

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 388**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/543** (2006.01)

**C12Q 1/00** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 33/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2010 E 10252245 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2360477**

54 Título: **Sistemas, dispositivos y procedimientos para mejorar la precisión de biosensores usando el tiempo de llenado**

30 Prioridad:

**30.12.2009 US 649594**

**17.12.2010 US 971777**

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

**05.12.2017**

73 Titular/es:

**LIFESCAN, INC. (100.0%)**

**1000 Gibraltar Drive**

**Milpitas, CA 95035, US**

72 Inventor/es:

**CHATELIER, RONALD C. y**

**HODGES, ALASTAIR M.**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 645 388 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).

**Sistemas, dispositivos y procedimientos para mejorar la precisión de biosensores usando el tiempo de llenado****Descripción**

5

## REFERENCIA A SOLICITUDES DE PATENTE RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica prioridad a tenor de 35 U.S.C. §120 como solicitud de continuación parcial de la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 12/649,594 titulada "Sistemas, dispositivos y procedimientos para mejorar la precisión de biosensores usando el tiempo de llenado" presentada el 30 de diciembre de 2009,

10

## CAMPO

La presente divulgación se refiere a la determinación de una concentración de un analito en una muestra, y, más particularmente, se refiere a realizar una determinación más precisa de la concentración según el tiempo de llenado de la muestra.

15

## ANTECEDENTES

La detección de analitos en fluidos fisiológicos, por ejemplo sangre o productos derivados de la sangre, es de una importancia cada vez mayor en la sociedad de hoy. Los ensayos de detección de analitos son útiles en diversas aplicaciones, incluidos los análisis clínicos, las pruebas domiciliarias etc., en las que los resultados de dichas pruebas desempeñan un papel fundamental en el diagnóstico y tratamiento de diversos estados patológicos. Entre los analitos de interés se incluyen la glucosa para el control de la diabetes, el colesterol y similares. En respuesta a esta creciente importancia de la detección de analitos se han desarrollado diversos protocolos y dispositivos de detección de analitos tanto para el uso clínico como el domiciliario. Algunos de estos dispositivos incluyen células electroquímicas, sensores electroquímicos, sensores de hemoglobina, sensores antioxidantes, biosensores e inmunosensores.

20

25

Una característica de la sangre que puede afectar la detección del analito es el hematocrito. Los niveles de hematocrito pueden ser muy diferentes entre varias personas. A modo de ejemplo no limitante, una persona que padece anemia puede tener un nivel de hematocrito de aproximadamente 20 %, mientras que un recién nacido puede tener un nivel de hematocrito de aproximadamente 65 %. Incluso las muestras tomadas del mismo individuo durante un período de tiempo pueden tener diferentes niveles de hematocrito. Además, debido a que el hematocrito alto también puede aumentar la viscosidad de la sangre y la viscosidad puede afectar a otros parámetros asociados con la detección del analito, explicar el efecto del hematocrito en una muestra puede ser importante para realizar determinaciones precisas de la concentración del analito.

30

35

Una forma en que se han tenido en cuenta los niveles variables de hematocrito en una muestra de sangre es separando el plasma de la sangre y, después, volviendo a calcular la concentración del antígeno con respecto al volumen de plasma ajustado. La separación se ha logrado, por ejemplo, realizando una etapa de centrifugación. Otras formas en que los niveles variables de hematocrito en una muestra de sangre se han considerado incluyen el uso de un hematocrito promedio en un cálculo o medir un hematocrito en una etapa separada y luego calcular la concentración del antígeno con respecto al valor en plasma. Sin embargo, se cree que estos procedimientos no son deseables, al menos porque implican una manipulación no deseada de la muestra, requieren tiempo adicional y / o conducen a errores sustanciales en las determinaciones finales. Además, las temperaturas en entornos en los que donde se analizan las muestras también pueden tener un impacto negativo en la precisión de la determinación de la concentración del analito.

40

45

En el documento WO 2008/150436 se divulgan procedimientos y aparatos para la detección de analitos. El D1 divulga la determinación de un valor corregido por hematocrito del analito usando el tiempo de llenado determinado.

50

## SUMARIO

55

La presente invención proporciona un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra, como se define en la reivindicación 1,

Los solicitantes han reconocido que sería deseable desarrollar una forma de obtener mediciones de la concentración de analito más precisas que expliquen un amplio espectro de niveles de hematocrito y temperaturas con poco o ninguno de los problemas observados anteriormente. En consecuencia, los sistemas, dispositivos y procedimientos se proporcionan generalmente para determinar una concentración de un analito en una muestra de sangre. En una realización de ejemplo de un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra, el procedimiento incluye detectar la presencia de la muestra en un sensor electroquímico. El sensor electroquímico puede incluir, por ejemplo, dos electrodos. Los dos electrodos pueden incluir, por ejemplo, una orientación enfrentada. En otras realizaciones, los dos electrodos pueden incluir una orientación opuesta. El

60

65

procedimiento incluye además determinar un tiempo de llenado de la muestra con los dos electrodos y calcular un factor de corrección a la vista de al menos el tiempo de llenado. El procedimiento también incluye hacer reaccionar un analito para provocar una transformación física del analito entre los dos electrodos y determinar la concentración del analito a la vista del factor de corrección con los mismos dos electrodos. Por ejemplo, la reacción del analito puede generar una especie electroactiva que se puede medir como una corriente mediante los dos electrodos. En algunas realizaciones, tanto la determinación del tiempo de llenado como la determinación de la concentración del analito pueden determinarse usando los mismos dos electrodos.

En una realización de ejemplo de un procedimiento para medir una concentración de un analito corregida, el procedimiento incluye detectar la presencia de la muestra en un sensor electroquímico. El sensor electroquímico puede incluir, por ejemplo, dos electrodos. Los dos electrodos pueden incluir, por ejemplo, una orientación enfrentada. En otras realizaciones, los dos electrodos pueden incluir una orientación opuesta.

El procedimiento incluye además determinar un tiempo de llenado de la muestra con los dos electrodos. El procedimiento también incluye hacer reaccionar un analito para provocar una transformación física del analito. El procedimiento incluye además determinar una primera concentración de analito en la muestra con los mismos dos electrodos y calcular una concentración de analito corregida basada en la primera concentración de analito y el tiempo de llenado. En algunas realizaciones, tanto la determinación del tiempo de llenado como la determinación de la concentración del analito pueden determinarse usando los mismos dos electrodos.

En una realización, la etapa de calcular la concentración de analito corregida puede incluir calcular un factor de corrección basado en el tiempo de llenado. En tal realización, la concentración de analito corregida se puede calcular en base a la primera concentración del analito y al factor de corrección. En una realización de ejemplo, el factor de corrección se puede determinar basándose en una serie de valores de umbral. Por ejemplo, el factor de corrección puede ser de aproximadamente cero cuando el tiempo de llenado es menor que un primer umbral del tiempo de llenado. Para otro ejemplo, el factor de corrección puede calcularse en vista del tiempo de llenado cuando el tiempo de llenado es mayor que un primer umbral del tiempo de llenado y menor que un segundo umbral del tiempo de llenado. Para otro ejemplo más, el factor de corrección puede ser un valor constante cuando el tiempo de llenado es mayor que un segundo umbral del tiempo de llenado.

En algunas realizaciones, los detalles de la etapa de calcular la concentración de analito corregida pueden depender de si la primera concentración del primer analito en la muestra es menor o mayor que un valor umbral. Por ejemplo, la etapa de calcular la concentración del analito corregida puede incluir una suma del factor de corrección y la primera concentración de analito en la muestra cuando la primera concentración del primer analito en la muestra es menor que un valor umbral. Para otro ejemplo, cuando la primera concentración del primer analito en la muestra es mayor que un valor umbral, la etapa de calcular la concentración corregida del analito puede incluir dividir el factor de corrección por cien y sumar uno para dar un término intermedio y multiplicar el término intermedio por la primera concentración del analito para dar una concentración de analito corregida por el tiempo de llenado.

En algunas realizaciones de los procedimientos anteriores, el tiempo de llenado de la muestra puede determinarse aplicando un potencial eléctrico entre los dos electrodos mientras se introduce la muestra, midiendo la corriente de la celda en función del tiempo y determinando un tiempo de caída de la corriente basado en la corriente de la celda en función del tiempo. En tal realización, el tiempo de caída de la corriente puede corresponder al tiempo de llenado de la muestra. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular el valor negativo máximo del cambio en la corriente de la celda medida a lo largo del tiempo. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es mayor que un primer umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es menor que un segundo umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo en el que la pendiente es mayor que un tercer umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo en el que la pendiente es menor que un cuarto umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de caída de la corriente puede incluir calcular un punto de inflexión en la corriente medida como una función del tiempo. La medición de la corriente de la celda como una función del tiempo puede incluir, por ejemplo, realizar mediciones de corriente aproximadamente cada 2 milisegundos y almacenar una corriente promedio según las mediciones de la corriente aproximadamente cada 10 milisegundos. En algunas realizaciones, el procedimiento puede incluir además la determinación de un nivel de hematocrito en la muestra a la vista del tiempo de llenado de la muestra. Como resultado, la concentración del antígeno se puede determinar a la vista del nivel determinado de hematocrito.

En algunas realizaciones de los procedimientos anteriores, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos, y medir un cambio en los valores de corriente que es mayor que un quinto umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos, y medir un cambio en los valores de

corriente que es menor que un sexto umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos, y medir un cambio en un potencial eléctrico que es mayor que un séptimo umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos, y medir un cambio en un potencial eléctrico que es menor que un octavo umbral predeterminado. En algunas realizaciones, la detección de la presencia de la muestra puede realizarse mediante un microprocesador de una máquina de medición de analitos.

La celda electroquímica puede incluir un sensor de glucosa. En otra realización, la celda electroquímica puede incluir un inmunosensor. En tal realización, el analito para el que se analiza la concentración puede incluir proteína C reactiva. La muestra analizada puede incluir sangre. En una realización, la sangre puede incluir sangre entera. El analito para el que se analiza la concentración puede incluir glucosa.

En una realización de ejemplo de un procedimiento para medir una concentración de un analito corregida, el procedimiento incluye detectar la presencia de la muestra en un sensor electroquímico. El sensor electroquímico puede incluir, por ejemplo, dos electrodos. El procedimiento incluye además determinar un tiempo de llenado de la muestra con los dos electrodos. El procedimiento también incluye hacer reaccionar un analito que provoque una transformación física del analito. El procedimiento incluye además determinar una primera concentración de analito en la muestra con los mismos dos electrodos y calcular una concentración de analito corregida basada en la primera concentración de analito y el tiempo de llenado. En algunas realizaciones, tanto la determinación del tiempo de llenado como la determinación de la concentración del analito pueden determinarse usando los mismos dos electrodos.

En una realización, la etapa de calcular la concentración de analito corregida puede incluir calcular un factor de corrección basado en el tiempo de llenado. En tal realización, la concentración de analito corregida se puede calcular en base a la primera concentración del analito y al factor de corrección. En una realización de ejemplo, el factor de corrección se puede determinar basándose en una serie de valores de umbral. Por ejemplo, el factor de corrección puede ser de aproximadamente cero cuando el tiempo de llenado es menor que un primer umbral del tiempo de llenado. Para otro ejemplo, el factor de corrección puede calcularse en vista del tiempo de llenado cuando el tiempo de llenado es mayor que un primer umbral del tiempo de llenado y menor que un segundo umbral del tiempo de llenado. Para otro ejemplo más, el factor de corrección puede ser un valor constante cuando el tiempo de llenado es mayor que un segundo umbral del tiempo de llenado.

En algunas realizaciones, los detalles de la etapa de calcular la concentración de analito corregida pueden depender de si la primera concentración del primer analito en la muestra es menor o mayor que un valor umbral. Por ejemplo, la etapa de calcular la concentración del analito corregida puede incluir una suma del factor de corrección y la primera concentración de analito en la muestra cuando la primera concentración del primer analito en la muestra es menor que un valor umbral. Para otro ejemplo, cuando la primera concentración del primer analito en la muestra es mayor que un valor umbral, la etapa de calcular la concentración corregida del analito puede incluir dividir el factor de corrección por cien y sumar uno para dar un término intermedio y multiplicar el término intermedio por la primera concentración del analito para dar una concentración de analito corregida por el tiempo de llenado.

En una realización de ejemplo de un sistema electroquímico, el sistema incluye un sensor electroquímico que incluye contactos eléctricos configurados para acoplarse con un medidor de prueba. El sensor electroquímico incluye un primer electrodo y un segundo electrodo en una relación separada y un reactivo. El primer y segundo electrodos pueden incluir, por ejemplo, una orientación enfrentada. En otras realizaciones, el primer y segundo electrodos pueden incluir una orientación opuesta. El sistema también incluye un medidor de prueba que incluye un procesador configurado para recibir datos de corriente de la tira reactiva al aplicar voltajes a la tira reactiva, y configurado adicionalmente para determinar una concentración de analito corregida basada en una concentración de analito calculada y un tiempo de llenado medido con los mismos dos electrodos. El sistema también puede incluir un elemento de calentamiento configurado para calentar al menos una parte del sensor electroquímico. En algunas realizaciones, el medidor de prueba puede incluir datos que incluyen almacenamiento de datos que contiene un umbral de concentración de analito, un primer umbral del tiempo de llenado y un segundo umbral del tiempo de llenado. En algunas realizaciones, al menos uno de los sensores electroquímicos, el medidor de prueba y el procesador están configurados para medir la temperatura de la muestra.

En una realización, célula electroquímica puede ser un sensor de glucosa. En otra realización, la celda electroquímica puede ser un inmunosensor. El inmunosensor puede incluir un primer reactivo líquido, un segundo reactivo líquido y perlas magnéticas conjugadas con un antígeno. En una realización, el primer reactivo líquido puede incluir un anticuerpo conjugado con una enzima en un tampón. El primer reactivo líquido se puede extraer en el electrodo inferior y se puede secar. El segundo reactivo líquido puede incluir ferricianuro, un sustrato para la enzima y un segundo mediador en una solución ácida diluida. El segundo reactivo líquido se puede extraer en el electrodo inferior y se puede secar. Las perlas magnéticas, por otro lado, pueden extraerse en el electrodo superior y secarse

El inmunosensor también puede incluir una pluralidad de cámaras, un separador, una ventilación y uno o más componentes de sellado. El separador puede estar dispuesto entre los electrodos inferior y superior. La pluralidad de cámaras puede incluir una cámara de reacción, una cámara de detección y una cámara de llenado. La cámara de reacción puede formarse en el separador y puede tener el primer reactivo y las perlas magnéticas conjugadas con el antígeno dispuesto en la misma. La cámara de detección también puede estar formada en el separador y puede tener el segundo reactivo dispuesto en la misma. La cámara de llenado puede estar formada al menos parcialmente en el separador y uno de los electrodos inferior y superior puede estar separado una distancia de la cámara de detección y puede solaparse al menos con una parte de la cámara de reacción. La ventilación puede estar formada al menos parcialmente en cada uno del separador, el electrodo inferior y el electrodo superior, puede estar separada una distancia de la cámara de reacción y puede solaparse al menos con una parte de la cámara de detección. En una realización, el uno o más componentes de sellado pueden ser un primer componente de sellado y un segundo componente de sellado. El primer componente de sellado puede tener un anticoagulante incorporado acoplado a uno de los electrodos inferior y superior, puede disponerse sobre la ventilación, y puede configurarse para formar una pared de la cámara de llenado y sellar la ventilación. El segundo componente de sellado se puede acoplar al otro de los electrodos inferior y superior, se puede disponer sobre la ventilación y se puede configurar para sellar la ventilación. En una realización, el primer componente de sellado es una cinta adhesiva hidrófila. Al menos uno de la unidad de control, el inmunosensor y el medidor pueden incluir una configuración para medir la temperatura de la muestra. El analito para el cual el sistema calcula la concentración puede incluir proteína C reactiva. La muestra introducida en la celda electroquímica puede incluir sangre. En una realización, la sangre puede incluir sangre entera.

El sensor electroquímico también puede ser un número de otros dispositivos de análisis, que incluyen, a modo de ejemplo no limitante, células electroquímicas, sensores de glucosa, medidores de glucosa, sensores de hemoglobina, sensores antioxidantes, biosensores e inmunosensores. En una realización, el sensor electroquímico es un sensor de glucosa. El sensor de glucosa puede incluir una celda electroquímica que tiene un electrodo de trabajo y un contraelectrodo o contraelectrodo/electrodo de referencia. El electrodo de trabajo y el contraelectrodo/electrodo de referencia pueden estar separados aproximadamente 500 micrómetros o menos. En una realización, una separación entre los electrodos está en el intervalo de aproximadamente 80 micrómetros a aproximadamente 200 micrómetros. La separación se puede determinar con el fin de lograr un resultado deseado, por ejemplo, lograr sustancialmente una corriente de estado estacionario en un tiempo deseable. En una realización, se selecciona una separación entre los electrodos de manera que los productos de reacción de un contraelectrodo lleguen a un electrodo de trabajo.

El electrodo de trabajo y contra electrodo o contraelectrodo/electrodo de referencia puede diversas configuraciones. Por ejemplo, los electrodos pueden estar enfrentados entre sí, pueden estar sustancialmente opuestos entre sí, o pueden tener una configuración lado a lado en la que los electrodos están posicionados aproximadamente en el mismo plano. Los electrodos pueden tener sustancialmente la misma área correspondiente. Los electrodos también pueden ser planos. En una realización, la celda electroquímica incluye un electrodo de trabajo, un contraelectrodo y un electrodo de referencia separado. En otra realización, la celda electroquímica puede tener dos pares de electrodos. Los pares de electrodos pueden incluir cualquier combinación de electrodo de trabajo, contraelectrodo, contraelectrodo/electrodo de referencia y electrodos de referencia separados, pero en una realización de ejemplo cada par incluye un electrodo de trabajo y un contraelectrodo o contraelectrodo/electrodo de referencia. En aún otra realización, la celda electroquímica puede tener un volumen de célula eficaz de aproximadamente 1,5 microlitros o menos. La celda electroquímica puede ser hueca.

Se puede aplicar un potencial a los electrodos de las celdas mediante una serie de mecanismos diferentes, que incluyen, a modo de ejemplo no limitante, un medidor. La magnitud del potencial puede depender de una serie de factores diferentes, que incluyen, a modo de ejemplo no limitante, la reacción deseada de la muestra dentro de la celda. En una realización, la magnitud del potencial puede seleccionarse de modo que la electrooxidación de una forma reducida o la electrorreducción de una forma oxidada de una muestra se controle sustancialmente por difusión.

Las muestras pueden entrar en la célula por medio de acción capilar. Se puede usar una unidad de control para determinar el tiempo de llenado de la muestra que entra en la celda. En una realización, la unidad de control puede incluir un detector de flujo de corriente configurado para medir la corriente de la celda en función del tiempo para determinar una caída de la corriente correspondiente al tiempo de llenado de la muestra. Al menos uno de la unidad de control, la celda electroquímica y el medidor pueden configurarse para medir la temperatura de la muestra o, como alternativa, la temperatura del aire ambiente dentro del medidor o cerca del sensor electroquímico conectado al medidor.

Una realización de ejemplo de un procedimiento para medir un antígeno en una muestra de sangre puede incluir proporcionar un inmunosensor que tenga dos electrodos y un medidor conectado a la celda electroquímica, de modo que el medidor aplique un potencial entre los dos electrodos del inmunosensor. El procedimiento puede incluir además introducir una muestra de sangre que incluye un antígeno en el inmunosensor, aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos, calcular un tiempo de llenado de la muestra de sangre y determinar una concentración del antígeno a la vista del tiempo de llenado. El inmunosensor puede incluir además una cámara de reacción y una

cámara de detección formadas en un separador dispuesto entre los dos electrodos, una cámara de llenado formada al menos parcialmente en el separador y uno de los dos electrodos, y una ventilación formada al menos parcialmente en el separador y los dos electrodos. La cámara de llenado puede estar separada una distancia de la cámara de detección y puede solaparse al menos con una parte de la cámara de reacción. La ventilación puede estar separada una distancia de la cámara de reacción y puede superponerse al menos a una parte de la cámara de detección. El antígeno de la muestra de sangre puede ser proteína C reactiva. El procedimiento puede incluir además medir la temperatura de la muestra de sangre. Como resultado, se puede calcular una concentración del antígeno en vista del tiempo de llenado.

El procedimiento para medir una muestra de sangre puede incluir además proporcionar un conjugado de anticuerpo-enzima en un primer tampón y perlas magnéticas unidas a un antígeno en un segundo tampón en la cámara de reacción. El ferricianuro, la glucosa y un mediador en un ácido diluido se pueden proporcionar en la cámara de detección. Se puede proporcionar una primera junta sobre un primer lado de la ventilación que forma una pared de la cámara de llenado y se puede proporcionar una segunda junta sobre un segundo lado de la ventilación. Al menos una porción de la muestra de sangre que se introduce en el inmunosensor se mueve desde la cámara de llenado a la cámara de reacción cuando se introduce en el inmunosensor.

El procedimiento puede incluir además abrir la ventilación después de un tiempo predeterminado perforando al menos una de las juntas. Perforar al menos una de las juntas permite que porciones de la muestra de sangre que contiene el conjugado anticuerpo-enzima que no están unidas a las perlas magnéticas se muevan a la cámara de detección. Todavía más, el procedimiento puede incluir catalizar la oxidación de la glucosa en la cámara de detección, lo que puede dar como resultado la formación de ferrocianuro. Se puede detectar electroquímicamente una corriente a partir del ferrocianuro y se puede calcular una concentración del antígeno en la muestra de sangre a la vista de la señal detectada.

Adicionalmente, se proporciona un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra, comprendiendo el procedimiento: introducir una muestra que incluye un analito en una celda electroquímica de un dispositivo de análisis de muestras, teniendo la celda electroquímica un electrodo de trabajo y un contraelectrodo; determinar un tiempo de llenado de la muestra; calcular un tiempo de prepulso a la vista de al menos el tiempo de llenado; aplicar un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo durante un período de tiempo igual al tiempo de prepulso; y determinar una concentración del analito.

La determinación de un tiempo de llenado de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo a medida que se introduce la muestra; medir la corriente de la celda como una función del tiempo; y determinar un tiempo de caída de la corriente en base a la corriente de la celda como una función del tiempo, en el que el tiempo de caída de la corriente corresponde al tiempo de llenado de la muestra.

La determinación de un tiempo de de caída de la corriente se puede lograr calculando el valor negativo máximo del cambio en la corriente medida de la celda a lo largo del tiempo.

La medición de la corriente de la celda como una función del tiempo puede comprender: realizar mediciones de corriente aproximadamente cada 2 milisegundos; y calcular y almacenar una corriente promedio basada en las mediciones de la corriente aproximadamente cada 10 milisegundos.

El procedimiento puede comprender además determinar un nivel de hematocrito en la muestra a la vista del tiempo de llenado de la muestra.

La determinación de una concentración del analito puede comprender calcular la concentración del analito a la vista del nivel determinado de hematocrito.

El dispositivo de análisis de muestras usado en el procedimiento puede comprender un sensor de glucosa.

El dispositivo de análisis de muestras usado en el procedimiento puede comprender un inmunosensor.

La muestra en el procedimiento puede comprender sangre. Además, la sangre puede comprender sangre entera.

Se proporciona un sistema electroquímico, comprendiendo el sistema: una celda electroquímica que tiene un electrodo inferior y un electrodo superior; un medidor conectado a la celda electroquímica para que el medidor aplique un potencial entre el electrodo inferior y el electrodo superior de la celda electroquímica; y una unidad de control conectada al medidor para que la unidad de control determine un tiempo de llenado de una muestra introducida en la celda electroquímica y use el tiempo de llenado para calcular la concentración de un analito en la muestra.

El sistema electroquímico puede comprender además un elemento de calentamiento configurado para calentar al menos una parte de la celda electroquímica.

La celda electroquímica del sistema electroquímico puede comprender un inmunosensor.

5 El inmunosensor del sistema electroquímico puede comprender además: un primer reactivo líquido que comprende un anticuerpo conjugado con una enzima en un tampón, estando el primer reactivo líquido rayado en el electrodo inferior y secado; un segundo reactivo líquido que comprende ferricianuro, un sustrato para la enzima y un mediador electroquímico en una solución ácida diluida, estando el segundo reactivo líquido rayado sobre el electrodo inferior y secado; perlas magnéticas conjugadas con un antígeno, estando las perlas magnéticas rayadas en el electrodo superior y secadas sobre el mismo; un separador dispuesto entre los electrodos inferior y superior; una cámara de reacción formada en el separador y que tiene el primer reactivo y las perlas magnéticas conjugadas con el antígeno dispuesto en el mismo; una cámara de detección formada en el separador y que tiene el segundo reactivo dispuesto en la misma; una cámara de llenado formada al menos parcialmente en el separador y uno de los electrodos inferior y superior, separados a una distancia de la cámara de detección, y solapando con al menos una parte de la cámara de reacción; una ventilación formada al menos parcialmente en cada uno del separador, el electrodo inferior y el electrodo superior, separados a una distancia de la cámara de reacción, y solapando con al menos una parte de la cámara de detección; un primer componente de sellado que tiene un anticoagulante incorporado acoplado a uno de los electrodos inferior y superior, dispuesto sobre la ventilación y configurado para formar una pared de la cámara de llenado y sellar la ventilación; y un segundo componente de sellado acoplado al otro de los electrodos inferior y superior, dispuestos sobre la ventilación, y configurados para sellar la ventilación.

El primer componente de sellado del sistema electroquímico puede comprender una cinta adhesiva hidrófila.

Al menos uno del inmunosensor, el medidor y la unidad de control pueden incluir una configuración para medir la temperatura de la muestra.

El analito, cuya concentración se calcula, puede comprender proteína C reactiva.

La muestra introducida en la celda electroquímica puede comprender sangre. Además, la sangre puede comprender sangre entera.

También se proporciona un procedimiento para medir una muestra de sangre, comprendiendo el procedimiento: proporcionar: un inmunosensor que tiene dos electrodos; y un medidor conectado al inmunosensor para que el medidor aplique un potencial entre los dos electrodos del inmunosensor; introducir una muestra de sangre que incluye un antígeno en el inmunosensor; aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos; calcular un tiempo de llenado de la muestra de sangre; y determinar una concentración del antígeno a la vista del tiempo de llenado.

El inmunosensor proporcionado en el procedimiento puede comprender: una cámara de reacción y una cámara de detección formada en un separador dispuesto entre los dos electrodos; una cámara de llenado formada al menos parcialmente en el separador y uno de los dos electrodos, separada una distancia de la cámara de detección, y solapando con al menos una parte de la cámara de reacción; y una ventilación formada al menos parcialmente en el separador y los dos electrodos, separados a una distancia de la cámara de reacción, y solapando al menos con una parte de la cámara de detección; comprendiendo además el procedimiento: proporcionar: un conjugado anticuerpo-enzima en un primer tampón y perlas magnéticas unidas a un antígeno en un segundo tampón en la cámara de reacción; ferricianuro, glucosa y un mediador en un ácido diluido en la cámara de detección; un primer sello sobre un primer lado de la ventilación que forma una pared de la cámara de llenado; y un segundo sello sobre un segundo lado de la ventilación, en el que al menos una porción de la muestra de sangre se mueve desde la cámara de llenado a la cámara de reacción cuando se introduce una muestra de sangre en el inmunosensor; abrir la ventilación después de un tiempo predeterminado perforando al menos uno de los sellos primero y segundo, permitiendo de ese modo que las porciones de la muestra de sangre que contiene el conjugado anticuerpo-enzima que no está unido a las perlas magnéticas se muevan a la cámara de detección; catalizar la oxidación de la glucosa en la cámara de detección, lo que da como resultado la formación de ferrocianuro; detectar electroquímicamente una corriente del ferrocianuro; y determinar una concentración del antígeno en la muestra de sangre a la vista de la señal detectada.

El cálculo de un tiempo de llenado puede comprender la aplicación de un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo a medida que se introduce la muestra; medir la corriente de la celda como una función del tiempo; y determinar un tiempo de caída de la corriente en base a la corriente de la celda como una función del tiempo, en el que el tiempo de caída de la corriente corresponde al tiempo de llenado de la muestra.

El procedimiento puede comprender además determinar un nivel de hematocrito en la muestra a la vista del tiempo de llenado de la muestra, en el que la determinación de la concentración del antígeno se realiza a la vista del nivel determinado de hematocrito.

El antígeno puede comprender proteína C reactiva.

El procedimiento puede comprender medir la temperatura de la muestra de sangre.

5 Se proporciona un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra, comprendiendo el procedimiento: detectar la presencia de la muestra en un sensor electroquímico, comprendiendo el sensor electroquímico dos electrodos; determinar un tiempo de llenado de la muestra con los dos electrodos; calcular un factor de corrección en vista de al menos el tiempo de llenado; hacer reaccionar un analito para provocar una transformación física del analito entre los dos electrodos; y determinar la concentración del analito a la vista del factor de corrección con los mismos dos electrodos.

10 La determinación del tiempo de llenado de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos mientras se introduce la muestra; medir una corriente como una función del tiempo; y determinar un tiempo de de caída de la corriente basado en la corriente en función del tiempo, en el que el tiempo de caída de la corriente corresponde al tiempo de llenado de la muestra.

15 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular el valor negativo máximo del cambio en la corriente medida a lo largo del tiempo.

20 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es mayor que un primer umbral predeterminado.

25 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en la que la diferencia es menor que un segundo umbral predeterminado.

La determinación del tiempo de de caída de la corriente puede comprender calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo en el que la pendiente es mayor que un tercer umbral predeterminado.

30 La determinación del tiempo de de caída de la corriente puede comprender calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo en el que la pendiente es menor que un cuarto umbral predeterminado.

La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular un punto de inflexión en la corriente medida en función del tiempo.

35 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos y medir un cambio en los valores de corriente que es mayor que un quinto umbral predeterminado.

40 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos y medir un cambio en los valores de corriente que es menor que un sexto umbral predeterminado.

La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos y medir un cambio en un potencial eléctrico que es mayor que un séptimo umbral predeterminado.

45 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos, y medir un cambio en un potencial eléctrico que es menor que un octavo umbral predeterminado.

50 La detección de la presencia de la muestra puede realizarse mediante un microprocesador de una máquina de medición de analitos.

La reacción del analito puede generar una especie electroactiva que se mide como una corriente por los dos electrodos.

55 Los dos electrodos proporcionados en el procedimiento pueden comprender una orientación enfrentada opuesta.

Los dos electrodos proporcionados en el procedimiento pueden comprender una orientación opuesta.

60 El sensor electroquímico proporcionado en el procedimiento puede comprender un sensor de glucosa

El sensor electroquímico proporcionado en el procedimiento puede comprender un inmunosensor.

65 La muestra puede comprender sangre. Adicionalmente, la muestra puede comprender sangre entera.

5 Se proporciona un procedimiento para medir una concentración de analito corregida, comprendiendo el procedimiento: detectar una presencia de la muestra en un sensor electroquímico, comprendiendo el sensor electroquímico dos electrodos; determinar un tiempo de llenado de la muestra con los dos electrodos; hacer reaccionar un analito para causar una transformación física del analito; determinar una primera concentración de analito en la muestra con los mismos dos electrodos; y calcular una concentración de analito corregida basada en la primera concentración de analito y el tiempo de llenado.

10 La etapa de calcular la concentración de analito corregida puede comprender: calcular un factor de corrección basado en el tiempo de llenado, en el que la concentración de analito corregida se calcula en base a la primera concentración de analito y al factor de corrección.

El factor de corrección puede comprender aproximadamente cero cuando el tiempo de llenado es menor que un primer umbral del tiempo de llenado.

15 El factor de corrección se puede calcular a la vista del tiempo de llenado cuando el tiempo de llenado es mayor que un primer umbral del tiempo de llenado y menor que un segundo umbral del tiempo de llenado.

20 El factor de corrección puede comprender un valor constante cuando el tiempo de llenado es mayor que un segundo umbral del tiempo de llenado.

La etapa de calcular la concentración de analito corregida puede comprender calcular una suma del factor de corrección y la primera concentración de analito en la muestra cuando la concentración del primer analito en la muestra es menor que un valor umbral.

25 La etapa de calcular la concentración de analito corregida cuando la concentración del primer analito en la muestra es mayor que un valor umbral puede comprender: dividir el factor de corrección por cien y agregar uno para dar un término intermedio; y multiplicar el término intermedio por la primera concentración de analito para dar una concentración de analito corregida por el tiempo de llenado.

30 La determinación del tiempo de llenado de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos mientras se introduce la muestra; medir una corriente como una función del tiempo; y determinar un tiempo de caída de la corriente basado en la corriente en función del tiempo, en el que el tiempo de caída de la corriente corresponde al tiempo de llenado de la muestra.

35 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular el valor negativo máximo del cambio en la corriente medida a lo largo del tiempo.

40 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es mayor que un primer umbral predeterminado.

La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es menor que un segundo umbral predeterminado.

45 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo, en el que la pendiente es mayor que un tercer umbral predeterminado.

La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular una pendiente en la corriente medida en función del tiempo en el que la pendiente es menor que un cuarto umbral predeterminado.

50 La determinación del tiempo de caída de la corriente puede comprender calcular un punto de inflexión en la corriente medida en función del tiempo.

La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos y medir un cambio en los valores de la corriente que es mayor que un quinto umbral predeterminado.

55 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos y medir un cambio en los valores de la corriente que es menor que un sexto umbral predeterminado.

60 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos y medir un cambio en un potencial eléctrico que es mayor que un séptimo umbral predeterminado.

65 La detección de la presencia de la muestra puede comprender: aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos, y medir un cambio en un potencial eléctrico que es menor que un octavo umbral predeterminado.

La detección de la presencia de la muestra puede realizarse mediante un microprocesador de una máquina de medición de analitos.

5 La reacción del analito puede generar una especie electroactiva que los dos electrodos miden como una corriente.

Los dos electrodos proporcionados pueden comprender una orientación enfrentados entre sí.

10 Los dos electrodos proporcionados pueden comprender una orientación opuesta.

Se proporciona un sistema electroquímico que comprende:

15 (a) un sensor electroquímico que incluye contactos eléctricos configurados para acoplarse con un medidor de prueba, comprendiendo el sensor electroquímico:

(i) un primer electrodo y un segundo electrodo en una relación separada, y

(ii) un reactivo; y

20 (b) el medidor de prueba que incluye un procesador configurado para recibir datos de corriente de la tira reactiva al aplicar voltajes a la tira reactiva, y configurado adicionalmente para determinar una concentración de analito corregida basada en una concentración de analito calculada y un tiempo de llenado medido con los mismos dos electrodos.

25 El medidor de prueba del sistema electroquímico puede incluir almacenar datos que contienen un umbral de concentración de analito, un primer umbral del tiempo de llenado y un segundo umbral del tiempo de llenado.

30 El sistema electroquímico puede comprender además un elemento de calentamiento configurado para calentar al menos una parte del sensor electroquímico.

El sensor electroquímico del sistema electroquímico puede comprender un sensor de glucosa.

El sensor electroquímico del sistema electroquímico puede comprender un inmunosensor.

35 Al menos uno de los sensores electroquímicos, el medidor de prueba y el procesador pueden estar configurados para medir la temperatura de la muestra.

40 El analito, cuya concentración corregida está configurada para determinar el sistema electroquímico, puede comprender proteína C reactiva.

El analito, cuya concentración corregida está configurada para determinar el sistema electroquímico, puede comprender glucosa.

45 La muestra puede comprender sangre. Adicionalmente, la muestra puede comprender sangre entera.

El primer y segundo electrodos del sistema electroquímico pueden comprender una orientación opuesta entre sí.

50 El primer y segundo electrodos del sistema electroquímico pueden comprender una orientación enfrentada.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

55 La presente invención se comprenderá más completamente a partir de la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 ilustra un diagrama de flujo de un procedimiento de ejemplo de un procedimiento para determinar la concentración de un analito en una muestra de acuerdo con la presente invención;

60 La figura 2A ilustra un dibujo esquemático de elevación lateral (no a escala) de una realización de ejemplo de una celda electroquímica de acuerdo con la presente invención;

La figura 2B ilustra una vista en planta, desde arriba, de la celda electroquímica de la figura 2A;

65 La figura 3 ilustra un dibujo esquemático (no a escala), en sección transversal, de una realización de ejemplo de una celda electroquímica hueca de acuerdo con la presente invención;

La figura 4A ilustra una vista en perspectiva en despiece ordenado de una prueba ensamblada de acuerdo con la presente invención;

5 La figura 4B ilustra una vista en perspectiva en despiece ordenado de una tira reactiva sin ensamblar de acuerdo con la presente invención;

La figura 4C ilustra una vista en perspectiva en despiece ordenado de una parte proximal de la tira reactiva de acuerdo con la presente invención;

10 La figura 5A ilustra una vista en planta inferior de una realización de una tira reactiva descrita en el presente documento;

La figura 5B ilustra una vista en planta lateral de la tira reactiva de la figura 5A;

15 La figura 5C ilustra una vista en planta desde arriba de la tira reactiva de la figura 5B;

La figura 5D es una vista lateral parcial de una parte proximal de la tira reactiva de la figura 5C;

20 La figura 6 ilustra una vista en despiece ordenado de una realización a modo de ejemplo de un inmunosensor de acuerdo con la presente invención, en el que el inmunosensor está configurado para su uso con una unidad de control que tiene un sistema de detección electroquímica para calcular un tiempo de llenado;

25 La figura 7 ilustra un gráfico de un transitorio de corriente en función del tiempo realizado usando una realización de ejemplo de una celda electroquímica junto con una realización a modo de ejemplo para probar diversas muestras de sangre proporcionadas en el presente documento;

30 La figura 8 ilustra un gráfico de un transitorio de corriente en función del tiempo realizado usando otra realización a modo de ejemplo de una celda electroquímica junto con una realización de ejemplo para analizar diversas muestras de sangre proporcionadas en el presente documento;

La figura 9 ilustra un gráfico de los resultados del análisis de diversas muestras de sangre usando un procedimiento de tiempo de prepulso variable de acuerdo con una realización de ejemplo y un procedimiento de tiempo fijo;

35 La figura 10 ilustra un gráfico del tiempo de llenado frente al nivel de hematocrito para diversas muestras de sangre proporcionadas en el presente documento;

40 La figura 11 ilustra una forma de onda de voltaje de prueba en la cual el medidor de prueba aplica una pluralidad de voltajes de prueba para intervalos de tiempo prescritos;

La figura 12 ilustra un gráfico de los resultados del análisis de diversas muestras de sangre sin corregir el tiempo de llenado;

45 La figura 13A ilustra los mismos datos que la figura 12 trazados contra el hematocrito de las muestras;

La figura 13B ilustra un gráfico de los datos mostrados en la figura 12 corregidos para el tiempo de llenado y trazados contra el hematocrito de la muestra;

50 La figura 14 ilustra un gráfico de los resultados del análisis de diversas muestras de sangre en un entorno clínico;

55 La figura 15 ilustra un gráfico de transitorios de corriente frente al tiempo obtenidos cuando se cargó sangre con hematocritos en el intervalo de 15 % a 72 % en otra realización de ejemplo de un sensor electroquímico junto con una realización a modo de ejemplo para probar una diversidad de muestras proporcionadas en el presente documento.

La figura 16 ilustra un gráfico alternativo de los datos mostrados en la figura 15,

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

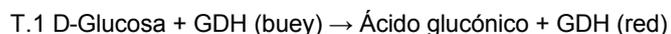
60 La siguiente descripción detallada se leerá con referencia a las figuras, en las que elementos similares en dibujos diferentes se enumeran de forma idéntica. Las figuras, que no necesariamente están a escala, representan realizaciones seleccionadas y no se pretende limitar el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, pero no sin limitaciones, los principios de la invención.

65

Como se usa en el presente documento, los términos “aproximadamente” o “alrededor de” para cualquier valor o intervalo numérico indican una tolerancia de la dimensión adecuada que permite que la parte, o conjunto de componentes, funcionen para el fin previsto como se describe en el presente documento. Además, como se usa en el presente documento, los términos “paciente”, “huésped”, “usuario” y “sujeto” se refieren a cualquier sujeto humano o animal y no se pretende que limiten los sistemas o procedimientos al uso humano, aunque el uso de la invención sujeto en un paciente humano representa una realización preferida.

A continuación se describirán ciertas realizaciones de ejemplo para proporcionar una comprensión global de los principios de la estructura, la función, la fabricación y el uso de los dispositivos y métodos descritos en el presente documento. Uno o más ejemplos de estas realizaciones se ilustran en los dibujos adjuntos. Los expertos en la técnica comprenderán que los dispositivos y métodos descritos específicamente en este documento e ilustrados en los dibujos adjuntos son realizaciones de ejemplo no limitantes y que el alcance de la presente invención se define únicamente en las reivindicaciones. Las características ilustradas o descritas en relación con una realización de ejemplo se pueden combinar con las características de otras realizaciones. Se pretende que tales modificaciones y variaciones se incluyan dentro del alcance de la presente invención.

Los sistemas y procedimientos descritos en la actualidad son adecuados para usar en la determinación de una amplia variedad de analitos en una amplia variedad de muestras, y son particularmente adecuados para su uso en la determinación de analitos en sangre entera, plasma, suero, fluido intersticial o derivados de los mismos. En una realización de ejemplo, un sistema de análisis de de glucosa basado en un diseño de celda de capa fina con electrodos opuestos y detección electroquímica de tres impulsos que es rápido (por ejemplo, aproximadamente 5 segundos o menos de tiempo de análisis), requiere una muestra pequeña (por ejemplo, aproximadamente 0,4 µl o menos) y puede proporcionar una mejor fiabilidad y precisión de las mediciones de glucosa en sangre. En la celda de reacción para analizar el analito, la glucosa en la muestra se puede oxidar a gluconolactona usando glucosa deshidrogenasa y se puede usar un mediador electroquímicamente activo para transferir electrones desde la enzima a un electrodo de trabajo de paladio. Más particularmente, una capa de reactivo que recubre al menos uno de los electrodos en la celda de reacción puede incluir glucosa deshidrogenasa (GDH) basada en el cofactor de pirroloquinolina quinona (PQQ) y ferricianuro. En otra realización, la enzima GDH basada en el cofactor PQQ puede reemplazarse con la enzima GDH basada en el cofactor flavina adenina dinucleótido (FAD). Cuando se dosifica sangre o solución de control en la cámara de reacción, la glucosa se oxida con GDH (ox) y en el proceso convierte GDH (ox) en GDH (red), como se muestra en la transformación química T. 1 a continuación. Tenga en cuenta que GDH (ox) se refiere al estado oxidado de GDH, y GDH (red) se refiere al estado reducido de GDH.



Se puede utilizar un potencióstato para aplicar una forma de onda de potencial de triple pulso al electrodo de trabajo y al contraelectrodo, lo que da como resultado transitorios de corriente de prueba utilizados para calcular la concentración de glucosa. Además, la información adicional obtenida de los transitorios de corriente de prueba puede usarse para discriminar entre matrices de muestra y corregir la variabilidad en las muestras de sangre debido al hematocrito, la variación de temperatura, los componentes electroquímicamente activos, e identificar posibles errores del sistema.

Los presentes procedimientos se pueden usar, en principio, con cualquier tipo de celda electroquímica que tenga un primer y segundo electrodos separados y una capa de reactivo. Por ejemplo, una celda electroquímica puede estar en forma de una tira reactiva. En un aspecto, la tira reactiva puede incluir dos electrodos opuestos separados por un espaciador delgado para definir una cámara o zona receptora de muestras en la que se encuentra una capa de reactivo. Los solicitantes observarán que otros tipos de tiras reactivas, que incluyen, por ejemplo, tiras reactivas con electrodos coplanares también se pueden usar con los procedimientos descritos en el presente documento.

Los procedimientos para determinar una concentración de un analito en una muestra descrita en el presente documento se pueden usar con cualquier dispositivo y / o sistema de análisis de muestras. Los dispositivos incluyen típicamente al menos un electrodo de trabajo y un contraelectrodo entre los cuales se puede aplicar un potencial eléctrico. El dispositivo analizador de muestras generalmente puede asociarse con un componente para aplicar el potencial eléctrico entre los electrodos, tal como un medidor. Los solicitantes observarán que se pueden usar diversos medidores de prueba con los sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. Sin embargo, en una realización, el medidor de prueba incluye al menos un procesador, que puede incluir una o más unidades de control configuradas para realizar cálculos capaces de calcular un factor de corrección en vista de al menos un parámetro medido o calculado así como configurados para la clasificación de datos y / o almacenamiento. El microprocesador puede estar en forma de un microprocesador de señal mixta (MSP) tal como, por ejemplo, el Texas Instruments MSP 430, El TI-MSP 430 se puede configurar para que también realice una parte de la función de potencióstato y la función de medición de la corriente. Además, el MSP 430 también puede incluir memoria volátil y no volátil. En otra realización, muchos de los componentes electrónicos pueden integrarse con el microcontrolador en forma de un circuito integrado específico de la aplicación.

El dispositivo analizador de muestras también puede asociarse con uno o más componentes que son capaces de medir el tiempo de llenado de una muestra cuando se introduce en el dispositivo. Dichos componentes también pueden ser capaces de calcular una concentración de un analito en la muestra en vista del tiempo de llenado. Dichos componentes generalmente se denominan en el presente documento unidades de control. Además, los términos analito, antígeno y anticuerpos se usan indistintamente en el mismo y, por lo tanto, el uso de un término es igualmente aplicable a los tres términos, a menos que se indique lo contrario o sea razonablemente conocido por un experto en la técnica.

En una realización de ejemplo de un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra, se introduce una muestra en una celda electroquímica de un dispositivo de análisis de muestras que tiene un electrodo de trabajo y un contraelectrodo. Se puede aplicar un potencial eléctrico entre los electrodos de trabajo y contraelectrodo de la celda electroquímica y se puede determinar un tiempo de llenado de la muestra en, por ejemplo, un espacio capilar de la celda electroquímica. Se puede calcular un tiempo de prepulso en vista de al menos el tiempo de llenado de la muestra y se puede aplicar un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo durante un período de tiempo igual al tiempo de prepulso. A continuación, se puede determinar una concentración del analito en la muestra. Al calcular el tiempo de prepulso en vista del tiempo de llenado, se pueden lograr resultados más precisos para la concentración del analito. Por ejemplo, los errores, como los que pueden resultar de la variación de los niveles de hematocrito en las muestras, pueden tenerse en cuenta, lo que conduce a determinaciones más precisas de las concentraciones de los analitos en las muestras. Los procedimientos también pueden explicar los efectos de la temperatura, como se analiza en mayor detalle a continuación. En una realización alternativa para detectar una concentración de un analito en una muestra, los errores se corrigen basándose en una velocidad de llenado inicial determinada en lugar de un tiempo de llenado determinado. Un ejemplo de tal procedimiento se revela en La solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 12/649,509 titulada "Systems, Devices and Methods for Measuring Whole Blood Haematocrit Based on Initial Fill Velocity," de Ronald C. Chatelier, Dennis Rylatt, Linda Raineri y Alastair M. Hodges, y presentada el 30 de diciembre de 2009, En una realización alternativa, se puede determinar una estimación de un nivel del nivel de hematocrito. En algunas realizaciones, la estimación de un nivel del hematocrito puede determinarse sin referencia a una concentración de analito asociada. Como resultado, se pueden realizar evaluaciones relacionadas con afecciones, tal como anemia. En un sistema de este tipo, solo se mide un nivel de hematocrito sin realizar otras determinaciones de la concentración. La determinación de un nivel de hematocrito según las enseñanzas divulgadas puede permitir que las determinaciones se realicen de forma rápida y precisa, a menudo en menos de un segundo. Por ejemplo, los niveles de hematocrito de una gota de sangre se pueden determinar en menos de un segundo meramente dejando caer la sangre en una tira de sensor de un dispositivo de análisis de muestras. Una vez que la sangre se dispone en la tira, se puede proporcionar una lectura digital del nivel de hematocrito casi instantáneamente.

Se puede usar un tiempo de llenado en diversas formas para mejorar la determinación de la concentración de un analito. Por ejemplo, el tiempo de llenado de la muestra se puede usar para calcular un tiempo de prepulso. Al ajustar el tiempo de prepulso en vista del tiempo de llenado, se pueden proporcionar tiempos de reacción más largos para las muestras que tardan más tiempo en llenar el sensor. Por ejemplo, si la muestra incluye sangre entera, el nivel de hematocrito puede ser un factor en el tiempo de llenado de la muestra. El ajuste del tiempo de prepulso a la vista del tiempo de llenado puede permitir de este modo que se determinen concentraciones más precisas en un intervalo de niveles de hematocrito. En algunas realizaciones, el nivel de hematocrito se puede vincular al tiempo de llenado, por ejemplo, se puede determinar una estimación del nivel de hematocrito a la vista del tiempo de llenado. En tal caso, los niveles de hematocrito pueden tenerse en cuenta en la determinación de la concentración de analito a fin de proporcionar determinaciones de concentración de analito más precisas.

En una realización de ejemplo, pueden usarse las etapas ilustradas en la figura 1 para determinar la concentración de un analito en una muestra. Como se muestra, primero se introduce una muestra en el dispositivo. Se puede usar cualquier tipo de dispositivo de análisis de muestras junto con al menos algunos de los sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. Estos dispositivos pueden incluir, a modo de ejemplo no limitante, celdas electroquímicas, sensores electroquímicos, sensores de glucosa, medidores de glucosa, sensores de hemoglobina, sensores antioxidantes, biosensores e inmunosensores. Una realización de ejemplo de un dispositivo de análisis de muestras es un sensor electroquímico. El sensor electroquímico puede incluir al menos dos electrodos. Los al menos dos electrodos pueden configurarse de cualquier manera, por ejemplo, los electrodos pueden estar en el mismo plano o en diferentes planos. Se puede introducir una muestra en la celda electroquímica.

En una realización, la introducción de una muestra puede detectarse mediante una técnica automática en la que el medidor monitoriza un cambio en voltaje, corriente o capacitancia, un cambio que indica que la muestra se ha dosificado en la cámara de reacción de muestra. Como alternativa, la muestra fisiológica puede detectarse mediante una técnica manual en la que el usuario observa visualmente el llenado de la cámara de reacción de muestra e inicia la prueba presionando un botón. En otra realización, un detector óptico en el medidor puede detectar la dosificación de la muestra. El tiempo que toma la muestra para llenar la cámara de reacción puede medirse igualmente mediante cualquier cantidad de técnicas similares. En una realización, los electrodos pueden configurarse de manera que cuando se introduce una muestra en el sensor, el segundo electrodo se pone en contacto antes o simultáneamente con el primer electrodo a medida que la muestra llena el sensor. Sin embargo, a medida que la muestra llena el sensor, el primer electrodo es limitante en la corriente que puede soportar con relación al voltaje aplicado al segundo

electrodo. El primer electrodo puede, por lo tanto, limitar la corriente que fluye en el sensor electroquímico. Antes, simultánea o inmediatamente después de que la muestra entra en contacto con el primer electrodo, se puede aplicar un potencial entre los electrodos de manera que cuando el primer y el segundo electrodos se conectan mediante el líquido de muestra, fluye una corriente entre ellos. En una realización de los procedimientos descritos en el presente documento, la respuesta de la corriente frente al tiempo durante el llenado del sensor puede usarse para determinar el punto en el que el sensor se llena adecuadamente. Por ejemplo, un llenado adecuado puede significar que suficiente líquido ha llenado el sensor para cubrir por completo al menos el primer electrodo. En algunas realizaciones, la respuesta de la corriente frente al tiempo puede ser una discontinuidad en la velocidad de cambio de la corriente con el tiempo, tal como una mayor caída en la corriente o una disminución en la tasa de aumento. Un ejemplo de los procedimientos anteriores se describe en La solicitud de patente de Estados Unidos N° de serie 12/885,830 de Kranendonk et al., titulada "Apparatus and Method for Improved Measurements of a Monitoring Device," y presentada el 20 de septiembre 2010,

En una realización de los procedimientos descritos en el presente documento, se puede aplicar un potencial de entre aproximadamente +10 mV a aproximadamente +30 mV entre el primer y segundo electrodos de una celda electroquímica durante un período de tiempo, por ejemplo, aproximadamente 1000 ms, a medida que la muestra introducida en el dispositivo llena la celda. En una realización de ejemplo, se puede aplicar un potencial de aproximadamente +20 mV entre el primer y segundo electrodos a medida que una muestra introducida en el dispositivo llena la celda. La corriente que fluye entre los electrodos se puede medir a intervalos predeterminados durante este tiempo. Por ejemplo, la corriente se puede medir cada 2 milisegundos ("ms") y la corriente promedio se puede almacenar cada 10 ms. Los datos de la corriente pueden analizarse después, por ejemplo, mediante una unidad de control. En algunas realizaciones, la unidad de control puede incluir un microprocesador. El análisis de los datos de la corriente medidos durante aproximadamente 1000 ms, durante los cuales la muestra llena el dispositivo, puede incluir una determinación de la última hora a la cual la corriente disminuye en una cantidad predeterminada. Este tiempo se puede usar como el tiempo de llenado (FT) de la muestra. Por ejemplo, en una realización, la última vez que la corriente disminuye en más de 0,4 microamperios ("µA") en un intervalo de 40 ms se puede usar para determinar el tiempo en el que la muestra ha llenado la celda.

En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de de caída de la corriente puede incluir calcular una diferencia entre al menos dos valores de la corriente en los que la diferencia es mayor o menor que un valor de umbral predeterminado. Se pueden emplear varios valores de umbral predeterminados. Por ejemplo, cuando el área del electrodo de trabajo es de aproximadamente 4,2 milímetros cuadrados y se están analizando hematocritos tan altos como aproximadamente del 75 %, el valor umbral predeterminado puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,4 micrómetros en un período de tiempo de aproximadamente 40 ms. En otra realización de ejemplo, cuando el área del electrodo de trabajo es de aproximadamente 4,2 milímetros cuadrados y se están analizando hematocritos tan altos como aproximadamente 60 %, el valor umbral predeterminado puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,7 microamperios a aproximadamente 0,9 micrómetros en aproximadamente 50 ms período de tiempo. En algunas realizaciones, la etapa de determinar el tiempo de de caída de la corriente puede incluir calcular un punto de inflexión en la corriente medida como una función del tiempo.

En algunas realizaciones, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar un potencial eléctrico entre los dos electrodos y medir un cambio en los valores de corriente que es mayor o menor que un valor de umbral predeterminado. Se pueden emplear varios valores de umbral predeterminados. Por ejemplo, cuando el área del electrodo de trabajo es de aproximadamente 4,2 milímetros cuadrados, el valor umbral predeterminado puede estar en el intervalo de aproximadamente 3 microamperios. En otras realizaciones, la detección de la presencia de una muestra puede incluir aplicar una corriente generalmente constante entre los dos electrodos y medir un cambio en un potencial eléctrico que es mayor o menor que un umbral predeterminado. Por ejemplo, el valor umbral predeterminado puede estar en el intervalo de aproximadamente 200 mV. En otra realización de ejemplo, el valor umbral puede ser de aproximadamente 400 mV.

Después de que la muestra ha llenado la celda, se puede aplicar un primer potencial eléctrico, que tiene una primera polaridad, entre un primer y segundo electrodo y una corriente resultante medida como una función del tiempo. Este primer potencial eléctrico se puede denominar, por ejemplo, como prepulso. En algunas realizaciones, el período de tiempo que se puede aplicar un prepulso puede ser de aproximadamente 5 segundos. En otras realizaciones, el tiempo de llenado (FT) de la muestra, que se puede determinar usando cualquiera de las técnicas discutidas anteriormente, se puede usar para calcular el período de tiempo que se puede aplicar un prepulso. Este período de tiempo se puede denominar, por ejemplo, tiempo de prepulso (PPT). Por ejemplo, el cálculo del tiempo de prepulso puede permitir tiempos de prepulso más largos para las muestras que tardan más tiempo en llenar el sensor. En una realización, el tiempo de prepulso puede establecerse de acuerdo con los siguientes parámetros de ejemplo. Por ejemplo, el tiempo de prepulso puede calcularse como:

$$\text{PPT (ms)} = 3000 + (\text{FT} - 300) \times 9,3$$

Para los fines de este cálculo, para tiempos de llenado inferiores a 300 ms, el tiempo de llenado puede ajustarse a 300 ms. Este cálculo permite que el tiempo de prepulso (PPT) se ajuste para permitir tiempos de reacción más largos para las muestras que toman más de una cantidad de tiempo predeterminada, por ejemplo,

aproximadamente 300 ms, para llenar el sensor. Para simplificar el cálculo y colocar límites en el tiempo total de prueba, se puede establecer un tiempo de prepulso máximo si el tiempo de llenado es más largo que un período de tiempo predeterminado. Por ejemplo, en una realización, si el tiempo de llenado es mayor que aproximadamente 500 ms, por ejemplo, aproximadamente 515 ms, el tiempo de prepulso (PPT) se puede establecer igual a 5000 ms. Por lo tanto, en esta realización de ejemplo, el PPT mínimo (para tiempos de llenado menores que aproximadamente 300 ms) es de 3000 ms y el PPT máximo (para tiempos de llenado superiores a aproximadamente 500 ms, por ejemplo, aproximadamente 515 ms) es de aproximadamente 5000 ms. En otras realizaciones, el cálculo del tiempo de prepulso puede ajustarse para tener en cuenta otras propiedades y requisitos de una muestra o analito particular. Por ejemplo, las variables y constantes en la ecuación mostrada anteriormente para el cálculo del tiempo de prepulso pueden ajustarse para proporcionar tiempos de prepulso alternativos máximo y mínimo, o combinaciones de los mismos.

Una vez que se ha determinado el tiempo de prepulso, se puede aplicar un potencial entre los electrodos de la celda durante un tiempo igual al tiempo de prepulso (PPT) y una corriente resultante medida como una función del tiempo. Al menos una parte de los datos (corriente como una función de tiempo) proporciona un primer transitorio de corriente de tiempo. El primer potencial eléctrico puede ser suficientemente negativo con respecto al segundo electrodo de manera que el segundo electrodo funcione como el electrodo de trabajo en el que se mide una corriente de oxidación limitante. Después de que ha transcurrido el primer intervalo de tiempo, se puede aplicar un segundo potencial eléctrico entre el primer y segundo electrodos durante un segundo intervalo de tiempo. El segundo potencial eléctrico causa una corriente que se mide como una función de tiempo para producir un segundo transitorio de corriente de tiempo. En una realización, el segundo potencial tiene una segunda polaridad, que es opuesta a la primera polaridad. Por ejemplo, el segundo potencial puede ser suficientemente positivo con respecto al segundo electrodo de manera que el primer electrodo funcione como el electrodo de trabajo en el que se mide una corriente de oxidación limitante. En una realización de ejemplo, el primer potencial eléctrico y el segundo potencial eléctrico pueden variar de aproximadamente -0,6 V a aproximadamente +0,6 V. El intervalo de tiempo de los transitorios de tiempo-corriente puede, en una realización, estar en el intervalo de aproximadamente 1 segundo a 10 segundos, y preferentemente en el intervalo de aproximadamente 1 a 5 segundos. En otra realización, una suma del primer intervalo de tiempo y el segundo intervalo de tiempo es inferior a aproximadamente 5 segundos. También se debe tener en cuenta que el primer intervalo de tiempo no tiene que ser el mismo que el segundo intervalo de tiempo. En una realización, el segundo potencial eléctrico se aplica inmediatamente después de la aplicación del primer potencial eléctrico. En una realización alternativa, se introduce un potencial de retardo o circuito abierto entre el primer potencial eléctrico y el segundo potencial eléctrico. En otra realización alternativa, se introduce un retraso después de que se detecta la muestra fisiológica en la cámara de reacción de la muestra, pero antes de la aplicación del primer potencial eléctrico. El retraso puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,01 y aproximadamente 3 segundos, preferentemente de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1 segundo y lo más preferentemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,9 segundos.

En una realización de ejemplo, un primer potencial de prueba  $E_1$  se puede aplicar entre los electrodos para un primer tiempo potencial de prueba  $T_1$ , por ejemplo, PPT milisegundos. Por ejemplo, se puede aplicar un potencial de +300 mV. Una vez transcurrido el primer tiempo del potencial de prueba  $T_1$ , por ejemplo, PPT milisegundos, se puede aplicar un segundo potencial de prueba  $E_2$  entre los electrodos para un segundo intervalo de tiempo de potencial de prueba  $T_2$ , por ejemplo, -300 mV durante 1000 ms. Durante  $T_1$  y  $T_2$ , la corriente de la celda como una función del tiempo se puede medir, en el presente documento se denomina transitorio de corriente de tiempo o transitorio de corriente y se conoce como  $i_a(t)$ , durante el primer intervalo de tiempo del potencial de prueba  $T_1$ , y como  $i_b(t)$  durante el segundo intervalo de tiempo del potencial de prueba  $T_2$ . Por ejemplo, la corriente en función del tiempo se puede medir cada 10 ms con la corriente promedio almacenada cada 50 ms. Al menos una parte de los datos del primer y segundo potenciales (corriente en función del tiempo) puede proporcionar transitorios de corriente de tiempo primero y segundo. La concentración de un analito en la muestra se puede determinar a partir de los datos de la corriente usando cualquier número de algoritmos.

Ejemplos de algoritmos para determinar la concentración de analito se pueden encontrar al menos en la solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 11/278,341 de Chatelier et al., titulada "Methods And Apparatus For Analyzing A Sample In The Presence Of Interferents," y presentada el 31 de marzo de 2006, En una realización a modo de ejemplo, los datos de la corriente pueden analizarse usando un "algoritmo corregido en la esquina libre de calibración" similar a los descritos en la solicitud de patente mencionada anteriormente. En una realización, se puede calcular una concentración de analito usando el algoritmo como se muestra en la Ecuación (Ec.) 1,

$$G = \left( \frac{i_r}{i_i} \right)^p \{ ai_2 - zgr \}$$

Ec. 1 
$$G = \left( \frac{i_r}{i_i} \right)^p \{ ai_2 - zgr \}$$

En la ec. 1,  $G$  es la concentración de analito, los términos  $i_1$ ,  $i_r$ , y  $i_2$  son valores de la corriente y los términos  $p$ ,  $zgr$ , y  $a$  son constantes de calibración derivadas empíricamente.

En una realización de la invención,  $p$  puede variar de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 4, y preferentemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1, El factor de calibración  $a$  se puede usar para tener en cuenta las posibles variaciones en las dimensiones de la celda electroquímica. Las variaciones en las dimensiones de la celda electroquímica pueden causar un cambio proporcional en la magnitud de la corriente medida. En ciertas circunstancias, los procesos de fabricación pueden hacer que el área del electrodo varíe de un lote de tiras reactivas a otro lote de tiras reactivas. El cálculo de un factor de calibración  $a$  para cada lote de tiras reactivas ayuda a compensar las variaciones en el área del electrodo y la altura de la celda. El término  $a$  puede calcularse durante el proceso de calibración de un lote de tiras reactivas.

Un factor de calibración  $zgr$  se usa para explicar las variaciones en el fondo. La presencia de una especie oxidable dentro de la capa de reactivo de la célula antes de la adición de una muestra puede contribuir a una señal de fondo. Por ejemplo, si la capa de reactivo contiene una pequeña cantidad de ferrocianuro (por ejemplo, mediador reducido) antes de que la muestra se agregue a la tira reactiva, entonces habrá un aumento en la corriente de prueba medida que no se atribuirá a la concentración del analito. Debido a que esto causaría un sesgo constante en la corriente de prueba medida general para un lote particular de tiras reactivas, este sesgo puede corregirse para usar el factor de calibración  $Z$ . Similar a los términos  $p$  y  $a$ ,  $Z$  también se puede calcular durante el proceso de calibración. Los procedimientos de ejemplo para calibrar lotes de tiras se describen en La patente de Estados Unidos n.º 6,780,645, En una realización de ejemplo,  $p$  puede ser 0,51,  $a$  puede ser 0,2, y  $zgr$  puede ser 5, Si bien el procedimiento descrito en el presente documento se describe con el uso de factores de calibración,  $p$ ,  $a$ , y  $zgr$ , un experto en la materia apreciará que su uso no es necesario. Por ejemplo, en una realización, la concentración de glucosa podría calcularse sin  $p$ ,  $a$ , y  $Z$  (en la ecuación 1  $p$  y  $Z$  o  $a$  podría ser igual a uno y  $zgr$  podría ser igual a cero). Una derivación de Ec. 1 se puede encontrar en una solicitud de Estados Unidos n.º 11/240,797 pendiente de tramitación, que se presentó el 30 de septiembre de 2005 y titulada "Method and Apparatus for Rapid Electrochemical Analysis". El valor de la corriente  $i_r$  se puede calcular a partir del segundo valor del transitorio de corriente y la corriente  $i_1$  se puede calcular a partir del primer transitorio de corriente. Todos los valores de la corriente ( $p$ ,  $i_r$ ,  $y_{oi}$ , y  $i_2$ ) declarado en Eq. 1 y en ecuaciones posteriores puede usar el valor absoluto de la corriente. Valores de la corriente  $i_r$ ,  $y_{oi}$ , puede ser, en algunas realizaciones, una integral de valores de corriente durante un intervalo de tiempo de un transitorio de corriente, una suma de valores de corriente en un intervalo de tiempo de un transitorio de corriente, o un valor de corriente promedio o único de un transitorio de corriente multiplicado por un tiempo intervalo de la corriente transitoria. Para la suma de los valores de la corriente, se puede sumar un intervalo de medición de corriente consecutiva desde solo dos valores de la corriente o hasta todos los valores de la corriente. El valor de la corriente  $i_2$  se puede calcular como se analiza a continuación.

Por ejemplo, cuando el primer intervalo de tiempo es de 5 segundos de duración,  $i_1$  puede ser la corriente promedio de 1,4 a 4 segundos de un período largo de 5 segundos e  $i_r$  puede ser la corriente promedio de 4,4 a 5 segundos de un período largo de 5 segundos, como se muestra en las ecuaciones 2a y 3a, a continuación.

40

Ec. 2a

$$i_r = \sum_{t=4.4}^5 i(t)$$

45

Ec. 3a

$$i_2 = \sum_{t=1.4}^4 i(t)$$

50

En otro ejemplo, donde el primer intervalo es de 5 segundos de largo  $i_1$  puede ser la suma de corrientes de 3,9 a 4 segundos de un período largo de 5 segundos y  $i_r$  puede ser la suma de corrientes de 4,25 a 5 segundos de un período largo de 5 segundos, como se muestra en Eq. 2b y 3b, a continuación.

60

Ec. 2b

$$i_r = \sum_{t=4.25}^5 i(t)$$

65

$$i_l = \sum_{t=3.9} i(t)$$

Ec. 3b

5 La magnitud de la corriente para el primer transitorio de corriente se puede describir como una función del tiempo mediante Eq. 4,

$$i_a(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left(\frac{-4\pi^2 n^2 Dt}{L^2}\right) \right\}$$

10 Ec. 4

15 El término  $i_{ss}$  es la corriente de estado estacionario después de la aplicación del primer potencial de prueba  $E_1$ ,  $D$  es el coeficiente de difusión del mediador,  $L$  es el espesor del espaciador. Cabe señalar que en Eq. 4,  $t$  se refiere al tiempo transcurrido después del primer potencial de prueba  $E_1$  se aplicó. La magnitud de la corriente para el segundo transitorio de corriente se puede describir como una función del tiempo mediante Eq. 5,

$$i_b(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 4 \sum_{n=1}^{\infty} \exp\left(\frac{-4\pi^2 n^2 Dt}{L^2}\right) \right\}$$

20 Ec. 5

25 Hay un factor de dos diferencias para el término exponencial en Eq. 5 en comparación con el término exponencial en Eq. 4 porque el segundo transitorio de corriente se genera a partir del segundo potencial de prueba  $E_2$ , que era opuesto en polaridad al primer potencial de prueba  $E_1$ , y se aplicó inmediatamente después del primer potencial de prueba  $E_1$ . Cabe señalar que en Eq. 5,  $t$  se refiere al tiempo transcurrido después del segundo potencial de prueba  $E_2$  se aplicó.

30 Una corriente máxima para el primer intervalo de tiempo del potencial de prueba  $T_1$  se puede denotar como  $i_{Pensilvania}$  y una corriente máxima para el segundo intervalo de tiempo del potencial de prueba  $T_2$  se puede denotar como  $i_{pb}$ . Si ambos primeros picos de corriente  $i_{Pensilvania}$  y segundo pico de corriente  $i_{pb}$  se midieron en el mismo corto tiempo después de la aplicación del primer potencial de prueba  $E_1$  y el segundo potencial de prueba  $E_2$  respectivamente, por ejemplo 0,1 segundos, Eq. 4 se puede restar de la ecuación 5 para producir Eq. 6,

$$i_{pb} - 2i_{pa} = -i_{ss}$$

40 Ec. 6

45 Porque se ha determinado que  $i_{Pensilvania}$  es controlado principalmente por interferentes,  $i_{pb}$  se puede usar con  $i_{Pensilvania}$  juntos para determinar un factor de corrección. Por ejemplo, como se muestra a continuación  $i_{pb}$  se puede usar con  $i_{Pensilvania}$  en una función matemática para determinar una corriente corregida que es proporcional a la glucosa y menos sensible a los interferentes.

50 Eq. 7 fue derivado para calcular una corriente  $i_4$  que es proporcional a la glucosa y tiene una fracción relativa de la corriente eliminada que se atribuye a los interferentes.

$$i_2 = i_r \left\{ \frac{i_{pb} - 2i_{pa} + i_{ss}}{i_{pb} + i_{ss}} \right\}$$

55 Ec. 7

60 El término  $i_{ss}$  se agregó tanto al numerador como al denominador para permitir que el numerador se acerque a cero cuando no hay glucosa presente. El término  $i_{ss}$  puede estimarse usando la Ecuación 8A, para corrientes en tiempos mayores que un tiempo mínimo, donde se puede estimar un tiempo mínimo adecuado a partir de la Ecuación 8B.

65

Ec. 8A 
$$i(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 4 \exp\left(\frac{-4\pi^2 Dt}{L^2}\right) \right\}$$

Ec. 8B 
$$t_{\min} = \frac{-L^2 \ln 0,01}{12\pi^2 D}$$

en el cual,  $i_{ss}$  es la corriente continua de corriente continua del segundo potencial eléctrico;  $i$  es la corriente medida que es una función del tiempo;  $D$  es el coeficiente de difusión de la molécula activa redox, donde este coeficiente puede determinarse a partir de la primera ley de Fick, es decir,  $J(x, t) = -D \text{corriente continua}(x,t) / dx$ ;  $L$  es el espesor del espaciador; y  $t$  es el momento de la aplicación del segundo potencial eléctrico donde  $t=0$  para el comienzo del segundo intervalo de tiempo.

En una realización de ejemplo, el valor de corriente,  $i_2$ , se puede calcular de acuerdo con Eq. 9,

Ec. 9 
$$i_2 = i_r \left( \frac{i(4,1) - 2i(1,1) + i_{ss}}{i(4,1) + i_{ss}} \right)$$

Por lo tanto, Eq. 1 puede permitir mediciones precisas de la concentración de analito en presencia de interferencias.

Como se discutió anteriormente, se puede determinar una estimación de un nivel de hematocrito sin referencia a una concentración de analito asociada. Por ejemplo, los niveles de hematocrito de una gota de sangre se pueden determinar a partir de los valores de la corriente y una concentración de analito. En una realización a modo de ejemplo, una estimación del hematocrito (H) se puede derivar de la Ec. 10,

Ec. 10 
$$H = -162,5 \log(i_r) + 119,1 \log(G) + 235,4$$

En algunas realizaciones, el valor de la concentración de analito (G) se puede corregir a la vista del nivel de hematocrito, por ejemplo, usando Eq. 11A y 11B.

Ec. 11A  $G' = G + \text{Corr}$  para  $G < 100 \text{ mg/dl}$   
 Ec. 11B  $G' = G (1 + \text{Corr}/100)$  para  $G \geq 100 \text{ mg/dl}$

En Ec. 11A y 11B, el factor de corrección  $\text{Corr}$  se puede calcular utilizando funciones sinusoidales cuya amplitud varía con H. Por ejemplo, a valores de  $H < 30 \%$  se pueden usar las siguientes ecuaciones para calcular  $\text{Corr}$ .

Ec. 12A  $\text{Corr} = -0,4 (30-H) \sin(\pi G/400)$  para  $G < 400 \text{ mg/dl}$   
 Ec. 12B  $\text{Corr} = 0$  para  $G \geq 400 \text{ mg/dl}$

donde el intervalo de  $\text{Corr}$  está restringido a 0 a -5..

Cuando  $H > 50 \%$ , se puede usar una "función seno asimétrica" donde las amplitudes de los lóbulos positivo y negativo son diferentes. Sin embargo, la función es continua para que no haya un paso repentino en la corrección. Por ejemplo, Eq. 13A a 13C se pueden usar para calcular  $\text{Corr}$  para  $H > 50 \%$ .

Ec. 13A  $\text{Corr} = -0,2 (H-50) \sin(\pi G/180)$  para  $G < 180 \text{ mg/dl}$   
 Ec. 13B  $\text{Corr} = -0,5 (H-50) \sin(\pi G/180)$  para  $G \leq 270 \text{ mg/dl}$   
 Ec. 13C  $\text{Corr} = -0,5 (H-50)$  para  $G > 270 \text{ mg/dl}$

donde el intervalo de  $\text{Corr}$  está restringido a 0 a -5 para  $G < 180$ , y de 0 a 5 para  $G \geq 180$ ,

En otra realización, el valor de la concentración de analito (G) puede corregirse en vista del tiempo de llenado sin derivar una estimación del hematocrito (H), por ejemplo, usando la ecuación (1). 14A (cuando  $G < 100$  mg / dL) y 14B (cuando  $G \geq 100$  mg / dL) junto con las Ecs. 15A, 15B y 15C.

$$\begin{aligned} \text{Ec. 14A } G' &= G + \text{Corr} && \text{para } G < 100 \text{ mg/dl} \\ \text{Ec. 14B } G' &= G (1 + \text{Corr}/100) && \text{para } G \geq 100 \text{ mg/dl} \end{aligned}$$

El factor de corrección *Corr* en Eq. 14A y 14B pueden calcularse en vista del tiempo de llenado (FT) basado en una serie de valores de umbral de FT. Por ejemplo, las siguientes ecuaciones se pueden usar para calcular *Corr* usando dos valores de umbral de FT,  $Th_1$  y  $Th_2$ .

$$\begin{aligned} \text{Ec. 15A} & \quad \text{si } Th_1 < FT < Th_2, \text{Corr} = 50 (FT - Th_1) \\ \text{Ec. 15B} & \quad \text{si } FT < Th_2, \text{Corr} = 0 \\ \text{Ec. 15C} & \quad \text{si } FT < Th_2, \text{Corr} = 10 \end{aligned}$$

En una realización de ejemplo, el valor de umbral  $Th_1$  puede ser de aproximadamente 0,2 segundos y el valor de umbral  $Th_2$  puede ser de aproximadamente 0,4 segundos. Por ejemplo, cuando la sangre llena el sensor en menos de aproximadamente 0,2 segundos, entonces su comportamiento de llenado puede describirse como cercano al ideal. Los tiempos de llenado de menos de aproximadamente 0,2 segundos generalmente ocurren cuando el hematocrito es lo suficientemente bajo como para que la viscosidad de la muestra tenga un efecto mínimo sobre el comportamiento de llenado de la muestra. Como consecuencia del bajo hematocrito, se cree que la mayor parte de la glucosa se divide en la fase plasmática, donde se puede oxidar rápidamente. En estas condiciones, hay poca necesidad de corregir el resultado de la glucosa para el efecto del tiempo de llenado, por lo que el factor de corrección se puede establecer en cero. Como alternativa, cuando el hematocrito en la muestra es alto, la viscosidad de la muestra puede afectar el tiempo de llenado de la muestra. Como resultado, la muestra puede tardar más de aproximadamente 0,4 segundos en llenar el sensor. Como consecuencia del alto hematocrito, se cree que la mayor parte de la glucosa se divide en los glóbulos rojos y, por lo tanto, se oxida una fracción inferior de la glucosa. En estas condiciones, el resultado de la glucosa puede corregirse en vista del tiempo de llenado. Sin embargo, puede ser importante no sobre corregir el valor de glucosa, y así, en una realización de ejemplo, el factor de corrección puede restringirse a un máximo de aproximadamente 10 mg / dl de glucosa en plasma o aproximadamente un 10 % de la señal. Puede usarse una ecuación lineal derivada empíricamente para aumentar gradualmente el término de corrección en el intervalo de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 a medida que el tiempo de llenado aumenta en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,4 segundos.

Una realización de ejemplo de un dispositivo que se puede usar junto con al menos algunos de los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria es un sensor de glucosa. El sensor de glucosa puede incluir una celda electroquímica, tal como la celda ilustrada en las FIGS. 2A y 2B. La celda puede incluir una membrana de tira delgada 201 que tiene superficies superior e inferior 202, 203, y también puede incluir una zona de celda 204 definida entre un electrodo de trabajo 206 dispuesto en la superficie inferior 203 y un electrodo medidor / de referencia 205 dispuesto en la superficie superior 202. El espesor de la membrana puede seleccionarse para lograr un resultado deseado, tal como tener los productos de reacción de un contraelectrodo en un electrodo de trabajo. Por ejemplo, el espesor de la membrana se puede seleccionar de modo que los electrodos estén separados por una distancia  $t$ , que puede ser lo suficientemente próxima como para que los productos de la reacción electroquímica en el contraelectrodo puedan migrar al electrodo de trabajo durante el tiempo de la prueba y el perfil de difusión en estado estable se puede lograr sustancialmente. Típicamente  $t$  puede ser inferior a aproximadamente 500 micrómetros, como alternativa en el intervalo de aproximadamente 10 micrómetros a aproximadamente 400 micrómetros, y más particularmente en el intervalo de aproximadamente 80 micrómetros a aproximadamente 200 micrómetros. En una realización, se puede seleccionar una separación entre los electrodos de manera que los productos de reacción de un contraelectrodo lleguen a un electrodo de trabajo antes del final del ensayo.

Los electrodos también pueden tener una variedad de configuraciones. Por ejemplo, los electrodos pueden ser planos. Además, mientras que en la realización ilustrada los electrodos 205, 206 están enfrentados entre sí y son sustancialmente opuestos, en otras realizaciones los electrodos pueden estar enfrentados entre sí, pueden ser sustancialmente opuestos entre sí, o pueden tener un lado configuración de lado en el que los electrodos están posicionados aproximadamente en el mismo plano. Ejemplos de diferentes configuraciones de electrodos se pueden encontrar al menos en La patente de Estados Unidos n.º 7,431,820 of Hodges, titulada "Electrochemical Cell," y presentada el October 14, 2003. Se puede definir una deposición de muestra o área objetivo 207 en la superficie superior 202 de la membrana 201 y se puede espaciar a una distancia mayor que el espesor de la membrana desde la zona de la celda 204. La membrana 201 puede tener una zona de difusión 208 que puede extenderse entre el área objetivo 207 y la zona celular 204. Un reactivo adecuado puede incluir un mediador redox  $M$ , una enzima  $E$  y un tampón de pH  $B$ , cada uno de los cuales puede estar contenido dentro de la zona celular 204 de la membrana y / o entre la zona celular 204 y el área diana 207. El reactivo también puede incluir estabilizadores y similares. En el uso del sensor, se puede colocar una gota de sangre en la zona objetivo 207, y los componentes sanguíneos pueden absorberse hacia la zona celular 204.

Cada uno de los electrodos 205, 206 puede tener un área predefinida. En las realizaciones de las Figs. 2A y 2B, la zona de celda 204 puede definirse por los bordes 209, 210, 211 de la membrana, que pueden corresponder con los bordes de los electrodos 205, 206 y por los bordes (con respecto a la zona objetivo 207) 212, 213 de los electrodos. En el presente ejemplo, los electrodos pueden tener un grosor de aproximadamente 600 angstrom y pueden tener de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mm de ancho, aunque pueden usarse una variedad de otras dimensiones y parámetros. Como alternativa, ambos lados de la membrana pueden cubrirse con la excepción del área diana 207 laminando las capas 214 (omitidas desde las vistas en planta) que pueden servir para evitar la evaporación de agua de la muestra y para proporcionar robustez mecánica al aparato. Se cree que la evaporación del agua no es deseable ya que concentra la muestra, permite que los electrodos se sequen y permite que la solución se enfríe, afectando el coeficiente de difusión y ralentizando la cinética de la enzima, aunque el coeficiente de difusión puede estimarse como se indicó anteriormente.

En una realización alternativa, ilustrada en la figura 3, se proporciona una celda electroquímica hueca para usar con los sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. Los electrodos 305, 306 pueden estar soportados por paredes de polímero separadas 330 para definir una celda hueca. Se puede proporcionar una abertura 331 en un lado de la celda por lo que se puede admitir una muestra en la cavidad 332, En esta realización, no se usa una membrana, aunque en algunas realizaciones se puede incluir una membrana. Los electrodos pueden tener una variedad de configuraciones, al menos como se discutió anteriormente. A modo de ejemplo no limitativo, los electrodos se pueden espaciar en menos de aproximadamente 500 micrómetros, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 10 o aproximadamente 20 micrómetros a aproximadamente 400 micrómetros, y más preferentemente en un intervalo de aproximadamente 80 micrómetros a aproximadamente 200, micrómetros. El volumen efectivo de la célula puede ser de aproximadamente 1,5 microlitros o menos.

Las celdas electroquímicas de las Figs. 2A, 2B y 3 se pueden usar junto con los medidores, unidades de control y otros componentes y pasos de los dispositivos, sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. Otras divulgaciones relacionadas con las celdas electroquímicas de las Figs. 2A, 2B y 3 se encuentran en La patente de Estados Unidos n.º 6,284,125 of Hodges et al., titulada "Electrochemical cell" y presentada el 17 de abril de 1998. Por ejemplo, las celdas electroquímicas usadas junto con las presentes divulgaciones pueden tener dos pares de electrodos. Los pares de electrodos pueden incluir cualquier combinación de trabajo, medidor, medidor / referencia y electrodos de referencia separados.

Otra realización de ejemplo de un dispositivo que se puede usar junto con al menos algunos de los sistemas y procedimientos descritos en la presente memoria es el sensor descrito a continuación e ilustrado en las FIGS. 4A a 5D. El sensor puede estar en forma de una forma de una tira reactiva 62 que incluye un cuerpo alargado 59 que se extiende a lo largo de un eje longitudinal L desde un extremo proximal 80 hasta un extremo distal 82 y que tiene bordes laterales 56, 58, El cuerpo 59 puede incluir una cámara de reacción de muestra proximal 61 que contiene los electrodos 164, 166 y un reactivo 72. El cuerpo de tira reactiva 59 puede incluir además contactos eléctricos situados distalmente 63, 67 para comunicarse eléctricamente con un medidor de prueba (no ilustrado).

En un aspecto, la tira reactiva 62 está formada por múltiples capas que incluyen una primera capa conductora de la electricidad 66, un espaciador 60, una segunda capa eléctricamente conductora 64, La primera capa eléctricamente conductora 66 y / o la segunda capa eléctricamente conductora 64 se pueden formar a partir de una variedad de materiales conductores que, en una realización, se colocan en una lámina aislante (no mostrada). La capa separadora 60 puede formarse a partir de una variedad de materiales eléctricamente aislantes y puede incluir, o formarse a partir de, un adhesivo. Un experto en la técnica apreciará que, si bien se ilustra una tira reactiva de tres capas, se podrían usar capas aislantes o conductoras de electricidad adicionales para formar el cuerpo de tira reactiva 59,

Como se ilustra en las Figs. 4A a 4C, la cámara de reacción de muestra proximal 61 puede definirse por la primera capa eléctricamente conductora 66, la segunda capa eléctricamente conductora 64 y la capa separadora 60, Como se analiza con más detalle a continuación, la cámara de reacción 61 también puede incluir un reactivo 72 y un primer y segundo electrodos 166, 164, Por ejemplo, un área de corte 68 en el espaciador 60 puede exponer una porción de la segunda capa eléctricamente conductora 64 y la primera capa eléctricamente conductora 66, y de ese modo define el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, respectivamente. El reactivo 72 puede estar en forma de una capa colocada en el primer electrodo 166,

En una realización, la cámara de reacción 61 está adaptada para analizar muestras de pequeño volumen. Por ejemplo, la cámara de reacción de muestra 61 puede tener un volumen que varía de aproximadamente 0,1 microlitros a aproximadamente 5 microlitros, preferentemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 3 microlitros, y más preferentemente de aproximadamente 0,3 microlitros a aproximadamente 1 microlitro. Para acomodar un pequeño volumen de muestra, los electrodos están preferentemente muy próximos. Por ejemplo, cuando el espaciador 60 define la distancia entre el primer electrodo 166 y el segundo electrodo 164, la altura del espaciador 60 puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 micra a aproximadamente 500 micras, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 10 micras y aproximadamente 400 micras, y más preferentemente en el intervalo de aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 200 micrómetros.

Para ayudar adicionalmente con la reducción en el volumen de la cámara de reacción 61, se puede ajustar la dimensión longitudinal y / o lateral del área de corte 68 y / o el cuerpo 59. Por ejemplo, el cuerpo de tira reactiva 59 puede incluir porciones recortadas 51, 52 de manera que el ancho lateral de la cámara de reacción 61 es más pequeño que el ancho completo (el ancho más ancho) del cuerpo de tira reactiva 59. Las partes recortadas 51, 52 también pueden facilitar el suministro de una muestra a la cámara de reacción 61. Por ejemplo, la parte recortada 51, 52 puede tener una forma correspondiente a una parte de un dedo de un usuario. Cuando un usuario expresa una gota de sangre con un dedo, las porciones recortadas 51, 52 pueden ayudar al usuario a alinear una muestra colocada en su dedo con un puerto de recepción de muestra (por ejemplo, aberturas 70) en el borde lateral 56, 58 de cuerpo 59. Un experto en la técnica apreciará que, si bien se ilustran dos partes recortadas, el cuerpo de tira reactiva 59 podría incluir solo una única porción recortada o ninguna parte recortada.

Como se indicó anteriormente, la porción proximal del cuerpo de tira reactiva 59 puede incluir al menos un orificio de suministro de muestra para el suministro de una muestra a la cámara de reacción 61. Por ejemplo, el área de recorte 68 puede extenderse transversalmente a los bordes laterales 56, 58 del cuerpo de tira reactiva 59 para proporcionar dos aberturas 70 para el suministro de fluido fisiológico a la cámara de reacción de muestra 61. Cuando están presentes dos aberturas 70, una puede actuar como un puerto de recepción de muestras para el suministro de una muestra de fluido, mientras que la otra puede actuar como una ventilación. Un experto en la técnica apreciará que la muestra puede administrarse a la cámara de reacción de muestra 61 usando estructuras alternativas que incluyen puertos de recepción de muestra y / o respiraderos colocados en diferentes ubicaciones en el cuerpo de tira reactiva 59, tales como, por ejemplo, puertos de recepción de muestra y / o ventilaciones situadas en la primera y / o segunda capas eléctricamente conductoras 66, 64,

En una realización, la tira reactiva 62 está adaptada para extraer la muestra en la cámara de reacción 61 mediante acción capilar. Por ejemplo, las dimensiones y características de superficie de la cámara de reacción 61 y las aberturas 70 pueden adaptarse para producir una fuerza capilar cuando una muestra líquida (por ejemplo, sangre entera) se pone en contacto con una de las aberturas 70. Un experto en la técnica apreciará que la cámara de reacción 61 puede incluir estructuras adicionales para ayudar con / crear fuerzas capilares tales como, por ejemplo, perlas, una membrana porosa y / u otros rellenos.

Como se mencionó anteriormente, un reactivo, tal como el reactivo 72, se puede disponer dentro de la cámara de reacción 61. La composición del reactivo 72 puede variar dependiendo del analito deseado y la forma esperada de la muestra. En un aspecto, el reactivo 72 incluye al menos un mediador y una enzima y se deposita en el primer electrodo 166. Por ejemplo, los mediadores adecuados incluyen derivados de ferrocianuro, ferroceno, ferroceno, complejos de osmio bipyridilo, hexamina de rutenio (III) y derivados de quinona. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa (GDH) basada en pirroloquinolina quinona (PQQ) cofactor, GDH basada en nicotinamida adenina dinucleótido cofactor y flavina-adenina dinucleótido (FAD) basado en GDH (FAD-GDH). Una formulación de reactivo de ejemplo, que sería adecuada para preparar la capa de reactivo 72, se describe en Solicitud de Estados Unidos n.º 10/242,951 pendiente de tramitación, titulada, "Method of Manufacturing a Sterilized and Calibrated Biosensor-Based Medical Device, publicada como Solicitud de patente de Estados Unidos publicada n.º 2004/0120848,

Distal a la cámara de muestra proximal 61, el cuerpo 59 puede incluir pistas de conexión que conectan eléctricamente el primer y segundo electrodos 166, 164 con contactos eléctricos distales 63, 67. En un aspecto, la primera capa 66 eléctricamente conductora incluye una primera pista 76 de conexión que conecta eléctricamente el primer electrodo 166 con un primer contacto eléctrico 67. De forma similar, la segunda capa eléctricamente conductora 64 puede incluir una segunda pista de conexión 78 que conecta el segundo electrodo 164 con un segundo contacto eléctrico 63 (figura 5A).

La primera y la segunda capas eléctricamente conductoras también pueden definir contactos eléctricos primero y segundo 67, 63 que facilitan el contacto eléctrico de la tira reactiva 62 con un medidor de prueba. En una realización, una porción de la primera capa 66 eléctricamente conductora se extiende distalmente desde el extremo distal de la capa 60 espaciadora y la segunda capa 64 eléctricamente conductora para definir el primer contacto eléctrico 67. El segundo contacto eléctrico puede definirse mediante una muesca 65 en forma de U en la primera capa 66 eléctricamente conductora que expone una porción de la segunda capa 64 eléctricamente conductora. Los solicitantes observan que la tira reactiva 62 puede incluir una variedad de configuraciones alternativas de contacto eléctrico para conectar eléctricamente a un medidor de prueba. Por ejemplo, Patente de Estados Unidos n.º 6,379,513 describe estructuras de conexión de células electroquímicas. Los sensores de las Figs. 4A a 5D se puede usar junto con los medidores, unidades de control y otros componentes y etapas de los dispositivos, sistemas y procedimientos descritos en el presente documento. Otras divulgaciones relacionadas con las celdas electroquímicas de las Figs. 4A a 5D se encuentran en La solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 11/278,341 of Chatelier et al., titulado "Procedimientos y aparatos para analizar una muestra en presencia de interferentes", y presentado el 31 de marzo. Otra realización a modo de ejemplo de un dispositivo de análisis de muestras para uso junto con al menos algunos de los procedimientos descritos en la presente memoria, un inmunosensor 110, se ilustra en la figura 6 y se describe en La solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 12/570,268 de Chatelier et al., titulada "Adhesive Compositions for Use in an Immunosensor" y presentada el 30 de septiembre de 2009. Se puede formar una pluralidad de cámaras dentro del inmunosensor, que incluyen una cámara

de llenado, mediante la cual se puede introducir una muestra en el inmunosensor, una cámara de reacción, mediante la cual se puede hacer reaccionar una muestra con uno o más materiales deseados, y una cámara de detección. mediante el cual se puede determinar la concentración de un componente particular de la muestra. Estas cámaras pueden formarse en al menos una parte de un electrodo inferior, un electrodo superior y un separador del inmunosensor. El inmunosensor también puede incluir un orificio de ventilación para permitir que entre aire y escape del inmunosensor según se desee, y un primer y segundo componentes de sellado para sellar selectivamente el primer y el segundo lado del orificio de ventilación. El primer componente de sellado también puede formar una pared de la cámara de llenado.

Como se ilustra, el inmunosensor 110 incluye un electrodo inferior 112 que tiene dos reactivos líquidos 130, 132 rayados sobre él. El electrodo inferior 112 se puede formar usando cualquier número de técnicas usadas para formar electrodos, pero en una realización una lámina de polietileno tereftalato (PET) que se llena con sulfato de bario se recubre por pulverización con oro. Otro ejemplo no limitante de formar un electrodo se describe en La patente de Estados Unidos n.º 6.521.110 de Hodges et al., titulado "Electrochemical Cell" y archivado el 10 de noviembre de 2000. Asimismo, los reactivos líquidos 130, 132 pueden tener varias composiciones diferentes. En una realización, el primer reactivo líquido 130 incluye un anticuerpo conjugado a una enzima, tal como GDH-PQQ, en un tampón que contiene sacarosa, así como un poloxámero, tal como copolímeros de bloque Pluronic®, un anticoagulante, como citraconato, y iones de calcio. En una realización, el segundo reactivo líquido 132 incluye una mezcla de ferricianuro, glucosa y un segundo mediador, tal como fenazina etosulfato, en un tampón ácido, tal como una solución diluida de ácido citracónico. El primer y segundo reactivos líquidos 130, 132 pueden secarse sobre el electrodo inferior 112. Se pueden usar varias técnicas para secar los reactivos 130, 132, pero en una realización, después de la formación de rayas de los reactivos 130, 132 en el electrodo inferior 112, se pueden aplicar uno o más secadores de infrarrojos a los reactivos 130, 132. También se pueden usar uno o más secadores de aire, por ejemplo, después de los secadores de infrarrojos. Las referencias a un primer reactivo y a un primer reactivo líquido y a un segundo reactivo y a un segundo reactivo líquido se usan indistintamente y no son necesariamente una indicación de que los reactivos están en su forma líquida o seca en un momento dado para una realización particular. Además, algunos de los componentes asociados con los reactivos líquidos primero y segundo se pueden usar de forma intercambiable y / o tanto en el primer como en el segundo reactivos líquidos según se desee. A modo de ejemplo no limitativo, un anticoagulante puede asociarse con uno o ambos del primer reactivo líquido 130 y el segundo reactivo líquido 132,

Se puede formar una línea en el oro recubierto por pulverización catódica entre los reactivos 130, 132 de manera que un borde del reactivo 132 esté muy cerca de, o toque, la línea. La línea se puede aplicar mediante ablación con láser o con un borde metálico afilado. En una realización de ejemplo, la línea se puede aplicar antes de que los reactivos 130, 132 estén rayados en el electrodo. La línea puede diseñarse para aislar eléctricamente la sección del electrodo inferior 112 debajo de la cámara de detección de la sección que estará debajo de la cámara de reacción. Esto puede proporcionar una mejor definición de un área del electrodo de trabajo durante el ensayo electroquímico.

El inmunosensor 110 también puede incluir un electrodo superior 114 que tiene una o más perlas magnéticas 134 que contienen antígenos unidos a la superficie. Los antígenos pueden configurarse para reaccionar con el anticuerpo dispuesto en el electrodo inferior 112 y la muestra dentro de una cámara de reacción 118, como se describe con más detalle a continuación. Los solicitantes observan que los componentes dispuestos en el electrodo inferior 112 y en el electrodo superior 114 pueden ser intercambiables. Por lo tanto, el electrodo inferior 112 puede incluir una o más perlas magnéticas 134 y el electrodo superior 114 puede incluir dos reactivos líquidos 130, 132 rayados sobre él. Además, aunque en la realización ilustrada, la longitud del electrodo 112 forma la longitud del cuerpo entero del inmunosensor 110, en otras realizaciones el electrodo puede ser solo una porción de una capa de un inmunosensor que sirve como el electrodo inferior o superior o múltiples electrodos pueden ser eliminados en una sola capa de un inmunosensor. Además, debido a que la tensión aplicada al inmunosensor puede voltearse y / o alternarse, cada uno de los electrodos inferior y superior puede servir como el electrodo de trabajo y el medidor o contraelectrodo / electrodo de referencia en diferentes etapas. Para facilitar la descripción, en la presente solicitud el electrodo inferior se considera electrodo de trabajo y el electrodo superior es el medidor o contraelectrodo / electrodo de referencia.

Un separador 116 dispuesto entre los electrodos inferior y superior 112, 114 puede tener una variedad de formas y tamaños, pero generalmente está configurado para acoplarse deseablemente a los electrodos inferior y superior 112, 114 para formar el inmunosensor 110. En una realización de ejemplo, el separador 116 incluye adhesivo en ambos lados. El separador 116 puede incluir además un forro de liberación a cada lado de los dos lados del separador 116. El separador 116 puede cortarse de una manera que forme al menos dos cavidades. Se puede formar una primera cavidad para servir como una cámara de reacción 118 y se puede formar una segunda cavidad para servir como una cámara de detección 120. En una realización, el separador 116 puede cortarse con un beso tal que la cámara de reacción 118 se alinea con los electrodos 112, 114 para permitir una reacción antígeno-anticuerpo en el mismo mientras la cámara de detección 120 se alinea con los electrodos 112, 114 para permitir la determinación electroquímica de ferrocianuro en el mismo.

En una realización, el separador 116 puede colocarse en el electrodo inferior 112 de una manera que permita que las perlas magnéticas 134 del electrodo superior 114 y el primer reactivo 130 del electrodo inferior 112 estén dispuestos al menos parcialmente en la cámara de reacción 118, y la combinación de ferrocianuro y glucosa del segundo reactivo 132 del electrodo inferior 112 está dispuesta al menos parcialmente en la cámara de detección 120. Puede ser ventajoso incluir un anticoagulante en cada uno de los primer y segundo reactivos líquidos 130, 132, de modo que se asocia un anticoagulante con cada una de las cámaras de reacción y detección 118, 120. En algunas realizaciones, la combinación de uno de los electrodos superior e inferior 112, 114 y el separador 116 puede laminarse entre sí para formar un bilaminado, mientras que en otras realizaciones la combinación de cada uno del electrodo inferior 112, el electrodo superior 114, y el separador 116 se puede laminar juntos para formar un laminado triple. Como alternativa, también se pueden agregar capas adicionales.

Se puede formar una cámara de llenado 122 perforando un orificio en uno de los electrodos inferior y superior 112, 114 y el separador 116. En la realización ilustrada, la cámara de llenado se forma perforando un orificio en el electrodo inferior 112 y el separador 116 de manera que el orificio en el electrodo inferior 112 solape con la cámara de reacción 118. Como se muestra, la cámara de llenado 122 puede estar a una distancia de la cámara de detección 120. Tal configuración permite que una muestra entre al inmunosensor 110 a través de la cámara de llenado 122 y fluya hacia la cámara de reacción 118 para reaccionar, por ejemplo con el primer reactivo líquido 130 que incluye el anticuerpo conjugado a una enzima en un tampón en el primer electrodo 112 y las perlas magnéticas 134 rayadas en el electrodo superior 114, sin entrar en la cámara de detección 120. Una vez que la muestra ha reaccionado, puede fluir a la cámara de detección 120 para la interacción con el segundo reactivo líquido 132, por ejemplo la mezcla de ferricianuro, glucosa y el segundo mediador en un tampón ácido.

Se puede formar un respiradero 124 perforando un orificio a través de cada uno de los dos electrodos 112, 114 y el separador 116 de manera que el orificio de ventilación 124 se extienda a través de la totalidad del inmunosensor 110. El orificio puede formarse de una manera adecuada, tal como, por ejemplo, taladrada o perforada en varias ubicaciones diferentes, pero en una realización de ejemplo puede solaparse con una región de la cámara de detección 120 que está separada de la cámara de reacción 118.

La ventilación 124 se puede sellar de varias maneras diferentes. En la realización ilustrada, un primer componente de sellado 140 está ubicado en el electrodo inferior 112 para sellar un primer lado del orificio de ventilación 124 y un segundo componente de obturación 142 está ubicado en el electrodo superior 114 para sellar un segundo lado del orificio de ventilación 124. Los componentes de sellado pueden estar hechos y / o incluir cualquier cantidad de materiales. A modo de ejemplo no limitativo, cualquiera de los componentes de sellado o ambos pueden ser cinta adhesiva hidrófila o cinta Scotch®. Los lados adhesivos de los componentes de sellado pueden mirar hacia el inmunosensor 110. Como se muestra, no solo el primer componente de sellado 140 puede formar un sello para el orificio de ventilación 124, sino que también puede formar una pared para la cámara de llenado 122 de manera que la muestra puede estar contenida en el mismo. Las propiedades incorporadas en el lado adhesivo del primer componente de sellado 140 pueden asociarse con la cámara de llenado 122. Por ejemplo, si el primer componente de sellado 140 incluye propiedades que lo hacen hidrófilo y / o soluble en agua, la cámara de llenado puede permanecer bien húmeda cuando se dispone una muestra en la misma. Además, los componentes de sellado 140, 142 pueden asociarse selectivamente y disociarse con el inmunosensor 110 para proporcionar ventilación y / o sellado para el inmunosensor 110 y los componentes dispuestos en el mismo según se desee.

Los adhesivos generalmente se pueden usar en la construcción del inmunosensor. Ejemplos no limitantes de formas en las que pueden incorporarse adhesivos en inmunosensores y otros dispositivos de análisis de muestrass de la presente divulgación se pueden encontrar en La solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 12/570,268 of Chatelier et al., titulada "Adhesive Compositions for Use in an Immunosensor" y presentada el September 30, 2009,

Si bien la presente divulgación discute una variedad de diferentes realizaciones relacionadas con inmunosensores, también se pueden usar otras realizaciones de inmunosensores con los procedimientos de la presente divulgación. Ejemplos no limitativos de dichas realizaciones incluyen los descritos en La solicitud de patente de Estados Unidos Publication No. 2003/0180814 of Hodges et al., titulada "Direct Immunosensor Assay" y presentada el March 21, 2002, La solicitud de patente de Estados Unidos Publication No. 2004/0203137 of Hodges et al., titulada "Immunosensor" y presentada el April 22, 2004, La solicitud de patente de Estados Unidos Publication No. 2006/0134713 of Rylatt et al., titulada "Biosensor Apparatus and Methods of Use" y presentada el November 21, 2005y La solicitud de patente de Estados Unidos N.º de serie 12/563,091, que reclama prioridad para cada uno de La solicitud de patente de Estados Unidos Publication Nos. 2003/0180814 y 2004/0203137,

En una realización, el inmunosensor 110 puede configurarse para colocarse en un medidor que está configurado para aplicar un potencial a los electrodos 112, 114 y medir una corriente que resulta de la aplicación del potencial. En una realización, el inmunosensor incluye una o más lengüetas 117 para acoplar un medidor. También se pueden usar otras características para activar el inmunosensor 110 con un medidor. El medidor puede incluir una serie de características diferentes. Por ejemplo, el medidor puede incluir un imán que está configurado para mantener ciertos componentes del inmunosensor 110 en una cámara mientras que otros componentes fluyen hacia la otra. En una realización de ejemplo, el imán del medidor está ubicado de manera que, al colocar el inmunosensor

110 en el medidor, el imán está dispuesto debajo de la cámara de reacción 118, Esto puede permitir que el imán ayude a retener cualquier perla magnética 134, y más particularmente cualquier conjugado de anticuerpo-enzima que está unido a las perlas 134, para que fluya hacia la cámara de detección 120,

5 Una característica alternativa del medidor incluye un elemento de calentamiento. Un elemento de calentamiento puede ayudar a acelerar la velocidad de reacción y ayudar a que la muestra fluya a través del inmunosensor 110 de una manera deseada reduciendo la viscosidad. Un elemento de calentamiento también puede permitir que una o más cámaras y / o una muestra dispuesta en ellas se calienten a una temperatura predeterminada. Calentar a una temperatura predeterminada puede ayudar a proporcionar precisión, por ejemplo, disminuyendo o eliminando los efectos del cambio de temperatura a medida que ocurren las reacciones.

10 Además, un instrumento de perforación también se puede asociar con el medidor. El instrumento de perforación puede configurarse para perforar al menos uno de los componentes de sellado primero y segundo en un momento deseado de manera que el aire pueda fluir fuera del orificio de ventilación y el líquido pueda fluir desde la cámara de reacción a la cámara de detección.

15 El inmunosensor 110 también se puede configurar para asociarse con una unidad de control. La unidad de control se puede configurar para realizar una variedad de funciones. En una realización de ejemplo, la unidad de control puede medir un tiempo de llenado de una muestra cuando se introduce en el dispositivo. En otra realización, la unidad de control puede configurarse para determinar un valor de hematocrito de una muestra de sangre. En otra realización más, la unidad de control está configurada para calcular una concentración de un analito en la muestra a la vista del tiempo de llenado. De hecho, la unidad de control puede incluir una serie de características diferentes, que dependen, al menos en parte, de la funcionalidad deseada y del procedimiento por el cual el sistema está diseñado para medir el tiempo de llenado.

20 La unidad de control también puede medir otros aspectos del sistema. A modo de ejemplo no limitativo, la unidad de control puede configurarse para medir una temperatura de una o más cámaras del inmunosensor. También se puede configurar para medir la temperatura de la muestra, el color de la muestra o una variedad de otras características y / o propiedades de la muestra y / o del sistema. A modo de otro ejemplo no limitativo, la unidad de control puede configurarse para comunicar los resultados de la determinación del tiempo de llenado, los resultados de la determinación de la concentración del analito y / o la medición del hematocrito al equipo externo. Esto se puede lograr de muchas maneras. En una realización, la unidad de control puede estar cableada a un microprocesador y / o un dispositivo de visualización. En otra realización, la unidad de control puede configurarse para transmitir datos de forma inalámbrica desde la unidad de control a un microprocesador y / o un dispositivo de visualización.

25 Otros componentes del sistema también se pueden configurar para realizar tales mediciones. Por ejemplo, el inmunosensor o el medidor pueden configurarse para medir la temperatura de una o más cámaras del inmunosensor, medir o inferir la temperatura de una muestra, o medir, determinar o inferir una variedad de otras características y / o propiedades de la muestra y / o el sistema. Además, los solicitantes observan que estas características de una unidad de control pueden intercambiarse y combinarse selectivamente en una única unidad de control. Por ejemplo, una unidad de control puede determinar un tiempo de llenado y medir la temperatura de una cámara. En otras realizaciones, las unidades de control múltiples se pueden usar juntas para realizar diversas funciones, basadas al menos en parte en las configuraciones de las diversas unidades de control y las funciones deseadas a realizar.

#### EJEMPLO 1

30 El uso de un sistema electroquímico para medir el tiempo de llenado se demuestra con el siguiente ejemplo. En el siguiente ejemplo, el sistema incluye un sensor con dos electrodos opuestos, con reactivos diseñados para reaccionar con la muestra seca en un electrodo. Se proporcionó una pluralidad de muestras para análisis para probar el rendimiento de los sistemas, dispositivos y procedimientos descritos en el presente documento. Las muestras eran muestras de sangre que contenían tres niveles diferentes de hematocrito, que se conocían, por lo que las comparaciones de los resultados de la prueba se podían comparar con los resultados reales para determinar la precisión de los sistemas, dispositivos y procedimientos. Los cuatro niveles de hematocrito fueron aproximadamente del 20 %, 60 % y 75 %. El análisis de tres niveles de hematocrito permitió confirmar la precisión de los sistemas, dispositivos y procedimientos divulgados en un amplio espectro de niveles de concentración.

35 En este ejemplo, el electrodo cubierto con el reactivo seco es el segundo electrodo. El primer y segundo electrodos cubren toda el área de la cámara a llenar con muestra líquida. Las muestras se introdujeron en el sensor. Si bien la introducción de muestras en el sensor podría haberse logrado de varias maneras, en este ejemplo, cada muestra fue admitida individualmente por medio de acción capilar en la cámara de llenado. Tan pronto como la sangre comenzó a entrar en la cámara de detección, se aplicó un potencial de 300 mV a los electrodos a través del medidor durante aproximadamente cuatro segundos. Como alternativa, el voltaje podría haberse aplicado antes o mientras la sangre llegaba a la cámara de detección. Un gráfico del transitorio de la corriente frente al tiempo resultante de este ejemplo se ilustra en la figura 7, Como se muestra en la figura 7, la línea que muestra el transitorio

de tiempo-corriente obtenido con sangre de hematocrito al 75 % es relativamente plana desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5 segundos ya que el proceso de llenado aumenta el área del primer electrodo (que tendería a aumentar la corriente) y al mismo hay tiempo de agotamiento electroquímico de especies electroactivas en el primer electrodo (lo que tendería a disminuir la corriente). Estos dos procesos coinciden aproximadamente mientras el sensor se llena de sangre. Una vez que se completa el llenado (aproximadamente a los 0,5 s), el primer proceso finaliza y el segundo proceso domina para que la corriente disminuya abruptamente. La última vez que la corriente disminuye bruscamente se toma como el tiempo de llenado. Los resultados para 20 % y 60 % de hematocrito de sangre mostraron resultados similares, con una de caída de la corriente de aproximadamente 0,3 s para 60 % de sangre de hematocrito y aproximadamente 0,1 s para 20 % de sangre de hematocrito. Los resultados de este experimento demostraron la viabilidad de usar una medida de corriente para determinar el porcentaje de hematocrito de la sangre.

EJEMPLO 2

Se construyó un segundo tipo de sensor que incluía dos electrodos opuestos con reactivos diseñados para reaccionar con la muestra secada en un electrodo. Sin embargo, en este ejemplo, el electrodo con el reactivo seco era el primer electrodo y estaba configurado de modo que no cubría toda el área de la cámara llena de líquido mientras que el segundo electrodo estaba configurado de modo que cubría un área más amplia de la cámara llena de líquido y se puso en contacto con líquido antes de que el primer electrodo entrara en contacto con líquido. Cuando este sensor se usó para analizar una pluralidad de muestras de sangre ajustadas a diversos hematocritos, se obtuvo el patrón de corrientes que se muestra en la Figura 8. En este ejemplo, los cuatro niveles de hematocrito fueron aproximadamente 30 %, 44 % y 62 %. Como se muestra en la figura 8, la parte inicial de cada trazo corresponde al período durante el cual el proceso de llenado aumenta el área del electrodo de trabajo y, por lo tanto, aumenta la corriente. Cuando se completa el proceso de llenado, el agotamiento electroquímico de especies electroactivas tiende a disminuir la corriente en el momento indicado por las flechas en la figura. Una vez más, el tiempo en el que la corriente disminuye bruscamente se toma como el tiempo de llenado. La diferente configuración de los sensores conduce a una dependencia diferente del tiempo de llenado en el hematocrito.

EJEMPLO 3

El uso de tiempos de prepulso variables en un sistema electroquímico se demuestra mediante el siguiente ejemplo. Se construyó un medidor de potencióstato que era capaz de utilizar la información del tiempo de llenado para variar el tiempo de prepulso usando los procedimientos discutidos anteriormente. Se realizó una prueba inicial de los nuevos medidores utilizando sangre capilar heparinizada. Se analizaron el hematocrito natural y la glucosa, y luego se analizaron el plasma y el 77 % de la sangre a los niveles de glucosa naturales o enriquecidos. Las tiras se probaron en los medidores originales (tiempo fijo) y en los medidores que incorporaron el algoritmo de tiempo de prepulso variable descrito anteriormente. Los datos se analizaron usando el algoritmo discutido anteriormente.

La figura 9 muestra que la sangre con hematocrito al 77 % dio sesgos negativos (-19 a -28 %) cuando se probó con los medidores originales (tiempo fijo), pero que todos los puntos estuvieron dentro del 15 % de la medición de glucosa de referencia cuando se probó con el tiempo de prepulso variable metros. Un ejemplo de un instrumento comercialmente disponible configurado para realizar una medición de glucosa de referencia es un analizador de glucosa Yellow Springs Instrument (YSI). Las estadísticas generales para los dos tipos de medidores se resumen en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Parámetro	Medidores de tiempo fijo	Medidores de tiempo variables
CV medio (%)	3,6	3,0
Sesgo medio	-9,4	-4,4
Sesgo SD global	12,0	5,9
% de sesgos dentro del 15 %	62	100

Como se muestra en la Tabla 1, los de tiempo variables superaron a los medidores de tiempo fijos en términos de precisión y precisión.

EJEMPLO 4

El uso de un sistema electroquímico para determinar el hematocrito sobre la base del tiempo de llenado se demuestra con el siguiente ejemplo. En este ejemplo, el sistema incluía un dispositivo de análisis de muestras, en particular el inmunosensor 110 de la figura 6, un medidor configurado para aplicar un potencial, y una unidad de control configurada para determinar la velocidad de llenado inicial. En particular, se aplicó un potencial a los

electrodos del inmunosensor 110, se determinó un nivel de hematocrito y luego se revertió el potencial. La concentración del analito se determinó posteriormente en vista del nivel determinado de hematocrito. El nivel de hematocrito se determinó en vista del tiempo de llenado de la muestra.

5 Se proporcionó una pluralidad de muestras para análisis para probar el rendimiento de los sistemas, dispositivos y procedimientos descritos en el presente documento. Las muestras fueron muestras de sangre que contenían proteínas C-reativas, y así la concentración del analito que se determinó fue la concentración de proteínas C-reativas. Las muestras contenían cuatro niveles diferentes de hematocrito, que se conocían, por lo que las comparaciones de los resultados de la prueba se podían comparar con los resultados reales para determinar la precisión de los sistemas, dispositivos y procedimientos. Los cuatro niveles de hematocrito fueron aproximadamente 15 %, 49 %, 60 % y 72 %. El análisis de cuatro niveles de hematocrito permitió confirmar la precisión de los sistemas, dispositivos y procedimientos descritos en un amplio espectro de niveles de concentración.

15 En este ejemplo, un inmunosensor se precalentó a aproximadamente 37 ° C antes de que se introdujera una muestra. El medidor asociado con el inmunosensor se configuró para realizar el precalentamiento, aunque se podrían haber usado otras alternativas. Las muestras se introdujeron luego en el inmunosensor. Si bien la introducción de muestras en el inmunosensor podría haberse llevado a cabo de varias maneras, en el ejemplo, cada muestra fue admitida individualmente por medio de acción capilar en la cámara de llenado.

20 Después de que habían transcurrido aproximadamente dos minutos, se accedió a la ventilación del inmunosensor perforando el primer componente de sellado. Se utilizó un instrumento perforador del medidor para realizar la acción de perforación, que a su vez permitió que la sangre fluyera desde la cámara de reacción del inmunosensor a la cámara de detección del inmunosensor. A medida que la sangre ingresaba a la cámara de detección, se aplicaba un potencial de 300 mV a los electrodos a través del medidor. Como en los ejemplos discutidos anteriormente, el transitorio de corriente en función del tiempo se usó para determinar el tiempo de llenado de la muestra de acuerdo con los procedimientos discutidos anteriormente. Un gráfico del tiempo de llenado frente al porcentaje de hematocrito de este ejemplo se ilustra en la figura 10. En algunas realizaciones, la estimación del hematocrito de acuerdo con los procedimientos descritos en el presente documento puede usarse para expresar la concentración de antígeno con respecto al plasma en lugar de la sangre entera, ya que esto es más aceptable en patología.

35 Como se discutió anteriormente, en algunas realizaciones puede ser deseable medir solo un nivel de hematocrito. Por lo tanto, el primer cálculo basado en la corriente inicial puede ser el único paso necesario para hacer ese cálculo. La determinación real del nivel de hematocrito puede determinarse tan rápido como se puede calcular la corriente inicial. Por lo tanto, a modo de ejemplo no limitativo, si la corriente inicial se calcula en base a un promedio durante los primeros 50 milisegundos, el nivel de hematocrito se puede determinar después de los primeros 50 milisegundos. Por lo tanto, las mediciones de un nivel de hematocrito de una muestra de sangre se pueden realizar en menos de un segundo.

#### 40 EJEMPLO 5

Un ejemplo de algoritmo para corregir una medida del analito basado en el tiempo de llenado de una muestra sin derivación adicional y corrección del hematocrito se demuestra mediante el siguiente ejemplo. En este ejemplo, se probó un sensor que contenía la enzima FAD-GDH, en lugar de GDH-PQQ. Se aplicó una muestra de sangre que contenía glucosa al sensor y la forma de onda potencial mostrada en la figura 11 fue aplicado. Se determinó el tiempo de llenado de la muestra durante la aplicación del primer potencial al sensor (E1, que era aproximadamente +20 mV en este ejemplo) durante aproximadamente 1 segundo. En este ejemplo, el tiempo de llenado se determinó como el período de tiempo desde la primera detección de muestra en el sensor hasta el momento en que se midió el valor máximo de  $i(t) - i(t + dt)$ . El valor máximo de  $i(t) - i(t + dt)$ , es decir, la caída más aguda en la corriente, corresponde al tiempo en el que un volumen suficiente de la muestra ha llenado el sensor para que se realice la medición del analito. El tiempo de llenado no se evaluó durante aproximadamente los primeros 0,15 segundos después de la detección de la muestra, ya que la señal inicial es una combinación de la disminución de corriente rápida debido al consumo de especies antioxidantes cerca del ánodo y el aumento de corriente más lento que acompaña al llenado del sensor. Cuando estas dos velocidades coinciden, se logra una corriente de estado pseudo estacionario y hay poco cambio en la corriente mientras que el resto del sensor se llena de sangre. Por esta razón, el tiempo de llenado más temprano que se muestra en la figura 11 es aproximadamente 0,15 segundos.

60 Después de la aplicación del primer potencial (E1, durante aproximadamente 1 segundo), se aplicó un segundo potencial de prueba E2 de +300 mV durante aproximadamente 3 segundos, después de lo cual se aplicó un tercer potencial de prueba E3 de -300 mV. Valores de  $i_i$  y  $i_r$  se calcularon usando las Ecs. 2b y 3b. Un valor de  $i_i$  se calculó como la suma de las corrientes de 3,9 a 4 segundos del período largo de 5 segundos y un valor de  $i_r$  se calculó como la suma de las corrientes de 4,25 a 5 segundos del período largo de 5 segundos. Luego se calculó una primera concentración de glucosa en la muestra usando Eq. 1, arriba. En este ejemplo, los valores de  $p$ ,  $a$  y  $zgr$  fueron 0,5796, 0,02722 y 1,8, respectivamente.

La primera concentración de glucosa se corrigió a la vista del tiempo de llenado de la muestra de acuerdo con las Ecs. 14A, 14B, 15A, 15B y 15C, arriba, para los cuales los dos valores de umbral de FT, Th<sub>1</sub> y Th<sub>2</sub> fueron 0,2 segundos y 0,4 segundos, respectivamente. Como se discutirá en los siguientes ejemplos, los solicitantes encontraron que los resultados de las mediciones de glucosa se corrigieron en vista del tiempo de llenado de acuerdo con las Ecs. 14A, 14B, 15A, 15B y 15C mejoraron la precisión, lo que resultó en un menor sesgo a partir de los datos de referencia.

#### EJEMPLO 6

La dependencia del sesgo de los valores de referencia de la concentración en el tiempo de llenado de las muestras se demuestra en este ejemplo. Las muestras con un intervalo de hematocrito de aproximadamente 0 a aproximadamente 70 % se probaron usando sensores FAD-GDH de acuerdo con los algoritmos discutidos anteriormente, pero no se corrigieron durante el tiempo de llenado. La figura 12 muestra que la polarización de las muestras a partir de los valores de referencia de la concentración de analito dependía del tiempo de llenado de la muestra. Por ejemplo, como se muestra en la figura 12, la polarización de las muestras fue cada vez más negativa a medida que aumenta el tiempo de llenado. En otras palabras, la precisión de los valores no corregidos de la concentración del analito disminuyó para las muestras con tiempos de llenado más largos. Por lo tanto, existe una dependencia distinta del sesgo en el tiempo de llenado de las muestras.

#### EJEMPLO 7

La mejora resultante de la corrección de la concentración de analito a la vista del tiempo de llenado se demuestra en este ejemplo. La figura 13A muestra el mismo conjunto de datos como se muestra en la figura 12 representados frente al intervalo de hematocrito de las muestras. La figura 13B muestra la mejora obtenida cuando los datos se corrigen en vista del tiempo de llenado de acuerdo con las Ecs. 14A, 14B, 15A, 15B y 15C, arriba. Como se ilustra en las Figuras 13A y 13B, la polarización SD global disminuyó de 6,2 a 5,7 después de que los datos se corrigieron para el tiempo de llenado. Por lo tanto, la corrección del tiempo de llenado de acuerdo con los algoritmos anteriores proporciona una precisión mejorada.

#### EJEMPLO 8

En este ejemplo, se demuestra una mayor precisión mediante la corrección del tiempo de llenado en un entorno clínico. La figura 14 ilustra un gráfico de los datos de sesgo frente a tiempo de llenado para muestras obtenidas de 311 donantes analizados usando sensores FAD-GDH en un entorno clínico de acuerdo con los algoritmos discutidos anteriormente en el Ejemplo 5. Para este conjunto de datos, la corrección del tiempo de llenado proporcionó una disminución en el sesgo SD global de 5,75 a 5,58. La mejora en estos datos clínicos fue solo modesta porque la mayoría de las muestras llenaron el sensor en aproximadamente 0,2 segundos o menos, y no fueron corregidas por el algoritmo del tiempo de llenado.

#### EJEMPLO 9

Los datos en los ejemplos previos se obtuvieron a una densidad de datos de 50 ms (es decir, se almacenó un valor de corriente cada 50 ms). Se puede obtener una mejor resolución en los tiempos de llenado con un almacenamiento de datos más rápido, por ejemplo, una densidad de datos de 10 ms, como se muestra en la figura 15. La figura 15 ilustra los transitorios de corriente obtenidos cuando la sangre con hematocritos en el intervalo de aproximadamente 15 % a aproximadamente 72 % se cargó en los sensores. La figura 16 ilustra datos del tiempo de llenado calculados a partir de los datos de la figura 15. La figura 16 muestra los valores del tiempo de llenado sin procesar como diamantes abiertos, la media de 5 repeticiones como cuadrados rellenos y  $\pm 1$  SD como barras verticales. Como se muestra en la figura 16, los tiempos de llenado oscilaron entre aproximadamente 0,06 segundos y aproximadamente 0,32 segundos, y las muestras de hematocrito se llenaron más lentamente. Cuando los datos presentados en este ejemplo se probaron para la concentración de glucosa, la desviación SD global disminuyó de 5,08 a 4,71 después de que los valores de glucosa se corrigieron para el tiempo de llenado usando los algoritmos discutidos anteriormente en el Ejemplo 5,

Los solicitantes observan que estos nueve ejemplos son meramente nueve de muchos ejemplos de cómo pueden realizarse y usarse las enseñanzas contenidas en el presente documento.

Los solicitantes observan que, en la medida en que varios procedimientos, sistemas y dispositivos se basan en una ecuación particular, las ecuaciones proporcionadas se basan generalmente en los ejemplos a los que se aplicaron las ecuaciones. Un experto en la técnica, en vista de la presente descripción, podrá hacer ajustes a las ecuaciones divulgadas. Además, los procedimientos discutidos en la presente memoria, tales como los relacionados con la determinación de una concentración y el uso de los sistemas y dispositivos, tampoco están limitados por las etapas o el orden particular de las etapas, excepto donde se indique. Un experto en la técnica reconocerá varios órdenes en los que se pueden realizar los procedimientos, y además, reconocerá que las etapas se pueden modificar o agregar sin apartarse del alcance de la invención.

5 Los ejemplos no limitativos de algunos de los otros tipos de dispositivos con los que se pueden usar los  
 procedimientos divulgados en el presente documento se discuten con mayor detalle en La patente de Estados  
 Unidos n.º 5,942,102 of Hodges et al., titulada "Electrochemical Method" y presentada el May 7, 1997, La patente de  
 Estados Unidos n.º 6,174,420 of Hodges et al., titulada "Electrochemical Cell" y presentada el May 18, 1999, La  
 10 patente de Estados Unidos n.º 6,379,513 of Chambers et al., titulada "Sensor Connection Means" y presentada el  
 September 20, 1999, La patente de Estados Unidos n.º 6,475,360 of Hodges et al., titulada "Heated Electrochemical  
 Cell" y presentada el September 11, 2000, La patente de Estados Unidos n.º 6,632,349 of Hodges et al, titulada  
 "Hemoglobin Sensor" y presentada el July 14, 2000, La patente de Estados Unidos n.º 6,638,415 of Hodges et al.,  
 titulada "Antioxidant Sensor" y presentada el July 14, 2000, La patente de Estados Unidos n.º 6,946,067 of Hodges  
 et al., titulada "Method of Forming an Electrical Connection Between an Electrochemical Cell and a Meter" y  
 15 presentada el December 9, 2002, La patente de Estados Unidos n.º 7,043,821 of Hodges, titulada "Method of  
 Preventing Short Sampling of a Capillary or Wicking Fill Device" y presentada el April 3, 2003y La patente de  
 Estados Unidos n.º 7,431,820 of Hodges et al., titulada "Electrochemical Cell" y presentada el October 1, 2002,

15 Además, en la medida en que las divulgaciones en el presente documento se discuten para su uso con un  
 dispositivo que tiene una configuración particular, se puede usar cualquier cantidad de configuraciones. Por ejemplo,  
 algunas configuraciones que se pueden usar con las presentes descripciones incluyen sensores que tienen dos  
 electrodos enfrentados, sensores que tienen dos electrodos en el mismo plano y sensores que tienen tres  
 20 electrodos, dos de los cuales son opuestos y dos están en el mismo avión. Estas configuraciones diferentes pueden  
 ocurrir en cualquier cantidad de dispositivos, incluidos los inmunosensores y otros dispositivos mencionados  
 anteriormente.

**Reivindicaciones**

- 1, Un procedimiento para determinar una concentración de un analito en una muestra de sangre, comprendiendo el procedimiento:
- 5 introducir una muestra de sangre que incluye un analito en una celda electroquímica de un dispositivo de análisis de muestras, teniendo la celda electroquímica un electrodo de trabajo y un contraelectrodo;
- 10 determinar un tiempo de llenado de la muestra de sangre;
- 15 usar el tiempo de llenado de la muestra de sangre para calcular un tiempo de prepulso para proporcionar tiempos de reacción más largos para las muestras de sangre que tardan más tiempo en llenar el sensor, el tiempo de prepulso es un período de tiempo en el que se aplicará un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo;
- 20 aplicar el potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo durante un período de tiempo igual al tiempo de prepulso calculado y medir una corriente resultante en función del tiempo; y
- 25 determinar una primera concentración del analito a partir de los datos de corriente.
- 2, El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la determinación del tiempo de llenado de la muestra de sangre comprende:
- 30 aplicar un potencial eléctrico entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo a medida que se introduce la muestra de sangre;
- 35 medir la corriente de la celda como una función del tiempo; y
- 40 determinar un tiempo de caída de la corriente basado en la corriente de la celda como una función del tiempo, en el que el tiempo de caída de la corriente corresponde al tiempo de llenado de la muestra de sangre.
- 3, El procedimiento de la reivindicación 2, en el que la determinación de un tiempo de caída de la corriente se logra calculando el valor negativo máximo del cambio en la corriente de celda medida a lo largo del tiempo.
- 4, El procedimiento de la reivindicación 2, en el que medir la corriente de la celda como una función del tiempo comprende:
- 45 realizar mediciones de la corriente aproximadamente cada 2 milisegundos; y
- 50 calcular y almacenar una corriente promedio basada en las medidas de la corriente aproximadamente cada 10 milisegundos.
- 5, El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además:
- 55 determinar un nivel de hematocrito en la muestra de sangre en vista del tiempo de llenado de la muestra de sangre.
- 6, El procedimiento de la reivindicación 5, en el que la determinación de una concentración del analito comprende calcular la primera concentración del analito a la vista del nivel determinado de hematocrito.
- 7, El procedimiento de la reivindicación 1 que comprende además:
- 60 calcular una concentración de analito corregida basada en la primera concentración de analito y el tiempo de llenado.
- 8, El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la etapa de calcular la concentración de analito corregida comprende uno de:
- (a) calcular un factor de corrección basado en el tiempo de llenado, en el que la concentración de analito corregida se calcula en base a la primera concentración de analito y al factor de corrección;
- (b) calcular una suma del factor de corrección y la primera concentración de analito en la muestra de sangre cuando la primera concentración de analito en la muestra de sangre es menor que un valor umbral; o

(c) cuando la concentración del primer analito en la muestra de sangre es mayor que un valor umbral: dividir el factor de corrección por cien y agregar uno para dar un término intermedio; y multiplicar el término intermedio por la primera concentración de analito para dar una concentración de analito corregida en el tiempo de llenado.

- 5 9, El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la reacción del analito genera una especie electroactiva que los dos electrodos miden como una corriente.

**FIG. 1**

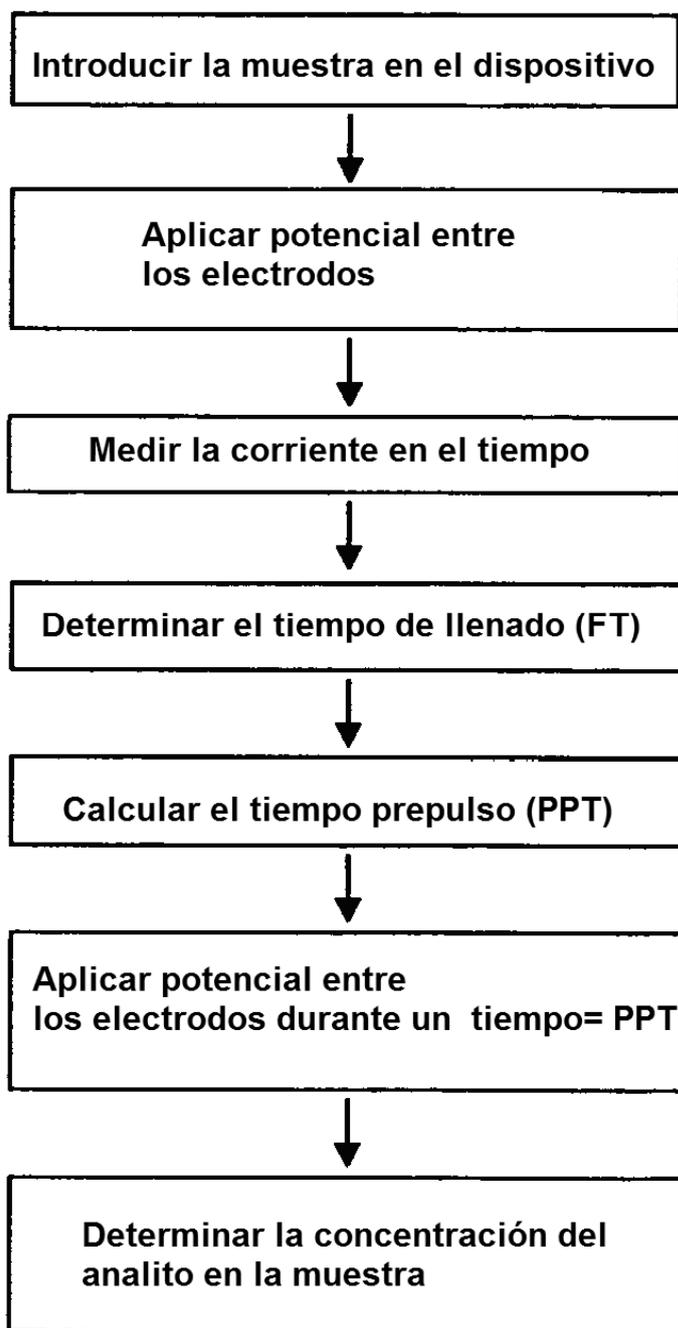


FIG. 2A

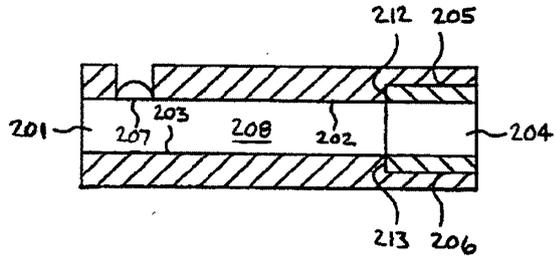


FIG. 2B

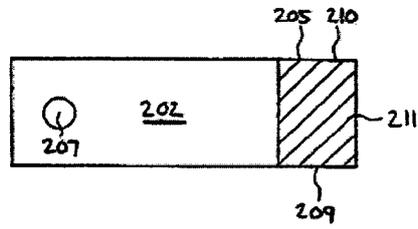
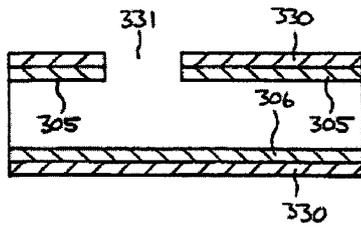


FIG. 3



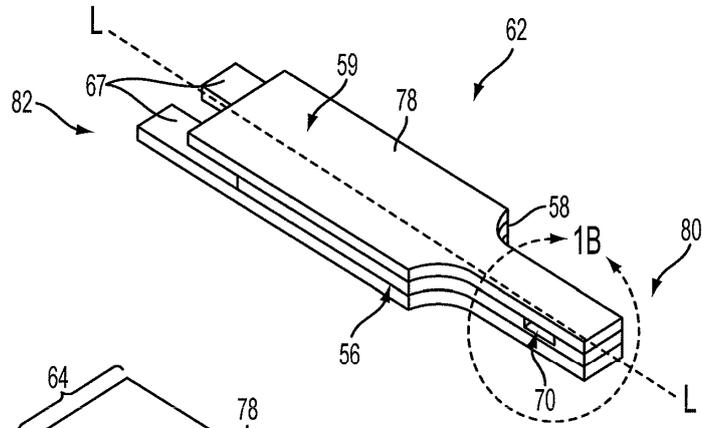


FIG. 4A

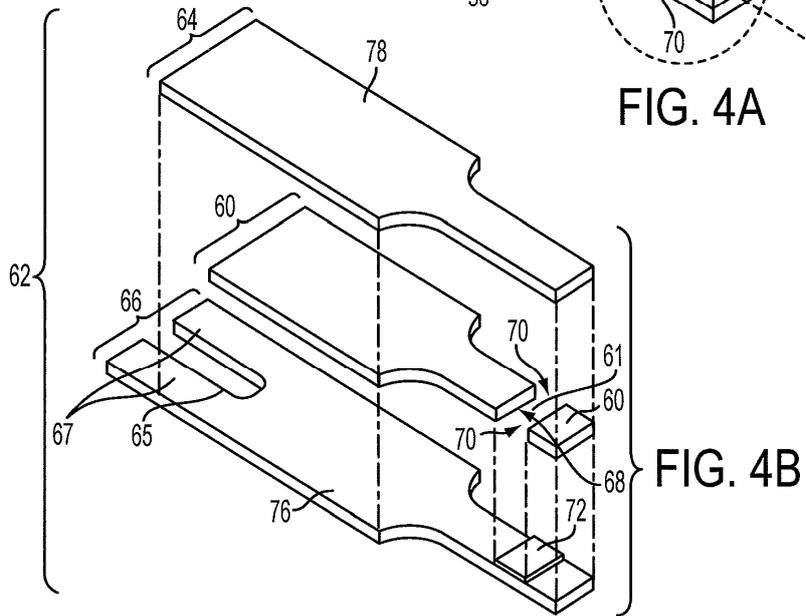


FIG. 4B

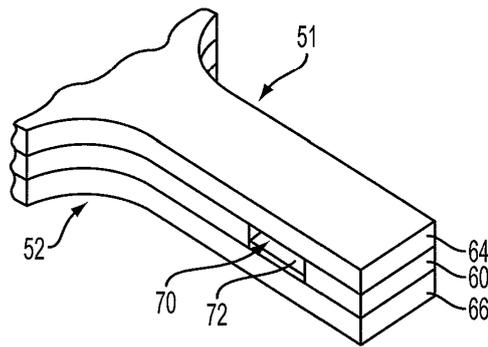


FIG. 4C

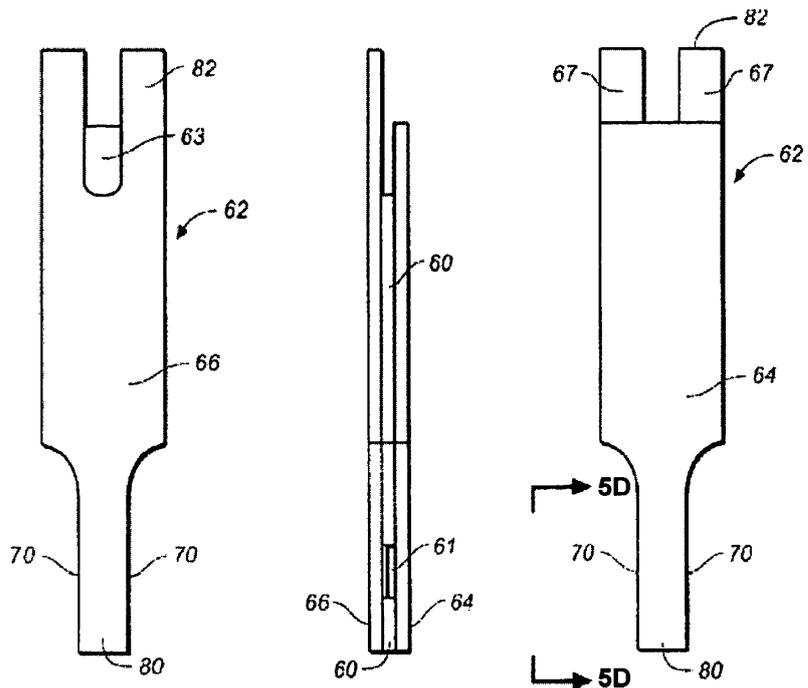
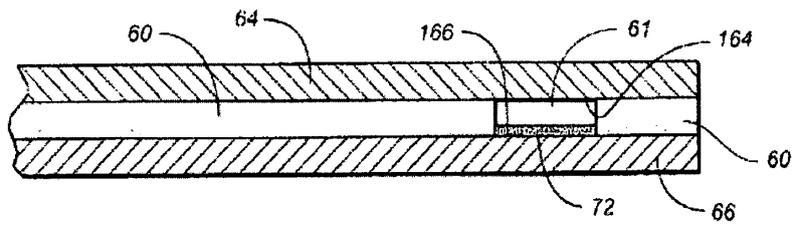


FIG. 5A

FIG. 5B

FIG. 5C

FIG. 5D



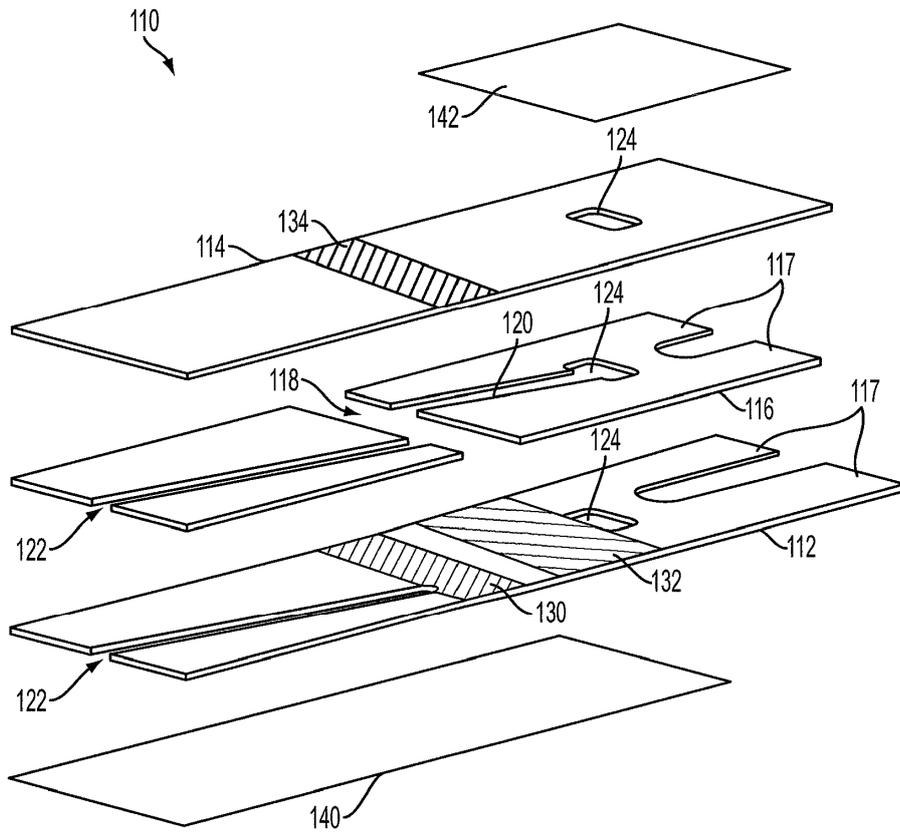


FIG. 6

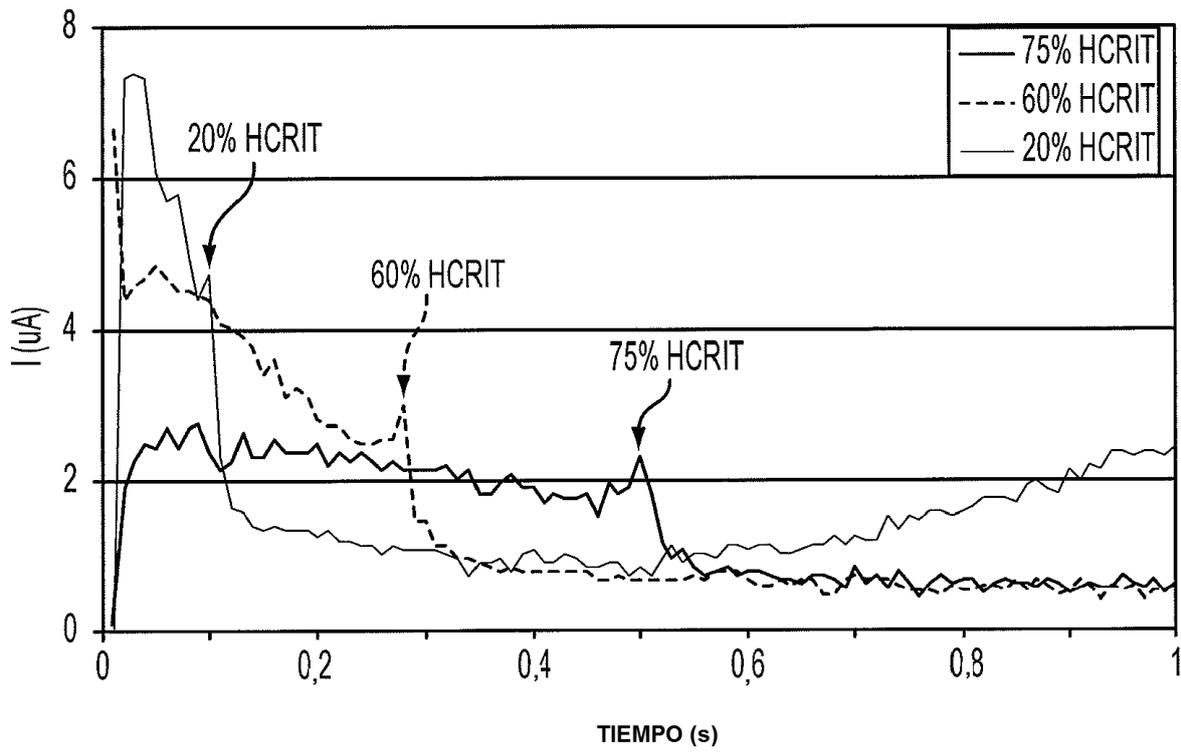
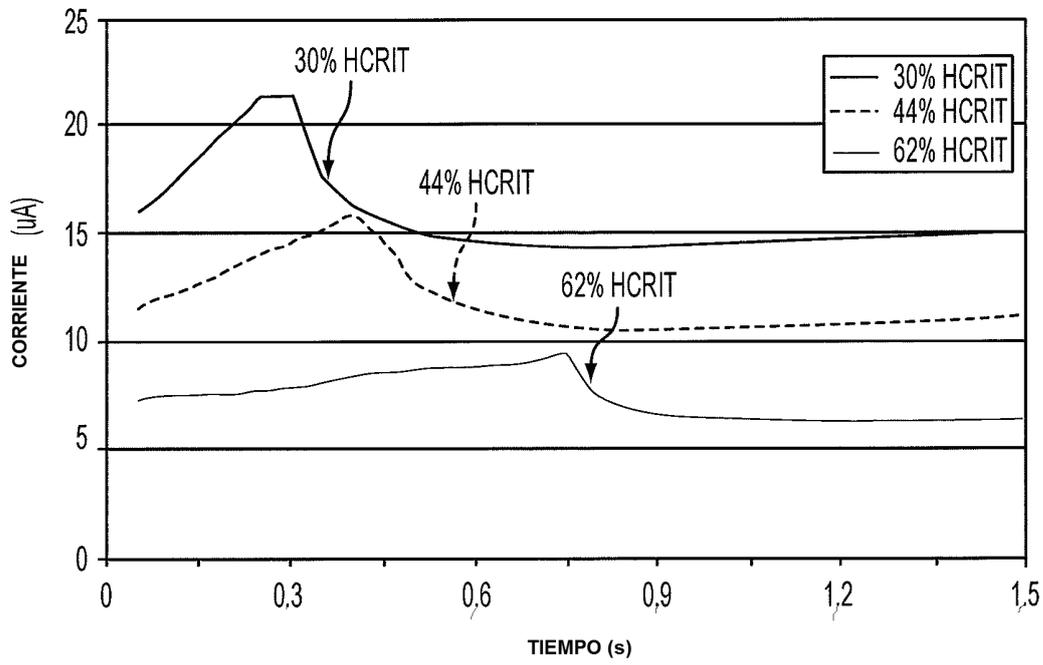
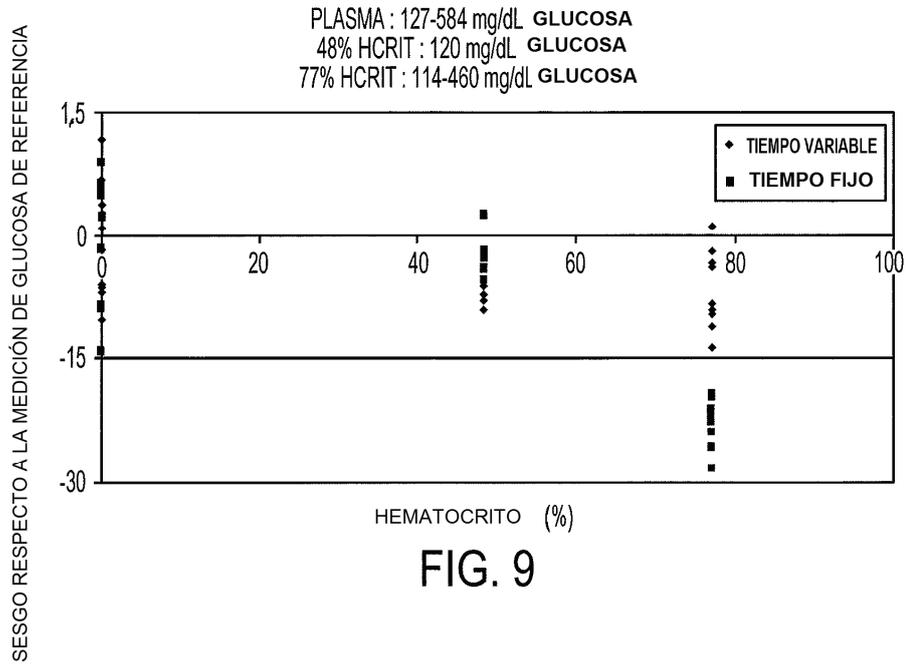


FIG. 7



**FIG. 8**



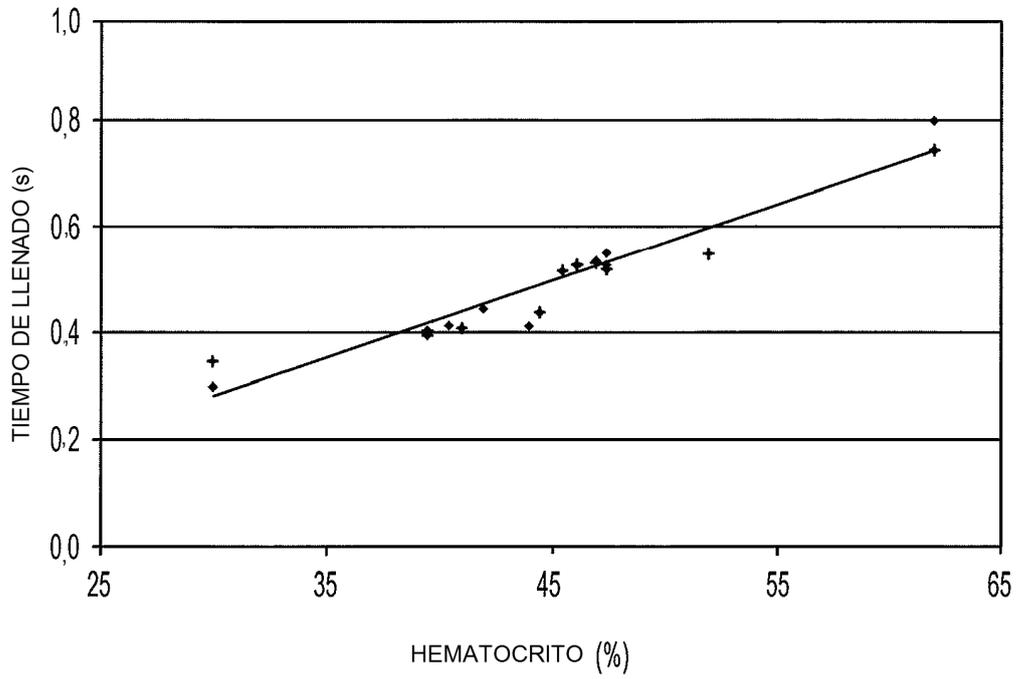


FIG. 10

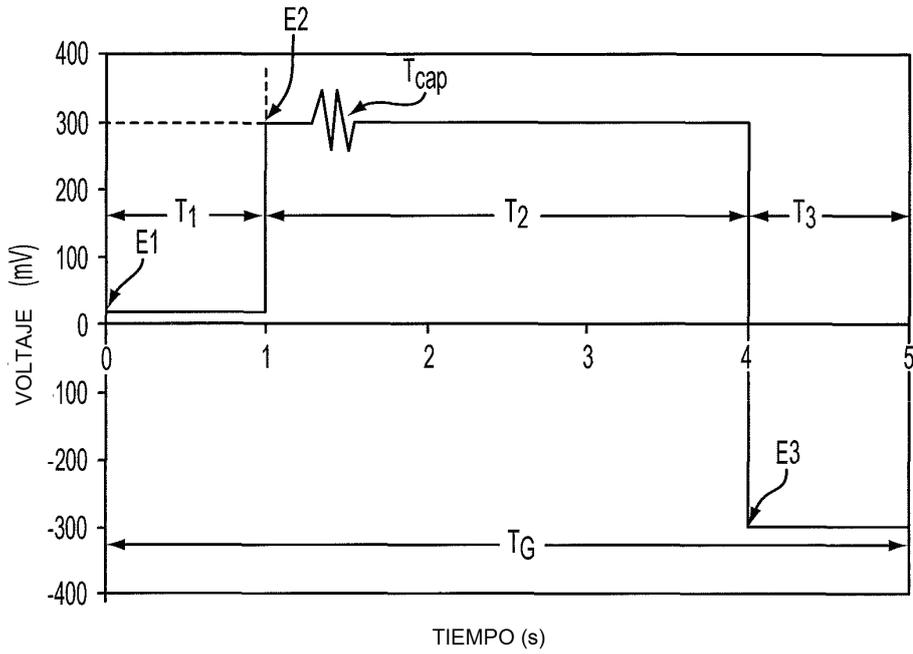


FIG. 11

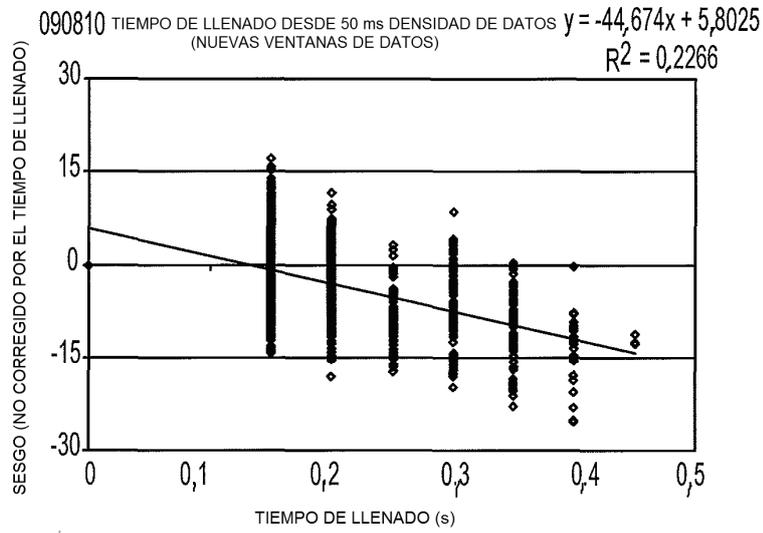


FIG. 12

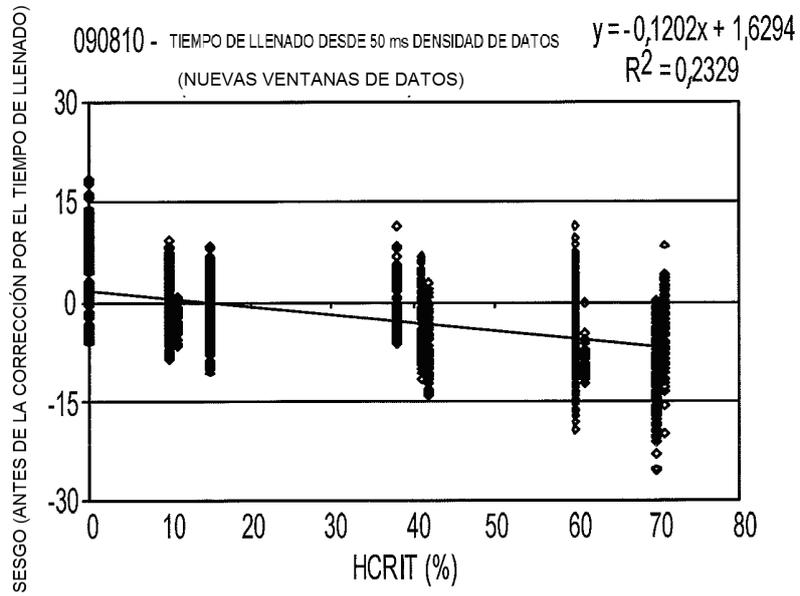


FIG. 13A

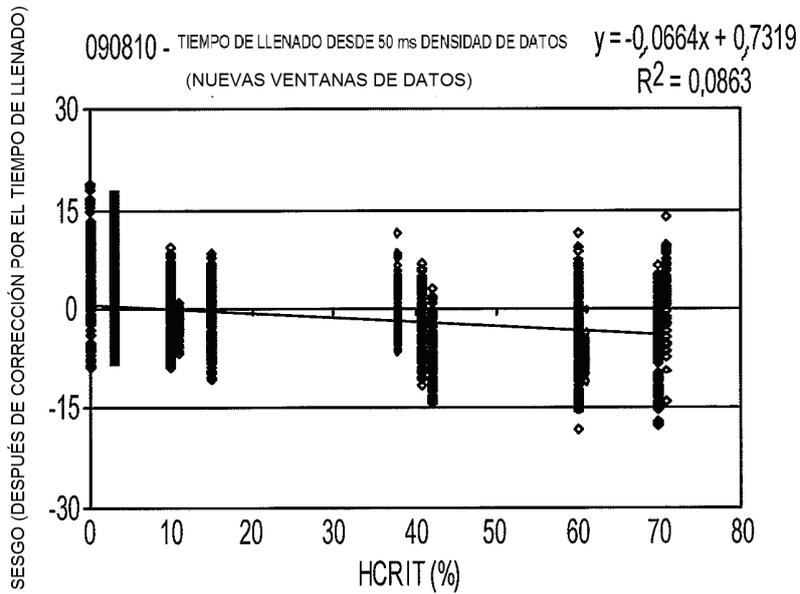


FIG. 13B

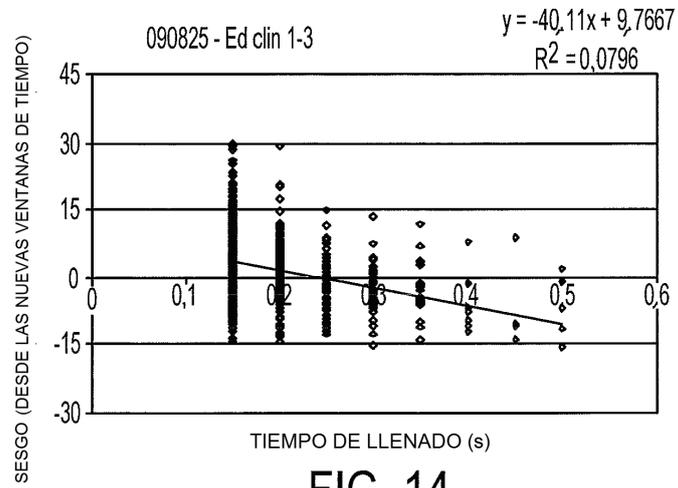


FIG. 14

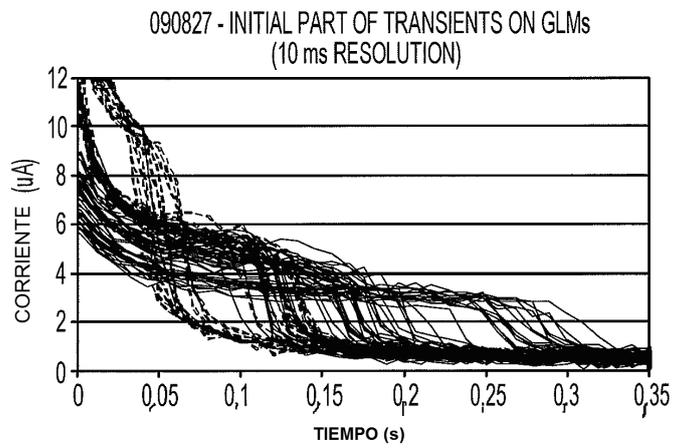


FIG. 15

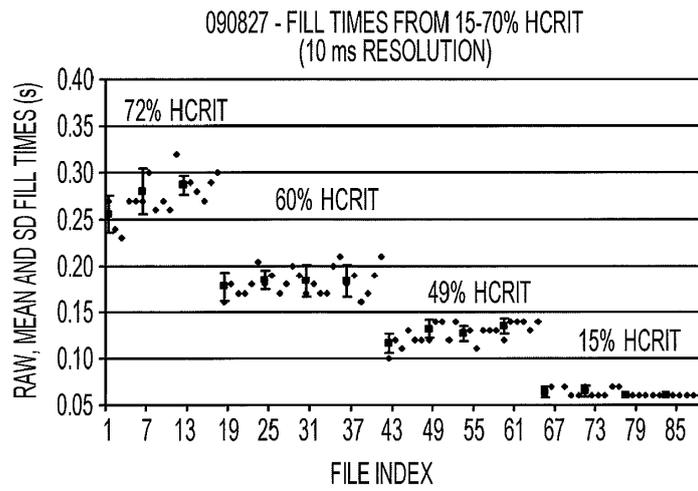


FIG. 16