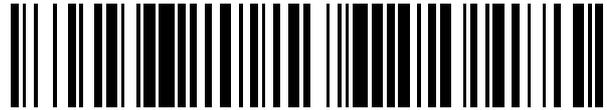


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 755**

51 Int. Cl.:

A61B 5/145 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2013 PCT/GB2013/051322**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.11.2013 WO13175196**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2013 E 13730047 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2852323**

54 Título: **Medición acumulativa de un analito**

30 Prioridad:

21.05.2012 GB 201208950

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

01.06.2017

73 Titular/es:

**DERMAL DIAGNOSTICS LIMITED (100.0%)
Loughborough Innovation Centre Holywell Park,
Ashby Road
Loughborough LE11 3AQ, GB**

72 Inventor/es:

CHOWDHURY, DEWAN FAZLUL HOQUE

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 614 755 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

Medición acumulativa de un analito

Campo técnico

5 La invención versa acerca de procedimientos y dispositivos para monitorizar el nivel de un analito en un sujeto, por ejemplo para medir cambios en el nivel de glucosa en la sangre o líquido intersticial de un paciente durante un periodo de tiempo. Tiene una utilidad particular cuando las concentraciones del analito que pueden extraerse del sujeto son bajas, cosa que sucede normalmente cuando se utiliza iontoforesis inversa como procedimiento de extracción.

Antecedentes de la invención

10 Los dispositivos de monitorización continua de glucosa utilizan la técnica de iontoforesis inversa para extraer el analito de glucosa del líquido intersticial de un paciente con el fin de medir cambios en los niveles de glucosa. Tales dispositivos adoptan la forma de un parche mantenido en contacto íntimo con la piel de un paciente y comprenden una cámara de detección que contiene sensores electroquímicos que están dispuestos para formar parte de un
15 circuito eléctrico. La cámara está llena de un medio fluido o un gel a través del cual el analito puede difundirse o ser transportado desde la piel hasta los sensores. Bien el medio o bien una superficie de los sensores está impregnado con una enzima que reacciona con el analito para convertirlo en una forma distinta (ácido glucónico en el caso de un analito de glucosa) y para producir electrones en el proceso. Los electrones pueden fluir en torno al circuito para crear una corriente, cuya magnitud se corresponde con la concentración del analito en el medio que rodea el sensor. Sin embargo, normalmente, la magnitud de la corriente es solo decenas o cientos de nanoamperios, por lo que es un
20 reto medirla con precisión y distinguir la señal de corriente del ruido eléctrico de fondo. Además, los sensores pueden no funcionar de forma lineal y fiable a bajas concentraciones del analito en la muestra.

Se hacen funcionar dispositivos conocidos para llevar a cabo un periodo inicial de iontoforesis inversa para una extracción del analito, seguido de un periodo de detección, que a menudo es 2 a 3 veces mayor que el periodo de extracción, de forma que se garantice que todo el analito que se ha extraído del sujeto durante el periodo precedente
25 tiene tiempo para reaccionar con los sensores. Un dispositivo de monitorización de glucosa que estuvo disponible comercialmente con la marca registrada Gluowatch operaba con un periodo de iontoforesis de 3 minutos seguido de un periodo de detección de 4 a 5 minutos. Se repite el ciclo a intervalos, cada vez que se requiere una nueva lectura del nivel de glucosa del sujeto, y en cada ocasión el periodo de detección es suficientemente largo como para consumir sustancialmente toda la glucosa extraída en la muestra. En el documento US 2001 / 0016682 se describe tal dispositivo de monitorización de glucosa.

30 Sumario de la invención

La invención proporciona un procedimiento de monitorización del nivel de un analito en un sujeto, que comprende las etapas de:

- 35 (a) medir la concentración del analito en una muestra;
- (b) introducir en la muestra una cantidad del analito que es representativa del nivel de analito en el sujeto;
- (c) volver a medir la concentración del analito en la muestra;
- 40 (d) determinar el nivel del analito en el sujeto en función de la diferencia entre la medición de la concentración en la etapa (c) y la anterior medición de la concentración; y
- (e) repetir las etapas (b) a (d) a intervalos para generar una secuencia de determinaciones en el tiempo.

45 La presente invención difiere de la técnica anterior porque el procedimiento no depende de la medición del valor absoluto de la concentración del analito en la muestra sino de la diferencia entre las concentraciones tras intervalos sucesivos de extracción del sujeto. Por lo tanto, se puede permitir que se acumule la concentración del analito en la muestra en intervalos sucesivos y la magnitud de la señal procedente de los sensores aumenta en consecuencia, lo que permite una medición más precisa y exacta.

50 En el caso en el que el procedimiento utilizado para medir la concentración de analito en la muestra consuma el analito en la muestra, se puede controlar la medición en la etapa (c), de forma que cada medición únicamente consuma una pequeña proporción del analito, para garantizar que la concentración del analito en la muestra aumente en intervalos sucesivos. Si es necesario, la determinación del nivel de analito en la etapa (d) puede emplear un algoritmo que tiene en cuenta el consumo del analito debido al procedimiento de medición. La etapa de determinación también puede tener en cuenta el consumo del analito durante los intervalos entre mediciones
55 sucesivas. De forma alternativa, si hay un periodo de descanso entre cada etapa (c) de medición y la etapa sucesiva (b) de introducción, entonces el procedimiento puede comprender una etapa adicional de realización de una

medición provisional de la concentración del analito en la muestra tras el periodo de descanso, inmediatamente antes de cada etapa (b) de introducción, habiendo de usarse esa medición provisional como la anterior medición de la concentración en la etapa (d) de determinación.

5 Una variante preferente del procedimiento según la invención incluye una etapa inicial de introducción en la muestra de una cantidad del analito antes de la primera etapa (a) de medición, preferentemente de una fuente distinta del sujeto. La cantidad inicial del analito garantiza que incluso en la primera etapa de medición, la concentración del analito es suficiente para que se realice una medición precisa.

10 La iontoforesis inversa es una técnica preferida para la etapa (b) de introducción en la muestra de una cantidad del analito que es representativa del nivel de analito en el sujeto. Sin embargo, se podrían utilizar otras técnicas, por ejemplo añadiendo simplemente una gota de sangre u otro fluido en la muestra (teniendo en cuenta debidamente cualquier cambio resultante en el volumen de la muestra cuando se mide la concentración del analito).

Preferentemente, el analito es glucosa, pero son posibles dianas otras moléculas, iones o partículas, por ejemplo lactato, urea, potasio, fenilalanina, prostaglandina, E2 y fármacos que incluyen, sin limitación, fenitoína, cafeína, teofilina y litio.

15 Si el nivel determinado del analito se desvía de un intervalo predeterminado de valores aceptables, se puede generar una señal de aviso.

Dibujos

20 La Figura 1 es una sección transversal esquemática a través de un parche de iontoforesis inversa en el que se puede llevar a cabo la presente invención.

La Figura 2 es un gráfico de mediciones de corriente en función del tiempo de un sensor de glucosa puesto en contacto con (a) glucosa extraída acumulativamente de piel porcina y (b) una disolución tampón.

La Figura 3 es un gráfico de las diferencias entre mediciones sucesivas de corriente del gráfico (a) de la Figura 2.

25 Descripción detallada de la invención

La Figura 1 (no a escala) muestra, de forma esquemática, parte de un parche 2 de iontoforesis inversa, que se aplica a la superficie de la piel 4 de un sujeto. Se puede mantener el parche 2 contra la piel 4 mediante cualquier medio, por ejemplo por medio de una capa adhesiva (no mostrada) que forma parte del parche 2 o sujetándolo por medio de una banda elástica o algún otro medio mecánico adecuado de restricción. El parche incluye una cámara ánódica 6 y una cámara catódica 7, conteniendo cada una un líquido conductor u otro medio 8 que se encuentra en contacto con la superficie de la piel 4, bien directamente o bien a través de una membrana permeable (no mostrada). En el caso en el que se almacena el medio conductor como un líquido antes de su uso, se puede dotar a las cámaras 6, 7 de orificios 10 de entrada, a través de los cuales se puede suministrar el líquido 8 desde una fuente exterior al parche 2. Una vez ha entrado el líquido en la cámara puede permanecer como un medio conductor líquido o puede reaccionar para formar un medio viscoso similar a un gel, haciendo que reaccione cuando sea necesario con un agente adecuado, en forma seca o semisólida, tal como un agente de aumento de la viscosidad o un agente reticulante que se almacena de antemano en el interior de la cámara anódica y/o catódica; este procedimiento mejoraría la estabilidad de los sensores evitando el contacto del líquido con la superficie del sensor en almacenamiento. En el caso de sensores a base de enzimas, por ejemplo, la enzima es susceptible de ser degradada cuando hace contacto con líquidos durante periodos prolongados.

Las cámaras respectivas 6, 7 contienen un par de electrodos de trabajo, en concreto un ánodo 14 y un cátodo 15, cada uno de los cuales está sumergido en el líquido 8. Durante la operación del dispositivo para llevar a cabo una iontoforesis inversa, se controlan los electrodos 14, 15 de trabajo por medio de circuitería microelectrónica 16 dentro del parche 2 para inducir un flujo de iones 18 desde la piel 4 del sujeto hacia el cátodo 15 y un flujo de equilibrio de iones 19 al interior de la piel 4 desde el ánodo 14. El flujo de iones 18 que sale de la piel 4 transporta analitos desde el líquido intersticial del sujeto al interior del líquido 8 en la cámara catódica 7, en la que se dispersan y quedan disponibles para su detección por medio de los sensores 22, 24. El sensor 22 puede ser un electrodo de detección que está dotado de un recubrimiento que reacciona electroquímicamente con un analito diana en el líquido 8, por ejemplo glucosa, para generar una corriente mensurable desde el electrodo 22 que indica la tasa de reacción y, por lo tanto, la concentración del analito diana en el líquido 8. Se puede utilizar un electrodo similar 24 de detección para medir la concentración de un analito distinto de una forma similar. Cada uno de los electrodos 22, 24 de detección puede requerir un contraelectrodo correspondiente (no mostrado) en contacto con el líquido 8 para completar un circuito eléctrico. El contraelectrodo puede ser un electrodo dedicado o puede ser uno de los electrodos 14, 15 de trabajo, según se conoce en la técnica. Se puede sustituir el sensor para detectar y medir las especies de prueba y el analito con alternativas adecuadas establecidas de forma generalizada como el estado actual de la técnica, incluyendo sensores fluorescentes, sensores de tipo electrodo selectivos a iones, sensores basados en ADN/ARN y sensores basados en anticuerpos.

El fin del parche 2 es proporcionar una medición de la concentración del analito diana en el líquido intersticial del sujeto. Se hace funcionar el parche 2 para llevar a cabo una iontoforesis inversa durante un periodo dado de tiempo. Durante la iontoforesis inversa, se dicta la tasa de extracción de analitos de la piel 4 principalmente por la intensidad de la corriente que fluye a través de la piel y por la concentración de los analitos en la piel. Para un diseño dado de parche, la intensidad de la corriente debería ser sustancialmente constante de modo que, al final del periodo operativo, la cantidad de analito que se ha acumulado en la cámara debería ser un reflejo verdadero de la concentración del analito en el líquido intersticial del sujeto.

Se describirá ahora un procedimiento preferente de funcionamiento del dispositivo según la presente invención para monitorizar los niveles sanguíneos de glucosa en un sujeto. Uno de los electrodos 22 de detección tiene inmovilizada en su superficie la enzima glucosa oxidasa, que es capaz de oxidar la glucosa presente en la cámara 7 de muestras, dando lugar a la producción de electrones en presencia de un mediador adecuado. Se recogen los electrones por medio del electrodo 22 de detección para generar una corriente pequeña, que puede ser detectada por medio de la circuitería 16 para medir la concentración de moléculas de glucosa en la cámara 7.

En una etapa inicial, se ceba la muestra de fluido en la cámara 7 con una cantidad de glucosa suficiente para que se mida de forma fiable la concentración en la muestra. A bajas concentraciones, puede ser difícil distinguir la corriente generada del ruido eléctrico de fondo en el circuito. Además, aunque se puede producir un sensor con una sensibilidad muy elevada, es decir una resolución elevada de solo nanoamperios o concentraciones submicromolares de glucosa, se halló que el límite de cuantificación (el punto desde el que el sensor se comporta de forma lineal) es mucho mayor, en concreto aproximadamente 5-10 micromoles. Se debería escoger la cantidad inicial de glucosa utilizada para cebar la cámara para crear al menos una concentración umbral en la cámara que es suficiente para superar estos problemas. Se podría proporcionar la cantidad inicial de glucosa procedente del sujeto haciendo funcionar el procedimiento de iontoforesis inversa durante un periodo suficientemente prolongado, pero se prefiere que sea introducida en la cámara desde una fuente independiente, opcionalmente en el momento de la fabricación. Dado también que la glucosa actúa como combustible para los microbios, puede ser preferible arrastrar a la glucosa al interior de la cámara de detección en una forma que no afecte a la estabilidad del sensor, tal como una película seca, polvo, material particulado o en forma semisólida, en vez de incorporarla en el electrolito. Esta se disolvería y dispersaría en el electrolito líquido que es transportado a la cámara de detección inmediatamente antes del uso del parche y del dispositivo. Entonces, se realiza una medición inicial de la concentración de glucosa en la cámara 7.

A continuación, se operan los electrodos 14, 15 de trabajo del dispositivo para llevar a cabo una iontoforesis inversa durante un periodo de tiempo necesario para extraer una cantidad mensurable de glucosa procedente del sujeto y suministrarla a la cámara 7 de muestras. Este puede ser un periodo más breve que en la técnica anterior debido a que la cantidad de glucosa extraída no tiene que alcanzar un nivel umbral para una medición fiable, que ya se ha conseguido mediante el cebado inicial de la muestra. La cantidad extraída solo tiene que ser suficiente para permitir una diferencia en concentración en la muestra que ha de ser detectada, según se describe a continuación. El periodo de extracción puede variar desde 2 hasta 15 minutos.

Inmediatamente tras el periodo de extracción, se hace funcionar el electrodo 22 de detección para realizar una medición "puntual" de la concentración de glucosa en la cámara 7 de muestras. La operación del electrodo implica la oxidación de glucosa convirtiéndose en ácido glucónico, consumiendo, de esta manera, la concentración de glucosa mensurable en la cámara. Mientras que en la técnica anterior el objetivo fue medir y, por lo tanto, consumir toda la glucosa en la cámara, según la presente invención se desea minimizar tal consumo, para que la concentración de glucosa se acumule en intervalos sucesivos de operación. Por lo tanto, la etapa de medición debería llevarse a cabo durante un tiempo tan breve como sea posible, suficiente para determinar un valor apropiado de concentración, por ejemplo 1 o 2 minutos. En un ejemplo, se realizan 10 lecturas durante 120 segundos, y se promedia la corriente de pico en una región estable para proporcionar la lectura de corriente para este punto temporal particular.

Normalmente, entonces sigue un retraso antes de un ciclo adicional de extracción y luego se lleva a cabo una medición, dependiendo de la frecuencia de mediciones que se requiere para el sujeto en cuestión.

El procedimiento de funcionamiento del dispositivo según la invención no consume toda la concentración de glucosa en la cámara de muestras; por lo tanto, el nivel de glucosa se acumula en el tiempo y se registra un perfil acumulativo de glucosa según se muestra en la Figura 2. El gráfico marcado Dev001 muestra las señales de corriente medidas desde la extracción acumulativa de glucosa durante un periodo de 5 horas utilizando piel porcina bañada en una disolución 10 mM de glucosa. La piel fue sometida a una iontoforesis inversa con una densidad de corriente de $0,3 \text{ mA cm}^{-2}$ durante 5 minutos, entonces se activó el sensor durante 2 minutos y se tomaron lecturas periódicamente durante ese tiempo. Se promedian las lecturas del sensor de una región estable de meseta para derivar el valor trazado. Esto fue seguido de un periodo de descanso de 8 minutos antes de que se repitiese el ciclo, durante un periodo total de 5 horas en este caso. El gráfico marcado Dev004 representa una muestra de control de piel porcina bañada solo en tampón, que fue sometida a una iontoforesis de forma similar.

El declive inicial observado en la corriente que aparece en los gráficos en la Figura 2 está relacionado con la humectación del sensor; el ahusamiento observado en el gráfico de glucosa es debido al consumo del electrodo de trabajo utilizado para la iontoforesis inversa en este conjunto de experimentos.

5 La lectura de glucosa en cualquier punto de medición se deriva de la diferencia entre dos lecturas puntuales sucesivas, según se muestra en la Figura 3. El gráfico muestra la diferencia entre cada lectura de glucosa en la Figura 2 y la anterior, trazada en función del tiempo durante las primeras 4 horas. Se halló que la acumulación acumulativa de la concentración de glucosa no afecta a la capacidad de los sensores para distinguir entre lecturas, de forma que los distintos niveles de glucosa de la piel, haya una diferencia discernible entre mediciones sucesivas de concentración. Los sensores retienen una resolución hasta niveles de solo nanoamperios (o incluso
10 picoamperios) aunque miden corrientes de cientos de nanoamperios.

Con referencia a la Figura 3, se observa una fase inicial de latencia mientras se equilibra la piel, denominada, si no, fase de calentamiento. Tras esto, los resultados muestran claramente una estabilización de los niveles de glucosa extraídos durante intervalos sucesivos, y la concentración en puntos sucesivos es sustancialmente constante para la corriente constante dada aplicada a la piel durante el procedimiento de iontoforesis inversa. Se llevó a cabo el experimento con piel porcina de grosor total (2-3 mm), en un entorno de laboratorio sin ningún flujo sanguíneo capilar; por lo tanto, la glucosa fue extraída del depósito a través de todo el grosor de la piel, depósito con el que se puso en contacto el lado inferior de la piel. En un sujeto humano vivo habría presente líquido intersticial en los primeros 0,5-1 mm de la piel, por lo que cabría esperar que la fase de calentamiento sea sustancialmente más breve.
15

20 En un parche fabricado según la invención, se podría aumentar la frecuencia o duración de las etapas de iontoforesis durante la fase de calentamiento para acortar adicionalmente esa fase. Se podría programar el algoritmo de detección para reconocer el final de la fase de calentamiento en función de la estabilización sustancial de los niveles detectados de analito. De forma similar, temprano en la operación del parche, se podría repetir la etapa de medición de la concentración de analito en la muestra un número de veces en sucesión rápida (por ejemplo, 15 veces) para garantizar una humectación adecuada del sensor para proporcionar lecturas estables.
25

Se utiliza un algoritmo para determinar el nivel de glucosa en sangre del sujeto a partir de la diferencia entre mediciones sucesivas de concentración en la muestra en cada intervalo. Se debe calibrar el algoritmo no solo en cuanto a la duración del procedimiento de iontoforesis inversa sino en cuanto a la eficacia preestablecida del procedimiento en la extracción de glucosa de sujetos humanos en general o, preferentemente, del sujeto particular en cuestión. Por ejemplo, se puede calibrar el algoritmo comparando la diferencia entre dos mediciones sucesivas de concentraciones de glucosa en la muestra con una medición independiente de la concentración de glucosa en una muestra sanguínea de punción digital del sujeto (o con la concentración media de dos muestras de punción digital de ese tipo tomadas en los mismos momentos que las mediciones por medio del parche).
30

La sudoración del sujeto puede provocar un aumento rápido en la tasa de extracción que no es característico del nivel real de azúcar en sangre; por lo tanto, se puede hacer que el algoritmo sea capaz de detectar y eliminar tales datos erróneos. Esto implicaría que el soporte lógico eliminase lecturas en las que el aumento del nivel de azúcar fue más rápido que una tasa umbral "B", siendo B la tasa máxima de aumento del nivel de azúcar en sangre cuando es tomada en una población sana y/o diabética media tras ingerir una cantidad definida de azúcar en una bebida líquida (para imitar la ingesta de alimentos).
35

El algoritmo también puede incluir cierta compensación por una pequeña cantidad de glucosa que se consumirá durante la operación del sensor, aunque, preferentemente según la invención, esta cantidad es muy pequeña. En algunas circunstancias, el consumo del analito también puede continuar entre etapas de medición dado que las enzimas presentes en la muestra continúan reaccionando con el mismo. Si los periodos entre lecturas son prolongados, entonces esto se vuelve más significativo. Una solución es que el algoritmo incluya un factor adicional de "corrección" que permita que se deduzca un valor de la diferencia en las lecturas, en función de una constante que se determinaría (durante la experimentación/estudios clínicos) que se corresponde con cierto consumo adicional del analito presente en la región de detección entre dos lecturas. Esto depende mucho del intervalo de tiempo entre dos lecturas, y cuando el intervalo de tiempo es únicamente de unos minutos no se observa un consumo significativo del analito que demandase el uso del factor/constante de corrección, mientras que, si el intervalo de tiempo es, digamos, mayor de 5 minutos, entonces el grado en el que se consume el analito es proporcionalmente mayor. Otra forma de explicar periodos prolongados de latencia entre lecturas, es realizar una lectura "base" en un punto temporal dado al final del retraso, seguido de una iontoforesis, y luego basar la determinación del nivel de analito en la diferencia entre las dos lecturas realizadas inmediatamente antes y después de la etapa de iontoforesis.
40
45
50

Aunque se ha descrito un procedimiento preferente de extracción de analito como una iontoforesis inversa, en una realización adicional de la invención se puede llevar a cabo el procedimiento de extracción utilizando microagujas para extraer bien muestras de sangre o bien líquido intersticial, con o sin mejoras en la extracción al integrarlo con la iontoforesis inversa. Las microagujas pueden ser huecas, porosas o macizas. En tal caso, la cantidad de analito extraída sería sustancialmente mayor que la extraída utilizando la iontoforesis inversa por sí sola y, por ende, la invención descrita en la presente memoria tendría, por lo tanto, beneficios prácticos significativos, principalmente
55

porque para consumir completamente tales cantidades grandes de analito entre cada lectura puede requerirse una cantidad prohibitiva de material de detección, tal como enzimas, haciendo que el sensor sea poco práctico. En el caso de otros tipos de sensores, se conseguiría una mayor resolución cuando se tomara la diferencia en mediciones entre cada fase de extracción.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para monitorizar el nivel de un analito en un sujeto, que comprende las etapas de:
- (a) medir la concentración del analito en una muestra;
- 5 (b) introducir en la muestra una cantidad del analito que es representativa del nivel de analito en el sujeto;
- (c) volver a medir la concentración del analito en la muestra;
- (d) determinar el nivel del analito en el sujeto en función de la diferencia entre la medición de la concentración en la etapa (c) y la anterior medición de la concentración; y
- 10 (e) repetir las etapas (b) a (d) a intervalos para generar una secuencia de determinaciones en el tiempo.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, en el que:
- el procedimiento utilizado para medir la concentración de analito en la muestra consume parcialmente el analito en la muestra.
- 15 3. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que se controla la medición en la etapa (c) de forma que cada medición solo consume una pequeña proporción del analito, por lo que la concentración de analito en la muestra aumenta en intervalos sucesivos.
4. Un procedimiento según la reivindicación 2 o 3, en el que:
- la determinación del nivel de analito en la etapa (d) emplea un algoritmo que tiene en cuenta el consumo del analito en la muestra debido al procedimiento de medición.
- 20 5. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que:
- la determinación del nivel de analito en la etapa (d) emplea un algoritmo que tiene en cuenta el consumo del analito en la muestra durante los intervalos entre mediciones sucesivas.
6. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que hay un periodo de descanso entre cada etapa (c) de medición y la etapa sucesiva (b) de introducción;
- 25 comprendiendo el procedimiento, además, una etapa de realización de una medición provisional de la concentración del analito en la muestra inmediatamente antes de cada etapa (b) de introducción, para ser utilizada esa medición provisional como la anterior medición de concentración en la etapa (d) de determinación.
7. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, que comprende, además, una etapa inicial de introducción en la muestra de una cantidad del analito antes de la primera etapa (a) de medición.
- 30 8. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que la cantidad del analito introducida en la muestra en la etapa inicial es de una fuente distinta del sujeto.
9. Un procedimiento según la reivindicación 7 u 8, en el que la etapa inicial comprende, además, llevar a cabo un conjunto de mediciones reiteradas de la concentración del analito en la muestra para conseguir una operación estable del sensor.
- 35 10. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en el que la etapa (c) de medición comprende la realización de una serie de mediciones y calcular una media de las mediciones seleccionadas en la serie.
11. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en el que la etapa (d) de determinación comprende rechazar cualquier medición que dé lugar a un cambio en el nivel determinado de analito que supera un valor umbral.
- 40 12. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en el que la etapa (d) de determinación comprende rechazar cualquier medición antes de que se haya estabilizado sustancialmente el nivel determinado de analito.
13. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que la etapa (b) de introducción en la muestra de una cantidad del analito que es representativa del nivel de analito en el sujeto comprende llevar a cabo una iontoforesis inversa para extraer la cantidad del analito del líquido intersticial del sujeto.
- 45 14. Un procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que la etapa (b) de introducción en la muestra de una cantidad del analito que es representativa del nivel de analito en el sujeto comprende utilizar microagujas para extraer del sujeto un líquido corporal que contiene la cantidad del analito.

15. Un procedimiento según cualquier reivindicación precedente, en el que el analito es glucosa.

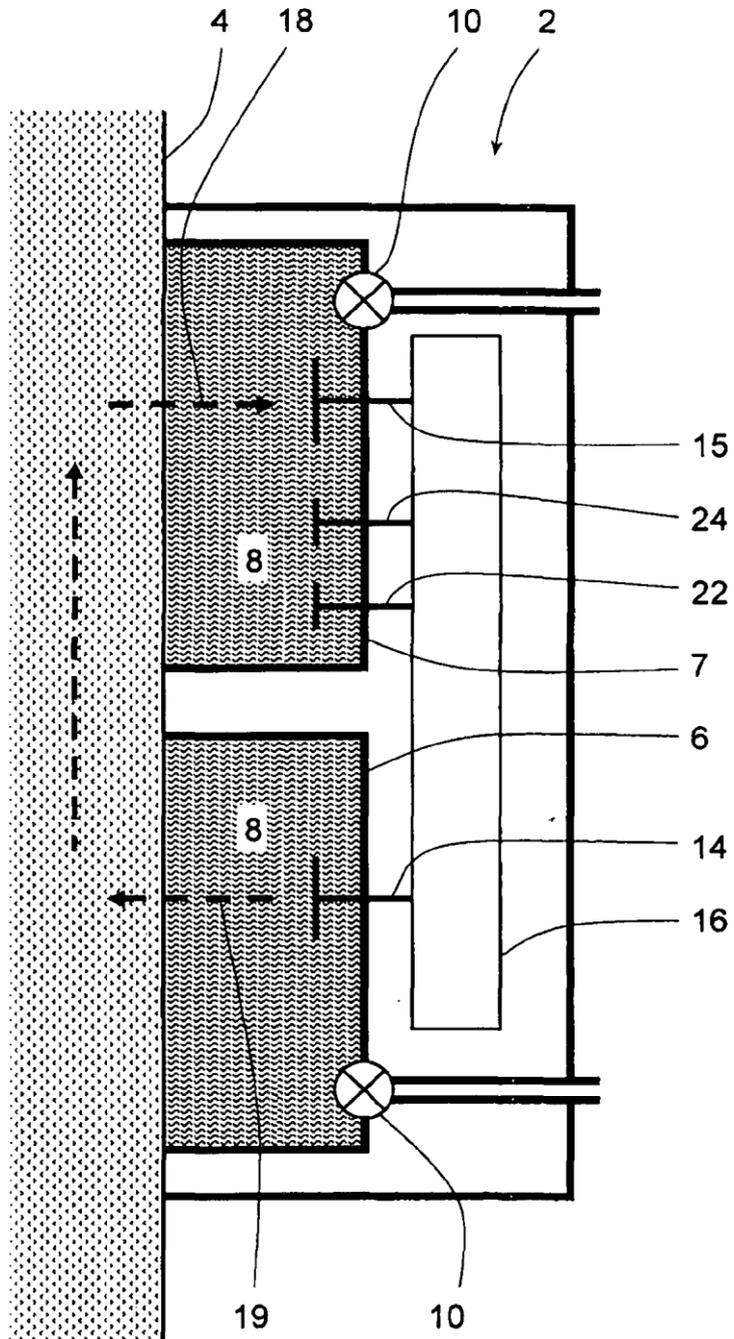


Figura 1

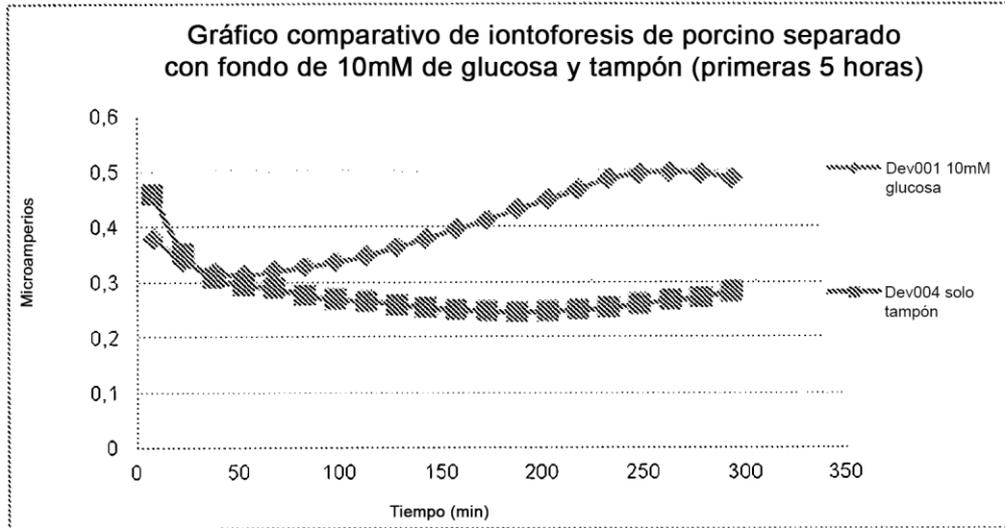


Figura 2

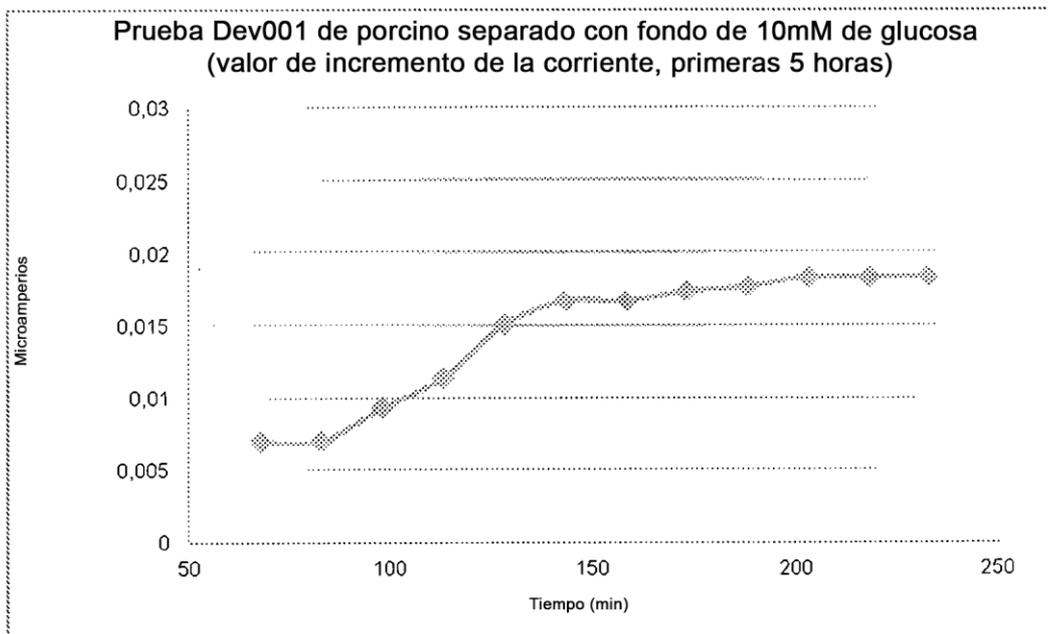


Figura 3