

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 896**

51 Int. Cl.:

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2014 PCT/EP2014/054955**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14140172**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2014 E 14710244 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2017 EP 2972268**

54 Título: **Métodos anti-error para mediciones electroquímicas de un analito, así como dispositivos, aparatos y sistemas que los incorporan**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361793377 P

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

29.09.2017

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**CARPENTER, SCOTT E. y
CHITTAJALLU, SIVA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 634 896 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

Métodos anti-error para mediciones electroquímicas de un analito, así como dispositivos, aparatos y sistemas que los incorporan

5

CAMPO TÉCNICO

La exposición se refiere de manera general a los campos de la matemática y la medicina y, más particularmente, se refiere a métodos de medición electroquímica de un analito en una muestra fluida y a proporcionar métodos anti-error con antioxidante y/o a métodos anti-error sanitario de reactivos que evitan el informe erróneo de una concentración de analito falsamente elevada debido a la interferencia de antioxidantes y/o fallos de los reactivos y que incluso corrige la concentración del analito.

10

ANTECEDENTES

15

Pueden conseguirse beneficios significativos de la medición electroquímica de analitos en muestras fluidas (es decir, biológicas o ambientales). Por ejemplo, el tratamiento diabético con dispositivos y sistemas de autocontrol de la glucosa en sangre (ACGS) contribuye a mejorar el control glucémico y a atenuar la morbilidad relacionada con la enfermedad. Por lo tanto, la exactitud de los dispositivos y sistemas de ACGS es importante para un control glucémico óptimo.

20

Sin embargo, la exactitud de los presentes métodos de medición electroquímica de analitos tales como la glucosa puede verse influida negativamente por varios interferentes, entre ellos antioxidantes u otros agentes reductores. Debido a sus beneficios, existe un número creciente de usos médicos, así como de terapias no contempladas y procedimientos de medicina alternativa, en los que se administran megadosis de antioxidantes mediante inyección o por vía intravenosa. Por ejemplo, los pacientes de quemadura se tratan con dosis parenterales de ascorbato, resultando en niveles en el plasma sanguíneo de 40 mg/dl o superiores. También existen terapias alternativas para el cáncer que prescriben dosis mucho mayores, resultando en niveles de ascorbato de hasta 400 mg/dl. Desafortunadamente, las dosis elevadas de antioxidantes tales como el ascorbato pueden interferir con la respuesta electroquímica de los dispositivos y sistemas de autocontrol de la glucosa en sangre (ACGS) y puede provocar que informen concentraciones de glucosa falsamente elevadas, presentando una desventaja significativa para el individuo con diabetes que está recibiendo una terapia de antioxidantes. Específicamente, en el caso de que un individuo se encuentre en un estado euglucémico pero responda a la concentración de glucosa falsamente elevada mediante la administración de insulina, ello podría resultar en hipoglucemia y/o en la muerte. La Food and Drug Administration sugiere que existe interferencia por ascorbato en algunos ensayos electroquímicos incluso con 3 mg/dl de ascorbato.

25

30

35

Los métodos, dispositivos y sistemas de ACGS electroquímicos actuales proporcionan a los individuos con diabetes ventajas de comodidad; sin embargo, sigue existiendo una necesidad de métodos mejorados para medir electroquímicamente un analito en una muestra fluida con comprobaciones de calidad adicionales para la presencia de interferentes, tales como un antioxidante, o para detectar un fallo del sistema de reactivos biosensores.

40

En el documento nº EP 2 042 865 A2 se describen métodos para distinguir entre una muestra acuosa que no es de sangre (por ejemplo una solución de control) y una muestra de sangre. En un aspecto, el método incluye utilizar una tira de ensayo en la que se miden múltiples corrientes transitorias con un medidor eléctricamente conectado a la tira de ensayo electroquímico. Las corrientes transitorias se utilizan para determinar si la muestra es de sangre o es una muestra acuosa que no es de sangre basándose en por lo menos dos características (por ejemplo la cantidad de interferente presente y la cinética de la reacción). El método también puede calcular un criterio de discriminación basándose en por lo menos dos características. También se describen diversos aspectos de un sistema para distinguir entre una muestra de sangre y una muestra acuosa que no es de sangre.

45

50

En el documento nº US 2004/157339 A1 se describe un método para medir un analito en un líquido biológico. El método comprende aplicar una señal de excitación que presenta un componente DC y un componente AC. Se miden las respuestas AC y DC; se determina una respuesta DC corregida utilizando la respuesta AC y se determina una concentración del analito basándose en la respuesta DC corregida. Se dan a conocer otros métodos y dispositivos.

55

El documento nº WO 03/060154 A2 describe sistemas y métodos para mejorar la selectividad y productividad de los sensores mediante técnicas de procesamiento de señales digitales. Según una realización ilustrativa, en un método electroquímico para el seguimiento de un analito seleccionado en una muestra mixta con un analito interferente, se proporciona una mejora que incluye aplicar una forma de onda de estímulo de potencial de gran amplitud a la muestra para generar una señal de corriente no lineal, y la resolución de la contribución de señal del analito seleccionado en la señal generada mediante un método de proyección de vectores con un vector del analito que comprende una pluralidad de partes reales e imaginarias de uno o más coeficientes de Fourier en una o más frecuencias de una señal de corriente de referencia para el analito seleccionado.

60

65

BREVE DESCRIPCIÓN RESUMIDA

En vista de las desventajas anteriormente indicadas, la exposición describe métodos para detectar un interferente y en algunos casos detectar un error en una medición electroquímica de un analito que puede estar sesgado. Los métodos se basan en un concepto inventivo que incluye utilizar información derivado de una secuencia de ensayo que proporciona respuestas de corriente alterna (AC) y/o de corriente directa (DC) que pueden diseñarse para proporcionar información específica sobre el impacto de un interferente, tal como un antioxidante que se encuentra presente en la muestra fluida en un mediador redox de un sistema de medición de analitos electroquímicos. Por ejemplo puede utilizarse información tal como la respuesta de corriente, la forma y/o magnitud de un pulso de excitación y/o un pulso de recuperación de un bloque de DC para el control de errores de resultados falsamente elevados debido a la interferencia de antioxidantes. En particular, los métodos utilizan información referente a un mediador redox derivado de por lo menos un bloque de DC para discriminar entre los niveles de antioxidante a los que el sesgo de predicción del analito de un sistema electroquímico es aceptable y los niveles de antioxidante a los que el sesgo de predicción de analito es clínicamente inaceptable. Por lo tanto, los métodos ayudan a garantizar la seguridad del paciente. Específicamente se ha encontrado que los antioxidantes pueden incrementar la cantidad de forma reducida de algunos mediadores redox, incrementando falsamente de esta manera la corriente detectada durante el análisis electroquímico. Además, se ha encontrado que la información referente al estado del mediador redox durante el análisis electroquímico puede utilizarse para detectar un fallo de una capa de reactivo. Por lo tanto, el concepto inventivo proporciona determinadas ventajas, efectos, características y objetivos en comparación con métodos conocidos de medición de una concentración (o valor) de analito en una muestra fluida, atenuando de esta manera incidentes de información errónea de concentraciones de analito falsamente elevadas debido a fallos por antioxidantes y/o de reactivos.

En un aspecto, se proporciona un método de análisis electroquímico para medir, determinar, calcular o de otro modo predecir la concentración de un analito en una muestra fluida que presenta un antioxidante, en el que el método incluye un sistema de control de errores por antioxidantes, según la reivindicación 1. El método incluye las etapas de proporcionar una secuencia de ensayo de por lo menos un bloque de DC a la muestra fluida y medir la información de respuesta al mismo.

En algunos casos, la secuencia de ensayo puede incluir además por lo menos un bloque de AC. En otros casos, la secuencia de ensayo puede incluir además un segundo bloque de DC. En todavía otros casos, la secuencia de ensayo incluye el bloque o bloques de AC, el bloque o bloques de DC y el segundo bloque de DC.

El bloque o bloques de DC es una forma de onda de excitación pulsada continua (es decir, el potencial se aplica y se controla durante todo el bloque de DC en un circuito cerrado), contrastando con algunos métodos amperométricos pulsados que utilizan un circuito abierto entre pulsos de excitación. El bloque de DC incluye una pluralidad de pulsos de excitación de corta duración y pulsos de recuperación optimizados para detectar un analito tal como la glucosa, referida la optimización a la duración del pulso, las transiciones graduales entre el pulso de excitación y el pulso de recuperación, el número de respuestas de corriente medidas durante cada pulso y en donde en cada pulso se realizan las mediciones de respuesta de corriente. El bloque de DC puede ser de entre por lo menos un (1) pulso y aproximadamente diez (10) pulsos a un potencial que alterna entre aproximadamente 0 mV y aproximadamente +450 mV en un circuito cerrado. Cada pulso puede aplicarse durante aproximadamente 50 ms a aproximadamente 500 ms. Además, la tasa de incremento puede ser de entre aproximadamente 10 mV/ms y aproximadamente 50 mV/ms.

Alternativamente, el bloque o bloques de DC presenta una forma de onda de potencial bipolar de incremento lento (SRBP, por sus siglas en inglés) con intervalos que alternan o ciclan entre potenciales de entre aproximadamente -450 mV y aproximadamente +450 mV en un circuito cerrado. Puede aplicarse cada intervalo durante aproximadamente 100 ms a aproximadamente 5 s. Además, la tasa de incremento puede ser de entre aproximadamente 0,500 mV/ms y \leq aproximadamente 45 mV/ms.

Al incluirlo, el bloque de AC puede ser una pluralidad de señales de AC de baja amplitud.

Además, el método incluye una etapa de provisión de un sistema de control de errores estadístico por antioxidantes que utiliza un clasificador o un discriminador.

En algunos casos, la información referente al estado del mediador redox es una cantidad de forma oxidada del mediador redox (M_{ox}) y/o una cantidad de una forma reducida del mediador redox (M_{red}).

En algunos casos, el antioxidante es ascorbato, el analito es glucosa y el mediador redox es un mediador redox derivado de nitrosoanilina (NA), en el que M_{ox} y M_{red} son quinonadiimina (QDI) y fenilendiamina (PDA), respectivamente. De esta manera, una respuesta de corriente a un bloque de DC que presenta una pluralidad de pulsos correspondería principalmente a la cantidad de PDA que es proporcional a la cantidad de glucosa presente. En contraste, una respuesta de corriente a un bloque de DC con una pluralidad de SRBP proporcionaría información cuantitativa sobre los niveles de QDI, así como de PDA.

En otro aspecto, se proporciona un método de análisis electroquímico para medir, determinar, calcular o de otro modo predecir la concentración de un analito en una muestra fluida, en el que el método incluye un sistema de control de errores sanitario de una capa de reactivo, según la reivindicación 9. El método, tal como anteriormente, puede incluir una etapa de proporcionar una secuencia de ensayo de por lo menos un bloque de DC a la muestra fluida tal como se ha indicado anteriormente y medir la información de respuesta a la misma. Sin embargo, el sistema de control de errores sanitario de la capa de reactivo, incluye comprobar la simple existencia o ausencia de una especie M_{ox} o una especie M_{red} como base para el sistema de control de errores sanitario de la capa de reactivo.

En cualquiera de los aspectos indicados anteriormente, en donde la medición indica un potencial de sesgo clínicamente significativo, no se muestra la concentración del analito y por el contrario se controlan los errores (es decir, no se informa) con un mensaje apropiado de sospecha de interferencia, fallo de la capa de reactivo o incluso un fallo general de biosensor.

En vista de lo anteriormente expuesto, se proporcionan dispositivos, aparatos y sistemas utilizados en relación al análisis electroquímico que incorporan uno o más de los métodos de medición dados a conocer en la presente memoria. Dichos dispositivos, aparatos y sistemas pueden utilizarse para determinar la concentración de analitos, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, aminoácidos, anticuerpos, bacterias, carbohidratos, fármacos, lípidos, marcadores, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, toxinas, virus y otros analitos, así como combinaciones de los mismos, en presencia de un antioxidante. En algunos casos, el antioxidante es ascorbato y el analito es glucosa.

Estos y otras ventajas, efectos, características y objetivos del concepto de la invención se entenderán mejor a partir de la descripción, posteriormente. En la descripción, se hace referencia a los dibujos adjuntos, que forman una parte de la presente memoria y en los que se muestran, a título ilustrativo y no limitativo, realizaciones del concepto inventivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las ventajas, efectos, características y objetivos diferentes de los indicados anteriormente resultarán fácilmente evidentes al considerar la descripción detallada, posteriormente. Dicha descripción detallada hace referencia a los dibujos siguientes, en los que:

La FIG. 1 muestra una reacción electroquímica ejemplar y su ruta de transferencia de electrones a partir de un mediador redox derivado de NA a un electrodo de trabajo de un sistema de medición de analitos ejemplar.

La FIG. 2 muestra un sistema de medición de analitos ejemplar que incluye un medidor y un biosensor.

La FIG. 3 muestra una secuencia de ensayo ejemplar que puede utilizarse con un dispositivo, aparato o sistema de medición de analitos.

La FIG. 4 es un gráfico de resultados de ensayo ejemplares sin un sistema de control de errores por antioxidante (por ejemplo ascorbato).

La FIG. 5 es un gráfico de resultados de ensayo ejemplares con un sistema de control de errores por antioxidante ascorbato.

La FIG. 6 muestra otra secuencia de ensayo ejemplar que puede utilizarse en un sistema de ensayo de analitos.

La FIG. 7 muestra las respuestas de corriente a un potencial de DC pulsado para múltiples muestras de ensayo con diferentes niveles de ascorbato.

La FIG. 8 muestra respuestas de corriente para un conjunto de muestras de sangre con niveles de ascorbato comprendidos entre 0 mg/dl y 400 mg/dl y un nivel de glucosa de 120 mg/dl.

La FIG. 9 muestra una vista más detallada de una parte de la FIG. 8 que destaca un elemento QDI y un elemento PDA.

La FIG. 10 es un gráfico de la corriente pico de QDI en nA vs. ascorbato de referencia en mg/dl.

La FIG. 11 es un gráfico de la corriente pico de PDA en nA vs. ascorbato de referencia en mg/dl.

Aunque el concepto inventivo es susceptible de diversas modificaciones y formas alternativas, se muestran realizaciones ejemplares a título de ejemplo en los dibujos y se describen en detalle en la presente memoria. Sin embargo, debe entenderse que la descripción de las realizaciones ejemplares a continuación no pretende limitar el concepto inventivo a las formas particulares dadas a conocer sino que, por el contrario, la intención es cubrir la totalidad de las realizaciones comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, posteriormente. Por lo tanto, debe hacerse referencia a las realizaciones descritas en la presente memoria y en las reivindicaciones, posteriormente, para la interpretación del alcance del concepto inventivo. De esta manera, debe indicarse que las realizaciones descritas en la presente memoria pueden presentar ventajas, efectos, características y objetivos útiles en la resolución de otros problemas.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES EJEMPLARES

A continuación en la presente memoria, se describen más completamente los métodos, dispositivos, aparatos y sistemas haciendo referencia a los dibujos adjuntos, en los que se muestran algunas, aunque no todas las realizaciones del concepto inventivo. En efecto, el concepto inventivo puede realizarse en muchas formas diferentes

y no debería interpretarse como limitado a las realizaciones indicadas en la presente memoria; por el contrario, dicha realizaciones se proporcionan de manera que la presente exposición satisfaga los requisitos legales vigentes.

De manera similar, el experto en la materia a la que se refiere la exposición podrá concebir modificaciones y otras realizaciones de los métodos, dispositivos, aparatos y sistemas indicados en la presente memoria, beneficiándose de las enseñanzas presentadas en las descripciones anteriormente proporcionadas y los dibujos asociados. Por lo tanto, se entenderá que el concepto inventivo no debe considerarse limitado a las realizaciones específicas dadas a conocer y que las modificaciones y otras realizaciones se pretende que estén comprendidas dentro del alcance según las reivindicaciones adjuntas. Aunque se utilizan términos específicos en la presente memoria, se utilizan en un sentido genérico y descriptivo y no con fines limitativos.

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria presentan los mismos significados entendidos comúnmente por el experto en la materia a la que se refiere la presente exposición. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de los presentes métodos, dispositivos, aparatos y sistemas, se describen en la presente memoria los métodos y materiales preferentes.

Descripción general

Se dan a conocer en la presente memoria métodos de medición de analitos que utilizan información derivada de respuestas de corriente de AC y/o de DC para proporcionar una concentración de analito de una manera fiable. En particular, los métodos utilizan información referente a un estado de un mediador redox obtenido de por lo menos un bloque de pulsos de DC para discriminar entre los niveles de antioxidante a los que el sesgo de predicción del analito de un sistema electroquímico es aceptable y los niveles de antioxidante a los que el sesgo de predicción de analito es clínicamente inaceptable, resulta esencial para garantizar la seguridad del paciente. Por lo tanto, los métodos de medición pueden utilizarse para reducir los efectos de interferentes, tales como un antioxidante, sobre la medición de la concentración de un analito, proporcionando de esta manera una concentración de analito más «verdadera» o incluso evitando el informe de una concentración de analito falsamente elevada.

En los ejemplos, posteriormente, se utiliza un mediador redox derivado de NA. Sin embargo, basándose en las enseñanzas generales en la presente memoria, el experto en la materia entenderá cómo seleccionar diferencias de potencial apropiadas para los potenciales aplicados para regiones de excitación de corriente limitada por difusión y regiones de recuperación o corriente que no está limitada por difusión basándose en un mediador redox seleccionado. En la presente memoria, la selección de entre aproximadamente +450 mV y aproximadamente 0 mV resulta apropiada para la excitación y pulsos de recuperación con mediadores redox derivados de NA. Se entiende que incluso para dichos mediadores redox derivados de NA, existen intervalos aceptables de potencial aplicado más elevado para corriente limitada por difusión y, de manera similar, existen intervalos aceptables para el potencial de recuperación aplicada. Por lo tanto, cada mediador redox presentará un potencial redox específico y cinética de transferencia de electrones característica del que el experto en la materia podrá seleccionar las diferencias de potencial apropiadas para la excitación o la recuperación.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el "mediador redox derivado de nitrosoanilina" o "mediador redox derivado de NA" se refiere a un compuesto nitrosoanilina sustituido tal como se indica en, por ejemplo, la patente US nº 5.122.244. Un ejemplo de mediador redox derivado de NA es el hidrocloreto de N,N-bis(hidroxi-etil)-3-metoxi-4-nitrosoanilina. Entre otros ejemplos de mediadores redox derivados de NA se incluyen, aunque sin limitación: 4,6-dinitro-2-nitrosoanilina, N'-bis-(2-hidroxi-etil)-p-nitrosoanilina, N,N'-dimetil-p-nitrosoanilina, N,N'-dietil-p-nitrosoanilina, N-metil-N'-(4-nitrosfenil)-piperazina, N-(2-hidroxi-etil)-5-nitrosoindolina, 2,4-dimetoxi-nitrosobenceno, N,N'-bis-(2-metoxietil)-4-nitrosoanilina, N-(4-nitrosfenil)-morfolina, N-(2,2-dietoxi-etil)-N'-(4-nitrosfenil)-piperazina, p-nitrosfenol, 3-metoxi-4-nitrosfenol, N-(2-hidroxi-etil)-N'-p-nitrosfenil-piperazina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-p-nitrosoanilina, o-metoxi-N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-p-nitrosoanilina, p-hidroxinitrosobenceno, N-metil-N'-(4-nitrosfenil)-piperazina, p-quinona dioxima, N,N-dimetil-p-nitrosoanilina, N,N-dietil-p-nitrosoanilina, N-(4-nitrosfenil)-morfolina, N-bencil-N-(5'-carboxipentil)-p-nitrosoanilina, N,N-dimetil-4-nitroso-l-naftilamina, N,N,3-trimetil-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-5-nitrosoindolina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-cloro-4-nitrosoanilina, 2,4-dimetoxi-nitrosobenceno, N,N-bis-(2-metoxietil)-4-nitrosoanilina, 3-metoxi-4-nitrosfenol, N-(2-hidroxi-etil)-6-nitroso-1,2,3-tetrahidroquinolina, N,N-dimetil-3-cloro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-fluoro-4-nitrosoanilina, N,N-bis-(2-hidroxi-etil)-3-metil-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(2-(2-metoxietoxi)-etil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(3-metoxi-2-hidroxi-l-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(3-(2-hidroxi-etoxi)-2-hidroxi-l-propil)-4-nitrosoanilina, N-(2-hidroxi-etil)-N-(2-(2-hidroxi-etoxi)-etil)-4-nitrosoanilina, 3-(4'-cloro-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-dietilamino-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-etil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-trifluorometil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-metoxicarbonil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-nitro-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-metoxi-fenilimino)-3H-fenotiazina, 7-acetil-3-(4'-metoxicarbonil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 7-trifluorometil-3-(4'-metoxicarbonil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-omega-carboxi-n-butyl-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-aminometil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-(2''-(5''-(p-aminofenil)-1,3,4-oxadiazolil)-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-beta-aminoetil-fenilimino)-3H-fenotiazina, 6-(4'-etilfenil)amino-3-(4'-etilfenilimino)-3H-fenotiazina, 6-(4'-[2-(2-etanoloxi)etoxi]etoxi]fenil)amino-3-(4'-[2-(2-etanoloxi)etoxi]etoxi]-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-[2-(2-etanoloxi)etoxi]etoxi]-fenilimino)-3 H-fenotiazina, ácido 3-(4'-fenilimino)-3H-fenotiazinaborónico, (3-(3',5'-dicarboxi-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(4'-carboxi-fenilimino)-3H-fenotiazina, 3-(3',5'-dicarboxi-fenilimino)-3H-

fenoxazina, ácido 3-(3',5'-fenilimino)-3H-fenotiazinadisulfónico, ácido 3-(3-fenilimino)-3H-fenotiazinasulfónico y combinaciones de los mismos. Ver también las patentes US nº 5.122.244 y nº 5.286.362.

Tal como se utiliza en la presente memoria, «antioxidante» o «antioxidantes» se refiere a un compuesto o sustancia que puede evitar los daños causados por moléculas inestables, tales como radicales libres y especies de oxígeno activo (es decir, evita los daños causados por la oxidación por oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, etc.). Como agentes reductores los antioxidantes pueden ejercer sus efectos de dos maneras: (1) como antioxidantes de acción directa que inactivan los agentes oxidantes, tales como los radicales libres, y (2) como agentes indirectos que pueden modular la función, actividad o nivel de otros antioxidantes o mecanismos antioxidantes. Resultan de interés en la presente memoria los antioxidantes que reducen un mediador redox en un sistema enzimático electroquímico de medición de analitos. Entre los ejemplos de antioxidantes utilizados típicamente en un contexto clínico se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, ascorbato (también conocido como vitamina C o ácido ascórbico), ácido cítrico, deferoxamina (DFO), glutatión, N-acetilcisteína (NAC), ditiocarbamato de pirrolidina (PDTC), mesilato de trilizad (TLM) y ácido úrico.

La FIG. 1 muestra una reacción electroquímica ejemplar y una ruta de transferencia electrónica de un mediador redox derivado de NA al electrodo de trabajo de un sistema de medición de analitos ejemplar. La reacción electroquímica en la FIG. 1 puede producirse en un biosensor electroquímico 20 en respuesta a un analito, tal como glucosa, en el que NA forma un intermediario que se convierte rápidamente en QDI y después se reduce en PDA. Cada molécula de PDA puede oxidarse en el electrodo de trabajo liberando dos electrones, los cuales son detectados por el electrodo de trabajo, resultando también en el reformado cíclico de QDL. El ascorbato, al ser un agente reductor eficaz, reacciona rápidamente con QDI, incrementando de esta manera la cantidad de PDA, resultando en la detección de una corriente más alta en el electrodo de trabajo. Es esta corriente más alta que se percibe la que se traduce en una concentración de glucosa en sangre (Gs) falsamente elevada. El experto en la materia apreciará que un efecto similar puede ser provocado por cualquier interfiriente potencial que sea un agente reductor eficaz que reaccione rápidamente con QDI produciendo un exceso de PDA de esta manera. De manera general, una concentración de Gs falsamente elevada puede resultar de cualquier interfiriente que resulte eficaz en la conversión rápida de M_{ox} para producir una cantidad artificialmente elevada del M_{red} correspondiente.

Más específicamente y tal como se muestra en la FIG. 1, el mediador redox derivado de NA reacciona con una forma reducida de un enzima (por ejemplo la glucosa deshidrogenasa dependiente de la adenina dinucleótido (FAD-GDH) o la pirroloquinolina quinona glucosa deshidrogenasa (PQQ-GDH) que cataliza la oxidación de la glucosa en presencia de un aceptor de electrones para producir un mediador redox derivado de NA reducido que experimenta rápidamente hidrólisis para formar QDL. A continuación, QDL reacciona mediante una segunda reducción enzimática para formar PDA. Tal como anteriormente, cada molécula de PDA puede oxidarse liberando dos electrones, los cuales son detectados por el electrodo de trabajo, resultando también en el reformado cíclico de QDI. Sin embargo, el ascorbato causa una corriente más alta percibida mediante el incremento de la cantidad de PDA que seguidamente se traduce en una concentración Gs falsamente elevada.

Sin embargo, debe entenderse que, aunque determinadas realizaciones ejemplares se refieren a biosensores que utilizan NA como el mediador redox, otras reacciones químicas en capa de reactivos y mediadores redox pueden utilizarse el mismo concepto inventivo que se describe en la presente memoria. Por lo tanto, se apreciará además que la reacción electroquímica de la FIG. 1 y la utilización de un mediador redox derivado de NA son ejemplos no limitativos y que los métodos, dispositivos, aparatos y sistemas dados a conocer en la presente memoria pueden utilizarse en relación a una pluralidad de enzimas y diferentes mediadores redox.

Ventajosamente, los métodos de medición proporcionan la capacidad de discriminar entre los niveles de antioxidantes a los que el sesgo en la predicción del analito de un sistema electroquímico resulta aceptable y los niveles de antioxidante a los que el sesgo en la predicción con antioxidante resulta clínicamente inaceptable para garantizar la seguridad del paciente. Dichos métodos pueden proporcionar dicha funcionalidad sin necesidad de información que sea diferente de la utilizada para la predicción del analito (por ejemplo la predicción de la glucosa). En algunos casos, se utiliza un enfoque para discriminar los niveles de antioxidante que resultan en una estimación del analito sesgada que es aceptable o es inaceptable desde el punto de vista clínico. Otros casos implementan esta capacidad en forma de métodos anti-error con antioxidante dentro del medidor ACGS. En el caso de que el sistema anti-error resulte activado, puede configurarse un medidor para proporcionar un código de error o un mensaje de error específico de interferencia de antioxidante en lugar de una concentración de analito inexacta.

Por ejemplo, el sistema anti-error podría incluir mensajes directos, tales como: «Se ha detectado un nivel de antioxidante superior al aceptable para este ensayo de glucosa en sangre y de esta manera no puede informarse un valor de glucosa». Lo anterior podría resultar en un seguimiento por un profesional sanitario para determinar la causa y encontrar un analizador clínico adecuado que posiblemente no presente el sesgo debido al antioxidante.

Entre otros casos se incluyen un sistema anti-control de «salud de la capa de reactivos» o «salud de los reactivos químicos» para determinar si la capa de reactivos y el mediador redox del biosensor están funcionando correctamente o si la capa de reactivos ha sido comprometida por cualquiera de entre varios interferientes diferentes. De esta manera, el sistema anti-error podría incluir mensajes directos, tales como: «Se ha detectado un error de

salud de la capa de reactivos en el biosensor por lo que no puede obtenerse un valor de glucosa» o «Se ha detectado un error de salud de los reactivos químicos en el biosensor por lo que no puede obtenerse un valor de glucosa». Lo anterior podría resultar en que el usuario seleccione un nuevo biosensor para repetir la medición electroquímica.

Tal como se utiliza en la presente memoria, «salud de la capa de reactivos» o «salud de los reactivos químicos» se refiere a la capacidad de un reactivo, mediador y/o precursor de mediador de un sistema de ensayo en contacto con una muestra de ensayo de proporcionar una respuesta electroquímica deseada a una señal de ensayo aplicada que no resulte inaceptablemente impactada o alterada por cualquiera de entre una pluralidad de interferentes conocidos o desconocidos.

Los métodos de medición dados a conocer en la presente memoria utilizando principalmente la amperometría; sin embargo, se encuentra contemplado que los métodos puedan utilizarse con otros métodos de medición electroquímica (por ejemplo coulombimetría, potenciometría o voltamperometría). Se dan a conocer datos adicionales sobre métodos de medición electroquímica ejemplares en, por ejemplo, las patentes US nº 4.008.448, 4.225.410, 4.233.029, 4.323.536, 4.891.319, 4.919.770, 4.963.814, 4.999.582, 4.999.632, 5.053.199, 5.108.564, 5.120.420, 5.122.244, 5.128.015, 5.243.516, 5.288.636, 5.352.351, 5.366.609, 5.385.846, 5.405.511, 5.413.690, 5.437.999, 5.438.271, 5.508.171, 5.526.111, 5.627.075, 5.628.890, 5.682.884, 5.727.548, 5.762.770, 5.858.691, 5.997.817, 6.004.441, 6.054.039, 6.254.736, 6.270.637, 6.645.368, 6.662.439, 7.073.246, 7.018.843, 7.018.848, 7.045.054, 7.115.362, 7.276.146, 7.276.147, 7.335.286, 7.338.639, 7.386.937, 7.390.667, 7.407.811, 7.429.865, 7.452.457, 7.488.601, 7.494.816, 7.545.148, 7.556.723, 7.569.126, 7.597.793, 7.638.033, 7.731.835, 7.751.864, 7.977.112, 7.981.363, 8.148.164, 8.298.828, 8.329.026, 8.377.707 y 8.420.404, así como RE36268, RE42560, RE42924 y RE42953.

Ventajosamente, los métodos descritos en la presente memoria pueden incorporarse en dispositivos, aparatos y sistemas ACGS para informar más exacta y rápidamente una concentración de analito, tales como una concentración de glucosa, especialmente una concentración de glucosa en sangre.

Además, los métodos de medición pueden implementarse utilizando algoritmos y procedimientos avanzados basados en microprocesadores que resultan en un rendimiento del sistema drásticamente mejorado. Dichos métodos de medición ofrecen además flexibilidad y varios modos de crear algoritmos que pueden conseguir un rendimiento mejorado, tal como un rendimiento 10/10. Tal como se utiliza en la presente memoria, «rendimiento 10/10» se refiere a que un valor de Gs medido se encuentre dentro de aproximadamente $\pm 10\%$ del valor de Gs real para concentraciones de Gs >100 mg/dl y dentro de ± 10 mg/dl del valor de Gs real para concentraciones de Gs <100 mg/dl.

Puede encontrarse información sobre métodos adicionales de medición electroquímica que pueden resultar útiles en la realización de los métodos dados a conocer en la presente memoria pueden encontrarse en las solicitudes de patente copresentadas y copendientes siguientes tituladas: «MÉTODOS DE ESCALADO DE DATOS UTILIZADOS PARA CONSTRUIR ALGORITMOS DE BIOSENSORES, ASÍ COMO DISPOSITIVOS, APARATOS Y SISTEMAS QUE LOS INCORPORAN», expediente de solicitud nº 31518; «MÉTODOS DE MEDICIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANALITO CON UNA SECUENCIA DE ENSAYO QUE PRESENTA UN BLOQUE DE DC PULSADO, ASÍ COMO DISPOSITIVOS, APARATOS Y SISTEMAS QUE LOS INCORPORAN», expedientes de solicitud nº 31519 y nº 31521; «MÉTODOS DE UTILIZACIÓN DE INFORMACIÓN DE PULSOS DE RECUPERACIÓN EN MEDICIONES DE ANALITO ELECTROQUÍMICAS, ASÍ COMO DISPOSITIVOS, APARATOS Y SISTEMAS QUE LOS INCORPORAN», expediente nº 31522; «MÉTODOS BASADOS EN DESCRIPTORES DE MEDICIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANALITO, ASÍ COMO DISPOSITIVOS, APARATOS Y SISTEMAS QUE LOS INCORPORAN», expediente nº 31523, y «MÉTODOS DE DETECCIÓN DE NIVELES ELEVADOS DE ANTIOXIDANTES DURANTE MEDICIONES ELECTROQUÍMICAS Y CONTROL DE ERRORES DE LA CONCENTRACIÓN DE ANALITO DE LOS MISMOS, ASÍ COMO DISPOSITIVOS, APARATOS Y SISTEMAS QUE LOS INCORPORAN», expediente nº 31524.

Dispositivos, aparatos y sistemas de medición de analitos

Anterior y en relación a la descripción de los métodos de medición de la invención, la FIG. 2 muestra un sistema ejemplar de medición de analitos que incluye un dispositivo, tal como medidor de ensayo 11 acoplado operativamente a un biosensor electroquímico 20 (también conocido como elemento de ensayo). El medidor 11 y el biosensor 20 son operables para determinar la concentración de uno o más analitos en una muestra fluida proporcionada al biosensor 20. En algunos casos, la muestra puede ser una muestra de líquido corporal, tal como, por ejemplo, sangre completa, plasma, suero, orina o saliva. En otros casos, la muestra fluida puede ser otro tipo de muestra que debe someterse a ensayo para la presencia o la concentración de uno o más analitos electroquímicamente reactivos, tales como una muestra ambiental acuosa.

En la FIG. 2, el biosensor 20 es una tira de ensayo de un solo uso insertada de manera que puede retirarse en una terminal de conexión 14 del medidor 11. En algunos casos, el biosensor 20 se configura como un elemento de ensayo de glucosa en sangre e incluye elementos y funcionalidades para medir electroquímicamente la glucosa. En

otros casos, el biosensor 20 se configura para medir electroquímicamente otro u otros analitos, tales como, por ejemplo, aminoácidos, anticuerpos, bacterias, carbohidratos, fármacos, lípidos, marcadores, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, toxinas, virus y otros analitos.

5 El medidor 11 incluye una pantalla electrónica 16 que se utiliza para mostrar diversos tipos de información al usuario, incluyendo la concentración o concentraciones de analito u otros resultados de ensayo, y la interfaz de usuario 50 para recibir las entradas del usuario. El medidor 11 incluye además un microcontrolador y circuitería generadora y medidora de señales de ensayo asociada (no mostrada) que es operable para generar una señal de ensayo, para aplicar la señal al biosensor 20 y para medir una o más respuestas del biosensor 20 a la señal de ensayo. En algunos casos, el medidor 11 puede configurarse como medidor de la glucosa en sangre e incluye elementos y funcionalidades del medidor ACCU-CHEK® AVIVA®, tal como se indica en el folleto "Accu-Chek® Aviva Blood Glucose Meter Owner's Booklet» (2007), partes del cual se dan a conocer en la patente US nº 6.645.368. En otros casos, el medidor 11 puede configurarse para medir electroquímicamente otro u otros analitos, tales como, por ejemplo, aminoácidos, anticuerpos, bacterias, carbohidratos, fármacos, lípidos, marcadores, ácidos nucleicos, proteínas, péptidos, toxinas, virus y otros analitos. Se da a conocer información adicional respecto a los medidores ejemplares configurados para la utilización con los métodos de medición electroquímicos en, por ejemplo las patentes US nº 4.720.372, 4.963.814, 4.999.582, 4.999.632, 5.243.516, 5.282.950, 5.366.609, 5.371.687, 5.379.214, 5.405.511, 5.438.271, 5.594.906, 6.134.504, 6.144.922, 6.413.213, 6.425.863, 6.635.167, 6.645.368, 6.787.109, 6.927.749, 6.945.955, 7.208.119, 7.291.107, 7.347.973, 7.569.126, 7.601.299, 7.638.095 y 8.431.408.

20 El experto en la materia entenderá que los métodos de medición indicados en la presente memoria pueden utilizarse en otros dispositivos, aparatos, sistemas y entornos de medición, tales como, por ejemplo, sistemas de ensayo hospitalarios, sistemas de ensayo de laboratorio y otros.

25 Se entenderá que el biosensor y el medidor pueden incluir atributos y elementos adicionales y/o alternativos además de, o en lugar de, los mostrados en la FIG. 2. Por ejemplo, el biosensor puede encontrarse en forma de una tira de ensayo electroquímica desechable de un solo uso que presenta una forma sustancialmente rectangular. Se apreciará que los biosensores pueden incluir diferentes formas, tales como, por ejemplo, tiras de ensayo de diferentes configuraciones, dimensiones o formas, elementos de ensayo no tiras, elementos de ensayo desechables, elementos de ensayo reutilizables, micromatrices, dispositivos «lab-on-chip», biochips, biodiscos, los bio-cd u otros elementos de ensayo. En algunos casos, el biosensor puede incluir electrodos y reactivos adicionales, tales como, por ejemplo, un biosensor de ensayo dual para la detección de glucosa y cetonas. Ver, por ejemplo, las solicitudes de patente US nº 13/667,057 y nº 13/667,154. Se da a conocer información adicional sobre biosensores ejemplares configurados para la utilización con métodos de medición electroquímicos en, por ejemplo, las patentes US nº US 5.694.932, 5.762.770, 5.948.695, 5.975.153, 5.997.817, 6.001.239, 6.025.203, 6.162.639, 6.245.215, 6.271.045, 6.319.719, 6.406.672, 6.413.395, 6.428.664, 6.447.657, 6.451.264, 6.455.324, 6.488.828, 6.506.575, 6.540.890, 6.562.210, 6.582.573, 6.592.815, 6.627.057, 6.638.772, 6.755.949, 6.767.440, 6.780.296, 6.780.651, 6.814.843, 6.814.844, 6.858.433, 6.866.758, 7.008.799, 7.063.774, 7.238.534, 7.473.398, 7.476.827, 7.479.211, 7.510.643, 7.727.467, 7.780.827, 7.820.451, 7.867.369, 7.892.849, 8.180.423, 8.298.401, 8.329.026, así como RE42560, RE42924 y RE42953.

Métodos de medición

45 Métodos de medición con sistema de control de antioxidante: Tal como se ha indicado anteriormente, los métodos de medición descritos en la presente memoria se basan en el concepto inventivo que incluye utilizar información derivada de una secuencia de ensayo que presenta por lo menos un bloque de DC, en el que el bloque está diseñado para proporcionar información específica sobre el estado de un mediador redox durante el análisis electroquímico. En particular, la información se refiere a elementos M_{ox} y M_{red} (o incluso proporciones de los mismos) durante el análisis electroquímico.

50 Los métodos generalmente incluyen aplicar a una muestra fluida, tal como un líquido corporal, una secuencia de ensayo que presenta por lo menos un bloque de DC y medir las respuestas de corriente DC. Alternativamente, los métodos pueden incluir aplicar una secuencia de ensayo que también presenta un bloque de AC en conexión con por lo menos un bloque de DC y medir las respuestas de corriente AC y DC. La FIG. 3 muestra una secuencia de ensayo ejemplar que puede utilizarse en relación a los ACGS y otros sistemas de ensayo. La secuencia de ensayo puede incluir dos bloques, en la que, por ejemplo, un bloque incluye señales de AC de baja amplitud seguido de un bloque de DC controlado.

60 En el caso de que sea parte de la secuencia de ensayo, el bloque de AC puede incluir una pluralidad de segmentos de AC, tales como, por ejemplo, entre aproximadamente 2 segmentos y aproximadamente 10 segmentos, entre aproximadamente 3 segmentos y aproximadamente 9 segmentos, entre aproximadamente 4 segmentos y aproximadamente 8 segmentos, entre aproximadamente 5 segmentos y aproximadamente 7 segmentos, o aproximadamente 6 segmentos. En otros casos, el bloque de AC puede incluir aproximadamente 2 segmentos, aproximadamente 3 segmentos, aproximadamente 4 segmentos, aproximadamente 5 segmentos, aproximadamente 6 segmentos, aproximadamente 7 segmentos, aproximadamente 8 segmentos, aproximadamente 9 segmentos o aproximadamente 10 segmentos. En todavía otros casos, el bloque de AC puede presentar más de 10 segmentos,

es decir, aproximadamente 15 segmentos, aproximadamente 20 segmentos o aproximadamente 25 segmentos. En todavía otros casos, el bloque de AC puede incluir 1 segmento, en el que el segmento presenta múltiples señales de AC de baja frecuencia aplicadas simultáneamente.

5 El experto en la materia entenderá que el número de segmentos de AC se encontrará limitado por la complejidad de la respuesta, el intervalo de frecuencias asociado y el tiempo disponible para llevar a cabo las mediciones. Las frecuencias más altas generalmente requieren una electrónica de elevada anchura de banda y muestreo más rápido, mientras que las frecuencias más bajas requieren más tiempo y típicamente son más ruidosas. Por lo tanto, el máximo número de segmentos será un compromiso entre dichos parámetros, seleccionando el recuento mínimo y el intervalo de frecuencias necesario para discriminar la muestra y el medio ambiente y/o los interferentes de interés.

10 Tal como se utiliza en la presente memoria, «aproximadamente» se refiere a un intervalo estadísticamente significativo de uno o más valores, tal como una concentración indicada, longitud, peso molecular, pH, potencial, marco temporal, temperatura, voltaje o volumen.

15 La frecuencia de cada señal en cada segmento del bloque de AC puede ser de entre 1 kHz y 20 kHz, de entre aproximadamente 2 kHz y aproximadamente 19 kHz, de entre aproximadamente 3 kHz y aproximadamente 18 kHz, de entre aproximadamente 4 kHz y aproximadamente 17 kHz, de entre aproximadamente 5 kHz y aproximadamente 16 kHz, de entre aproximadamente 6 kHz y aproximadamente 15 kHz, de entre aproximadamente 7 kHz y aproximadamente 14 kHz, de entre aproximadamente 8 kHz y aproximadamente 13 kHz, de entre aproximadamente 9 kHz y aproximadamente 12 kHz o de entre aproximadamente 10 kHz y aproximadamente 11 kHz. En otros casos, la frecuencia de cada segmento en el bloque de AC puede ser de aproximadamente 1 kHz, de aproximadamente 2 kHz, de aproximadamente 3 kHz, de aproximadamente 4 kHz, de aproximadamente 5 kHz, de aproximadamente 6 kHz, de aproximadamente 7 kHz, de aproximadamente 8 kHz, de aproximadamente 9 kHz y aproximadamente 10 kHz, de aproximadamente 11 kHz, de aproximadamente 12 kHz, de aproximadamente 13 kHz, de aproximadamente 14 kHz, de aproximadamente 15 kHz, de aproximadamente 16 kHz, de aproximadamente 17 kHz, de aproximadamente 18 kHz, de aproximadamente 19 kHz o aproximadamente 20 kHz. En todavía otros casos, la frecuencia de cada señal en cada segmento del bloque de AC puede ser superior a 20 kHz, es decir, de aproximadamente 30 kHz, de aproximadamente 40 kHz o de aproximadamente 50 kHz. En algunos casos, uno o más de los segmentos pueden presentar la misma frecuencia, mientras que en otros casos cada segmento presenta una frecuencia diferente de la de otros segmentos. Sin embargo, cuatro frecuencias generalmente resultan inadecuadas. Las frecuencias exactas utilizadas pueden generarse fácilmente mediante simple división por un número entero de una frecuencia máxima del reloj del sistema de medición.

35 Un límite de frecuencia máxima para una señal en un segmento del bloque de AC, sin embargo, puede ser de hasta 100 kHz para un instrumento manual alimentado por batería económico. Más allá de lo anterior, se acumulan rápidamente crecientes demandas de anchura de banda analógica, tasa de muestreo, capacidad de almacenamiento y velocidad de procesamiento, mientras que la parte imaginaria de un respuesta de biosensor típica se vuelve crecientemente más pequeña con la frecuencia. Las frecuencias más bajas presentan periodos más largos y tardan más tiempo en muestrearse con exactitud comparable.

45 El bloque de AC típicamente incluye por lo menos dos señales de baja amplitud diferentes. Por ejemplo, el bloque de AC puede incluir dos (2) segmentos a dos (2) frecuencias, tales como, por ejemplo, 10 kHz o 20 kHz, seguido de 1 kHz o 2 kHz. En otros casos, el bloque de AC incluye una pluralidad de señales de baja amplitud. Por ejemplo, el bloque de AC puede presentar cinco (5) segmentos a cuatro (4) frecuencias, tales como, por ejemplo, 10 kHz, 20 kHz, 10 kHz, 2 kHz y 1 kHz. Alternativamente, el bloque de AC puede presentar cuatro (4) segmentos a cuatro (4) frecuencias, tales como, por ejemplo, aproximadamente 20 kHz, aproximadamente 10 kHz, aproximadamente 2 kHz y aproximadamente 1 kHz. Alternativamente, el bloque de AC puede presentar cuatro (4) frecuencias aplicadas simultáneamente a aproximadamente 10 kHz, aproximadamente 20 kHz, aproximadamente 10 kHz, aproximadamente 2 kHz y aproximadamente 1 kHz. Todavía alternativamente, el bloque de AC puede presentar una forma de onda de excitación multifrecuencia que aplica simultáneamente las señales de AC de baja amplitud deseadas. Las frecuencias de AC pueden aplicarse secuencialmente o combinarse y aplicarse simultáneamente y analizarse mediante transformadas de Fourier.

55 El bloque de AC puede aplicarse durante 500 ms a 1,5 s, 600 ms a 1,25 s, 700 ms a 1 s u 800 ms a 900 ms. Alternativamente, el bloque de AC puede aplicarse durante 500 ms, 600 ms, 700 ms, 800 ms, 900 ms, 1 s, 1,25 s o 1,5 s. En particular, el bloque de AC se aplica durante 100 a 300 ms.

60 Sin embargo, el experto en la materia entenderá puede modificarse el número, frecuencia, duración y orden de los segmentos de AC.

65 La información de respuesta de corriente AC puede obtenerse en cualquier tiempo durante una secuencia de ensayo. Los resultados de impedancia a frecuencias más bajas pueden verse influidos por la concentración del analito en el caso de que se obtengan tras la polarización de DC de una celda electroquímica. En algunos casos, puede obtenerse una serie de mediciones de respuesta de corriente de AC pronto en la secuencia de ensayo. Las mediciones realizadas poco después de aplicar una muestra fluida a un biosensor resultarán influidas por la difusión,

la temperatura y la solubilidad del reactivo. En otros casos, las mediciones de respuesta de corriente AC pueden obtenerse un tiempo suficiente después de aplicar una muestra adecuada a fin de permitir la estabilización de la respuesta y evitar la respuesta transitoria en el primer segundo. De manera similar, las mediciones de corriente de respuesta pueden realizarse en una o más frecuencias. Debido a su naturaleza capacitiva, las múltiples mediciones de AC separadas por una octava o década de frecuencias pueden ofrecer diferentes sensibilidades o una manipulación más sencilla.

Se da a conocer información adicional sobre bloques de AC ejemplares en métodos de medición electroquímica en, por ejemplo, las patentes US nº 7.338.639, 7.390.667, 7.407.811, 7.417.811, 7.452.457, 7.488.601, 7.494.816, 7.597.793, 7.638.033, 7.751.864, 7.977.112, 7.981.363, 8.148.164, 8.298.828, 8.377.707 y 8.420.404.

Con respecto a por lo menos un bloque de DC, puede incluir una diferencia de potencial aplicada constantemente que alterne entre aproximadamente 0 mV y una diferencia de potencial positiva predeterminada, u otra diferencia de potencial de variación lenta en el tiempo que pueda analizarse mediante métodos electroquímicos de DC tradicionales. Sin embargo, el experto en la materia entenderá que el intervalo para la diferencia de potencial aplicada podría variar, y ciertamente variará, dependiendo del analito y reacción química de reactivo utilizados.

El bloque de DC puede incluir una pluralidad de pulsos, tales como, por ejemplo entre 2 y 10 pulsos, entre 3 y 9 pulsos, entre 4 y 8 pulsos, entre 5 y 7 pulsos, o 6 pulsos. En otros casos, el bloque de DC puede incluir 2 pulsos, 3 pulsos, 4 pulsos, 5 pulsos, 6 pulsos, 7 pulsos, 8 pulsos, 9 pulsos o 10 pulsos. En todavía otros casos, el bloque de DC puede presentar más de 10 pulsos, es decir, aproximadamente 15 pulsos, aproximadamente 20 pulsos o aproximadamente 25 pulsos. Tal como se utiliza en la presente memoria, «pulso» se refiere a por lo menos un periodo de excitación y/o de recuperación. Sin embargo, el número de pulsos típicamente se encuentra limitado por el tiempo disponible para la secuencia de ensayo. Las duraciones más cortas sondan más lejos de la superficie del electrodo e incrementan la sensibilidad al grosor del reactivo y a modificadores de la difusión.

El potencial de cada pulso en el bloque de DC puede ser de entre 0 y 450 mV, de entre aproximadamente 10 mV y aproximadamente 425 mV, de entre aproximadamente 15 mV y aproximadamente 400 mV, de entre aproximadamente 20 mV y aproximadamente 375 mV, de entre aproximadamente 25 mV y aproximadamente 350 mV, de entre aproximadamente 30 mV y aproximadamente 325 mV, de entre aproximadamente 35 mV y aproximadamente 300 mV, de entre aproximadamente 40 mV y aproximadamente 275 mV, de entre aproximadamente 45 mV y aproximadamente 250 mV, de entre aproximadamente 50 mV y aproximadamente 225 mV, de entre aproximadamente 75 mV y aproximadamente 200 mV, de entre aproximadamente 100 mV y aproximadamente 175 mV o de entre aproximadamente 125 mV y aproximadamente 150 mV. En otros casos, el potencial de cada pulso en el bloque de DC puede ser de aproximadamente 1 mV, de aproximadamente 10 mV, de aproximadamente 15 mV, de aproximadamente 20 mV, de aproximadamente 25 mV, de aproximadamente 30 mV, de aproximadamente 35 mV, de aproximadamente 40 mV, de aproximadamente 45 mV, de aproximadamente 50 mV, de aproximadamente 60 mV, de aproximadamente 70 mV, de aproximadamente 80 mV, de aproximadamente 90 mV, de aproximadamente 100 mV, de aproximadamente 110 mV, de aproximadamente 120 mV, de aproximadamente 130 mV, de aproximadamente 140 mV, de aproximadamente 150 mV, de aproximadamente 160 mV, de aproximadamente 170 mV, de aproximadamente 180 mV, de aproximadamente 190 mV, de aproximadamente 200 mV, de aproximadamente 210 mV, de aproximadamente 220 mV, de aproximadamente 230 mV, de aproximadamente 240 mV, de aproximadamente 250 mV, de aproximadamente 260 mV, de aproximadamente 270 mV, de aproximadamente 280 mV, de aproximadamente 290 mV, de aproximadamente 300 mV, de aproximadamente 310 mV, de aproximadamente 320 mV, de aproximadamente 330 mV, de aproximadamente 340 mV, de aproximadamente 350 mV, de aproximadamente 360 mV, de aproximadamente 370 mV, de aproximadamente 380 mV, de aproximadamente 390 mV, de aproximadamente 400 mV, de aproximadamente 410 mV, de aproximadamente 420 mV, de aproximadamente 430 mV, de aproximadamente 440 mV o de aproximadamente 450 mV. En todavía otros casos, el potencial de cada pulso del bloque de DC puede ser superior a 450 mV, es decir, de 475 mV, 500 mV, 525 mV, 550 mV, 575 mV, 600 mV, 625 mV, 650 mV, 675 mV, 700 mV, 725 mV o 750 mV. En todavía otros casos, el potencial del pulso de excitación puede ser superior a, inferior a o igual a +450 mV. En algunos casos, uno o más de los pulsos pueden presentar el mismo potencial, mientras que en otros casos cada pulso presenta un potencial diferente de los demás pulsos.

Tal como se ha indicado anteriormente, el potencial de DC aplicado puede fijarse en aproximadamente 0 mV entre pulsos de excitación para proporcionar un pulso de recuperación, convirtiéndolo en una forma de onda de excitación generalmente continua. Lo anterior contraste con una secuencia de señal de ensayo de las técnicas conocidas, que prescriben la utilización de un circuito abierto entre los pulsos de DC positivos, excluyendo de esta manera la posibilidad de recoger y analizar la corriente entre pulsos positivos.

Con independencia del número, cada pulso de DC puede aplicarse durante 50 a 500 ms, durante aproximadamente 60 a aproximadamente 450 ms, durante aproximadamente 70 ms a aproximadamente 400 ms, durante aproximadamente 80 ms a aproximadamente 350 ms, durante aproximadamente 90 ms a aproximadamente 300 ms, durante aproximadamente 100 ms a aproximadamente 250 ms, durante aproximadamente 150 ms a aproximadamente 200 ms o durante aproximadamente 175 ms. Alternativamente, cada pulso puede aplicarse durante aproximadamente 50 ms, aproximadamente 60 ms, aproximadamente 70 ms, aproximadamente 80 ms,

aproximadamente 90 ms, aproximadamente 100 ms, aproximadamente 125 ms, aproximadamente 150 ms, aproximadamente 175 ms, aproximadamente 200 ms, aproximadamente 225 ms, aproximadamente 250 ms, aproximadamente 275 ms, aproximadamente 300 ms, aproximadamente 325 ms, aproximadamente 350 ms, aproximadamente 375 ms, aproximadamente 400 ms, aproximadamente 425 ms, aproximadamente 450 ms, aproximadamente 475 ms, o aproximadamente 500 ms. En particular, cada pulso de DC a +450 mV puede aplicarse durante aproximadamente 250 ms, y cada pulso de DC a 0 mV puede aplicarse durante aproximadamente 500 ms. Todavía alternativamente, cada pulso puede aplicarse durante menos de aproximadamente e50 ms o durante más de aproximadamente 500 ms. La duración debe ser suficientemente larga o el inicio suficientemente suave para evitar corrientes de carga. Con independencia de lo anterior, la duración del pulso debe aplicarse durante suficiente tiempo para permitir un rechazo razonable del ruido de 50/60 Hz. Además, el tiempo entre pulsos idealmente es suficientemente largo para permitir que la celda electroquímica se descargue y vuelva a encontrarse en un estado próximo a su estado pre-pulso. Además, el potencial operativo dependerá del mediador y del sistema de medición. Los ejemplos en la presente memoria demuestran la prueba de concepto con un mediador redox derivado de NA.

Generalmente, la tasa de incremento de cada pulso de DC se selecciona para proporcionar una reducción de aproximadamente 50% o superior en la corriente pico respecto a la corriente pico proporcionada por una transición de potencial prácticamente ideal. En algunos casos, cada pulso puede presentar la misma tasa de incremento. En otros casos, algunos pulsos pueden presentar la misma tasa de incremento y otros pulsos pueden presentar una tasa de incremento diferente. En todavía otros casos, cada pulso presentar su propia tasa de incremento. Por ejemplo, las tasas de incremento eficaces pueden ser de entre 5 mV/ms y 75 mV/ms o de entre aproximadamente 10 mV/ms y aproximadamente 50 mV/ms, de entre 15 mV/ms y aproximadamente 25 mV/ms o de aproximadamente 20 mV/ms, aproximadamente 15 mV/ms, aproximadamente 20 mV/ms, aproximadamente 25 mV/ms, aproximadamente 30 mV/ms, aproximadamente 35 mV/ms, aproximadamente 40 mV/ms, aproximadamente 45 mV/ms, aproximadamente 50 mV/ms, aproximadamente 55 mV/ms, aproximadamente 60 mV/ms, aproximadamente 65 mV/ms, aproximadamente 70 mV/ms o aproximadamente 75 mV/ms. En particular, la tasa de incremento puede ser de entre 40 mV/ms y 50 mV/ms.

Para determinar el potencial de excitación para un mediador redox dado, puede representarse gráficamente la corriente medida un tiempo fijado después de aplicar un salto de potencial seleccionado del electrodo de trabajo/contraelectrodo (WE-CE, por sus siglas en inglés) (por ejemplo 3,5 s). En cualquier caso, el experto en la materia intentará operar de manera cómoda en una meseta de potencial de corriente. Sin embargo, los potenciales más altos no son siempre mejores ya que pueden invitar a otras reacciones (es decir, reacciones interfirientes) que podrían contribuir indeseablemente a la medición de analito de interés.

En algunos casos, la secuencia de ensayo incluye un único bloque de DC, mientras que en otros casos, la secuencia de ensayo incluye dos o más bloques de DC.

Un bloque de DC ejemplar puede alternar (es decir, pulsar) entre 0 mV y +450 mV (en modo biamperométrico).

Al igual que para el bloque de AC, el experto en la materia entenderá que pueden modificarse el número, potencial, duración y orden de los pulsos de DC.

En los métodos, puede obtenerse (es decir, medirse o registrarse) la información de corriente de respuesta AC y/o DC a razón de 2000/s a 200.000/s, a aproximadamente 3.000/s a aproximadamente 190.000/s, a aproximadamente 4.000/s a aproximadamente 180.000/s, a aproximadamente 5.000/s a aproximadamente 170.000, a aproximadamente 6.000/s a aproximadamente 160.000/s, a aproximadamente 7.000/s a aproximadamente 150.000/s, a aproximadamente 8.000/s a aproximadamente 140.000/s, a aproximadamente 9.000/s a aproximadamente 130.000/s, a aproximadamente 10.000/s a aproximadamente 120.000/s, a aproximadamente 15.000/s a aproximadamente 110.000/s, a aproximadamente 20.000/s a aproximadamente 100.000/s, a aproximadamente 30.000/s a aproximadamente 90.000/s, a aproximadamente 40.000/s a aproximadamente 80.000/s, a aproximadamente 50.000/s a aproximadamente 70.000/s o a aproximadamente 60.000/s. En algunos casos, la información de corriente de respuesta de AC y/o de DC puede obtenerse a aproximadamente 100/s a aproximadamente 200/s, a aproximadamente 200/s a aproximadamente 300/s, a aproximadamente 300/s a aproximadamente 400/s, a aproximadamente 400/s a aproximadamente 500/s, a aproximadamente 500/s a aproximadamente 600/s, a aproximadamente 600/s a aproximadamente 700/s, a aproximadamente 700/s a aproximadamente 800/s, a aproximadamente 800/s a aproximadamente 900/s, a aproximadamente 1.000/s a aproximadamente 1.500/s, a aproximadamente 1.500/s a aproximadamente 2.000/s, a aproximadamente 2.000/s a aproximadamente 2.500/s, a aproximadamente 2.500/s a aproximadamente 3.000/s, a aproximadamente 3.000/s a aproximadamente 3.500/s, a aproximadamente 3.500/s a aproximadamente 4.000/s, a aproximadamente 4.000/s a aproximadamente 4.500/s, a aproximadamente 4.500/s a aproximadamente 5.000/s, a aproximadamente 5.000/s a aproximadamente 5.500/s, a aproximadamente 5.500/s a aproximadamente 6.000/s, a aproximadamente 6.000/s a aproximadamente 6.500/s, a aproximadamente 6.500/s a aproximadamente 7.000/s, a aproximadamente 7.000/s a aproximadamente 7.500/s, a aproximadamente 7.500/s a aproximadamente 8.000/s, a aproximadamente 8.000/s a aproximadamente 8.500/s, a aproximadamente 8.500/s a aproximadamente 9.000/s, a aproximadamente 9.000/s a aproximadamente 9.500/s, a aproximadamente 9.500/s a aproximadamente 10.000/s, a aproximadamente 10.000/s

5 a aproximadamente 20.000/s, a aproximadamente 20.000/s a aproximadamente 30.000/s, a aproximadamente 30.000/s a aproximadamente 40.000/s, a aproximadamente 40.000/s a aproximadamente 50.000/s, a aproximadamente 50.000/s a aproximadamente 60.000/s, a aproximadamente 60.000/s a aproximadamente 70.000/s, a aproximadamente 70.000/s a aproximadamente 80.000/s, a aproximadamente 80.000/s a aproximadamente 90.000/s, a aproximadamente 90.000/s a aproximadamente 100.000/s, a aproximadamente 100.000/s a aproximadamente 110.000/s, a aproximadamente 110.000/s a aproximadamente 120.000/s, a aproximadamente 120.000/s a aproximadamente 130.000/s, a aproximadamente 130.000/s a aproximadamente 140.000/s, a aproximadamente 140.000/s a aproximadamente 150.000/s, a aproximadamente 150.000/s a aproximadamente 160.000/s, a aproximadamente 160.000/s a aproximadamente 170.000/s, a aproximadamente 170.000/s a aproximadamente 180.000/s, a aproximadamente 180.000/s a aproximadamente 190.000/s o a aproximadamente 200.000/s. En otros casos, la información de corriente de respuesta de AC y/o de DC puede obtenerse hasta a aproximadamente 100/s, aproximadamente 200/s, aproximadamente 300/s, aproximadamente 400/s, aproximadamente 500/s, 600/s, aproximadamente 700/s, aproximadamente 800/s, aproximadamente 900/s, aproximadamente 1.000/s, aproximadamente 1.250/s, aproximadamente 1.500/s, aproximadamente 1.750/s, aproximadamente 2.000/s, aproximadamente 2.225/s, aproximadamente 2.500/s, aproximadamente 2.750/s, aproximadamente 3.000/s, aproximadamente 3.250/s, aproximadamente 3.500/s, aproximadamente 3.750/s, aproximadamente 4.000/s, aproximadamente 4.250/s, aproximadamente 4.500/s, aproximadamente 4.750/s, aproximadamente 5.000/s, aproximadamente 5.250/s, aproximadamente 5.500/s, aproximadamente 5.750/s, aproximadamente 6.000/s, aproximadamente 6.250/s, aproximadamente 6.500, aproximadamente 7.000/s, aproximadamente 7.250/s, aproximadamente 7.500/s, aproximadamente 7.750/s, aproximadamente 8.000/s, aproximadamente 8.250/s, aproximadamente 8.500/s, aproximadamente 8.750, aproximadamente 9.000/s, aproximadamente 9.250/s, aproximadamente 9.00/s, aproximadamente 9.750/s, aproximadamente 10.000/s, aproximadamente 15.000/s, aproximadamente 20.000/s, aproximadamente 25.000/s, aproximadamente 30.000/s, aproximadamente 35.000/s, aproximadamente 40.000/s, aproximadamente 45.000/s, aproximadamente 50.000/s, aproximadamente 55.000/s, aproximadamente 60.000/s, aproximadamente 65.000/s, aproximadamente 70.000/s, aproximadamente 75.000/s, aproximadamente 80.000/s, aproximadamente 85.000/s, aproximadamente 90.000/s, aproximadamente 95.000/s, aproximadamente 100.000/s, aproximadamente 105.000/s, aproximadamente 110.000/s, aproximadamente 115.000/s, aproximadamente 120.000/s, aproximadamente 125.000/s, aproximadamente 130.000/s, aproximadamente 135.000/s, aproximadamente 140.000/s, aproximadamente 145.000/s, aproximadamente 150.000/s, aproximadamente 155.000/s, aproximadamente 160.000/s, aproximadamente 165.000/s, aproximadamente 170.000/s, aproximadamente 175.000/s, aproximadamente 180.000/s, aproximadamente 185.000/s, aproximadamente 190.000/s, aproximadamente 195.000 o a aproximadamente 200.000/s. En todavía otros casos, la información de corriente de respuesta de AC y/o de DC puede obtenerse a más de 200.000/s.

35 La información de corriente de respuesta de AC y/o de DC puede recogerse de la secuencia de ensayo e incluye respuestas de corriente a los bloques de AC y de DC. En algunos casos, la información de corriente de respuesta puede recogerse a una tasa de muestreo A/D para las mediciones de DC y de AC para simplificar el diseño del sistema, incluyendo una única ruta de señales compartida para las mediciones de AC y de DC. El intervalo de tasas de muestreo de audio digital incluye, aunque sin limitación, entre aproximadamente 44,1 kHz y aproximadamente 192 kHz. Los convertidores de A/D en dicho intervalo se encuentran fácilmente disponibles de una diversidad de proveedores comerciales de semiconductores.

40 La información de corriente de respuesta (por ejemplo la duración, la forma y/o la magnitud) al bloque de AC puede utilizarse para determinar los valores de admitancia y de fase u otros parámetros complejos tal como se indica en mayor detalle posteriormente. La información de respuesta de corriente a dicho bloque de DC puede utilizarse para medir un analito, tal como la glucosa u otro analito sometido a análisis mediante técnicas de oxidación/reducción. Además, también puede utilizarse la información de respuesta de corriente para examinar efectos del Hc y de la temperatura sobre la concentración del analito.

45 En algunos casos, el bloque de AC puede aplicarse antes de por lo menos un bloque de DC, después de por lo menos un bloque de DC o intercalo entre los mismos. Alternativamente, el bloque de AC se aplica antes de la secuencia o secuencias de DC.

50 De esta manera, una secuencia de ensayo ejemplar puede incluir: (1) un bloque de AC de una pluralidad de señales de AC de baja amplitud, y (2) un bloque de DC de pulsos de aproximadamente +450 mV de corta duración (por ejemplo aproximadamente 50 a 500 ms) separados por pulsos de recuperación de duración similarmente corta (por ejemplo de aproximadamente 50 a 500 ms) durante los que se aplica un circuito cerrado de potencial de recuperación de aproximadamente 0 mV.

55 En los métodos, se aplica un circuito cerrado, potencial de DC de aproximadamente 0 mV, para proporcionar un pulso de recuperación, convirtiéndolo de esta manera en un perfil de potencial de excitación continuo. Lo anterior contrasta con la utilización de un circuito abierto entre pulsos de DC no iguales a cero. La utilización de un pulso de recuperación permite la recolección y análisis de respuestas de corriente durante la duración de los pulsos de recuperación además de la información de respuesta de corriente durante los pulsos no iguales a cero. El pulso de recuperación puede verse como un periodo de recuperación adecuadamente prolongado en el que por lo menos

parte de la reacción electroquímica con un analito, tal como la glucosa, ha sido desactivada, permitiendo de esta manera que el sistema vuelva a un punto inicial común antes de la posterior interrogación con otro pulso no igual a cero.

5 Tras recoger la información de respuesta, los métodos incluyen proporcionar un sistema anti-error de antioxidante estadístico utilizando un clasificador o un discriminador que distingue entre muestras que contienen niveles de antioxidante con menos de una concentración predeterminada de muestras que presentan niveles de antioxidante que son superiores a la concentración predeterminada. La funcionalidad del sistema anti-error puede utilizarse con un sistema electroquímico que puede proporcionar características de impedancia de la celda y mediciones
10 amperométricas pulsadas que son unipolares o bipolares. También puede utilizarse en sistemas electroquímicos en los que la celda electroquímica se excita simultáneamente con frecuencias de banda ancha y pulsado de DC de forma unipolar o bipolar. La función anti-error puede utilizarse en relación a sistemas de ensayo configurados para determinar la concentración de varios analitos diferentes. En algunos casos, el sistema anti-error puede utilizarse conjuntamente con un sistema de ensayo de glucosa, tal como un sistema ACGS. En el caso de que el sistema anti-error identifique que la muestra presenta un nivel de antioxidante seguro al que la concentración de glucosa calculada sería fiable, puede presentarse al usuario la concentración de glucosa calculada. En caso contrario, al usuario se le puede presentar un código de error que indica que el nivel de antioxidante u otro interferente excede un umbral al que puede proporcionarse una concentración de glucosa fiable. Por ejemplo, el umbral predeterminado para el ascorbato en una muestra puede ser de aproximadamente 3 mg/dl o superior, de aproximadamente 4 mg/dl o superior, de aproximadamente 5 mg/dl o superior, de aproximadamente 6 mg/dl o superior, de aproximadamente 7 mg/dl o superior, de aproximadamente 8 mg/dl o superior, de aproximadamente 9 mg/dl o superior o de aproximadamente 10 mg/dl o superior.

25 Con respecto al sistema anti-error de antioxidante basado en estadísticos, puede ser un discriminador que distinga entre muestras que contienen niveles de antioxidante, tal como ascorbato, con menos de 10 mg/dl, de muestras que presentan niveles que son superiores a 10 mg/dl. Se apreciará que 10 mg/dl es un ejemplo y que también pueden utilizarse otros umbrales según la sensibilidad del sistema de ensayo a la presencia del antioxidante de interés. El sistema anti-error puede construirse según la ecuación a continuación:

$$\text{Probabilidad(Ascorbato} > T1) = \frac{\sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}{1 + \sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}$$

30 El valor determinado de la función no lineal de dicha ecuación puede utilizarse para identificar la probabilidad de que la muestra pertenezca a una de las dos clases de muestras. El sistema anti-error se activa en el caso de que la Probabilidad(Ascorbato>T1) sea superior a T2, en donde T2 es el intervalo [0, 1]. Las cantidades indicadas por O_j son los valores de admitancia de AC Y_{20} , Y_{10} , Y_2 e Y_1 , y los valores de fase P_{20} , P_{10} , P_2 y P_1 , que se basan en la información de respuesta de corriente de la sección titulada "Bloque de AC" y las cantidades de DC que se obtienen de la sección titulada "Bloque de DC" en la FIG. 3. Las cantidades indicadas con β_j y α_i son constantes (parámetros) que se estiman con datos de entrenamiento adecuados.

40 En concepto, este método altera la definición del problema ya que se refiere a un sistema anti-error de antioxidante. En lugar de determinar cuantitativamente el nivel del antioxidante y si es superior a un umbral, los presentes métodos determinan si las mediciones del bloque de DC son consistentes con un nivel de antioxidante bajo o alto. En otras palabras, el problema se convierte de cuantificación discreta del antioxidante en uno de clasificación o discriminación del antioxidante. Debe indicarse que el presente sistema anti-error puede basarse en la respuesta de DC procedente de incluso tan sólo los primeros 3 pulsos en el bloque de DC de la FIG. 3 (es decir, excitación-recuperación-excitación), reduciendo significativamente de esta manera el tiempo de ensayo, con la condición de que los datos de respuesta de corriente de dichos 3 pulsos resulte suficiente también para determinar o, de otro modo, calcular, una concentración de analito (por ejemplo la glucosa en sangre). De esta manera, por ejemplo, en la FIG. 3, el tiempo total para la secuencia potencial es de tan sólo 2,5 s. El experto en la materia apreciará que pueden crearse algoritmos adecuados que utilizan tantos o tan pocos datos de respuesta de corriente de tantos pulsos como se considere suficiente para los fines de determinación del analito y de determinación del sistema anti-error del interferente.

55 En referencia a la FIG. 4, se muestra un gráfico de rendimiento de un sistema de ensayo sin sistema anti-error de un antioxidante (es decir, ascorbato). El eje horizontal del gráfico indica la glucosa de referencia en mg/dl (es decir, la concentración real de la glucosa en una muestra controlada). El eje vertical del gráfico indica la recuperación de la Gs en mg/dl (es decir, el valor de la medición de Gs determinado por el sistema de ensayo). La codificación de los puntos de datos representados por los símbolos + indica la concentración de ascorbato de la muestra en mg/dl (0, 4, 10, 15, 25, 35, 45, 60, 80, 100, 150, 200, 300 y 400). Los agrupamientos verticales de símbolos + indican los resultados de las mediciones para muestras a las que se han añadido concentraciones de glucosa específicas, es decir 25 mg/dl (agrupamiento izquierdo), 125 mg/dl (agrupamiento central) y 600 mg/dl (agrupamiento derecho).

En la FIG. 4, la región A de Parkes representa las mediciones para las que una medición de la Gs mediante el sistema de ensayo resulta aceptablemente exacto. Más específicamente, la región A de Parkes indica que la medición no presenta ningún efecto sobre el resultado clínico; la región B de Parkes indica una acción clínica alterada con poco o ningún efecto sobre el resultado clínico; la región C de Parkes indica una acción clínica alterada que probablemente afectará al resultado clínico; la región D de Parkes indica una acción clínica alterada que podría presentar un riesgo médico significativo, y la región E de Parkes indica una acción clínica alterada que podrá presentar consecuencias peligrosas. Debe indicarse además que las líneas discontinuas dentro de la región A de Parkes representan un funcionamiento 10/10 real.

10 En la FIG. 4, sin embargo, existen numerosas mediciones para todos los niveles sometidos a ensayo de glucosa en sangre que se encuentran fuera de la región A de Parkes y que incluye resultados de ensayo inexactos. Se listan los resultados específicos en la Tabla 1, a continuación.

Tabla 1

Criterio	Número de tiras	Porcentaje
Total	668	100
Región A	365	53,05
Región B	44	6,4
Región C	52	7,56
Región D	69	10,03
Región E	158	22,97
Gráfico exterior	79	11,48
En región 10/10	319	46,37

15 En referencia a la FIG. 5 se muestra un gráfico del rendimiento del sistema de ensayo con un sistema anti-error estadístico de antioxidante (es decir, ascorbato) activado. El eje horizontal del gráfico indica la glucosa de referencia en mg/dl (es decir, la concentración real de la glucosa en una muestra controlada). El eje vertical del gráfico indica la recuperación de la Gs en mg/dl (es decir, el valor de la medición de Gs determinado por el sistema de ensayo). La codificación de los puntos de datos representados por símbolos + indican la concentración de antioxidante de la muestra en mg/dl (0, 4, 10, 15 y 80). Los agrupamientos verticales de símbolos + indican los resultados de las mediciones para muestras a las que se han añadido concentraciones de glucosa específicas, es decir 25 mg/dl (agrupamiento izquierdo), 125 mg/dl (agrupamiento central) y 600 mg/dl (agrupamiento derecho). Las regiones A, B, C, D y E de Parkes proporcionan las mismas indicaciones indicadas anteriormente en relación a la FIG. 4. Tal como se muestra en la FIG. 5, todas las mediciones de Gs se encuentran dentro de la región A, demostrando de esta manera el funcionamiento 10/10. Se listan los resultados específicos en la Tabla 2, a continuación.

Tabla 2

Criterio	Número de tiras	Porcentaje
Total	180	100
Región A	180	100
Región B	0	0,00
Región C	0	0,00
Región D	0	0,00
Región E	0	0,00
Gráfico exterior	0	0,00
En región 10/10	164	91,11

Las Tablas 3 y 4, a continuación, ilustran información adicional referente a las FIGS. 4 y 5, respectivamente.

30

Tabla 3

Glucosa diana (mg/dl)	Sin activación del sistema anti-error					
	Ascorbato (mg/dl)	Región de Parkes				
		A	B	C	D	E
10	0	32	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	0	0	16	0	0
	25	0	0	1	15	0
	35	0	0	0	5	11
	45	0	0	0	0	16
	60	0	0	0	0	32
	100	0	0	0	0	16
	150	0	0	0	0	16
	200	0	0	0	0	16
	300	0	0	0	0	16
	400	0	0	0	0	16

ES 2 634 896 T3

120	0	32	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	15	1	0	0	0
	25	16	0	0	0	0
	35	15	1	0	0	0
	45	5	11	0	0	0
	60	0	10	6	0	0
	100	0	0	12	4	0
	150	0	0	0	16	0
	200	0	0	0	16	0
	300	0	0	0	13	3
400	0	0	0	0	16	
600	0	32	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	16	0	0	0	0
	25	16	0	0	0	0
	35	16	0	0	0	0
	45	16	0	0	0	0
	60	16	0	0	0	0
	100	16	0	0	0	0
	150	16	0	0	0	0
	200	10	6	0	0	0
	300	0	15	1	0	0
400	0	0	16	0	0	

Tabla 4

Glucosa diana (mg/dl)	Sin activación del sistema anti-error					
	Región de Parkes					
	Ascorbato (mg/dl)	A	B	C	D	E
10	0	32	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0
	35	0	0	0	0	0
	45	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	
120	0	32	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0
	35	0	0	0	0	0
	45	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	

600	0	16	0	0	0	0
	4	16	0	0	0	0
	10	16	0	0	0	0
	15	4	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0
	35	0	0	0	0	0
	45	0	0	0	0	0
	60	0	0	0	0	0
	100	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0
	200	0	0	0	0	0
	300	0	0	0	0	0
	400	0	0	0	0	0

Las tablas de recuento muestran el número de observaciones de las muestras con diferentes glucosas diana y niveles de interferencia de ascorbato que caen en cada una de las regiones de Parkes. La Tabla 3 muestra los recuentos en el caso de que el sistema anti-error de ascorbato no se encuentra activado, mientras que la Tabla 4 muestra los recuentos en el caso de que el sistema anti-error de ascorbato ha sido activado.

También debe indicarse que los resultados mostrados en la FIG. 5 serían sustancialmente idénticas para las otras realizaciones indicadas en la presente memoria. Debe apreciarse que la descripción anteriormente proporcionada es sobre una descripción de sistemas anti-error estadístico ejemplar y no es limitativa.

Se encuentran contempladas varias modificaciones y variaciones, entre ellas: modificar el sistema anti-error para mejorar la exactitud de la clasificación basándose en el nivel del ascorbato (u otro interfiriente); alterar el sistema anti-error para diferenciar entre atributos de la muestra que podrían conducir a observaciones de la glucosa no seguras (por ejemplo que diferencian entre las regiones C, D y E de Parkes); incorporar el nivel del ascorbato (o de otro interfiriente) en el ajuste de la glucosa predicha de manera que el sistema pueda funcionar en un intervalo más amplio de niveles de ascorbato; utilizar enfoques de aprendizaje automático para reducir la memoria requerida, el número de cálculos y el tiempo de cálculo, y utilizar el efecto de observables transformados (mediciones de AC y de DC) que incluyen formas de impedancia, potencias de AC y transformaciones log de DC.

Además, puede proporcionarse funcionalidad de clasificador o discriminador de varias maneras, entre ellas: un clasificador o discriminador que distinga la muestra como perteneciente a una de entre dos clases (por ejemplo segura/no segura o apto/no apto); un clasificador o discriminador que distinga la muestra como perteneciente a una de entre tres clases (segura, no segura en caso de no corregirse, no segura y no corregible), u otros clasificadores o discriminadores eficaces para clasificar las mediciones en dos o más categorías asociadas a resultados de mediciones exactas e inexactas. El clasificador además puede utilizar varias técnicas de aprendizaje automático, incluyendo funciones logísticas, árboles de decisiones y máquinas de vectores de soporte.

En el entrenamiento de determinación de analito, 4 observaciones se encontraban en la clase ≤ 10 mg/dl y 6 observaciones en la clase > 10 mg/dl se clasificaron incorrectamente, correspondientes a una exactitud de clasificación de 99,98% y 99,47% para cada clase, respectivamente. Se resumen estos resultados en la Tabla 5, a continuación.

Tabla 5: Composición del juego de entrenamiento y rendimiento para el clasificador Bloque 1 de DC.

Juego de entrenamiento	Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	Ascorbato predicho > 10 mg/dl	Todos
<i>ascorbato observado ≤ 10 mg/dl</i>	24979	4	24982
<i>ascorbato observado > 10 mg/dl</i>	6	1140	1146
<i>Todos</i>	24985	1144	26129

La aplicación del clasificador basada en el bloque de DC resultó en la clasificación incorrecta de 3 observaciones en la clase >10 mg/dl y 2 observaciones en la clase ≤ 10 mg/dl, correspondiente a una exactitud de clasificación global de 99,98% y 99,65% para cada clase, respectivamente. Se resumen estos resultados en la Tabla 6, a continuación.

Tabla 6: Composición del juego de ensayo independiente y rendimiento para el clasificador Bloque 1 de DC.

Juego de ensayo independiente	Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	Ascorbato predicho > 10 mg/dl	Todos
<i>ascorbato observado ≤ 10 mg/dl</i>	12488	3	12491
<i>ascorbato observado > 10 mg/dl</i>	2	572	574
<i>Todos</i>	12490	575	13065

En referencia a la FIG. 6, se muestra otra secuencia de ensayo ejemplar que incluye: (1) un bloque de AC (denominado Bloque AC) con una pluralidad de segmentos de AC a diferentes frecuencias, (2) un bloque de DC

(denominado Bloque DC) con pulsos cortos de 450 mV separados por potenciales de relajación a 0 mV, en los que el mediador no resulta oxidado por el potencial aplicado, y (3) un segundo bloque de DC (denominado Bloque DC 2) con un SRBP a dos tasas de incremento diferentes. Más específicamente, el bloque AC puede presentar cinco (5) segmentos diferentes a cuatro (4) frecuencias: segmentos 10 kHz, 20 kHz, 10 kHz, 2 kHz y 1 kHz. La información de respuesta de corriente al bloque AC puede utilizarse para determinar los valores de admitancia y de fase u otros parámetros complejos tal como se indica en mayor detalle posteriormente. En algunos casos, se lleva a cabo una determinación de la concentración de analito, tal como la determinación de la Gs, basándose en la información de respuesta de corriente del bloque AC y la información de respuesta de corriente del Bloque DC 1. La información de respuesta de corriente del Bloque DC 2 puede utilizarse para construir un sistema anti-errores para la glucosa.

El segundo bloque DC ilustrado en la FIG. 6 surgió de investigación relacionada con las secuencias de excitación de DC de SRBP. En teoría, cualquier excitación de DC con suficiente potencial para provocar una reacción electroquímica de mediador sobre los electrodos producirá una respuesta de corriente que puede utilizarse para medir cuantitativamente un analito tal como la glucosa. Dicha respuesta de corriente también resultará afectada por la modificación del Hct y los niveles de temperatura. Esta investigación evaluó el valor de las secuencias de excitación de DC de SRBP para determinar si la información única adicional podría obtenerse y utilizarse para mejorar el rendimiento y/o capacidades del sistema de medición del analito, de manera muy similar a cómo la utilización de la información de pulsos de recuperación en combinación con la información de pulsos de excitación puede utilizarse para mejorar el rendimiento.

La respuesta de corriente al primer bloque AC de la FIG. 6 no contiene información sobre la glucosa sino que por el contrario codifica información sobre el hematocrito, la temperatura y otros factores, los cuales pueden utilizarse para corregir la lectura de Gs derivada del bloque o bloques de ensayo de DC. La respuesta de corriente al Bloque DC 1 corresponde principalmente a la cantidad de PDA que es proporcional a la cantidad de glucosa presente. En contraste, la respuesta de corriente al Bloque DC 2 proporciona información cuantitativa sobre los niveles de QDI además de PDA. Al igual que el Bloque DC 1, las respuestas en corriente a +450 mV y a -450 mV corresponden a PDA y son proporcionales a la cantidad de glucosa presente. Sin embargo, la SRBP también permite la detección de QDI a potenciales más bajos, de nivel intermedio, aplicados durante los cambios de potencial en sentido negativo y en sentido positivo aplicados.

En referencia a la FIG. 7, las respuestas en corriente se muestran al potencial del Bloque DC 2 para cinco muestras de sangre diferentes con niveles diferentes de ascorbato. El ascorbato reacciona con QDI, resultando en una reducción del elemento QDI; el elemento QDI para cada barrido de potencial se indica mediante un «*». Tal como se ha indicado anteriormente, el ascorbato reacciona rápidamente con QDI y lo reduce, *incrementando* de esta manera la cantidad de PDA y resultando en la detección de una corriente más alta en el electrodo de trabajo. Debido a que se considera que la corriente más alta percibida es proporcional a la glucosa, ello resulta en una lectura de glucosa falsamente elevada. Resulta importante entender que los niveles elevados de ascorbato pueden provocar un incremento de las respuestas en corriente relacionadas con PDA *tanto* en Bloque DC 1 *como* en el Bloque DC 2.

Se ha reconocido que el Bloque DC 2 proporciona información que puede utilizarse para detectar el nivel elevado de ascorbato y para producir una estimación cuantitativa del nivel de ascorbato. Debido a que resulta posible predecir cuantitativamente el ascorbato, se infiere que puede utilizarse un nivel de corte a un nivel particular de ascorbato como límite para la implementación del sistema anti-errores. En el caso de que el valor de ascorbato sea inferior al límite establecido, el sesgo en el valor predicho de glucosa se considera aceptable y el medidor proporciona un valor de Gs. Sin embargo, en el caso de que el valor de ascorbato sea superior al límite establecido, resultando de esta manera en una estimación no segura de la glucosa, sólo se mostrará un código de error al usuario final.

En referencia a la FIG. 8, se muestran las respuestas en corriente a los potenciales del Bloque DC 2 para un conjunto de muestras de sangre con niveles de ascorbato comprendidos entre 0 y 400 mg/dl. La totalidad de las muestras presentan el mismo nivel de glucosa (120 mg/dl).

La FIG. 9 muestra una vista más detallada de una parte de la FIG. 8, específicamente el primer barrido en sentido negativo y en sentido positivo de la FIG. 8. Se encuentran presentes tanto el elemento QDI como el elemento PDA en la información de respuesta de corriente y varían como función del nivel de ascorbato.

Las FIGS. 10 y 11 muestran una vista más detallada de los datos ilustrados en la FIG. 9 con respecto a los elementos QDI y PDA, respectivamente. Específicamente, la FIG. 10 muestra una clara reducción en la corriente pico correspondiente a QDI a medida que se incrementa el nivel de ascorbato. En contraste, la FIG. 11 muestra un claro incremento en la corriente pico correspondiente a PDA a medida que se incrementa el nivel de ascorbato. En el caso de que la cantidad de PDA se considere directamente proporcional a la glucosa, resulta posible entender cómo la presencia de niveles elevados de ascorbato podrían provocar una lectura erróneamente elevada de glucosa. Estos elementos y elementos QDI y/o PDA similares pueden utilizarse en una diversidad de sistemas anti-errores de antioxidante y/o sistemas anti-errores sanitarios químicos, algunos ejemplos de los cuales se explican a continuación.

Un método ejemplar incluye construir un sistema anti-error de antioxidante que no requiere una estimación cuantitativa del antioxidante. Por ejemplo, un grupo de datos de entrenamiento representativos puede dividirse en dos clases, una que contiene niveles de ascorbato ≤ 10 mg/dl y otro que contiene niveles de ascorbato >10 mg/dl.

5 Se ha demostrado que un nivel de ascorbato de 10 mg/dl produce una estimación de la glucosa sesgada que todavía se encuentra comprendida en las Zonas A y B de la rejilla de error de Parkes, resultando de esta manera en un error de predicción de la glucosa que no conduciría a que el individuo respondiese incorrectamente, tal como administrando insulina cuando en realidad no se necesita. A continuación, el conjunto de entrenamiento puede utilizarse con cualquiera de entre varios métodos matemáticos de clasificación. Los métodos de clasificación
10 proporcionan una manera de clasificar una observación nueva o desconocida basándose en un juego de clases conocidas. Estas clasificaciones ejemplares se basan en la capacidad de discriminar con exactitud entre clases y no en la predicción del valor real de ascorbato. En este caso, *cualesquiera* niveles de ascorbato ≤ 10 mg/dl pertenecientes a únicamente una clase; de manera similar, *cualesquiera* niveles de ascorbato > 10 mg/dl pertenecen únicamente a la otra clase. Para implementar un sistema anti-error, sólo resulta necesario determinar con exactitud
15 la clase a la que pertenece una nueva observación.

Los datos utilizados para entrenar e implementar el clasificador determinado pueden proceder de la información de respuesta de corriente del Bloque DC 2. Alternativamente, pueden crearse sistemas anti-error análogos utilizando la información de respuesta de corriente relacionada con PDA del Bloque DC 1 e información adicional de AC, aunque
20 debe considerarse que muchos factores no relacionados pueden influir sobre la respuesta de corriente. De esta manera, un clasificador de antioxidante basado en el Bloque DC 1 estaría basado en la asunción de que la corriente incrementada causada por, por ejemplo, el ascorbato, siempre puede distinguirse de una corriente incrementada debida a otros factores, incluso para nuevos tipos de muestra no conformes que todavía se desconocen y que podrían no haber sido considerados en el entrenamiento del clasificador. En contraste, el Bloque DC 2 proporciona
25 información nueva sobre QDI, proporcionando de esta manera una manera para determinar directamente la presencia de un antioxidante, tal como el ascorbato.

En referencia nuevamente a la FIG. 1 y su comentario asociado, resulta importante entender que este tipo de sistema anti-error de antioxidante resulta posible debido a la elección particular de NA como mediador redox. Sin embargo, cualquier mediador redox que forme una especie que pueda ser fácilmente reducida por un antioxidante, tal como el ascorbato, podría utilizarse de una manera similar para implementar los enfoques indicados en la presente memoria, con la condición de que la electrooxidación de la cantidad adicional de mediador redox reducido por el antioxidante produzca un efecto de respuesta que resulte evidente a excitaciones de potencial durante el Bloque DC2, en donde la electro-oxidación basada en el analito del mediador redox reducido no resulta típicamente
30 evidente. Éste no es el caso con algunos de los mediadores redox comunes utilizados para ACGS, pero es particularmente un efecto de un sistema de mediador redox basado en NA.

Además del ascorbato, se cree que puede realizarse el seguimiento de cualquier interferente que produzca fácilmente esencialmente una firma única, aunque similar (por ejemplo una reducción del elemento QDI, un incremento del elemento QDI, una reducción del elemento PDA o un incremento del elemento PDA). Incluso una falta de especificidad entre múltiples interferentes no eliminaría cualquiera de las ventajas indicadas anteriormente. Si la reacción química FAD-GDH con un mediador redox derivado de NA funciona correctamente, una muestra (a niveles de glucosa, Hct y de temperatura dados) debería producir una respuesta de corriente con una proporción característica de las corrientes pico de QDI y de PDA.
40

Sistemas anti-error sanitarios de capa de reactivos/químicos y métodos de medición: Además de los métodos anti-error de antioxidante indicados anteriormente, se proporcionan métodos anti-error de capa de reactivos hidratados. Los métodos generalmente se inician tal como anteriormente, mediante la aplicación de una secuencia de ensayo que presenta por lo menos un bloque DC y alternativamente por lo menos un bloque AC e incluso un segundo bloque DC.
45

En el caso de que el sistema químico hidratado (el sistema de reactivos en combinación con una muestra líquida, tal como sangre) y el mediador redox funcionen correctamente, cualquier muestra normal (para un analito dado, tal como glucosa, y hematocrito y niveles de temperatura dados) producirá una respuesta de corriente con un elemento QDI y una proporción característica de las corrientes pico de QDI y PDA ($M_{ox}:M_{red}$). En el caso de que el elemento QDI no sea discernible, lo anterior implicará que algo funciona gravemente mal en el sistema de capa de reactivos.
50

Esta situación resultará en la producción de una corriente adicional que aparece por un mecanismo diferente al de la simple reacción con el analito, conduciendo de esta manera a una lectura peligrosa incorrecta. Por lo tanto, la comprobación de la simple existencia o ausencia cualitativa del elemento QDI proporciona la base para el sistema anti-error sanitario de capa de reactivos. Esta comprobación puede llevarse a cabo matemáticamente de diversas maneras, incluyendo el reconocimiento de patrones, el análisis discriminante y las comparaciones heurísticas simples utilizando valores seleccionados de la respuesta de corriente.
55

En contraste con los métodos anteriormente indicados, que utilizan la predicción cuantitativa del antioxidante, dichos métodos utilizando la discriminación del antioxidante, que permite un método de clasificación numérico. Al igual que
60

los métodos anti-error de antioxidante indicados anteriormente, los métodos anti-error sanitarios químicos se basan en información de respuesta del Bloque DC 2 (extendiendo de esta manera el tiempo de ensayo); sin embargo, la utilización de los SRBP ofrece una ventaja clara: la capacidad de observar el elemento QDI. Algunos antioxidantes tales como el ascorbato reaccionan directamente con QDI, reduciendo de esta manera la intensidad del elemento, proporcionando: (1) la capacidad de detectar el ascorbato *directamente*, y (2) la capacidad de distinguir claramente los incrementos de PDA debidos al ascorbato de otros numerosos factores. La capacidad de detectar una proporción de los elementos PDA y QDI proporciona además la base para un sistema anti-error sanitario de capa de reactivos que puede utilizarse para determinar si la química del biosensor y el mediador redox están funcionando correctamente. Estas nuevas capacidades resultan posibles con la nueva información contenida únicamente en el Bloque 2.

El sistema anti-error de capa de reactivos puede demostrarse utilizando un clasificador o discriminador que distingue las muestras con ≤ 10 mg/dl de ascorbato de las muestras que contienen > 10 mg/dl de ascorbato. El clasificador puede construirse según la ecuación a continuación:

$$\text{Probabilidad(Ascorbato} > T1) = \frac{\sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}{1 + \sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}$$

En la ecuación anteriormente indicada, β_j son los coeficientes optimizados para los valores de O_j seleccionados de entre el Bloque AC y el Bloque DC 2.

Para generar los resultados mostrados posteriormente, se seleccionaron 35 valores (N=35) utilizando un procedimiento de selección de variables óptimas, que consistía de ocho (8) valores de AC (fase y admitancia a cuatro frecuencias diferentes) y veintinueve (29) valores de la respuesta de corriente del Bloque DC 2. La selección de los valores de respuesta de corriente de Bloque DC 2 se limitó deliberadamente a las primeras rampas de potencial en sentido negativo y positivo y, curiosamente, prácticamente la totalidad de las variables de DC seleccionadas correspondían al elemento QDI en la rampa de sentido positivo.

El sistema anti-error descrito mediante la ecuación anterior se activa en el caso de que la Probabilidad (Ascorbato $> T1$) sea superior a $T2$, en donde $T2$ se encuentra en el intervalo $[0, 1]$. El resultado de la función no lineal indica la probabilidad de que una muestra nueva pertenezca a una de las dos clases. Tal como se muestra en la Tabla 7, se construyó un juego de entrenamiento utilizando muestras que representaban un amplio intervalo de niveles de glucosa, hematocrito, temperatura y humedad, diversas condiciones de almacenamiento, interferencias clínicas y niveles de ascorbato. El juego de entrenamiento contenía 24.982 muestras con niveles de ascorbato ≤ 10 mg/dl y 1.145 muestras con ascorbato > 10 mg/dl. Tras el entrenamiento, sólo tres (3) observaciones de cada clase fueron clasificadas erróneamente, correspondiente a una exactitud de clasificación de 99,99% y 99,74% para cada clase, respectivamente. Se resumen estos resultados en la Tabla 7.

Tabla 7: composición y rendimiento del juego de entrenamiento.

Juego de entrenamiento	Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	Ascorbato predicho > 10 mg/dl	Todos
Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	24979	3	24982
Ascorbato observado > 10 mg/dl	3	1142	1145
Todos	24982	1145	26127

También se sometió a ensayo el nuevo clasificador utilizando un juego de datos de ensayo que no contenía ninguna de las muestras utilizadas en el entrenamiento. Tal como en el juego de entrenamiento, el juego de ensayo independiente contenía muestras que representaban un amplio intervalo de niveles de glucosa, hematocrito, temperatura y humedad, diversas condiciones de almacenamiento, interferencias clínicas y niveles de ascorbato. El juego de ensayo el juego de entrenamiento contenía 12.492 muestras con niveles de ascorbato ≤ 10 mg/dl y 575 muestras con ascorbato > 10 mg/dl. La aplicación del clasificador resultó en la clasificación incorrecta de 11 observaciones en la clase ≤ 10 mg/dl y 3 observaciones en la clase > 10 mg/dl, correspondiente a una exactitud de clasificación global de 99,91% y 99,48 % para cada clase, respectivamente. Se resumen estos resultados en la Tabla 8.

Tabla 8: composición y rendimiento del juego de ensayo independiente

Juego de ensayo independiente	Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	Ascorbato predicho > 10 mg/dl	Todos
Ascorbato predicho ≤ 10 mg/dl	12481	11	12492
Ascorbato observado > 10 mg/dl	3	572	575
Todos	12494	583	13067

Éstos representan únicamente resultados ejemplares ya que no se han realizado intentos para estudiar adicionalmente los efectos de seleccionar diferentes valores del Bloque DC 2 o de optimizar adicionalmente la composición de las muestras que comprende el juego de entrenamiento. Éstas ciertamente ilustran que pueden obtenerse resultados de clasificación muy buenos, proporcionando de esta manera una base para un sistema anti-error de ascorbato.

Este sistema anti-error de ascorbato se demostró utilizando valores de respuesta de corriente DC de las primeras rampas en sentido negativo y en sentido positivo en el Bloque DC 2, ilustrando de esta manera que la secuencia de ensayo total puede ser mucho más corta mediante el truncado del Bloque DC 2. Sin embargo, el clasificador de ascorbato también podría haberse construido a partir de un ciclo bipolar posterior de rampa lenta que comprendía el potencial aplicado del Bloque DC 2. Los métodos anti-error sanitarios de capa de reactivos requieren por lo menos un ciclo de SRBP del potencial aplicado pero no requieren ciclos adicionales con tasas de incremento iguales o diferentes. Además, pueden producirse uno o más ciclos SRBP antes o inmediatamente después del bloque DC 1. El sistema anti-error de ascorbato todavía funcionará de la misma manera.

Los métodos indicados anteriormente son ejemplares y no limitativos. Podrían añadirse clases adicionales, indicando valores de ascorbato en un intervalo en el que podría realizarse una corrección fiable. Lo anterior podría llevarse a cabo combinando ambos métodos ejemplares descritos en la presente memoria. En este caso, podría realizarse una predicción cuantitativa del nivel real del ascorbato para muestras dentro del intervalo, y este valor podría utilizarse para corregir el valor de glucosa proporcionado por el medidor. El método anteriormente indicado no pretende limitar el tipo de método de clasificación que podría utilizarse. También podrían utilizarse otros métodos, tales como árboles de decisión, K vecinos más próximos (KNN, por sus siglas en inglés), redes neuronales, etc., para construir un clasificador.

Por lo tanto, el sistema anti-error sanitario de capa de errores implica simplemente comprobar la existencia del elemento QDI. En el caso de que la química y mediador instalados en el biosensor funcionen tal como se espera, debería encontrarse presente un elemento QDI y debería mostrar un intervalo definido de proporciones con el elemento PDA. En el caso de que el elemento QDI no sea discernible, lo anterior implicará que algo funciona gravemente mal en la capa de reactivos. Esta situación resultará en la producción de corriente adicional por un mecanismo diferente de la simple reacción con la glucosa, conduciendo de esta manera a una lectura incorrecta de glucosa. La comprobación de la existencia del pico de QDI puede llevarse a cabo matemáticamente de diversas maneras, incluyendo el reconocimiento de patrones, el análisis discriminante y las comparaciones heurísticas simples utilizando valores seleccionados de la respuesta de corriente.

Un ejemplo práctico de cómo podrían implementarse ambos métodos ejemplares con un sistema ACGS puede describirse mediante las operaciones a continuación:

- (1) después del Bloque DC 1, aplicar el Bloque DC 2 y determinar si el elemento QDI esperado se encuentra presente. En caso negativo, detener el ensayo y enviar un código de error (sistema anti-error sanitario químico).
- (2) utilizar los datos de respuesta de corriente del Bloque DC 1, utilizar el clasificador de ascorbato para predecir la pertenencia de clase de la muestra nueva (sistema anti-error de ascorbato), en el que:

- (a) en el caso de que la muestra se clasifique como presentando ≤ 10 mg/dl de ascorbato, informar de un valor de glucosa,
- (b) en el caso de que la muestra se clasifique como presentando > 10 mg/dl de ascorbato, proporcionar un código de error.
- (c) (opcional) en el caso de que la muestra se clasifique en una tercera clase opcional, indicando que la corrección del valor de glucosa es posible y fiable, predecir el nivel de ascorbato e informar de un valor de glucosa compensado (corregido), o
- (d) evitar (o simplemente obviar la necesidad de) la aplicación del Bloque DC 2.

Debe entenderse que este flujo lógico de operaciones se presenta a título de ejemplo y no es limitativo.

Los métodos pueden utilizarse con sistemas ACGS amperométricos que utilizan por lo menos una secuencia de ensayo de DC en la que el voltaje aplicado se incrementa a una tasa que permite distinguir la firma o firmas electroquímicas de QDI y de PDA asociados al mediador. El voltaje en rampa puede ser lineal o seguir otras formas funcionales, tales como una onda sinusoidal o cosinusoidal. Los métodos son aplicables a cualquier sistema electroquímico que contenga un mediador que resulta reducido por el ascorbato y que presenta una firma única de voltaje-corriente que difiere de la del enzima. Debe indicarse además que el ascorbato y la glucosa pueden ser predichos ambos a partir de la información de AC y el Bloque DC 2 por sí solo, eliminando de esta manera la necesidad del Bloque DC 1. Además, los aspectos de los métodos podrían ponerse en práctica tal como se indica, con independencia de qué información se utiliza para predecir la glucosa. La respuesta de corriente del Bloque DC 1 utilizada para cuantificar la glucosa es proporcional a la cantidad de PDA. Debido a que el Bloque DC 2 contiene firmas para tanto QDI como PDA, resulta posible cuantificar la glucosa basándose en la intensidad del elemento PDA y, simultáneamente, resulta posible cuantificar el ascorbato basándose en QDI y/o la proporción entre los elementos QDI y PDA. Los métodos también son aplicables a sistemas ACGS basados en coulombimetría,

suponiendo que utilizan un sistema químico y mediador que permite la detección análoga del ascorbato utilizando una secuencia del potencial similar con excitación bipolar en rampa lenta.

5 Debe entenderse que el clasificador probabilístico puede ser sustancialmente el mismo o idéntico para técnicas basadas en el Bloque DC 1 o el Bloque DC 2. Debe entenderse además que la calidad del clasificador en términos de rendimiento de predicción para los juegos tanto de entrenamiento como de predicción era muy elevado y que los juegos de entrenamiento y de predicción se ensamblaron utilizando una diversidad muy amplia de datos que representaban muchos niveles diferentes de glucosa, temperatura, Hct, sal, interferencias y otras variables. La totalidad de las diversas técnicas dadas a conocer en la presente memoria muestran un rendimiento excelente.

10 El presente concepto inventivo ha sido descrito en relación a lo que actualmente se consideran las realizaciones más prácticas y preferentes. Sin embargo, el concepto inventivo ha sido presentado a título ilustrativo y no se pretende que se encuentre limitado por las realizaciones dadas a conocer. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, el experto en la materia entenderá que el concepto inventivo pretende comprender todas las modificaciones y disposiciones alternativas comprendidas dentro del alcance del concepto inventivo según las reivindicaciones adjuntas.

15

REIVINDICACIONES

1. Método anti-error de una medición electroquímica de un analito respecto de la interferencia de antioxidante, comprendiendo el método las etapas de:

5 aplicar una secuencia de ensayo eléctrico a un biosensor electroquímico, comprendiendo el biosensor:

un sistema de electrodos,
un reactivo que incluye un mediador redox en comunicación eléctrica con el sistema de electrodos, y
10 un receptáculo configurado para entrar en contacto con la muestra fluida proporcionada al biosensor,

con una muestra fluida en contacto de fluidos con el reactivo, en el que la secuencia de ensayo comprende por lo menos un bloque de corriente directa (DC), en el que por lo menos un bloque DC incluye por lo menos un potencial de recuperación, y en el que una condición de circuito cerrado del sistema de electrodos se mantiene durante por lo menos el potencial de recuperación,
15 medir la información de respuesta de corriente a la secuencia de ensayo, incluyendo información del potencial o potenciales de recuperación, y
proporcionar un sistema anti-error de antioxidante estadístico que utiliza un clasificador o un discriminador para determinar si un antioxidante interfiere con la concentración de analito, en el que el sistema anti-error de antioxidante se basa en información de por lo menos un bloque DC que se relaciona con el mediador redox.

2. Método según la reivindicación 1, en el que el bloque DC comprende una secuencia de pulso que alterna entre un potencial de excitación y un potencial de recuperación.

3. Método según la reivindicación 1 o 2, que comprende además las etapas de:

medir información sobre una respuesta de corriente de excitación al potencial de excitación y una respuesta de corriente de recuperación al potencial de recuperación, y
30 determinar una concentración de analito de la muestra fluida utilizando la información de la respuesta de corriente de excitación y la respuesta de corriente de recuperación, determinando la compensación para por lo menos un interferente.

4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el antioxidante es el ascorbato y la determinación se lleva a cabo basándose en la ecuación a continuación:

$$\text{Probabilidad(Ascorbato} > T1) = \frac{\sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}{1 + \sum_{i=1}^M \alpha_i \cdot \tanh(\sum_{j=1}^N \beta_j \cdot O_j)}$$

40 en el que el sistema anti-error se activa en el caso de que la Probabilidad(Ascorbato>T1) sea superior a T2, en donde T2 es el intervalo [0, 1].

5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la determinación del antioxidante se utiliza para proporcionar una operación por lo menos 10/10.

6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la determinación del antioxidante se utiliza por lo menos en parte para rechazar una medición o determinación de la concentración de analito.

7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la determinación del antioxidante se utiliza por lo menos en parte para corregir una medición o determinación del analito.

8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el sistema anti-error se activa en el caso de que se determine que el nivel de antioxidante sea superior a 10 mg/dl.

9. Método anti-error de una medición electroquímica de un analito en una muestra fluida, comprendiendo el método las etapas de:

55 aplicar una secuencia de ensayo eléctrico a un biosensor electroquímico, comprendiendo el biosensor:

un sistema de electrodos,
un reactivo que incluye un mediador redox en comunicación eléctrica con el sistema de electrodos, y
60 un receptáculo configurado para entrar en contacto con la muestra fluida proporcionada al biosensor,

- 5 con la muestra fluida en contacto de fluidos con el reactivo, en el que la secuencia de ensayo comprende por lo menos un bloque de corriente directa (DC), en el que el bloque o bloques DC es un potencial bipolar de rampa lenta (SRBP) que alterna entre -450 mV y +450 mV a dos tasas de incremento diferentes y en el que una condición de circuito cerrado del sistema de electrodos se mantiene durante el bloque DC,
- medir la información a partir de la respuesta a la secuencia de ensayo, y proporcionar un sistema anti-error sanitario de capa de reactivos basado en una proporción entre la forma oxidada de un mediador redox (M_{ox}) y una forma reducida del mediador redox (M_{red}), en el que el sistema anti-error evita informar de la concentración de analito en el caso de que M_{red} sea superior a un nivel predeterminado.
- 10
10. Método según la reivindicación 9, en el que se activa el sistema anti-error en el caso de ausencia de una especie M_{ox} esperada.
- 15
11. Método según la reivindicación 9 o 10, en el que la secuencia de ensayo comprende además por lo menos un bloque de corriente alterna (AC).
12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que la secuencia de ensayo comprende además un segundo bloque DC.
- 20
13. Dispositivo de medición de concentración de analito configurado para llevar a cabo el método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el dispositivo de medición de la concentración de analito es un medidor (11), en el que el medidor (11) incluye una pantalla electrónica (16) que está adaptada para mostrar diversos tipos de información al usuario, incluyendo la concentración del analito u otros resultados de ensayo, y la interfaz del usuario (50) para recibir entradas del usuario, en el que el medidor (11) incluye además un microcontrolador y circuitería asociada generadora y medidora de señales de ensayo que están adaptados para generar una señal de ensayo, para aplicar la señal al biosensor (20) y para medir una o más respuestas del biosensor (20) a la señal de ensayo.
- 25
14. Dispositivo según la reivindicación 13, en el que el dispositivo es un medidor de glucosa en sangre
- 30
15. Sistema de determinación de la concentración de analito configurado para llevar a cabo el método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el sistema de determinación de la concentración de analito incluye un medidor de ensayo (11) acoplado operativamente con un biosensor electroquímico (20), en el que el medidor (11) incluye una pantalla electrónica (16) que está adaptada para mostrar diversos tipos de información al usuario, incluyendo la concentración del analito u otros resultados de ensayo, y la interfaz de usuario (50) para recibir entradas del usuario, en el que el medidor (11) incluye además un microcontrolador y circuitería asociada generadora y medidora de la señal de ensayo que han sido adaptados para generar una señal de ensayo, para aplicar la señal al biosensor (20) y para medir una o más respuestas del biosensor (20) a la señal de ensayo.
- 35
- 40
16. Sistema según la reivindicación 15, en el que el sistema es un sistema de autocontrol de la glucosa en sangre (ACGS).

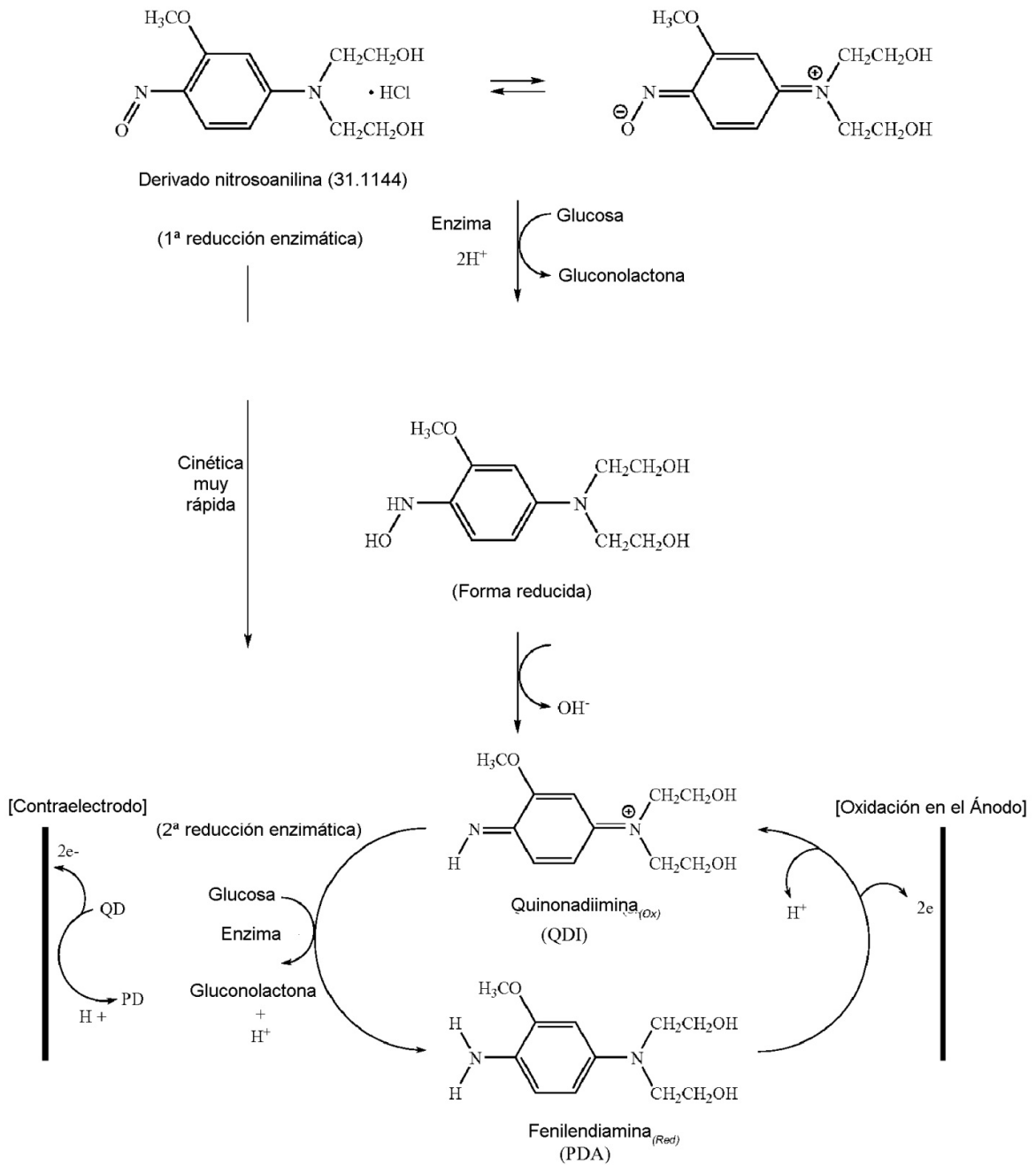


FIG. 1

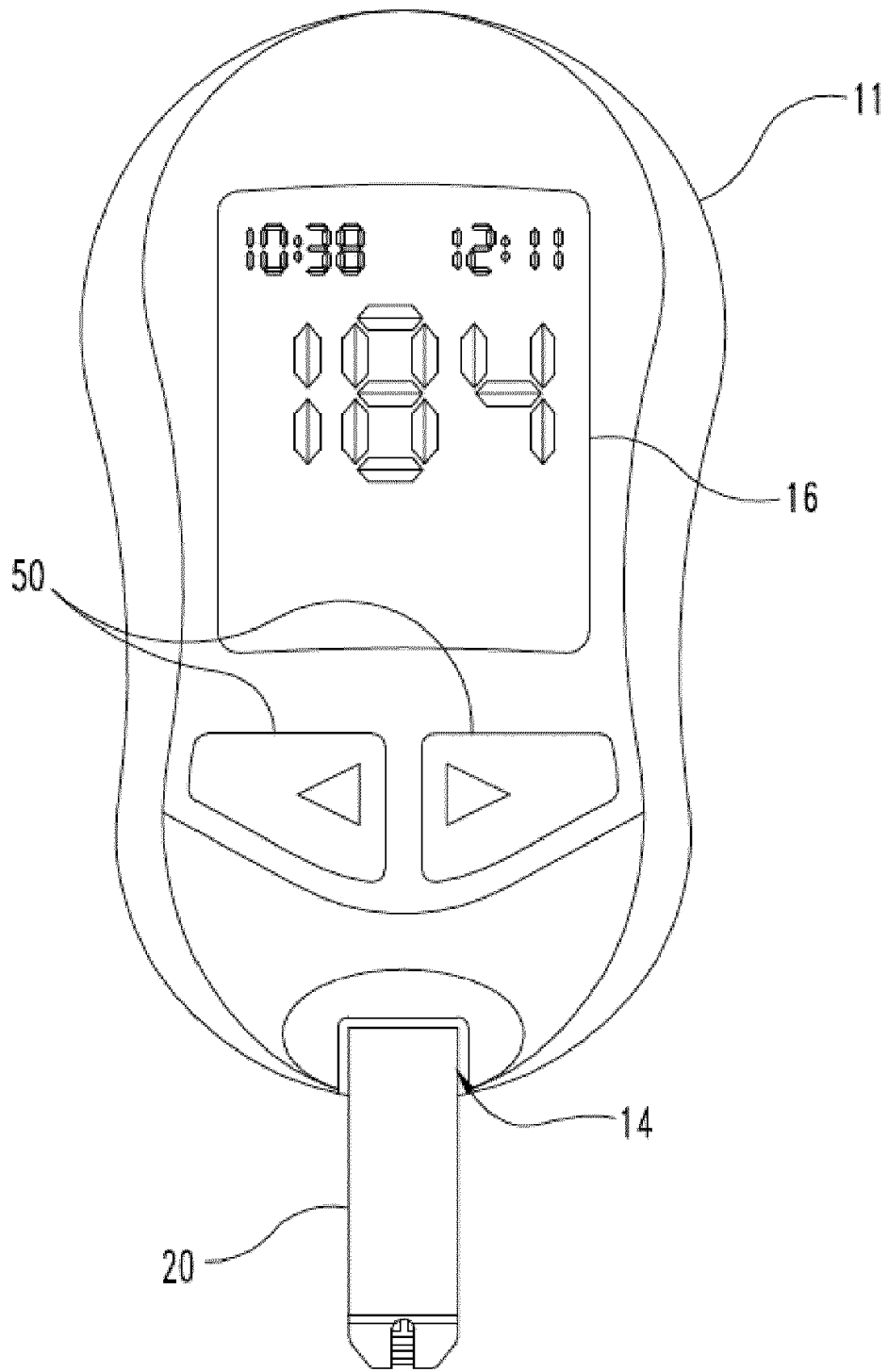


FIG. 2

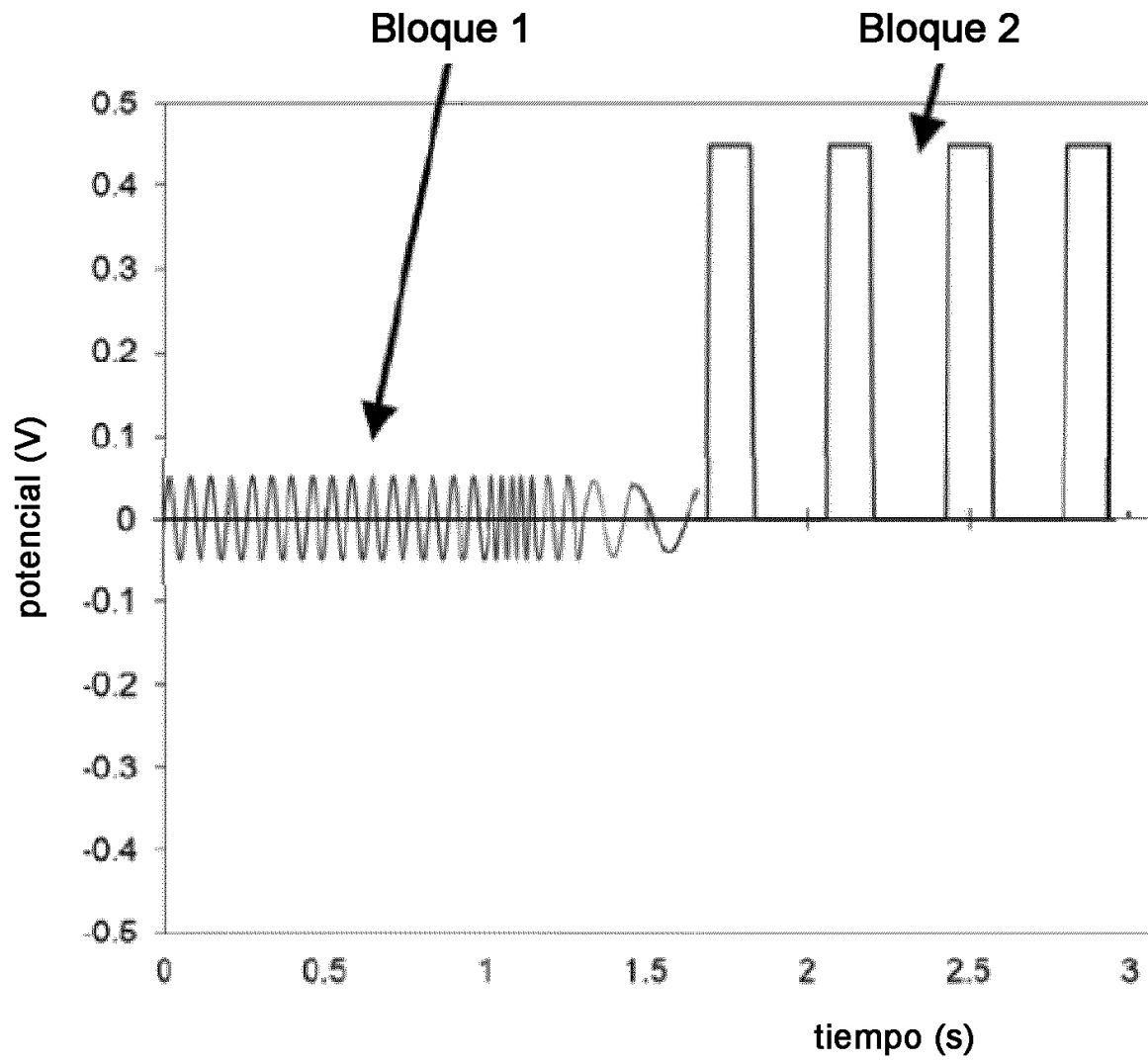


FIG. 3

ALT009 Gráfico resumen - Sin sistema anti-error
fuente=AAE tnda=10 carril=0

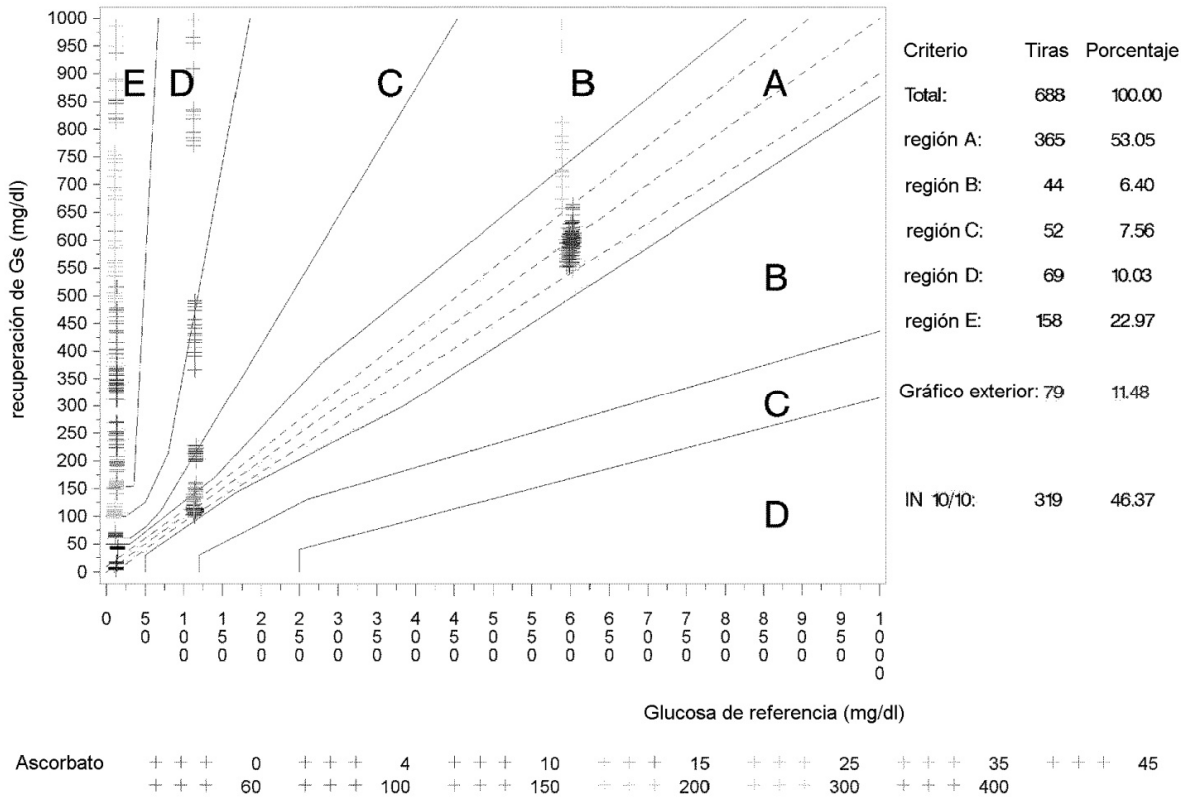


FIG. 4

ALT009 Gráfico resumen - Con sistema anti-error

fuate=AAE tanda=10 carril=0

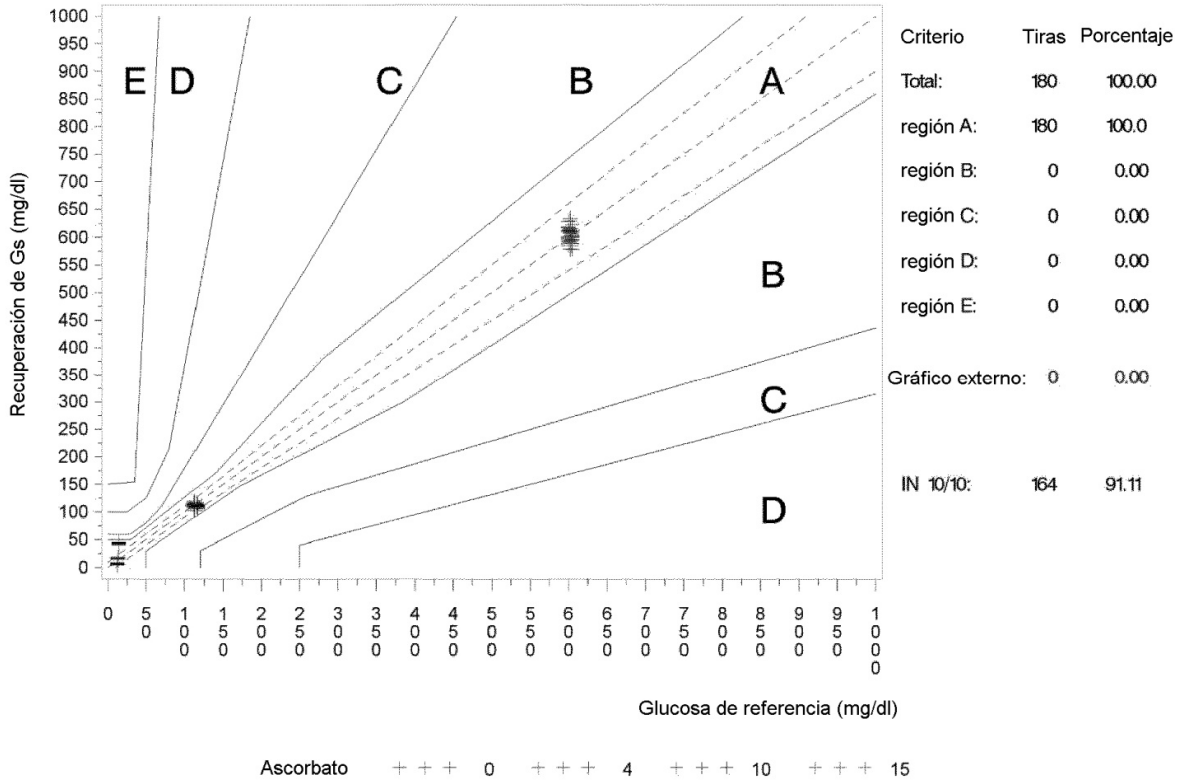


FIG. 5

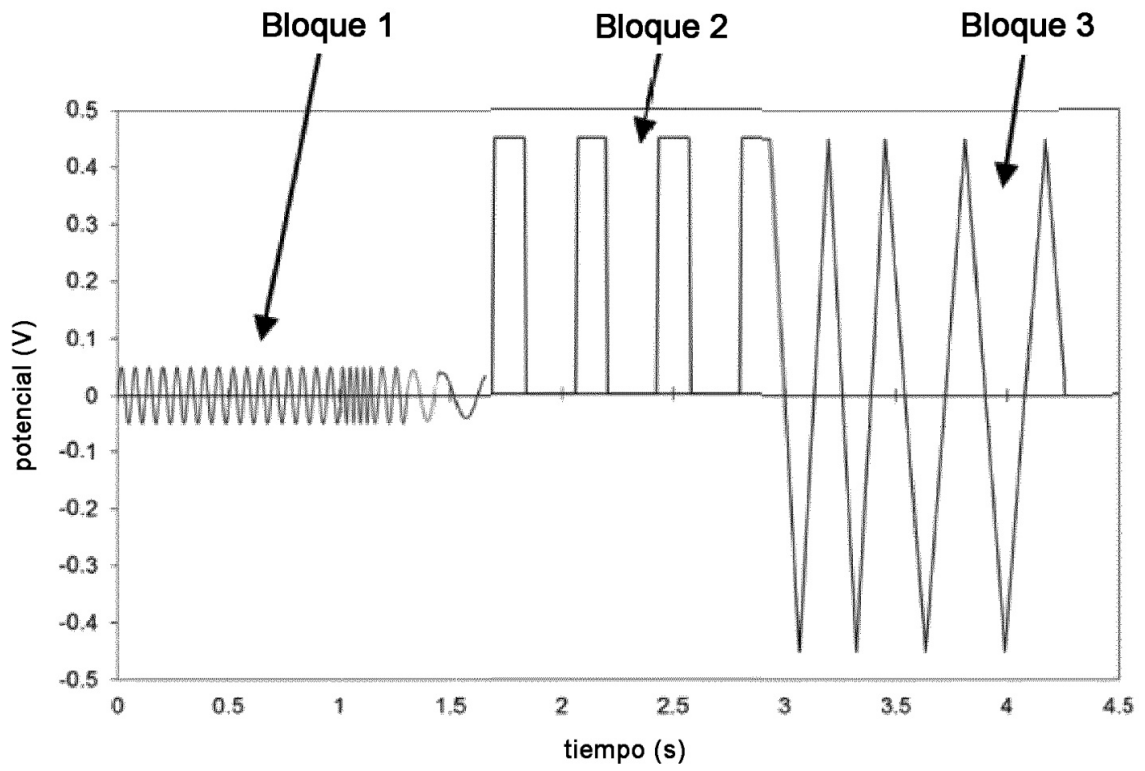


FIG. 6

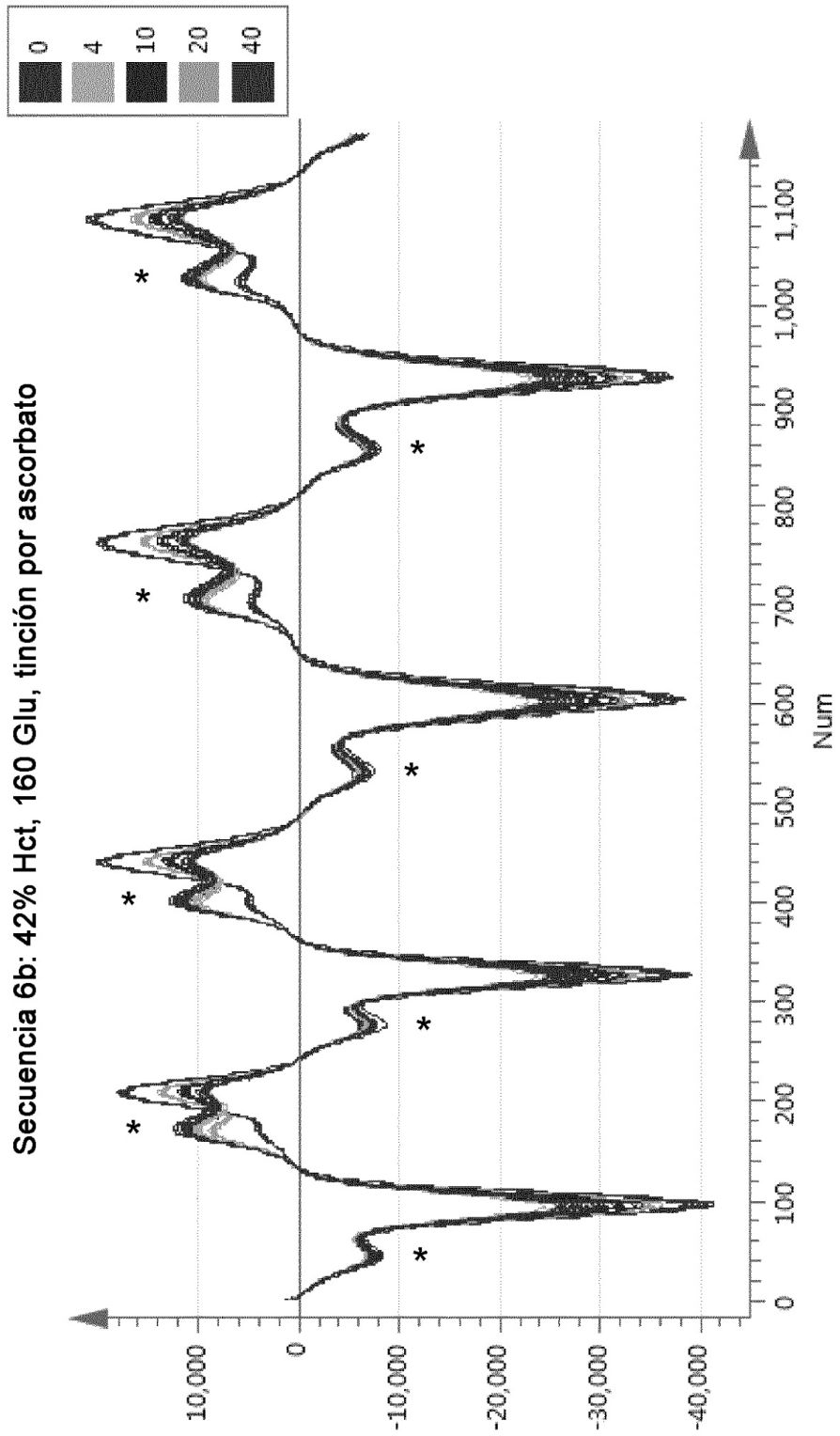


FIG. 7

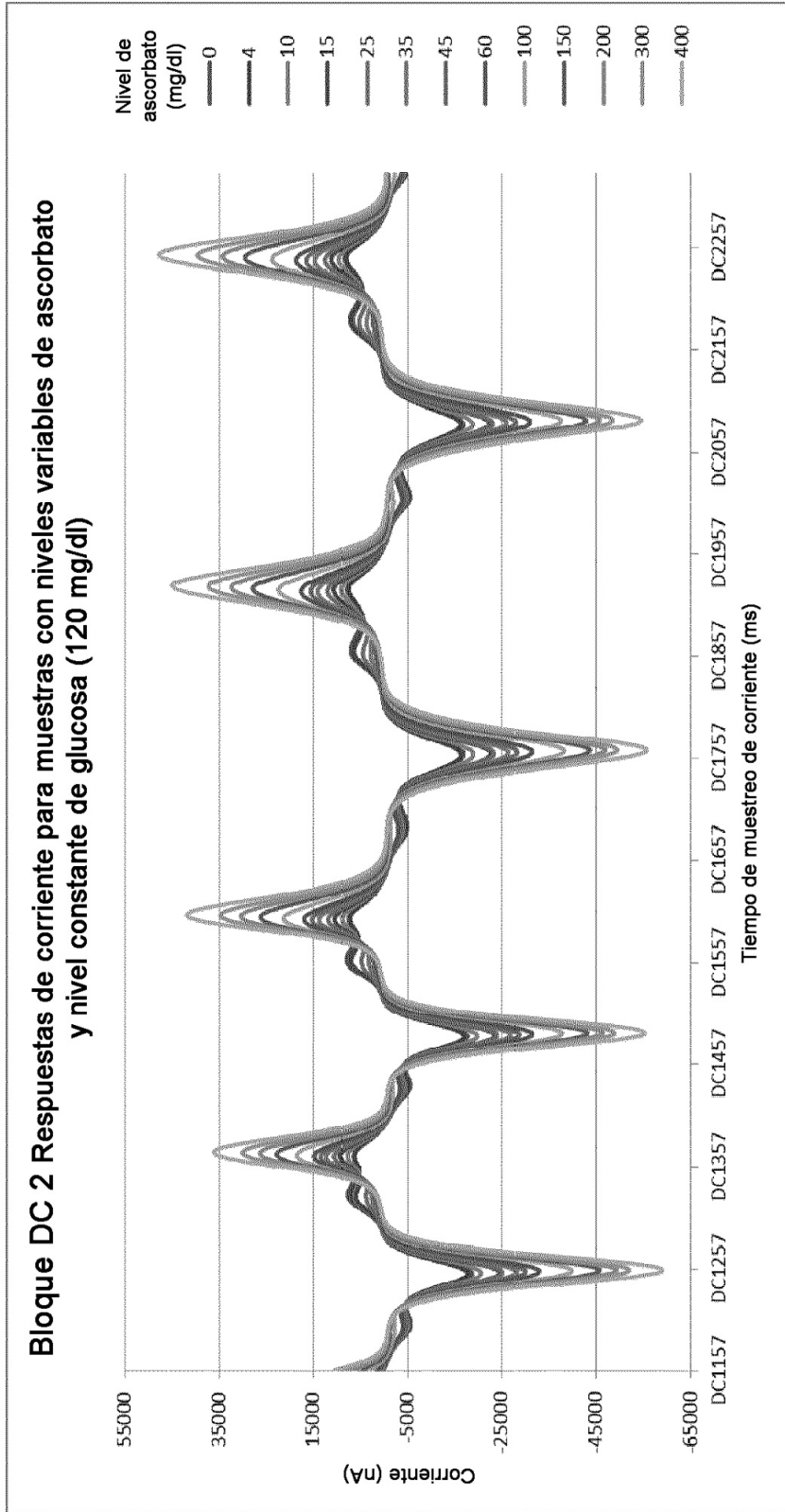


FIG. 8

**Ciclo 1 de respuestas de corriente de bloque DC 2
para muestras con nivel variable de ascorbato
y nivel constante de glucosa (120 mg/dl)**

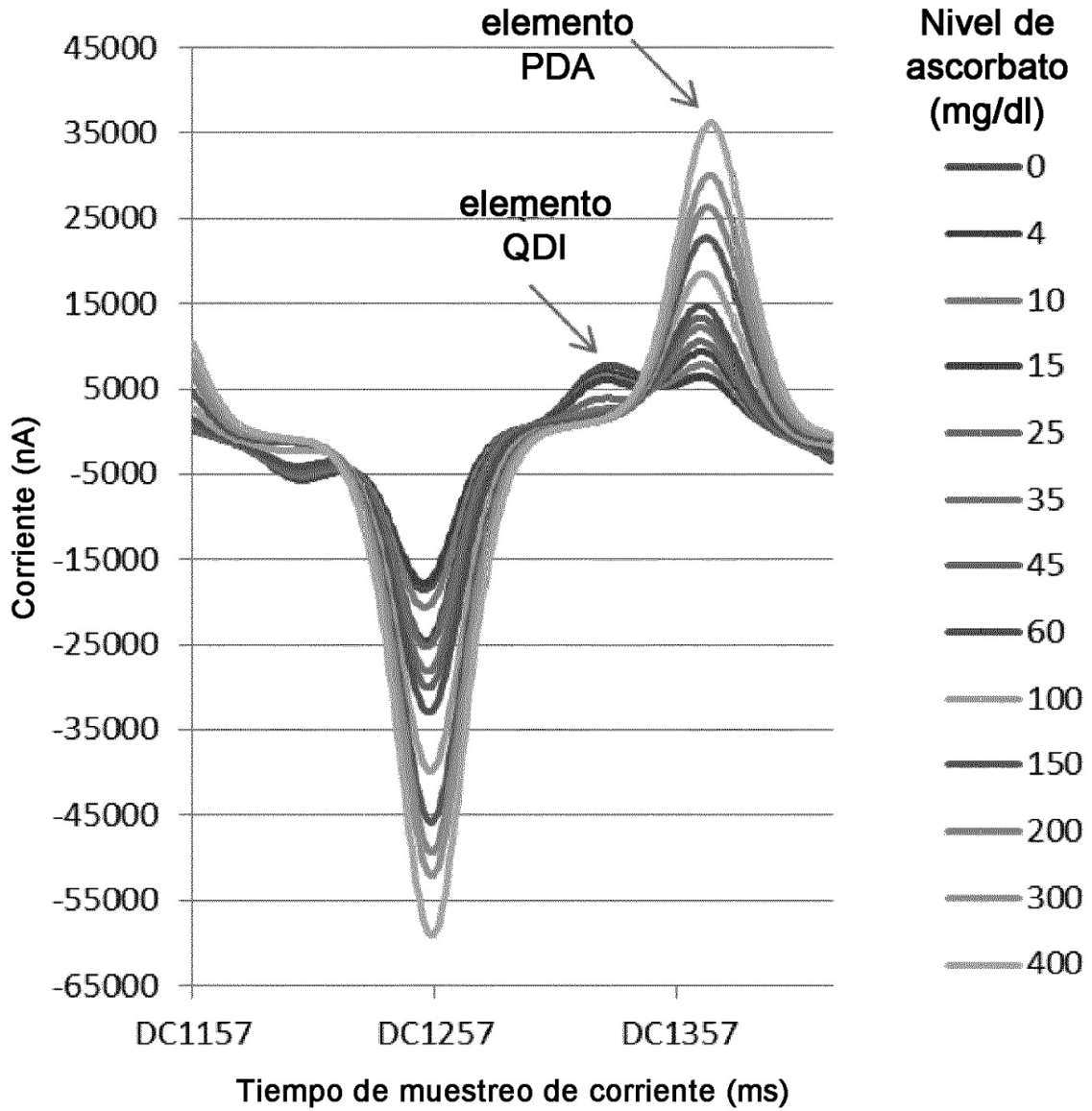


FIG. 9

Influencia del nivel de ascorbato sobre la corriente pico de QDI a nivel constante de glucosa (120 mg/dl)

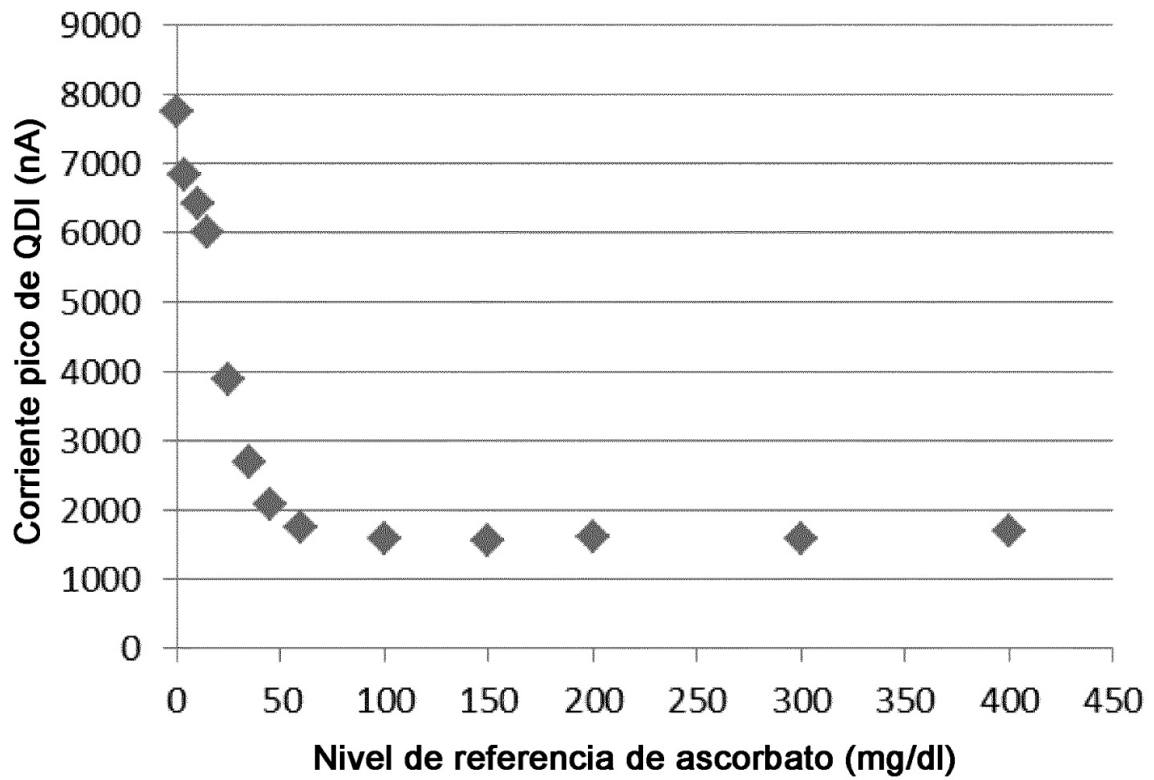


FIG. 10

Influencia del nivel de ascorbato sobre la corriente pico de PDA a nivel constante de glucosa (120 mg/dl)

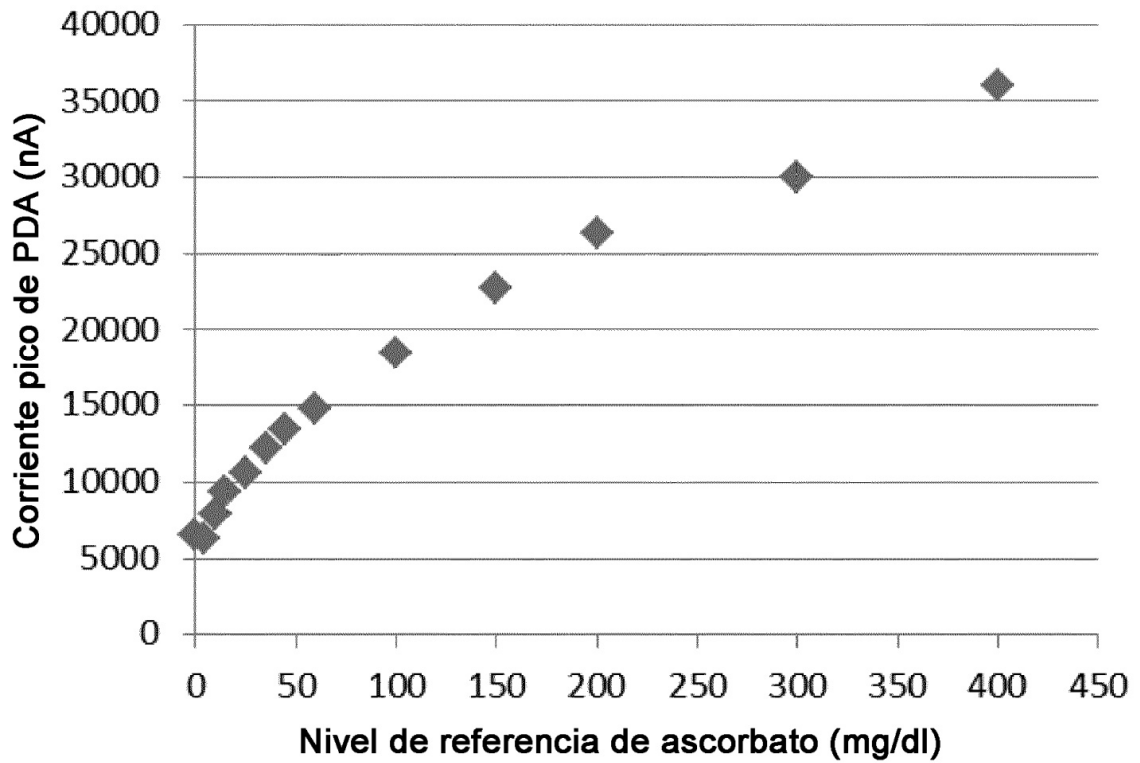


FIG. 11