustra la distribución de un mediador y un mediador en estado reducido en la región de reacción que cambia con la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia cuando la muestra se coloca en la región de reacción,
 La figura 12 es un diagrama que ilustra la distribución de un mediador y un mediador en estado reducido en la región de reacción que cambia con la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia cuando la muestra se coloca en la región de reacción,
 45 La figura 13 es un diagrama que ilustra la distribución de un mediador y un mediador en estado reducido en la región de reacción que cambia con la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia cuando la muestra se coloca en la región de reacción,
 La figura 14 es un diagrama que ilustra la distribución de un mediador y un mediador en estado reducido en la región de reacción que cambia con la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia cuando la muestra se coloca en la región de reacción,
 50 La figura 15 es un diagrama que ilustra las relaciones entre el factor de difusión del mediador y la corriente generada por el electrodo de trabajo bajo diferentes sustancias interferentes,
 La figura 16 es un diagrama que ilustra las relaciones entre el factor de difusión del mediador y la corriente generada por el electrodo de trabajo bajo diferentes sustancias interferentes,
 55 La figura 17 es un diagrama que ilustra las relaciones entre el factor de difusión del mediador y la corriente generada por el electrodo de trabajo bajo diferentes sustancias interferentes,
 La figura 18 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,
 60 La figura 19 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,
 La figura 20 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes

realizaciones de la presente invención,

La figura 21 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,

5 La figura 22 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,

La figura 23 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,

10 La figura 24 es un diagrama que ilustra una caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo de acuerdo con diferentes realizaciones de la presente invención,

La figura 25 es un diagrama que ilustra corrientes generadas por el electrodo de trabajo correspondientes a diferentes muestras bajo la caída de tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia en la figura 10,

La figura 26 es un diagrama que ilustra relaciones entre sesgos y concentraciones de analitos con diferentes hematocritos no corregidos por la presente invención,

20 La figura 27 es un diagrama que ilustra relaciones entre sesgos y concentraciones de analitos con diferentes hematocritos corregidos por la presente invención,

La figura 28 es un diagrama de flujo que ilustra un método de una tira reactiva que detecta la concentración de un analito de una muestra de acuerdo con otra realización de la presente invención, y

La figura 29 es un diagrama de flujo que ilustra un método de utilización de una tira reactiva para detectar el factor de difusión de un mediador en una muestra de acuerdo con otra realización de la presente invención.

25

Descripción detallada

[0014] La presente invención se describirá a continuación a través de las siguientes realizaciones. Los expertos en la materia entienden que las realizaciones descritas a continuación son solamente para fines de ilustración y no se pretende limitación del alcance de la invención.

30 [0015] La figura 1 es un diagrama en despiece ordenado que ilustra una tira reactiva 100 a usar en el método. Tal como se muestra en la figura 1, la tira reactiva 100 puede incluir un sustrato 110, una capa de electrodos 120, una capa aislante 130, un reactivo 140, un separador 150, una primera capa de cubierta 160 y una segunda capa de cubierta 170, en la que el sustrato 110 puede estar hecho de un material plástico (por ejemplo polietileno tereftalato (PET), polímeros de vinilo, poliimidas o poliésteres).

[0016] Tal como se muestra en la figura 1, el sustrato 110 porta la capa de electrodos 120, en la que la capa de electrodos 120 tiene un electrodo de trabajo 121, un contraelectrodo 122 y un electrodo de referencia 123, y el electrodo de trabajo 121, el contraelectrodo 122 y el electrodo de referencia 123 están formados en un primer extremo de la capa de electrodos 120. El electrodo de trabajo 121, el contraelectrodo 122 y el electrodo de referencia 123 pueden formarse mediante trazado por láser en la capa de electrodos conductora 120 o por impresión en serigrafía sobre el sustrato 110. Un segundo extremo de la capa de electrodos 120 puede proporcionar una pluralidad de almohadillas 124, 125, 126, en las que la pluralidad de almohadillas 124, 125, 126 se usan para acoplamiento eléctrico a un medidor. Una pista de electrodo 127 puede proporcionar una trayectoria eléctricamente continua desde el electrodo de trabajo 121 a la almohadilla 124. Análogamente, una pista de electrodo 128 proporciona una trayectoria eléctricamente continua desde el contraelectrodo 122 hasta la almohadilla 125, y una pista de electrodo 129 proporciona una trayectoria eléctricamente continua desde el electrodo de referencia 123 hasta la almohadilla 126. La capa de electrodos 120 puede estar hecha de materiales conductores proporcionados por la técnica anterior (por ejemplo oro, platino, plata, carbono y carbono/plata).

[0017] Una capa aislante 130 puede usarse para proteger las pistas de electrodo 127, 128, 129 y definir un área efectiva de una región de reacción. Una muesca 131 puede estar ubicada en una sección frontal de la capa aislante 130 para exponer partes del electrodo de trabajo 121, el contraelectrodo 122 y el electrodo de referencia 123, en el que las partes expuestas del electrodo de trabajo 121, el contraelectrodo 122 y el electrodo de referencia 123 y el reactivo 140 pueden combinarse para formar la región de reacción. La capa aislante 130 puede estar hecha de tinta, polímero de radiación ultravioleta (UV) o similares, y puede estar formada en la capa de electrodos 120 a través de la impresión en serigrafía.

60 [0018] El reactivo 140 puede estar ubicado en las partes expuestas del electrodo de trabajo 121, el contraelectrodo 122 y el electrodo de referencia 123 expuestas por la muesca 131. La elección del reactivo 140 depende del analito específico y es bien conocida por los expertos en la materia. En una realización de la presente invención, el reactivo 140 se usa para medir glucosa a partir de una muestra de sangre humana. Un reactivo no limitante puede incluir una enzima, mediadores de electrones, estabilizantes y aglutinantes, en los que la enzima puede ser glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa. El mediador de electrones es un aceptor de electrones y es capaz de transferir

electrones entre la enzima y el electrodo de trabajo 121. Normalmente, el mediador puede ser ferroceno, ferricianuro potásico u otros derivados de ferroceno. En una realización de la presente invención, la región de reacción en el reactivo 140 es donde la glucosa en la muestra de sangre humana reacciona con la enzima, los electrones son transferidos a través de los mediadores hasta el electrodo de trabajo 121, y se genera una respuesta eléctrica.

5

[0019] El separador 150 recubre el sustrato 110 y puede definir la altura de la cámara de recepción de la muestra. En una realización de la presente invención, el separador 150 tiene un canal en forma de T 151 ubicado en una sección frontal del separador 150.

- 10 **[0020]** La primera capa de cubierta 160 está fijada en una parte del separador 150 para formar una superficie superior de la cámara de recepción de la muestra. Una parte inferior de la primera capa de cubierta 160 incluye un revestimiento hidrófilo (no mostrado en la figura 1). Cuando la muestra de sangre humana entra en la cámara de recepción de la muestra, el revestimiento hidrófilo puede ayudar a una acción capilar e incrementar una velocidad de movimiento de la muestra de sangre humana. Tal como se muestra en la figura 1, una capa final de la tira reactiva 15 100 es la segunda capa de cubierta 170. La segunda capa de cubierta 170 incluye una ventana transparente que permite a un usuario confirmar visualmente si la muestra de sangre humana entra en la cámara de recepción de la muestra. Tal como se muestra en la figura 2, la primera capa de cubierta 160, la segunda capa de cubierta 170 y el separador 150 forman una abertura 201, en la que, cuando la muestra de sangre humana entra en la cámara de recepción de la muestra, la abertura 201 permite que el aire escape del interior de la cámara de recepción de la 20 muestra.

- [0021]** En mediciones bioquímicas generales, un medidor aplica una señal eléctrica a un electrodo de trabajo de una tira reactiva, y a continuación el medidor mide una corriente generada por el electrodo de trabajo para las siguientes mediciones. La figura 3 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 300 con tres electrodos, una región de 25 reacción 302, y un medidor 304, en el que el medidor 304 está conectado eléctricamente a un electrodo de trabajo WE, un electrodo de referencia RE y un contraelectrodo CE de la región de reacción 302 a través de almohadillas WP, RP, CP, respectivamente, y OP1, OP2 son amplificadores operativos. Tal como se muestra en la figura 3, cuando se coloca una muestra en la región de reacción 302 de la tira reactiva 300 acoplada al medidor 304, el medidor 304 puede aplicar una tensión fija (por ejemplo potencial de tierra VG) del amplificador operativo OP2 para 30 medir una corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE. Dado que una pista de electrodo entre el electrodo de trabajo WE y la almohadilla WP tiene una resistencia equivalente RW, una tensión real VWE del electrodo de trabajo WE puede determinarse mediante la ecuación (1):

$$\begin{aligned} VWP &= VG \\ VWE &= VWP - IW \times RW \\ &= VG - IW \times RW \end{aligned} \quad (1)$$

35

[0022] Además, una caída de tensión VWR (igual a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE puede determinarse mediante la ecuación (2):

$$\begin{aligned} VWR &= VWE - VRE \\ &= VG - IW \times RW - VRE \\ &= VG - VRP - IW \times RW \\ &= VG - V1 - IW \times RW \end{aligned} \quad (2)$$

40

- [0023]** Tal como se muestra en la ecuación (2), VRE es una tensión del electrodo de referencia RE, VRP es una tensión de la almohadilla RP y V1 es una tensión de referencia introducida en el amplificador operativo OP1. Tal como se muestra en la ecuación (2), la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE está influida por la corriente IW. Dado que la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y 45 el electrodo de referencia RE está influida por la corriente IW, el medidor 304 puede proporcionar una tensión estable al electrodo de referencia RE, pero no puede proporcionar una tensión estable al electrodo de trabajo WE para las mediciones posteriores precisas. Por lo tanto, la tira reactiva con tres electrodos (por ejemplo la tira reactiva 300, tal como se muestra en la figura 3) proporcionada por la técnica anterior no puede cumplir los requisitos de un usuario.

50

- [0024]** La figura 4 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 600 con tres electrodos, una región de reacción 602 y un medidor 604 a usar en el método en el que el medidor 604 está conectado eléctricamente a un electrodo de trabajo WE de la región de reacción 602 a través de almohadillas WP1, WP2, un electrodo de referencia RE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla RP, y un contraelectrodo CE de la región de reacción 602 a 55 través de una almohadilla CP. Además, OP1, OP2 en el medidor 604 son amplificadores operativos, y la región de reacción 602 está revestida con una enzima. Tal como se muestra en la figura 4, cuando se coloca una muestra en

la región de reacción 602 de la tira reactiva 600 acoplada al medidor 604, el medidor 604 puede aplicar una tensión V2 al amplificador operativo OP2 para medir una corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE, en el que la muestra cubre al menos el electrodo de trabajo WE. Dado que una pista de electrodo entre el electrodo de trabajo WE y la almohadilla WP2 tiene una resistencia equivalente RW, una tensión real VWE del electrodo de trabajo WE puede determinarse mediante la ecuación (3):

$$\begin{aligned} VWE &= VWP - IWP \times RW \\ &= VWP (\because IWP = 0) \\ &= V2 \end{aligned} \quad (3)$$

[0025] Tal como se muestra en la ecuación (3), VWP es una tensión de la almohadilla WP2, y la IWP es una corriente que sigue a través de la almohadilla WP2. Además, en la figura 4, una caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE (igual a una señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) puede determinarse mediante la ecuación (4):

$$\begin{aligned} VWR &= VWE - VRE \\ &= VWP - VRP \\ &= V2 - V1 \end{aligned} \quad (4)$$

[0026] Tal como se muestra en la ecuación (4), VRE es una tensión del electrodo de referencia RE, VRP es una tensión de la almohadilla RP y V1 es una tensión de referencia introducida en el amplificador operativo OP1. Tal como se muestra en la ecuación (4), la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE (igual a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) no está influida por la corriente IW. Dado que la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE no está influida por la corriente IW, el medidor 604 no solamente puede proporcionar una tensión estable al electrodo de referencia RE, sino que también puede proporcionar una tensión estable al electrodo de trabajo WE para las mediciones posteriores precisas. Por lo tanto, la tira reactiva con 4 almohadillas (por ejemplo la tira reactiva 600, tal como se muestra en la figura 4) proporcionada por la presente invención puede cumplir los requisitos del usuario.

[0027] La figura 5 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 600 con tres electrodos, una región de reacción 602 y un medidor 704 a usar en el método, en el que el medidor 704 está conectado eléctricamente a un electrodo de trabajo WE de la región de reacción 602 a través de almohadillas WP1, WP2, un electrodo de referencia RE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla RP y un contraelectrodo CE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla CP. Además, OP1, OP2 en el medidor 704 son amplificadores operativos. Tal como se muestra en la figura 5, una diferencia entre el medidor 704 y el medidor 604 en la figura 4 es que una tensión V2 aplicada al amplificador operativo OP2 por el medidor 704 es una tensión variable y una tensión V1 aplicada al amplificador operativo OP1 por el medidor 704 es una tensión fija. Además, posteriores principios operativos de la tira reactiva 600, la región de reacción 602 y el medidor 704 en la figura 5 son los mismos que los de la tira reactiva 600, la región de reacción 602 y el medidor 604 en la figura 4, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0028] La figura 6 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 600 con tres electrodos, una región de reacción 602 y un medidor 804 a usar en el método, en el que el medidor 804 está conectado eléctricamente a un electrodo de trabajo WE de la región de reacción 602 a través de almohadillas WP1, WP2, un electrodo de referencia RE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla RP y un contraelectrodo CE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla CP. Además, OP1, OP2 en el medidor 804 son amplificadores operativos. Tal como se muestra en la figura 6, una diferencia entre el medidor 804 y el medidor 604 en la figura 4 es que una tensión V2 aplicada al amplificador operativo OP2 por el medidor 804 es una tensión fija y una tensión V1 aplicada al amplificador operativo OP1 por el medidor 804 es una tensión variable. Además, posteriores principios operativos de la tira reactiva 600, la región de reacción 602 y el medidor 804 en la figura 6 son los mismos que los de la tira reactiva 600, la región de reacción 602 y el medidor 604 en la figura 4, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0029] La figura 7 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 600 con tres electrodos, una región de reacción 602 y un medidor a usar en el método, en el que el medidor 904 está conectado eléctricamente a un electrodo de trabajo WE de la región de reacción 602 a través de almohadillas WP1, WP2, un electrodo de referencia RE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla RP, y un contraelectrodo CE de la región de reacción 602 a través de una almohadilla CP. Además, OP1, OP2 en el medidor 904 son amplificadores operativos. Tal como se muestra en la figura 7, una diferencia entre el medidor 904 y el medidor 604 en la figura 4 es que una tensión V2 aplicada al amplificador operativo OP2 por el medidor 904 es una tensión variable y una tensión V1 aplicada al amplificador operativo OP1 por el medidor 904 es una tensión variable. Además, posteriores principios operativos de la tira reactiva 600, la región de reacción 602 y el medidor 904 en la figura 7 son los mismos que los de la tira reactiva 600,

la región de reacción 602 y el medidor 604 en la figura 4, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0030] La figura 8 es un diagrama que ilustra una estructura de la tira reactiva 600. Tal como se muestra en la figura 8, la tira reactiva 600 incluye un sustrato 601, la región de reacción 602, el electrodo de trabajo WE, el electrodo de referencia RE y el contraelectrodo CE, en el que el electrodo de trabajo WE se conecta a las almohadillas WP1, WP2, el electrodo de referencia RE se conecta a la almohadilla RP y el contraelectrodo CE se conecta a la almohadilla CP. Además, el sustrato 601 está hecho de un material aislante (por ejemplo polietileno tereftalato (PET) o materiales aislantes similares). Tal como se muestra en la figura 8, el electrodo de trabajo WE, el electrodo de referencia RE y el contraelectrodo CE están formados en el sustrato 601 y la región de reacción 602 está formada en un primer extremo del sustrato 601, en el que el electrodo de trabajo WE, el electrodo de referencia RE y el contraelectrodo CE están hechos de materiales conductores, en el que los materiales conductores incluyen oro, platino, plata o grafito. La presente invención no está limitada a los materiales conductores que incluyen oro, platino, plata o grafito. Además, las almohadillas WP1, WP2, RP, CP están formadas en un segundo extremo del sustrato 601, en el que el segundo extremo del sustrato 601 es opuesto al primer extremo del sustrato 601. Tal como se muestra en la figura 8, las almohadillas WP1, WP2 están formadas en un lado izquierdo del sustrato 601 (en el que las posiciones de las almohadillas WP1, WP2 pueden intercambiarse entre sí), las almohadillas RP, CP están formadas en un lado derecho del sustrato 601, y la almohadilla CP está ubicada entre la almohadilla WP2 y la almohadilla RP. Además, en otra realización de la presente invención, las almohadillas WP1, WP2 están formadas en el lado derecho del sustrato 601, las almohadillas RP, CP están formadas en el lado izquierdo del sustrato 601, y la almohadilla CP está ubicada entre la almohadilla WP2 y la almohadilla RP. Además, en la región de reacción 602, el electrodo de referencia RE está ubicado entre el contraelectrodo CE y el electrodo de trabajo WE.

[0031] Además, la figura 9 es un diagrama que ilustra una tira reactiva 1100 con tres electrodos a usar en el método. Tal como se muestra en la figura 9, una diferencia entre la tira reactiva 1100 y la tira reactiva 600 en la figura 8 es que una almohadilla WP1 y una almohadilla WP2 acopladas a un electrodo de trabajo WE están formadas en un lado izquierdo y un lado derecho de un sustrato 601 respectivamente, una almohadilla RP acoplada a un electrodo de referencia RE y una almohadilla CP acoplada a un contraelectrodo CE están formadas en una parte central del sustrato 601, y la almohadilla RP está ubicada entre la almohadilla WP1 y la almohadilla CP. Además, posteriores principios operativos de la tira reactiva 1100 son los mismos que los de la tira reactiva 600, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0032] Además, tal como se muestra en la figura 4, cuando una muestra (por ejemplo, sangre) se coloca en la región de reacción 602 de la tira reactiva 600 acoplada al medidor 604 a través de las almohadillas WP1, WP2, RP, CP, el medidor 604 aplica la tensión V2 al amplificador operativo OP2 y la tensión de referencia V1 al amplificador operativo OP1 para medir la corriente IW del electrodo de trabajo WE. Tal como se muestra en la ecuación (4), cuando la muestra se coloca en la región de reacción 602 de la tira reactiva 600, dado que la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE (igual a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) no está influida por la corriente IW, el medidor 604 puede proporcionar la caída de tensión estable VWR y medir de forma precisa la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE a través de la almohadilla WP1 para el posterior cálculo. Además, posteriores principios operativos del medidor 704, el medidor 804 y el medidor 904 son los mismos que los del medidor 604, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0033] La figura 10 es un diagrama que ilustra la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE (igual a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) durante un primer periodo T1, un segundo periodo T2 y un tercer periodo T3, y la figura 11 a la figura 14 son diagramas que ilustran la distribución de un mediador y un mediador en estado reducido en la región de reacción 602 que cambia con la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE cuando la muestra (por ejemplo, sangre) se coloca en la región de reacción 602, en el que el mediador puede extenderse previamente como un revestimiento sobre la superficie de la región de reacción 602 o añadirse a la región de reacción 602 cuando la muestra se coloca en la región de reacción 602. Tal como se muestra en la figura 10 y la figura 11, cuando la muestra (que incluye un analito (por ejemplo, azúcar en sangre)) se coloca en la región de reacción 602, el mediador en la muestra puede capturar directa o indirectamente electrones a partir del analito hasta convertirse en un mediador en estado reducido, en el que la concentración del mediador es mucho mayor que la concentración del analito. Por lo tanto, tal como se muestra en la figura 10 y la figura 12, dado que la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva durante el primer periodo T1, el mediador en estado reducido puede transferir electrones al electrodo de trabajo WE a través de un efecto de difusión. Es decir, el electrodo de trabajo WE puede generar la corriente IW (primera corriente) a través del mediador en estado reducido durante el primer periodo T1, en el que la corriente IW (primera corriente) durante el primer periodo T1 puede usarse para calcular la concentración inicial del analito. Por ejemplo, si la muestra es sangre y el analito en la muestra es azúcar en sangre, el mediador en la región de reacción 602 puede ser ferricianuro potásico, en el que el ferricianuro potásico puede reaccionar directa o indirectamente con el azúcar en sangre a través de la enzima para generar ferrocianuro potásico en estado reducido. Durante el primer periodo T1, la señal de polaridad positiva aplicada al electrodo de trabajo WE puede hacer que el ferrocianuro potásico se difunda hasta el electrodo de trabajo WE para

generar la corriente IW (primera corriente). La presente invención no está limitada al mediador en la muestra que captura directa o indirectamente electrones a partir del analito para ser un mediador en estado reducido. Es decir, el mediador en la muestra también puede transferir directa o indirectamente electrones al analito para convertirse en un mediador en estado oxidado.

5

[0034] Tal como se muestra en la figura 10 y la figura 13, dado que la concentración del mediador es mucho mayor que la concentración del analito, la mayoría del mediador que no reaccionó con el analito puede generar reacción de reducción sobre una superficie del electrodo de trabajo WE cuando la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad negativa durante el segundo periodo T2, dando como resultado que el mediador en estado reducido a concentración elevada (es decir, el intermedio) se acumula sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, en el que la concentración del mediador en estado reducido acumulado sobre la superficie del electrodo de trabajo WE no está influida por la concentración del analito (por ejemplo, azúcar en sangre). Por ejemplo, si el mediador es ferricianuro potásico, la señal de polaridad negativa aplicada al electrodo de trabajo WE durante el segundo periodo T2 puede hacer que el ferricianuro potásico que no reaccionó con el analito (por ejemplo, azúcar en sangre) se reduzca a ferrocianuro potásico, en el que el ferrocianuro potásico es el intermedio de la presente invención, y la concentración de ferrocianuro potásico no está influida por el analito (por ejemplo, azúcar en sangre). En otra realización de la presente invención, dado que la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva durante el segundo periodo T2, la mayoría del mediador que no reaccionó con el analito puede generar una reacción de oxidación en la superficie del electrodo de trabajo WE. Es decir, el mediador en estado oxidado a concentración elevada puede acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE. Además, la presente invención no está limitada a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE que es una señal de tensión durante el segundo periodo T2, es decir, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE también puede ser una señal de corriente durante el segundo periodo T2.

[0035] El comportamiento de difusión del mediador en la muestra corresponde a un factor de difusión de la muestra, en el que el factor de difusión es una función correspondiente a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra. La presente invención no está limitada al factor de difusión que es una función correspondiente a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra. Cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más baja, el mediador en estado reducido (el intermedio) generado durante el segundo periodo T2 no puede difundirse fácilmente (tal como se muestra en la figura 14); por otro lado, cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más elevado, el mediador en estado reducido (el intermedio) generado durante el segundo periodo T2 puede difundirse fácilmente. Por lo tanto, durante el tercer periodo T3 en la figura 10, cuando la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva, el electrodo de trabajo WE puede generar una corriente mayor IW (segunda corriente) cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más bajo (debido a que más mediador en estado reducido puede acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, el electrodo de trabajo WE puede recibir más electrones, dando como resultado que el electrodo de trabajo WE genera la corriente mayor IW (segunda corriente)), y el electrodo de trabajo WE puede generar una corriente menor IW (segunda corriente) cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más elevado (debido a que menos mediador en estado reducido puede acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, el electrodo de trabajo WE puede recibir menos electrones, dando como resultado que el electrodo de trabajo WE genera la corriente menor IW (segunda corriente)). Además, en otra realización de la presente invención, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE durante el tercer periodo T3 es una señal de polaridad negativa opuesta a una señal de polaridad positiva durante el segundo periodo T2.

45

[0036] Además, durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3, el contraelectrodo CE se usa para recibir una tensión flotante VCE proporcionada por el amplificador operativo OP1 para satisfacer la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE. Por lo tanto, un material de reacción puede extenderse como un revestimiento sobre una superficie del contraelectrodo CE (o el contraelectrodo CE puede reaccionar directamente con la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) para impedir que una tensión del contraelectrodo CE se incremente demasiado durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3, en el que un estado oxidado-reducido del material de reacción extendido como un revestimiento sobre la superficie del contraelectrodo CE es opuesto a un estado oxidado-reducido original del mediador en la muestra.

[0037] Además, tal como se muestra en la figura 4 a la figura 7, el electrodo de referencia RE está acoplado a un terminal de entrada negativo del amplificador operativo OP1 (es decir, ninguna corriente fluyendo a través del electrodo de referencia RE) y el electrodo de referencia RE está entre el electrodo de trabajo WE y el contraelectrodo CE, de modo que el electrodo de referencia RE pueda impedir que el material de reacción extendido como un revestimiento sobre la superficie del contraelectrodo CE o un producto generado por el contraelectrodo CE se difunda hasta el electrodo de trabajo WE. Es decir, el electrodo de referencia RE puede impedir que el contraelectrodo CE influya en la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3.

[0038] La figura 15 a la figura 17 son diagramas que ilustran relaciones entre el factor de difusión del mediador y la corriente IW (segunda corriente) generada por el electrodo de trabajo WE bajo diferentes sustancias interferentes.

Tal como se muestra en la figura 15, cuando el hematocrito HCT de la muestra es más elevado (el mediador tiene el factor de difusión inferior), la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE es mayor. Por ejemplo, la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando el hematocrito HCT de la muestra es el 70 % es mayor que la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando el hematocrito HCT de la muestra es el 40 %.

- 5 Tal como se muestra en la figura 16, cuando la temperatura de la muestra es más baja (el mediador tiene el factor de difusión inferior), la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE es mayor. Por ejemplo, la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando la temperatura de la muestra es de 20 °C es mayor que la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando la temperatura de la muestra es de 30 °C. Tal como se muestra en la figura 17, cuando la concentración de lipémico (triglicérido) de la muestra es más elevada (el mediador tiene el factor de difusión inferior), la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE es mayor. Por ejemplo, la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando la concentración del lipémico de la muestra es 750 mg/dl es mayor que la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE cuando la concentración del lipémico de la muestra es 500 mg/dl. Por lo tanto, durante el tercer periodo T3 en la figura 10, el medidor 604 puede calcular el factor de difusión del intermedio (el mediador en estado reducido) en la muestra a través de la corriente IW generada por el electrodo de trabajo WE (segunda corriente) de acuerdo con los principios mencionados anteriormente, en el que la segunda corriente es una corriente de difusión generada por el intermedio durante el tercer periodo T3.

- 20 **[0039]** Dado que la concentración del mediador en estado reducido en la superficie del electrodo de trabajo WE no está influida por la concentración del analito (por ejemplo, azúcar en sangre), después de que el factor de difusión del mediador en la muestra se determina, el medidor 604 puede corregir un error de la concentración del analito en la muestra para generar una nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión del mediador en la muestra, en el que factores que causan el error de la concentración del analito corresponden a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra.

- 25 **[0040]** Además, cuando la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una tensión, un intervalo de la señal eléctrica durante el primer periodo T1 y un intervalo de la señal eléctrica durante el tercer periodo T3 están aproximadamente entre 50 mV-1000 mV, de la mejor manera entre 200 mV-500 mV. Un intervalo de la señal eléctrica durante el segundo periodo T2 está aproximadamente entre -50 mV y -1000 mV, de la mejor manera entre -100 mV y -500 mV. Además, un intervalo del segundo periodo T2 está aproximadamente entre 0,5 segundos y 10 segundos, de la mejor manera aproximadamente entre 1 segundo y 8 segundos. Además, en otra realización de la presente invención, la señal eléctrica durante el segundo periodo T2 es una corriente predeterminada.

- 30 **[0041]** La figura 18 a la figura 24 son diagramas que ilustran una caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE (igual a una señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3 de acuerdo con diferentes realizaciones, en el que posteriores principios operativos de la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3 en la figura 18 a la figura 24 son los mismos que los de la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3 en la figura 10. Además, tal como se muestra en la figura 18 a la figura 24, la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE puede ser 0 (sin polaridad) y una señal de polaridad negativa durante el segundo periodo T2, es decir, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es 0 y la señal de polaridad negativa.

- 45 **[0042]** La figura 25 es un diagrama que ilustra corrientes IW1, IW2, IW3, IW4 generadas por el electrodo de trabajo WE correspondiente a diferentes muestras bajo la caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE en la figura 10. Dado que principios de otros factores (por ejemplo temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra) que causan el error de la concentración del analito son los mismos que los de hematocrito, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez. Tal como se muestra en la figura 11 y la figura 12, cuando la muestra (que incluye azúcar en sangre) se coloca en la región de reacción 602, el mediador en la muestra puede capturar directa o indirectamente electrones a partir del analito para convertirse en el mediador en estado reducido, de modo que el electrodo de trabajo WE puede generar la corriente IW (primera corriente) a través del mediador en estado reducido, en el que la corriente IW (primera corriente) durante el primer periodo T1 puede usarse para calcular la concentración inicial del analito. Además, antes de que el mediador en estado reducido a concentración elevada aún no está generado y acumulado sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, la corriente IW (primera corriente) generada por el electrodo de trabajo WE es mayor cuando el hematocrito de la muestra es más bajo. Por lo tanto, tal como se muestra en la figura 25, durante el primer periodo T1, la corriente IW1 (primera corriente) correspondiente a una muestra 1 es más elevada que la corriente IW2 (primera corriente) correspondiente a una muestra 2, más elevada que la corriente IW3 (primera corriente) correspondiente a una muestra 3, y más elevada que la corriente IW4 (primera corriente) correspondiente a una muestra 4, en la que la muestra 1 tiene una glucemia (200 mg/dl) y un hematocrito HCT (10 %), la muestra 2 tiene una glucemia (200 mg/dl) y el hematocrito HCT (70 %), la muestra 3 tiene una glucemia (100 mg/dl) y el hematocrito HCT (10 %), y la muestra 4 tiene una glucemia (100 mg/dl) y el hematocrito HCT (70 %). Tal como se muestra en la figura 13, durante el segundo periodo T2, dado que la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es la señal de polaridad negativa, la mayoría del mediador que no reaccionó con el analito puede generar reacción de reducción en la superficie del electrodo de trabajo WE. Es decir, el mediador en estado reducido a

concentración elevada (el intermedio) se acumula sobre la superficie del electrodo de trabajo WE. La concentración del mediador en estado reducido acumulado sobre la superficie del electrodo de trabajo WE no está influida por la concentración del analito (por ejemplo, azúcar en sangre), de modo que la corriente IW (segunda corriente) generada por el electrodo de trabajo WE es más baja cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más elevado, y la corriente IW (segunda corriente) generada por el electrodo de trabajo WE es más elevada cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más bajo. Por lo tanto, durante el tercer periodo T3 en la figura 25, una diferencia entre la corriente IW1 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 1 y la corriente IW3 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 3 es de poca importancia (dado que la muestra 1 y la muestra 3 tienen el mismo hematocrito HCT (10 %)) y una diferencia entre la corriente IW2 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 2 y la corriente IW4 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 4 es de poca importancia (dado que la muestra 2 y la muestra 4 tienen el mismo hematocrito HCT (70 %)), y la corriente IW1 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 1 y la corriente IW3 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 3 son menores que la corriente IW2 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 2 y la corriente IW4 (segunda corriente) correspondiente a la muestra 4. Por lo tanto, durante el tercer periodo T3 en la figura 25, el medidor 604 puede calcular factores de difusión del mediador en las muestras 1, 2, 3, 4 respectivamente a través de las corrientes IW1, IW2, IW3, IW4 (segundas corrientes) generadas por el electrodo de trabajo de acuerdo con los principios mencionados anteriormente. Después de que los factores de difusión del mediador en las muestras 1, 2, 3, 4 se determinan, el medidor 604 puede corregir errores de concentración de analitos en las muestras 1, 2, 3, 4 para generar una nueva concentración de los analitos en las muestras 1, 2, 3, 4 respectivamente de acuerdo con los factores de difusión del mediador en las muestras 1, 2, 3, 4.

[0043] Además, la presente invención no está limitada al estado oxidado-reducido del mediador en la figura 11 a la figura 14. Es decir, en otra realización de la presente invención, un nuevo mediador tiene un estado oxidado-reducido opuesto al estado oxidado-reducido del mediador en la figura 11 a la figura 14, y una nueva señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es opuesta a la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE en la figura 10.

[0044] Además, las tiras reactivas 100, 600, 1100 y el medidor 604 proporcionados por la presente invención también pueden estar integradas en un sistema biométrico, en el que posteriores principios operativos del sistema biométrico pueden remitirse a los de las tiras reactivas 100, 600, 1100, y el medidor 604, así que una descripción adicional de los mismos se omite por sencillez.

[0045] La figura 26 es un diagrama que ilustra relaciones entre sesgos y concentraciones de analitos con diferentes hematocritos no corregidos por la presente invención. Tal como se muestra en la figura 26, un analito con el 41 % de hematocrito actúa como estándar, en el que los sesgos son diferencias entre cada concentración de analito y el estándar, y las concentraciones de los analitos (por ejemplo, azúcar en sangre) en muestras son 100 mg/dl y 350 mg/dl. Tal como se muestra en la figura 26, cuando el hematocrito en las muestras se desvía del estándar, existen sesgos mayores. La figura 27 es un diagrama que ilustra relaciones entre sesgos y concentraciones de analitos con diferentes hematocritos corregidos por la presente invención. Tal como se muestra en la figura 27, la tira reactiva y el método mencionados anteriormente proporcionados por la presente invención pueden reducir significativamente sesgos dentro de todo el intervalo (0-70 %) de hematocrito para controlar los sesgos lejos del estándar +10 % a -10 %.

[0046] La figura 28 es un diagrama de flujo que ilustra un método de una tira reactiva que detecta concentración de un analito de una muestra de acuerdo con otra realización. El método en la figura 28 se ilustra usando la tira reactiva 600 en la figura 4. Las etapas detalladas son las siguientes:

Etapas 2800: Inicio.

Etapas 2802: Se coloca una muestra en la región de reacción 602.

Etapas 2804: El medidor 604 aplica una señal eléctrica al electrodo de trabajo WE.

Etapas 2806: El medidor 604 mide una primera corriente a través del electrodo de trabajo WE durante un primer periodo T1.

Etapas 2808: Un mediador genera, durante un segundo periodo T2, un intermedio de acuerdo con la señal eléctrica.

Etapas 2810: El medidor 604 mide, durante un tercer periodo T3, una segunda corriente a través del electrodo de trabajo WE.

Etapas 2812: El medidor 604 calcula la concentración inicial de un analito de acuerdo con la primera corriente.

Etapas 2814: El medidor 604 calcula un factor de difusión del intermedio en la muestra de acuerdo con la segunda corriente.

Etapas 2816: El medidor 604 corrige la concentración inicial del analito para generar una nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión.

Etapas 2818: Fin.

[0047] En la etapa 2802, la muestra incluye el analito (por ejemplo, azúcar en sangre). En la etapa 2804, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es igual a una caída de tensión VWR entre el electrodo de trabajo WE y el electrodo de referencia RE. Tal como se muestra en la figura 4, la figura 10 y la figura 11, cuando la muestra se

coloca en la región de reacción 602, el mediador en la muestra puede capturar directa o indirectamente electrones a partir del analito para convertirse en un mediador en estado reducido, en el que la concentración del mediador es mucho mayor que la concentración del analito. Por lo tanto, en la etapa 2806, tal como se muestra en la figura 10 y la figura 12, durante el primer periodo T1, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva, de modo que el mediador en estado reducido puede transferir electrones al electrodo de trabajo WE a través de un efecto de difusión. Es decir, el electrodo de trabajo WE puede generar la primera corriente a través del mediador en estado reducido durante el primer periodo T1. La presente invención no está limitada al mediador en la muestra que captura directa o indirectamente electrones a partir del analito para volverse un mediador en estado reducido. Es decir, el mediador en la muestra también puede transferir directa o indirectamente electrones al analito para convertirse en un mediador en estado oxidado.

[0048] En la etapa 2808, tal como se muestra en la figura 10 y la figura 13, dado que la concentración del mediador es mucho mayor que la concentración del analito, la mayoría del mediador que no reaccionó con el analito puede generar reacción de reducción en la superficie del electrodo de trabajo WE cuando la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad negativa durante el segundo periodo T2, lo que da como resultado que el mediador en estado reducido a concentración elevada (es decir, el intermedio) se acumula sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, en el que la concentración del mediador en estado reducido acumulado sobre la superficie del electrodo de trabajo WE no está influida por la concentración del analito (por ejemplo, azúcar en sangre). En otra realización de la presente invención, dado que la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva durante el segundo periodo T2, la mayoría del mediador que no reaccionó con el analito puede generar reacción de oxidación en la superficie del electrodo de trabajo WE. Es decir, el mediador en estado oxidado a concentración elevada puede acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE. Además, la presente invención no está limitada a que la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE sea una señal de tensión durante el segundo periodo T2, es decir, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE también puede ser una señal de corriente durante el segundo periodo T2.

[0049] En la etapa 2810, el comportamiento de difusión del mediador en la muestra corresponde al factor de difusión de la muestra, en el que el factor de difusión es una función correspondiente a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra. La presente invención no está limitada a que el factor de difusión sea una función correspondiente a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra. Cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más bajo, el mediador en estado reducido generado durante el segundo periodo T2 no puede difundirse fácilmente (tal como se muestra en la figura 14); por otro lado, cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más elevado, el mediador en estado reducido generado durante el segundo periodo T2 puede difundirse fácilmente. Por lo tanto, durante el tercer periodo T3 en la figura 10, cuando la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE es una señal de polaridad positiva, el electrodo de trabajo WE puede generar la segunda corriente mayor cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más bajo (dado que, cuanto más mediador en estado reducido puede acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, más electrones pueden ser recibidos por el electrodo de trabajo WE, dando como resultado que el electrodo de trabajo WE genera la segunda corriente mayor), y el electrodo de trabajo WE puede generar la segunda corriente menor cuando el factor de difusión del mediador en la muestra es más elevado (dado que, cuanto menos mediador en estado reducido pueda acumularse sobre la superficie del electrodo de trabajo WE, menos electrones pueden ser recibidos por el electrodo de trabajo WE, dando como resultado que el electrodo de trabajo WE genera la segunda corriente menor). Además, en otra realización de la presente invención, la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE durante el tercer periodo T3 es una señal de polaridad negativa opuesta a una señal de polaridad positiva durante el segundo periodo T2.

[0050] En la etapa 2812, la primera corriente durante el primer periodo T1 puede usarse para calcular la concentración inicial del analito. Además, en la etapa 2814, dado que el comportamiento de difusión del mediador en la muestra corresponde al factor de difusión de la muestra, el medidor 604 puede calcular el factor de difusión del intermedio (el mediador en estado reducido) en la muestra de acuerdo con la segunda corriente. Finalmente, en la etapa 2816, después de que el factor de difusión se determina, el medidor 604 puede corregir la concentración inicial del analito para generar la nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión.

[0051] Además, durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3, el contraelectrodo CE se usa para recibir una tensión flotante VCE proporcionado por el amplificador operativo OP1 para satisfacer la primera corriente y la segunda corriente generadas por el electrodo de trabajo WE. Por lo tanto, un material de reacción puede extenderse sobre un revestimiento sobre la superficie del contraelectrodo CE (o el contraelectrodo CE puede reaccionar directamente con la señal eléctrica aplicada al electrodo de trabajo WE) para impedir que una tensión del contraelectrodo CE se incremente demasiado durante el primer periodo T1, el segundo periodo T2 y el tercer periodo T3, en el que un estado oxidado-reducido del material de reacción extendido como un revestimiento sobre la superficie del contraelectrodo CE es opuesto a un estado oxidado-reducido original del mediador en la muestra.

[0052] La figura 29 es un diagrama de flujo que ilustra un método de utilización de una tira reactiva para detectar el factor de difusión de un mediador en una muestra de acuerdo con otra realización. El método en la figura 29 se

ilustra usando la tira reactiva 600 en la figura 4. Las etapas detalladas son las siguientes:

Etapas 2900: Inicio.

Etapas 2902: Se coloca una muestra en la región de reacción 602.

5 Etapas 2904: El medidor 604 aplica una señal eléctrica al electrodo de trabajo WE.

Etapas 2906: Un mediador genera un intermedio de acuerdo con la señal eléctrica durante un primer periodo.

Etapas 2908: El medidor 604 mide, durante un segundo periodo, una primera corriente a través del electrodo de trabajo WE, en el que una segunda polaridad de la señal eléctrica durante el segundo periodo es inversa a una primera polaridad de la señal eléctrica durante el primer periodo;

10 Etapas 2910: El medidor 604 calcula el factor de difusión del intermedio en la muestra de acuerdo con la primera corriente.

Etapas 2912: Fin.

[0053] Una diferencia entre la realización en la figura 29 y la realización en la figura 28 es que, en la etapa 2906, el mediador genera el intermedio durante el primer periodo (correspondiente al segundo periodo T2 en la figura 10) de acuerdo con la señal eléctrica; en la etapa 2908, el medidor 604 mide la primera corriente (correspondiente a la segunda corriente en la realización en la figura 28) a través del electrodo de trabajo WE durante el segundo periodo (correspondiente al tercer periodo T3 en la figura 10); y en la etapa 2910, el medidor 604 calcula el factor de difusión del intermedio en la muestra de acuerdo con la primera corriente (correspondiente a la segunda corriente en la realización en la figura 28). Por lo tanto, cualquier configuración que utiliza una segunda polaridad de una señal eléctrica durante un segundo periodo inversa a una primera polaridad de la señal eléctrica durante un primer periodo para detectar un factor de difusión de un mediador en una muestra está dentro del alcance de la presente invención.

[0054] El método de una tira reactiva que detecta la concentración de un analito de una muestra de acuerdo con la presente invención y la tira reactiva con tres electrodos de acuerdo con la presente invención utilizan el electrodo de trabajo para generar una primera corriente para calcular la concentración inicial del analito de la muestra de acuerdo con una señal eléctrica proporcionada por el medidor durante un primer periodo, utilizan el electrodo de trabajo para hacer que un mediador en la muestra genere una reacción de acuerdo con la señal eléctrica proporcionada por el medidor durante un segundo periodo, y utilizan el electrodo de trabajo para generar una segunda corriente durante un tercer periodo para calcular un factor de difusión del mediador en la muestra de acuerdo con la señal eléctrica proporcionada por el medidor. Después de que se determina el factor de difusión del mediador en la muestra, el medidor puede corregir la concentración inicial del analito en la muestra para generar una nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión del mediador en la muestra. Por lo tanto, en comparación con la técnica anterior, la presente invención puede corregir con precisión la concentración inicial del analito en la muestra. Además, el método de utilización de una tira reactiva para detectar un factor de difusión de un mediador en una muestra proporcionado además por la presente invención utiliza una segunda polaridad de una señal eléctrica durante un segundo periodo, inversa a una primera polaridad de la señal eléctrica durante un primer periodo para detectar el factor de difusión del mediador. Por lo tanto, en comparación con la técnica anterior, la presente invención puede detectar de forma rápida, sencilla y precisa el factor de difusión del mediador.

40

REIVINDICACIONES

1. Un método de una tira reactiva (100, 600, 1100) que detecta la concentración de un analito de una muestra, en el que la tira reactiva (100, 600, 1100) comprende un sustrato (110, 601) y una región de reacción (302, 602), la región de reacción (302, 602) comprende un electrodo de trabajo (WE, 121), un electrodo de referencia (RE, 123), y un contraelectrodo (CE, 122) y en el que la región de reacción (302, 602) está revestida con una enzima, el método **caracterizado por** las etapas de:
 - colocar la muestra en la región de reacción (302, 602), en la que el analito reacciona con la enzima para generar una pluralidad de electrones y la pluralidad de electrones son transferidos al electrodo de trabajo a través de un mediador;
 - aplicar una primera señal eléctrica de corriente continua (CC) al electrodo de trabajo durante un primer periodo;
 - medir una primera corriente a través del electrodo de trabajo durante el primer periodo;
 - aplicar una segunda señal eléctrica de CC al electrodo de trabajo durante un segundo periodo;
 - generando el mediador durante el segundo periodo un intermedio de acuerdo con la señal eléctrica;
 - aplicar una tercera señal eléctrica de CC al electrodo de trabajo durante un tercer periodo;
 - medir durante el tercer periodo una segunda corriente a través del electrodo de trabajo, donde la polaridad de la segunda señal eléctrica de CC durante el segundo periodo es inversa a la polaridad de la primera señal eléctrica de CC durante el primer periodo y la polaridad de la tercera señal eléctrica de CC durante el tercer periodo;
 - calcular una concentración inicial del analito de acuerdo con la primera corriente;
 - calcular un factor de difusión del intermedio en la muestra de acuerdo con la segunda corriente; y
 - corregir la concentración inicial para generar una nueva concentración del analito de acuerdo con el factor de difusión.
2. El método de la reivindicación 1, **caracterizado además por que**, cuando la señal eléctrica es una tensión, un intervalo de la señal eléctrica durante el primer periodo y un intervalo de la señal eléctrica durante el tercer periodo están entre 50 mV y 1000 mV, un intervalo de la señal eléctrica durante el segundo periodo está entre -50 mV y -1000 mV, y un intervalo del segundo periodo está entre 0,5 s y 10 s.
3. El método de la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado además por que** la muestra cubre al menos el electrodo de trabajo.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado además por que**, cuando la muestra se coloca en la región de reacción (302, 602), el electrodo de referencia recibe una tensión de referencia, y cuando la señal eléctrica es una tensión, la señal eléctrica es igual a una diferencia de tensión entre una tensión del electrodo de trabajo y el electrodo de referencia.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, **caracterizado además por que** la muestra se coloca en la región de reacción (302, 602), el contraelectrodo recibe una tensión flotante para satisfacer una corriente generada por el electrodo de trabajo durante el primer periodo, el segundo periodo y el tercer periodo.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, **caracterizado además por que** el intermedio es un mediador en estado reducido o un mediador en estado oxidado.
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, **caracterizado además por que** la segunda corriente es una corriente de difusión generada por el intermedio durante el tercer periodo.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, **caracterizado además por que** el segundo periodo es después del primer periodo, y el tercer periodo es después del segundo periodo.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, **caracterizado además por que** la segunda señal eléctrica de CC es una corriente predeterminada durante el segundo periodo.
10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, **caracterizado además por que** el factor de difusión corresponde a una combinación de temperatura, viscosidad, hematocrito, lipémico y fuerza iónica de la muestra.
11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, **caracterizado además por que** el mediador está revestido sobre la región de reacción (302, 602).
12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, **caracterizado además por que** el mediador se añade a la región de reacción (302, 602) cuando la muestra está colocada en la región de reacción (302, 602).
13. El método de la reivindicación 1, **caracterizado además por que** la segunda señal eléctrica de CC tiene la polaridad y una no polaridad durante el segundo periodo.

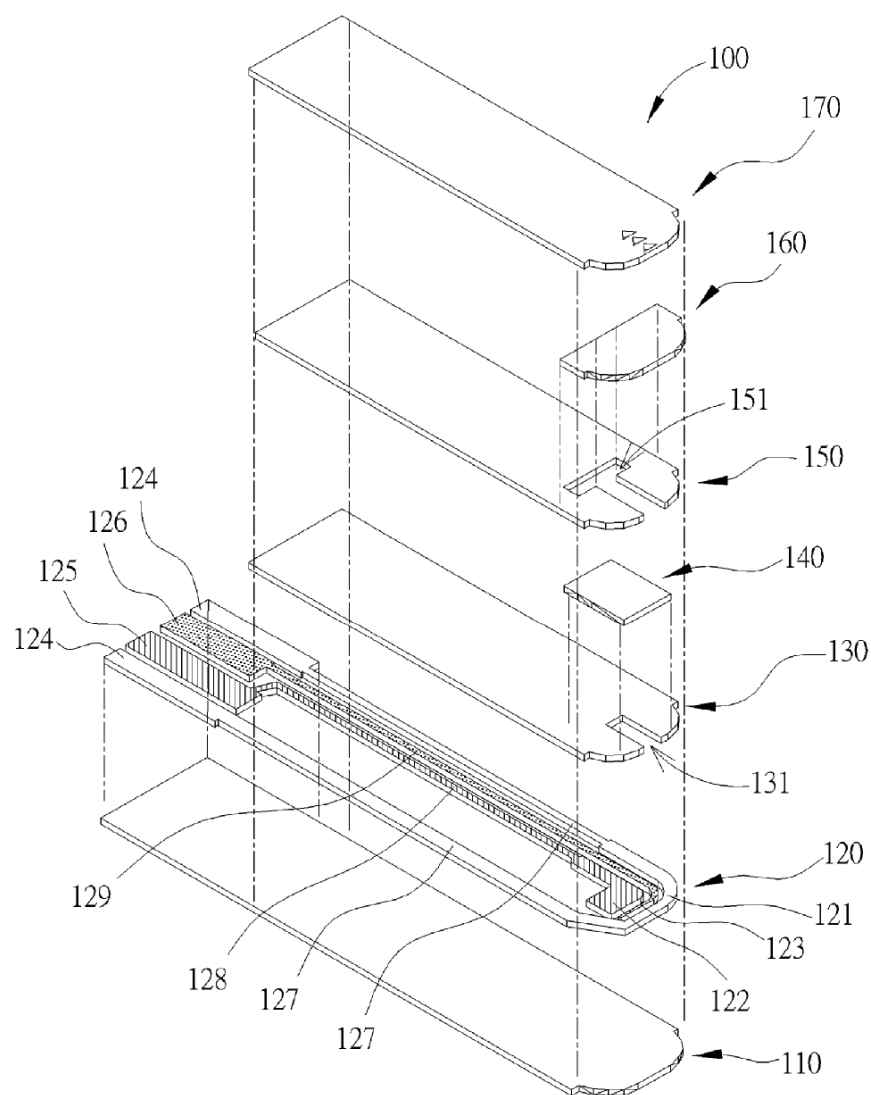


FIG. 1

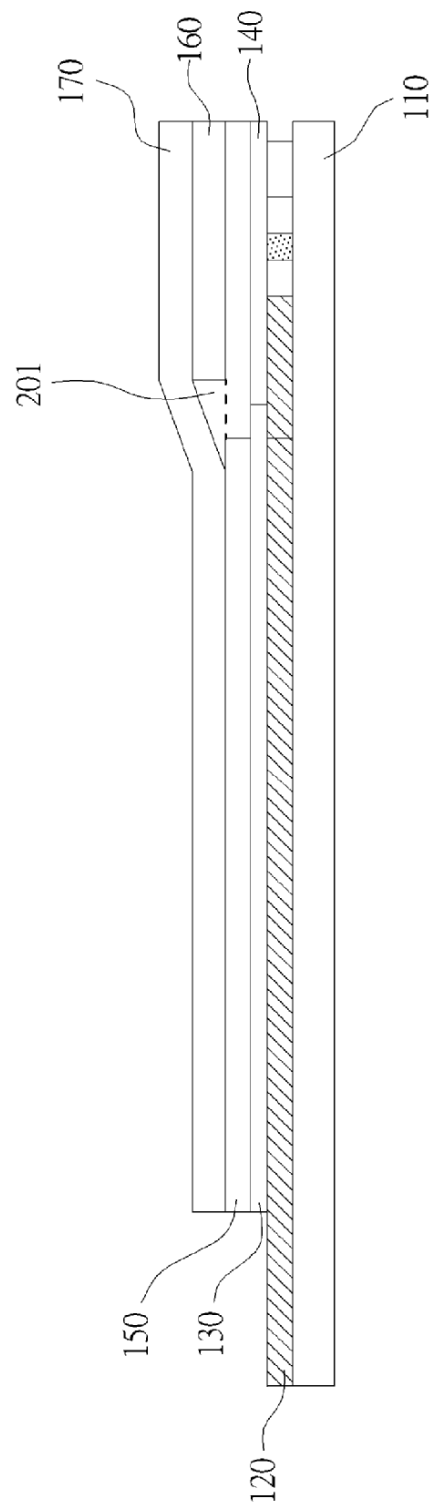


FIG. 2

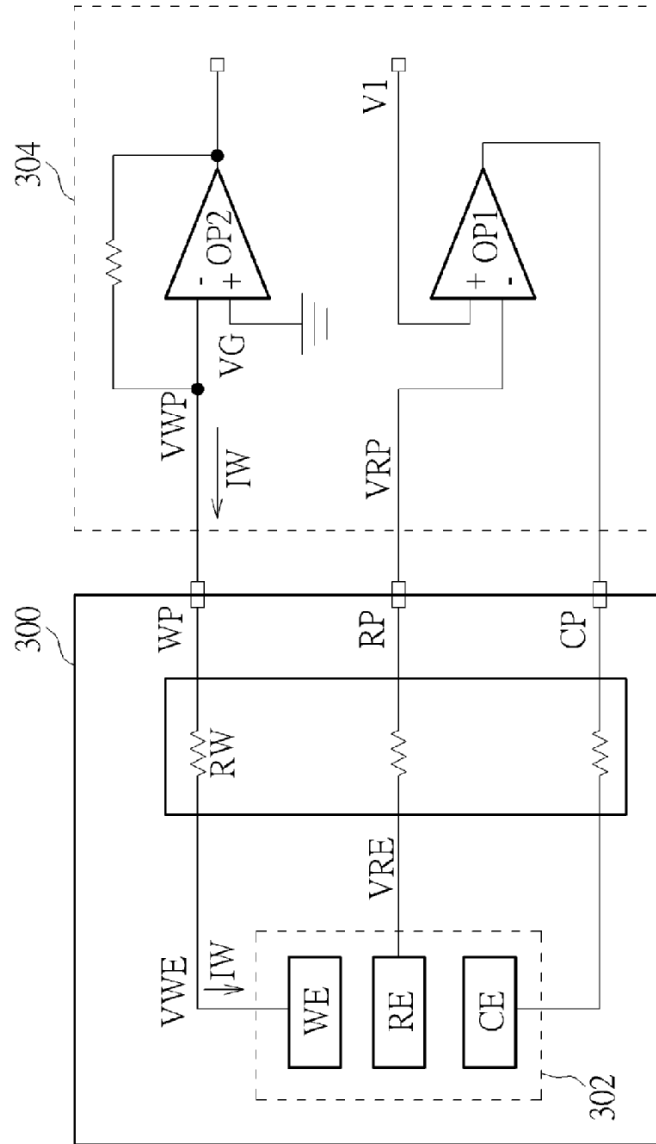


FIG. 3

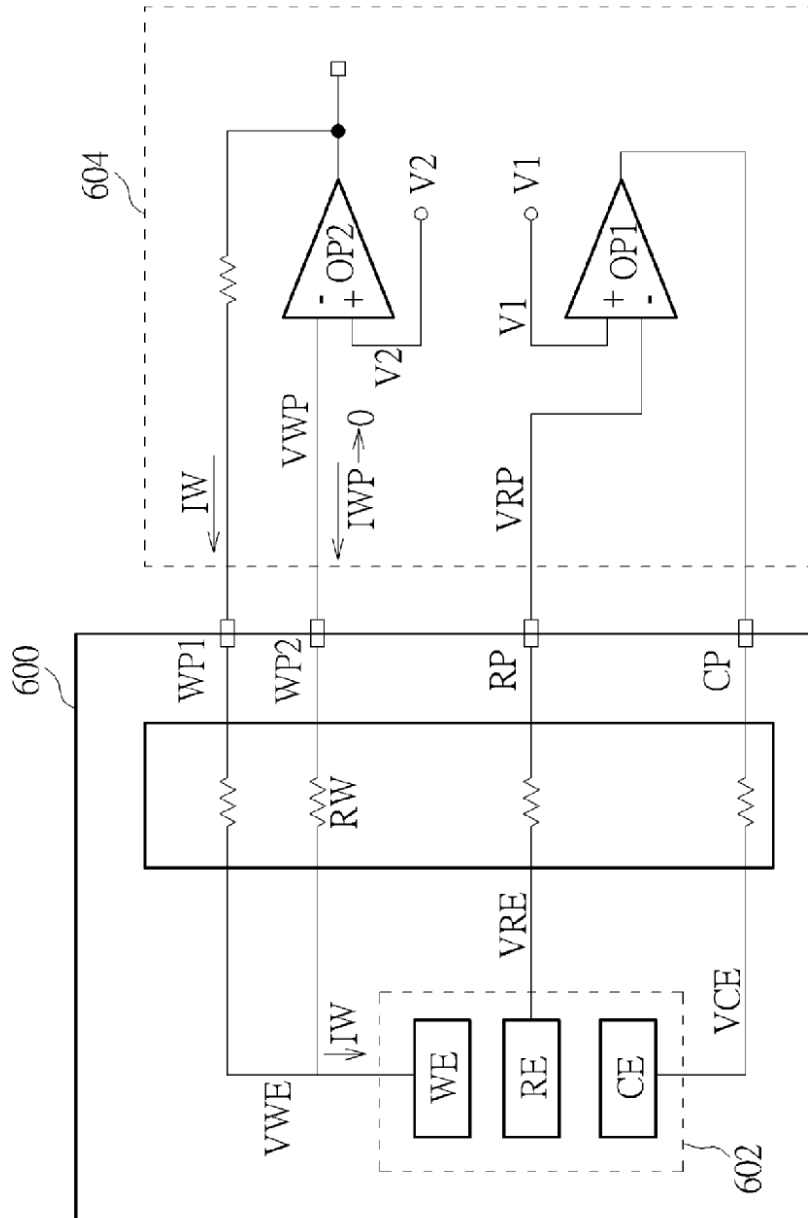


FIG. 4

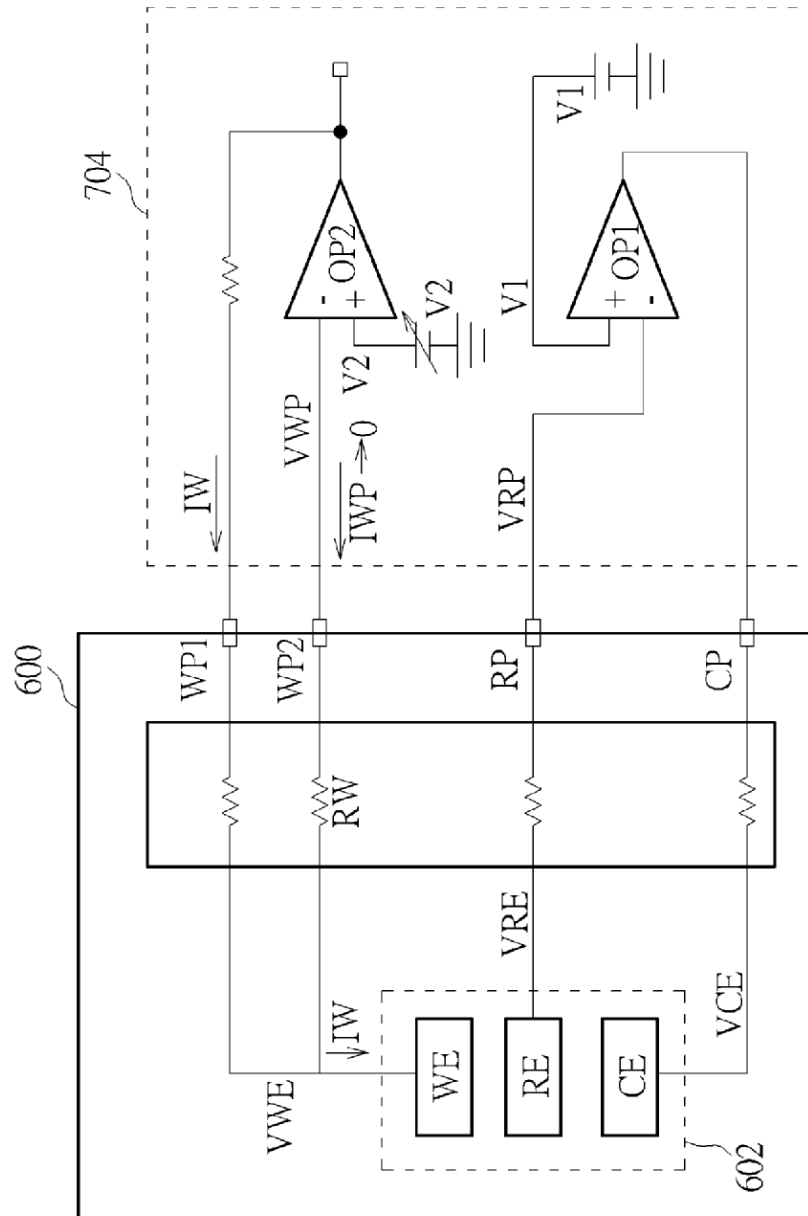


FIG. 5

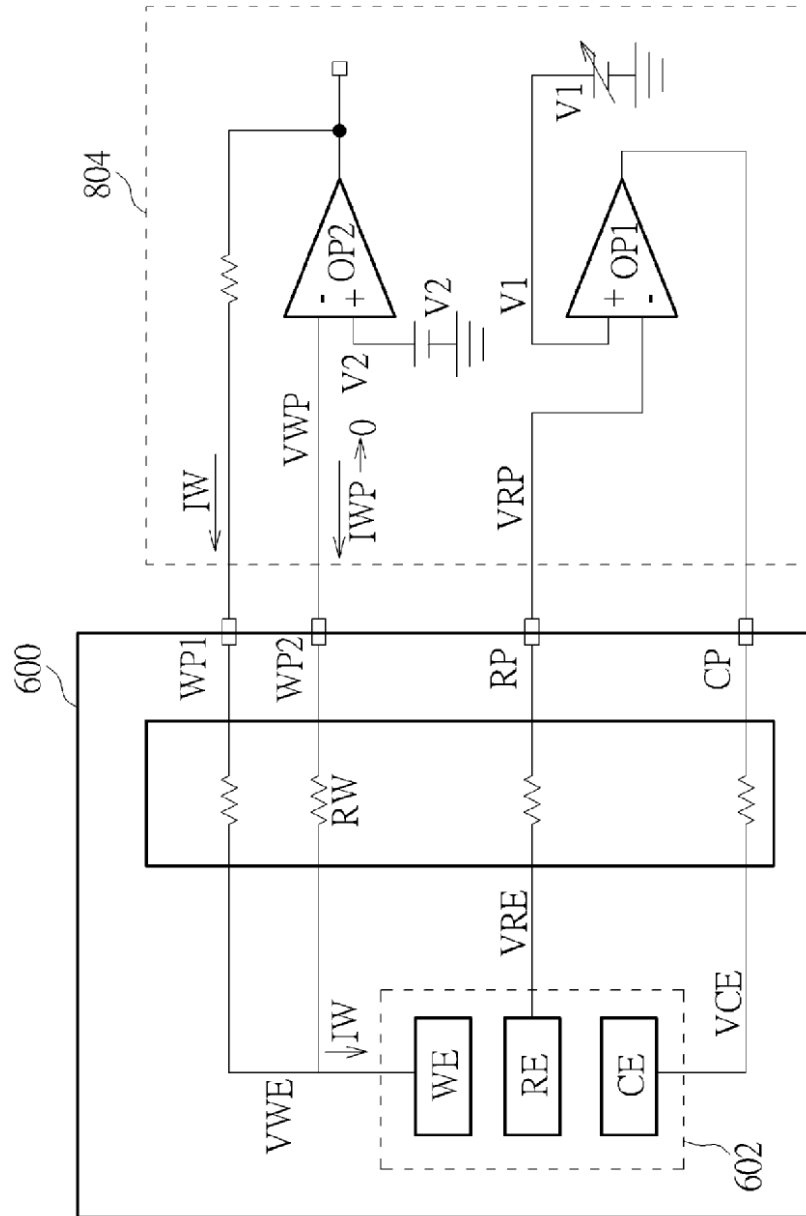


FIG. 6

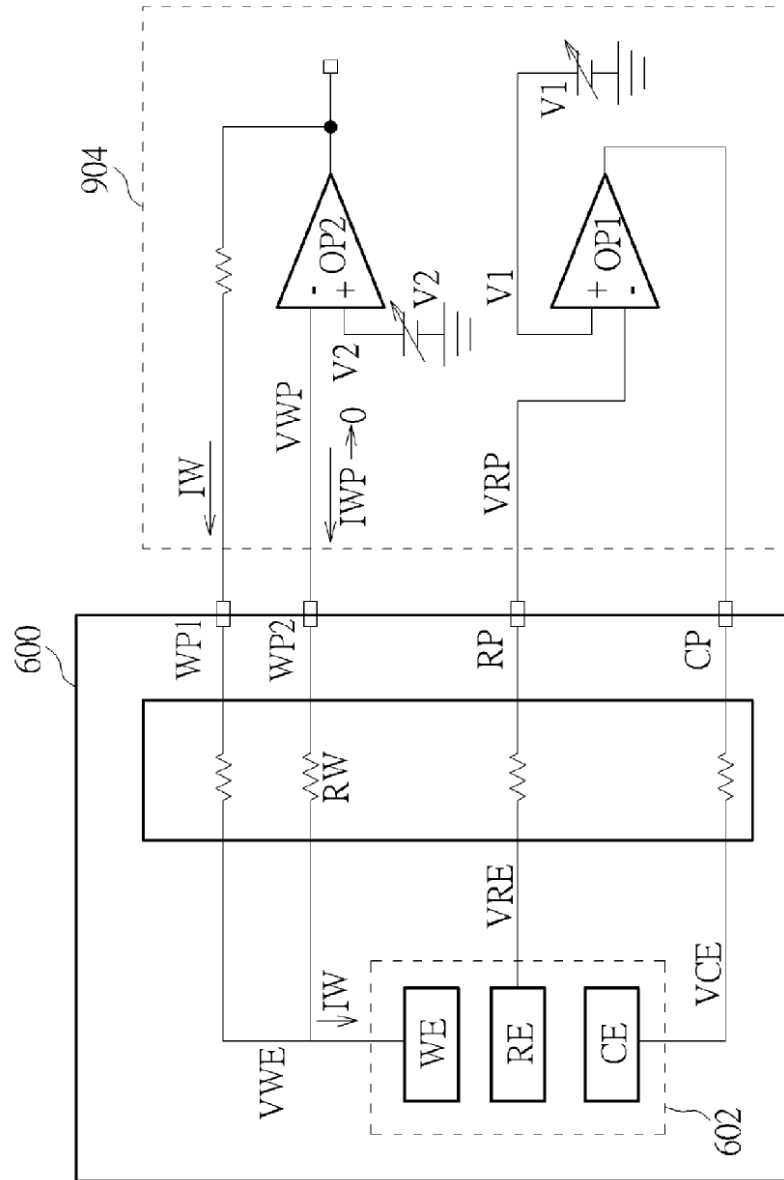


FIG. 7

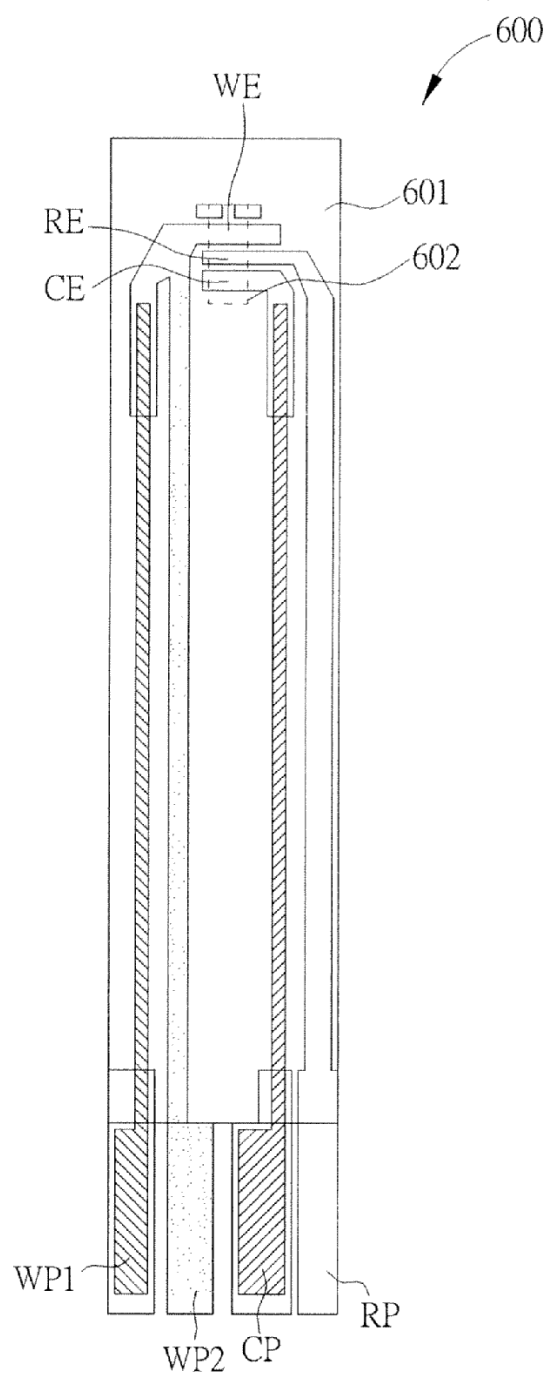


FIG. 8

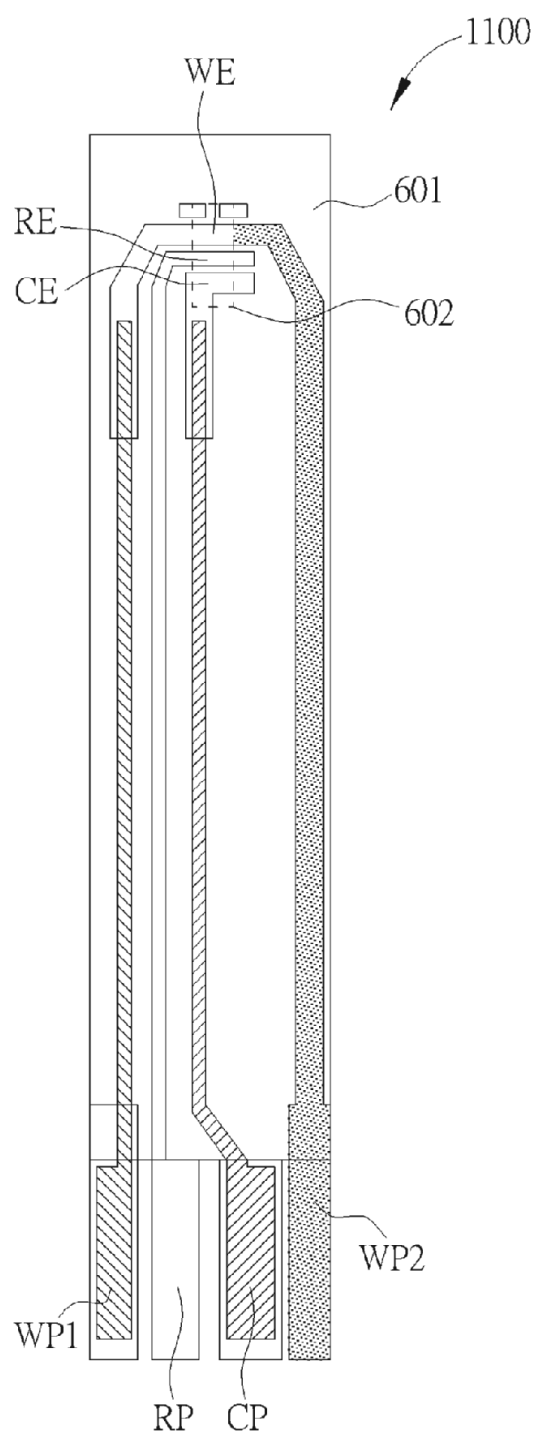


FIG. 9

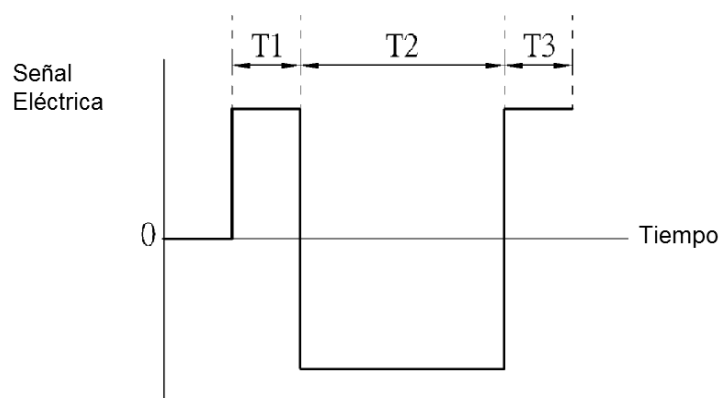
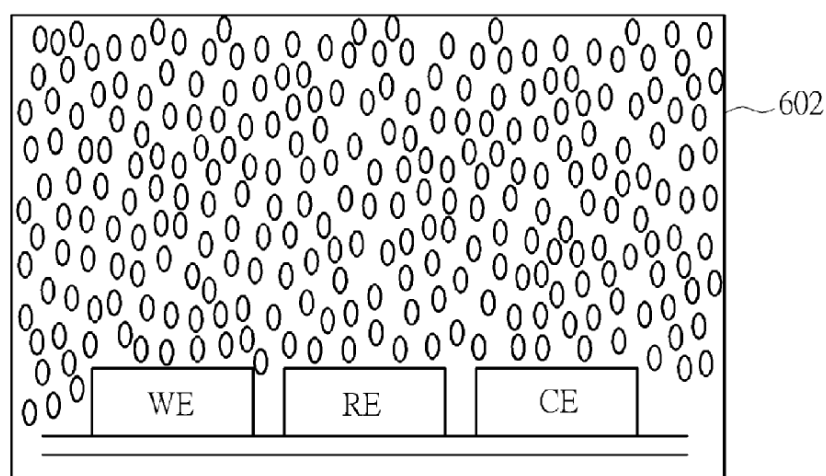
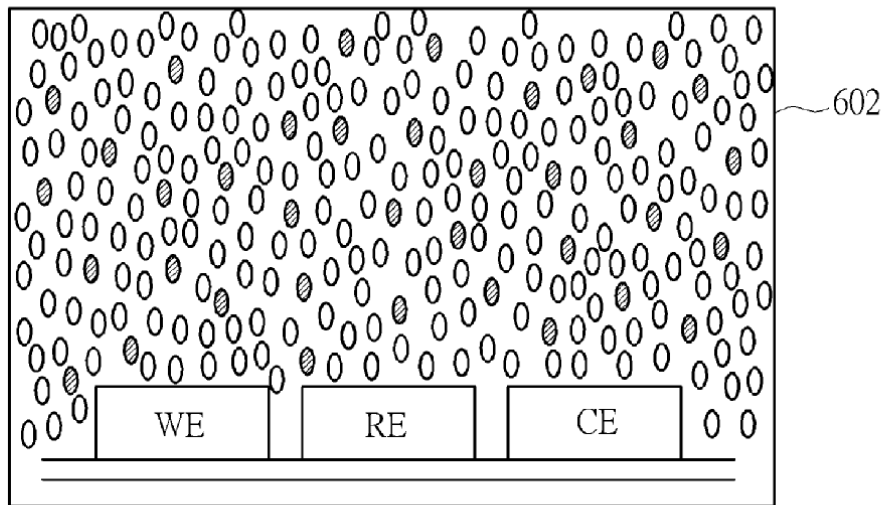


FIG. 10



0 Mediador

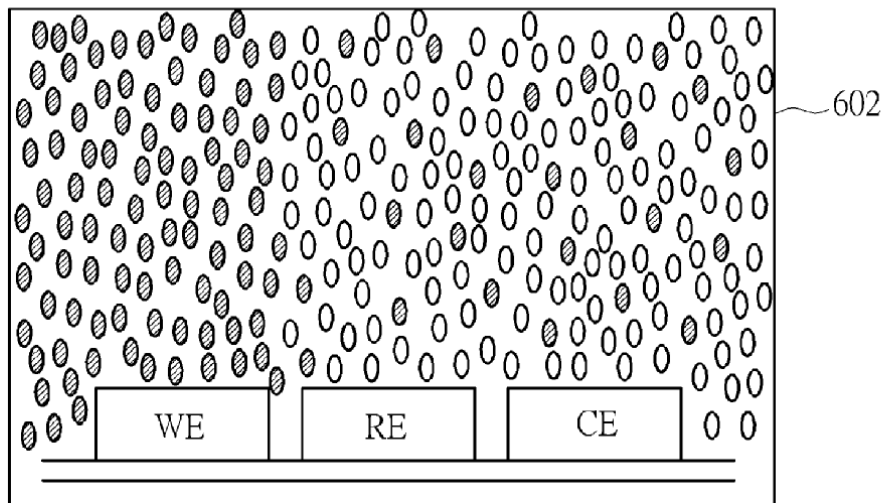
FIG. 11



○ Mediador

◐ Mediador con estado reducido

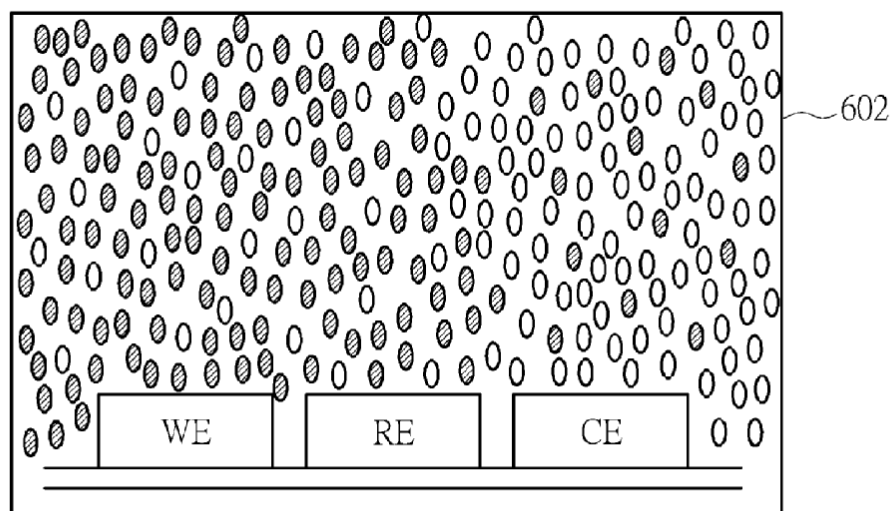
FIG. 12



○ Mediador

◐ Mediador con estado reducido

FIG. 13



○ Mediador

◐ Mediador con estado reducido

FIG. 14

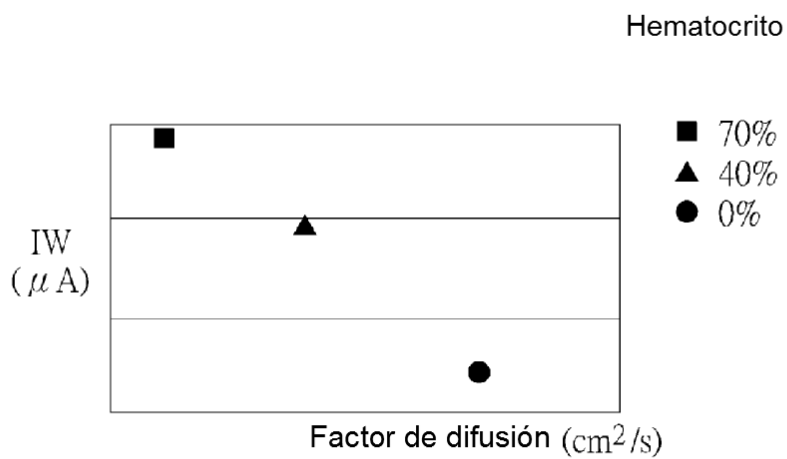


FIG. 15

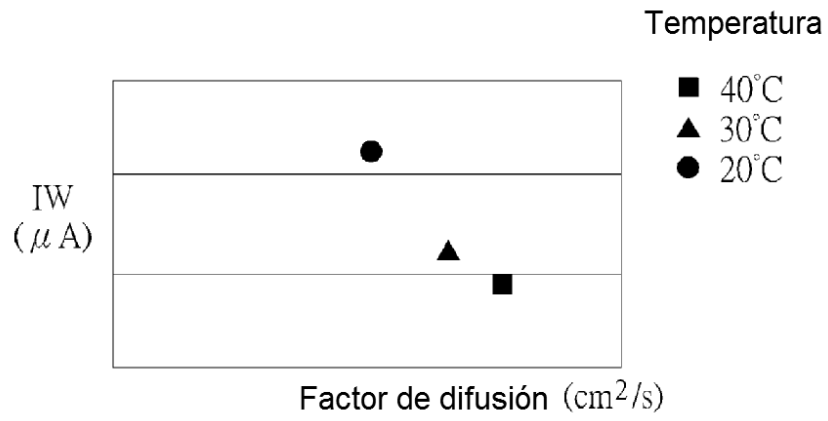


FIG. 16

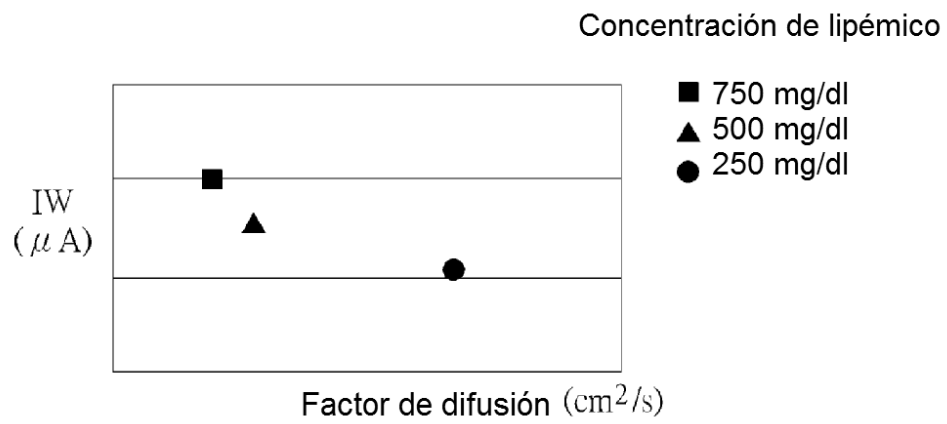


FIG. 17

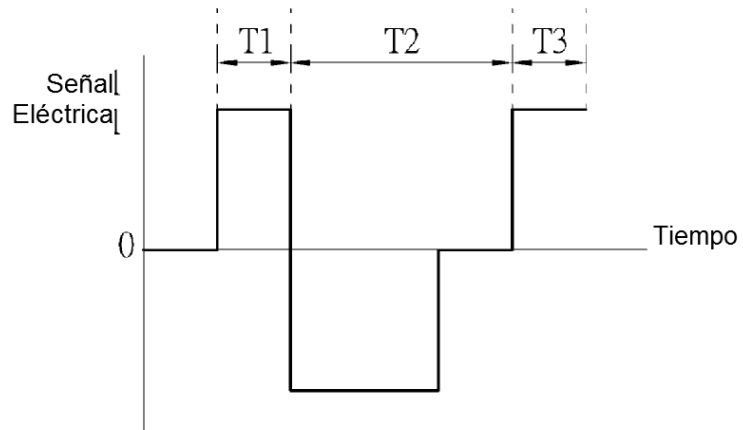


FIG. 18

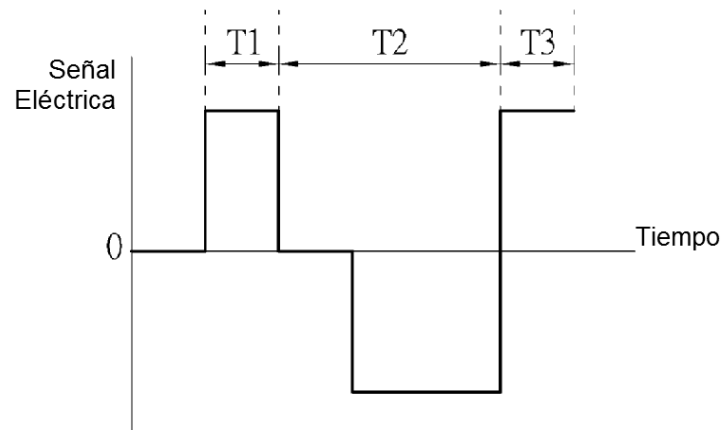


FIG. 19

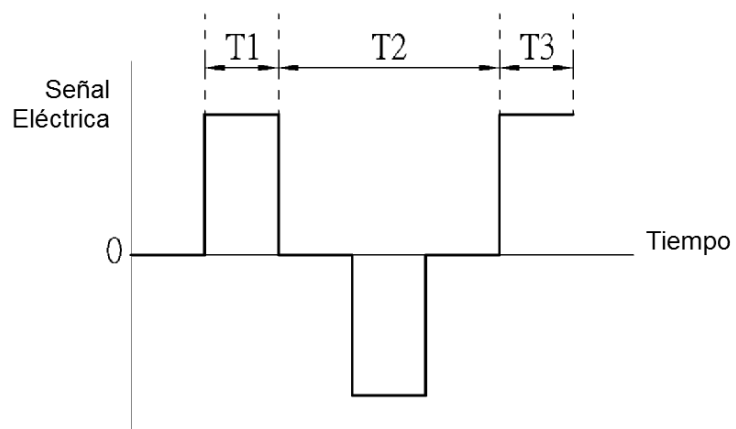


FIG. 20

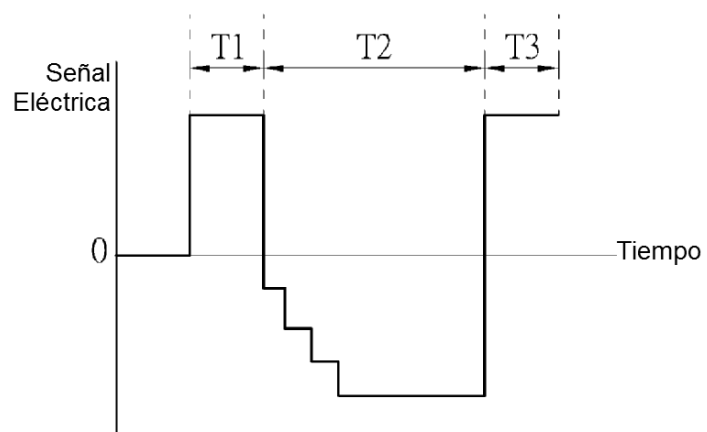


FIG. 21

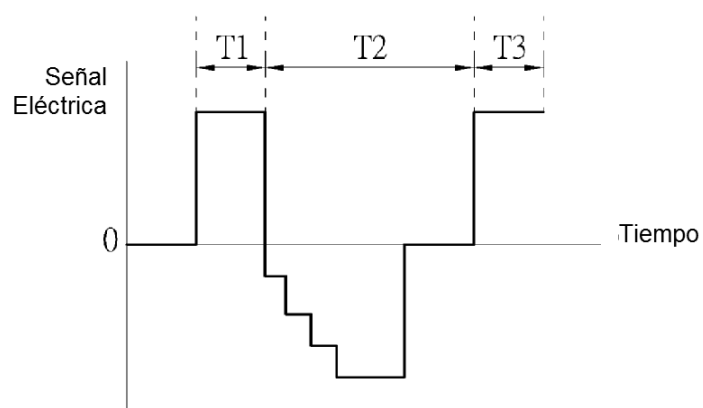


FIG. 22

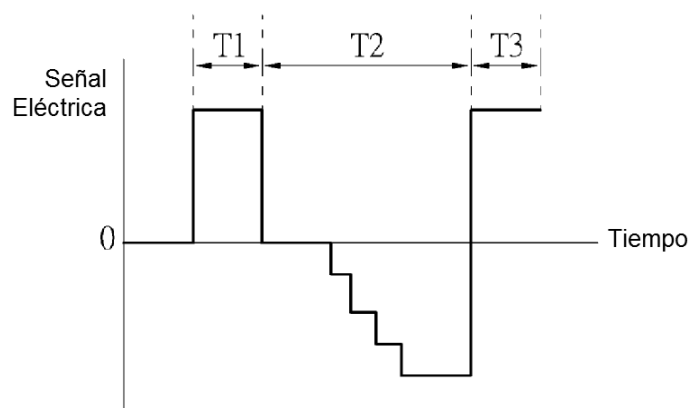


FIG. 23

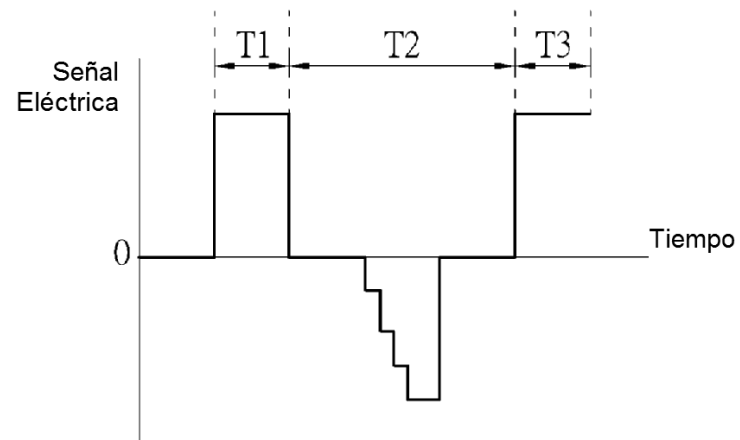


FIG. 24

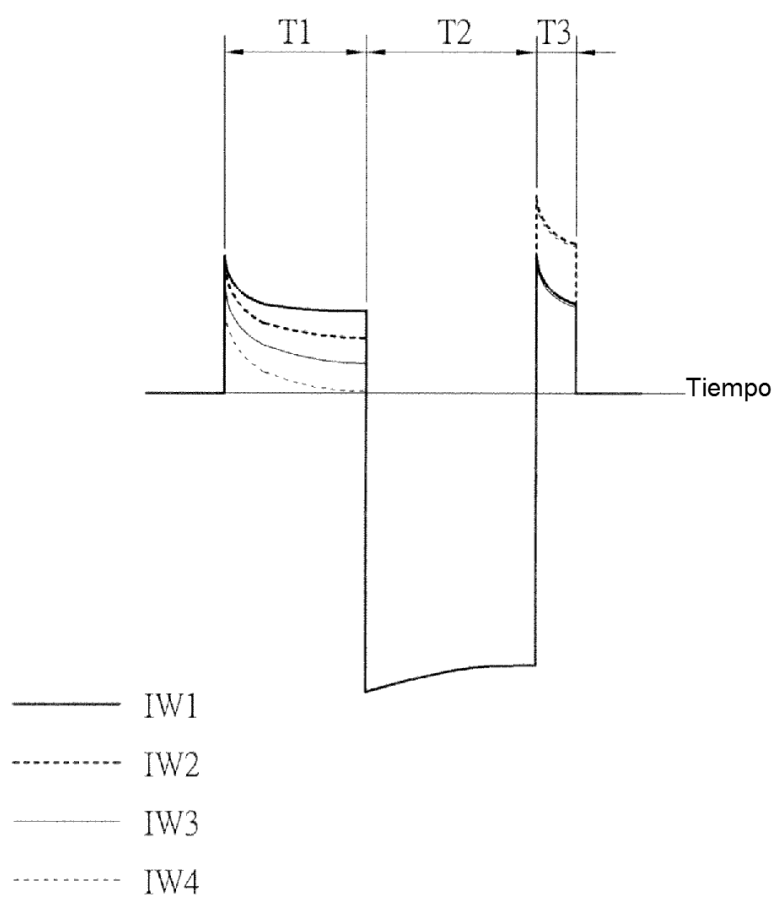


FIG. 25

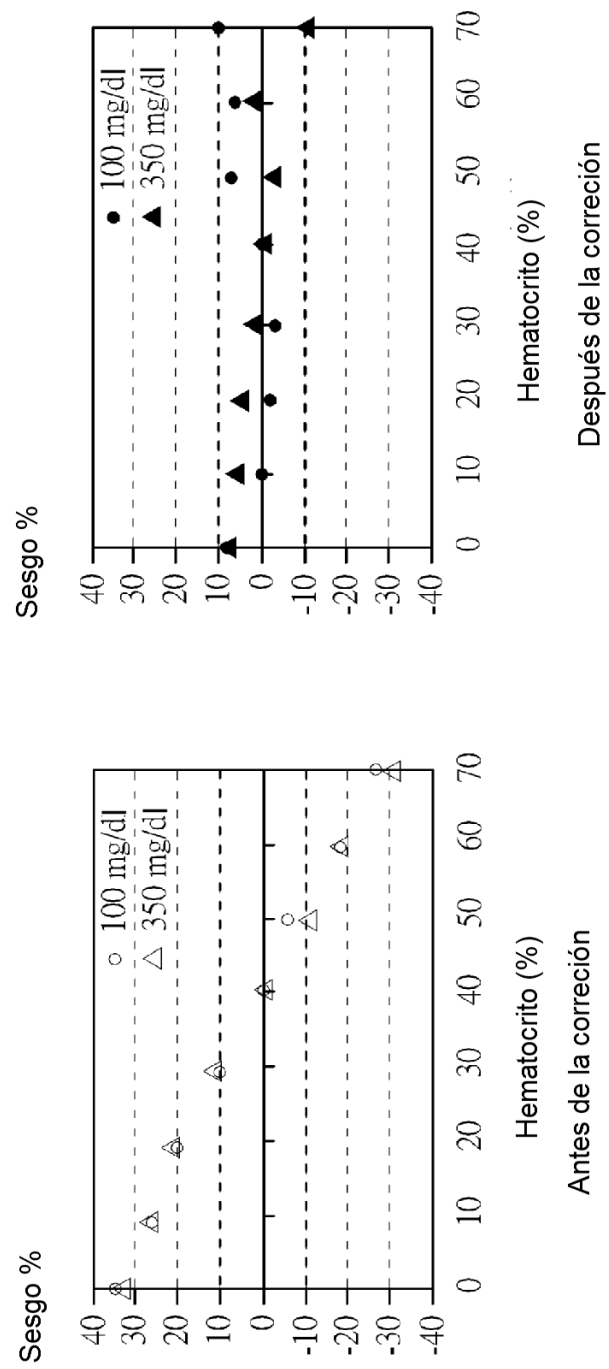


FIG. 26

FIG. 27

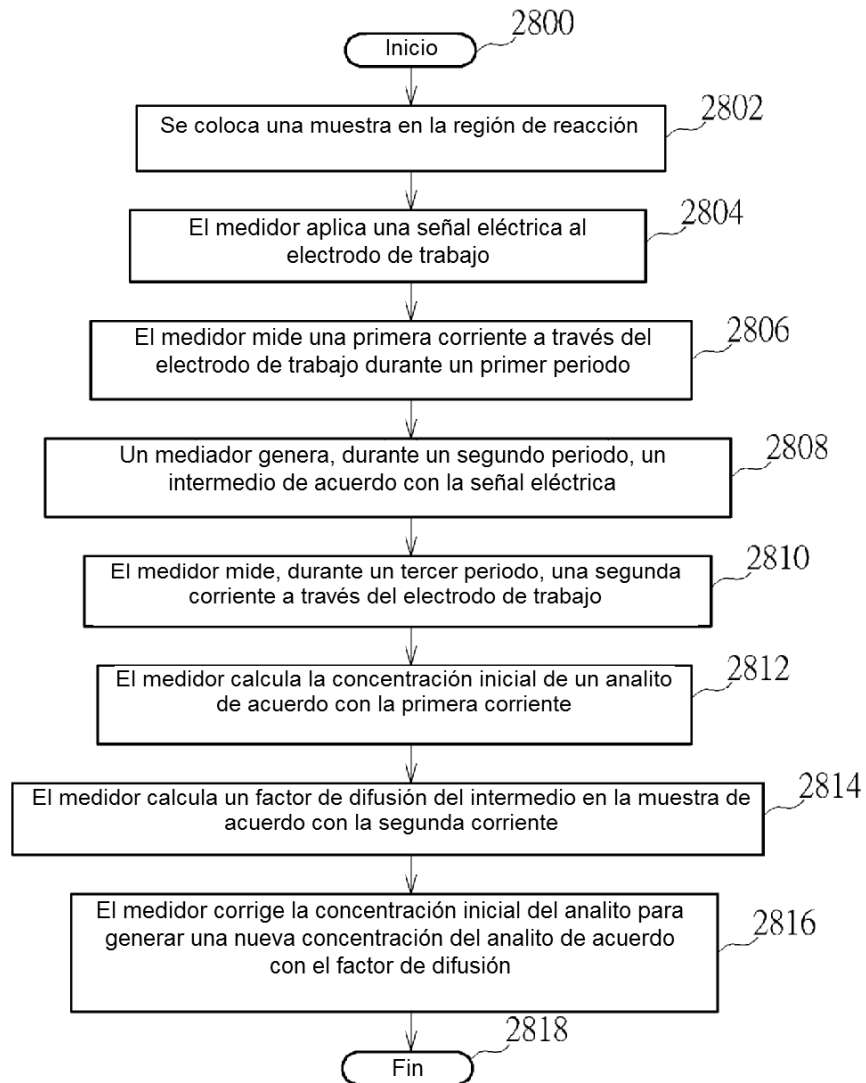


FIG. 28

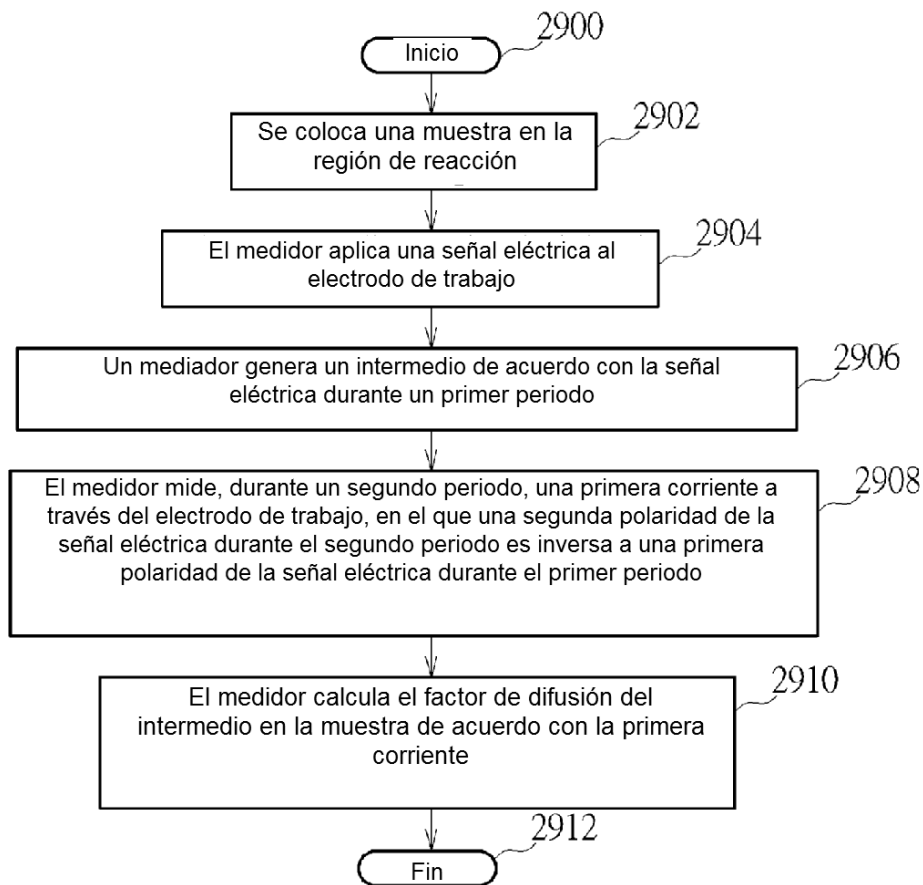


FIG. 29