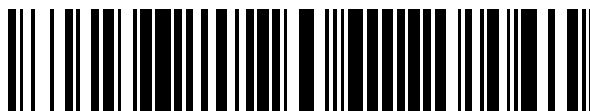


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 627**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2004 PCT/US2004/019576**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2004 WO04113910**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2004 E 04776780 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017 EP 1642124**

54 Título: **Biosensores electroquímicos**

30 Prioridad:

**20.06.2003 US 480243 P**

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

**06.03.2018**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**SURRIDGE, NIGEL, ANTHONY;  
WALLING, PAUL, DOUGLAS;  
SVETNIK, VLADIMIR;  
SULLIVAN, MELANI y  
HILL, BRIAN, S.**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 657 627 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Biosensores electroquímicos

5 **Antecedentes**

La presente invención se refiere a dispositivos y sistemas para medir analitos a partir de muestras biológicas, tales como a partir de una muestra de líquido corporal. Más específicamente, la presente invención se refiere a biosensores para someter a prueba un analito usando determinadas características de respuesta eléctrica.

10

La medición de la concentración de sustancias, particularmente en presencia de otras sustancias de confusión ("interferentes"), es importante en muchos campos, y especialmente en el diagnóstico médico y la atención integral de enfermedades. Por ejemplo, la medición de la glucosa en líquidos corporales, tales como la sangre, es crucial para el tratamiento eficaz de la diabetes.

15

Se conocen múltiples procedimientos para medir la concentración de analitos tales como la glucosa en una muestra de sangre. Dichos procedimientos se encuentran típicamente en una de dos categorías: procedimientos ópticos y procedimientos electroquímicos. Los procedimientos ópticos en general implican absorbancia, reflectancia o espectroscopia láser para observar el desplazamiento del espectro en el líquido provocado por la concentración de los analitos, típicamente junto con un reactivo que produce un color conocido cuando se combina con el analito. Los procedimientos electroquímicos en general se fundamentan en la correlación entre una propiedad de transferencia de carga o de movimiento de carga de la muestra de sangre (p. ej., corriente, potencial interfacial, impedancia, conductancia y similares) y la concentración de analito, típicamente junto con un reactivo que produce o modifica portadores de carga cuando se combina con el analito. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 4.919.770, concedida a Preidel, *et al.*, y 6.054.039, concedida a Shieh.

20

25

Una limitación importante de los procedimientos electroquímicos para medir la concentración de una sustancia química en la sangre es el efecto de variables de confusión sobre la impedancia de una muestra de sangre. Por ejemplo, la geometría de la muestra de sangre debe corresponder estrechamente a aquella sobre la que se basa la función cartográfica de la impedancia con respecto a la concentración.

30

La geometría de la muestra de sangre típicamente se controla mediante una porción de recepción de muestra del aparato de prueba. En el caso de los medidores de glucemia, por ejemplo, la muestra de sangre típicamente se coloca en una tira reactiva desechable que se conecta al medidor. La tira reactiva puede tener una cámara de muestra para definir la geometría de la muestra. De forma alternativa, los efectos de la geometría de la muestra se pueden limitar asegurando un tamaño de muestra eficazmente infinito. Por ejemplo, los electrodos usados para medir el analito pueden estar separados lo suficientemente cerca para que una gota de sangre en la tira reactiva se extienda sustancialmente más allá de los electrodos en todas las direcciones. Independientemente de la estrategia usada para controlar la geometría de la muestra, típicamente uno o más electrodos de suficiencia de dosis se usan para asegurar que haya una cantidad suficiente de muestra para asegurar un resultado de la prueba exacto.

35

40

Otros ejemplos de limitaciones a la exactitud de las mediciones de glucemia incluyen variaciones en los electrolitos en sangre (aparte del analito de interés que se mide). Por ejemplo, las variaciones en el hematocrito (concentración de glóbulos rojos) o en la concentración de otras sustancias químicas, constituyentes o elementos formados en la sangre, pueden afectar a la medición. La variación en la temperatura de las muestras de sangre es otro ejemplo más de una variable de confusión en la medición de los electrolitos en sangre.

45

Por tanto, se necesita un sistema que mida con exactitud la glucemia, incluso en presencia de variables de confusión, incluidas las variaciones en la temperatura, el hematocrito y las concentraciones de otras sustancias químicas en la sangre. Asimismo, se necesita un sistema que mida con exactitud un analito en un líquido. Es un objeto de la presente invención proporcionar dicho sistema.

50

Se han empleado muchos enfoques para atenuar o mitigar la influencia de una o más fuentes de interferencia, o de otra manera para compensar o corregir un valor medido. A menudo, se emplean soluciones de diseño múltiples para compensar adecuadamente las sensibilidades asociadas con el procedimiento de medición elegido.

55

Las soluciones de diseño bien conocidas implican membranas, filtros o recubrimientos selectivos de la permeabilidad y/o selectivos del tamaño. Dichas soluciones de diseño adolecen de costes crecientes de los bienes, etapas del procedimiento de fabricación aditivas que exacerban adicionalmente el coste de fabricación, la complejidad y la velocidad de fabricación. Los sistemas (tiras reactivas desechables e instrumentos) que emplean estos procedimientos adoptan el enfoque general de superar el problema dentro del alcance del diseño de la tira reactiva.

60

Otro enfoque general implica el uso de procedimientos sofisticados de procesamiento de señal y excitación combinados con algoritmos optimizados conjuntamente. Se pueden realizar arquitecturas y procedimientos de

65

fabricación de tiras reactivas más simples y menos complejos; sin embargo, se requieren costes de instrumentación, requisitos de memoria y procesador, codificación compleja asociada y técnicas de fabricación calibradas. Los sistemas que emplean esta técnica adoptan el enfoque general de superar el problema dentro del alcance de la instrumentación.

5 Un enfoque más reciente no implica la tira ni la instrumentación, *per se*, sino que aprovecha la metodología de medición. Un ejemplo de esto es el uso de un procedimiento coulombimétrico para atenuar la influencia del hematocrito y la temperatura.

10 También se conoce bien por los expertos en la técnica que todos los enfoques anteriores están respaldados adicionalmente por el diseño inicial de los sistemas de reactivos. En la detección de glucosa, por ejemplo, esto puede implicar el uso de mediadores de oxidorreducción selectivos y enzimas para superar la influencia perjudicial de especies de oxidorreducción activas o la presencia de otros azúcares.

15 El documento EP0537761 describe un biosensor de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1. Es un objeto de la invención proporcionar un dispositivo más simple y menos costoso para atenuar la influencia de los interferentes, de una manera que no adolezca de los inconvenientes asociados con los enfoques generales de amplio uso en la actualidad.

## 20 **Sumario**

### Dos pares en general

25 En un aspecto, la presente invención implica la provisión de dos pares de electrodos, que permiten el uso de dos mediciones para corregir o compensar la medición del analito frente a los interferentes. En un modo de realización, por ejemplo, un par de electrodos define una primera zona de medición, mientras que un segundo par define una segunda zona de medición. Los pares son aproximadamente coplanares, y dentro de un par de electrodos cada uno tiene una longitud sustancialmente paralela a la longitud del otro. Al menos uno de los electrodos en el primer par de electrodos comprende al menos dos elementos conductores rectangulares alargados, que están intercalados con el/los elemento(s) conductor(es) del otro electrodo en el par. Cada elemento de un electrodo se conecta de manera conductora al mismo contacto para la comunicación eléctrica con un excitador y/o un medidor. La muestra establece contacto eléctrico con ambos pares después de la dosificación.

35 Se contemplan varias variaciones de lo anterior. Por ejemplo, en un enfoque, un reactivo o una pluralidad de reactivos se pueden desplegar selectivamente sobre al menos uno de los al menos dos pares de electrodos que residen en una cámara de muestra. Ambos pares están recubiertos con un primer reactivo. Opcionalmente, uno de los dos pares se recubre con un primer reactivo, y el segundo par se recubre con el mismo reactivo, pero carece o bien de enzima o bien de mediador. De forma alternativa, uno de los dos pares se recubre con un primer reactivo y el otro par se recubre con un segundo reactivo. En otro modo de realización, uno de al menos dos pares se recubre con un reactivo y el otro par carece de un recubrimiento de reactivo, teniendo el par corriente abajo preferentemente el recubrimiento de reactivo. En una variación de este modo de realización, el otro de los pares se cubre con un recubrimiento que es selectivo de la permeabilidad, selectivo del tamaño, o que de otra manera afecta a la respuesta del electrodo en presencia de uno o más analitos y/o interferentes.

45 En aspectos adicionales, se incluyen electrodos de detección de dosis y suficiencia de dosis. Por ejemplo, se puede incluir un tercer sistema de electrodos que esté localizado más lejos del borde que los dos primeros pares de electrodos, es decir, esté corriente abajo del líquido de muestra que entra, y se pueda hacer funcionar para detectar cuándo hay suficiente líquido de muestra para realizar una prueba exacta. Este tercer sistema de electrodos puede comprender un único elemento de electrodo o una pluralidad de elementos. En modos de realización de un único elemento, el elemento funciona en combinación con uno o más de los otros electrodos para someter a prueba la suficiencia de muestra. De forma alternativa, el sistema de electrodos de suficiencia de dosis puede comprender un par de elementos de electrodo que cooperan entre sí para demostrar la suficiencia de muestra. De manera similar, se puede emplear un sistema de electrodos comparable para detectar cuándo se ha aplicado un líquido de muestra al biosensor.

## 55 **Breve descripción de los dibujos**

La FIG. 1 es una vista en perspectiva de una tira reactiva de acuerdo con un modo de realización de la presente invención.

60 La FIG. 2 es una vista en despiece de las capas seleccionadas de la tira reactiva de la FIG. 1.

La FIG. 3 es una vista en planta cortada de la porción de electrodo de la tira de la FIG. 1.

65 Las FIG. 4-15 son vistas en despiece de tiras reactivas alternativas de acuerdo con la presente invención.

**Descripción**

Con el fin de promover un entendimiento de los principios de la presente invención, se hará ahora referencia a los modos de realización ilustrados en los dibujos adjuntos y se usará un lenguaje específico para describir los mismos. No obstante, se entenderá que no se pretende de este modo ninguna limitación del alcance de la invención; se contempla cualquier alteración y modificación adicional de los modos de realización descritos o ilustrados, y cualquier aplicación adicional de los principios de la invención como se ilustra en los mismos, como normalmente se le ocurriría a un experto en la técnica a la que se refiere la invención.

**Introducción**

En general, las tiras reactivas de la presente invención proporcionan la prueba de un analito en un líquido corporal u otro usando matrices de electrodos múltiples que efectúan diferentes funciones o tienen diferentes funciones de respuesta con la muestra. Un modo de realización particular implica la combinación de macroelectrodos y microelectrodos que funcionan en pares respectivos, pero aportan información para una determinación final de la concentración de analito, tal como haciendo que la información obtenida a partir de un par de electrodos se use para compensar o corregir los resultados obtenidos a partir del otro par de electrodos, o combinando las respuestas de los pares de electrodos de una manera predeterminada.

Estas matrices de electrodos también se pueden combinar en una amplia variedad de otras formas para conseguir múltiples funciones relacionadas, incluidas la concentración de analito, la detección del hematocrito, la determinación de factores de corrección, así como la suficiencia de muestra y la detección de dosis, todo en una única tira y en un espacio extremadamente pequeño. De forma alternativa, al usar matrices múltiples con diferentes sensibilidades a los interferentes, se pueden aprovechar las dos mediciones para proporcionar un resultado más exacto, como normalmente se le ocurriría a un experto en la técnica.

En diversos modos de realización, se aplican diferentes técnicas de excitación electroquímica (por ejemplo, CC, fase de CA, amplitud de CA o CC/CA combinadas) a estas diferentes matrices de electrodos para lograr los objetivos deseados. Los ejemplos de dichas técnicas se conocen bien en la técnica.

Otra técnica ejemplar compensa la variación de los coeficientes de difusión de la especie electroquímicamente activa que se somete a prueba. La corriente faradaica en los reactivos solubles en una superficie de electrodo se produce debido a la difusión física de estas especies y el valor del coeficiente de difusión influye en la respuesta medida. Los sistemas comerciales a menudo se calibran y construyen de manera tal que la respuesta nominal del sensor (corriente faradaica) a una cantidad dada de glucosa sea repetible si los coeficientes de difusión permanecen fijos. Desafortunadamente, tanto la temperatura como el hematocrito (HCT) de cada muestra individual alteran el coeficiente de difusión eficaz de la especie electroactiva que se está midiendo. Si no se tienen en cuenta estos factores, la medición de glucosa puede ser errónea para cualquier valor de temperatura o hematocrito que difiera de los usados en la calibración del sistema.

En esta técnica ejemplar, el sistema determina la respuesta faradaica de un sensor electroquímico debido a un analito de interés, y proporciona una estimación del coeficiente de difusión eficaz real de la especie que experimenta la reacción de oxidorreducción en la superficie del electrodo. En particular, el sistema compensa la variación del coeficiente de difusión usando dos sistemas de electrodos (preferentemente de diferentes tipos) expuestos a la misma mezcla de reactivo-muestra. Las especies electroactivas solubles, tales como los mediadores de oxidorreducción comúnmente empleados en biosensores de glucosa, difunden a un macroelectrodo plano, que arroja una respuesta de corriente a un salto de potencial de acuerdo con la ecuación de Cottrell (1).

$$i_p = nFA_p C \sqrt{\frac{D}{\pi t}} \quad \text{de modo que} \quad (1a)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} i_p = 0 \quad (1b)$$

donde  $n$  es el número de electrones implicados en la transferencia de electrones,  $F$  es la constante de Faraday (96.485,3 C/equivalente),  $A_p$  es el área de los macroelectrodos en contacto con la solución,  $C$  es la concentración de analito en la muestra,  $D$  es el coeficiente de difusión eficaz de la especie e  $i_p$  es la respuesta de corriente en el macroelectrodo.

De manera similar, se entenderá por los expertos en la técnica que la respuesta de estas mismas especies al mismo salto de potencial en un microelectrodo arrojaría una respuesta de corriente caracterizada por la ecuación (2).

$$i_s = nFA_s C \sqrt{\frac{D}{\pi t}} + \frac{v n F A_s C D}{r_o} \text{ de modo que} \quad (2a)$$

$$\lim_{t \rightarrow t(\infty)} i_s = \frac{n F A_s C D}{r_o} \quad (2b)$$

5 donde  $A_s$  es el área del microelectrodo,  $v$  es un factor de accesibilidad que depende de la forma del electrodo e  $i_s$  es la respuesta de corriente en el microelectrodo. En las ecuaciones (1b) y (2b),  $t(\infty)$  significa un tiempo suficientemente largo para que se pueda establecer la condición de difusión "seminfinita" o en "estado estacionario", respectivamente, en los electrodos en cuestión.

10 Un modo de realización aplicaría el mismo potencial entre (a) el macroelectrodo plano y un contraelectrodo/electrodo de referencia, y entre (b) el/los microelectrodo(s) y el contraelectrodo/electrodo de referencia. La respuesta de corriente que depende del tiempo se mediría luego en varios puntos temporales tras

$$i_p = f\left(\frac{1}{\sqrt{t}}\right)$$

la aplicación de potencial tanto en los macro como en los microelectrodos. Un análisis de

$$i_s = f\left(\frac{1}{\sqrt{t}}\right)$$

15 produciría una *pendiente<sub>p</sub>*, como en la ecuación (3), mientras que el mismo análisis de *intercepto<sub>s</sub>* como se muestra en la ecuación (4).

$$\textit{pendiente}_s = n F A_p C \sqrt{\frac{D}{\pi}} \quad (3)$$

$$\textit{intercepto}_s = \frac{n F A_s C D}{r_o} \quad (4)$$

20 Dado que en la presente invención ambas  $i_p$  e  $i_s$  se derivan de la misma reacción y muestra, es posible calcular un coeficiente de difusión aparente para la especie que reacciona electroquímicamente en el dispositivo, independientemente de la concentración de la especie de acuerdo con la ecuación (5), donde las áreas de los dos tipos de electrodo,  $A_s$  y  $A_p$ , así como el radio del/de los microelectrodo(s),  $r_o$ , se conocen. Por ejemplo, un

25 microelectrodo esférico arroja:

$$\frac{\textit{intercepto}_s}{\textit{pendiente}_s} = \frac{A_s \sqrt{\pi D}}{r_o A_p} \quad (5)$$

30 Una vez que se estima  $D$ , se puede aplicar de diferentes formas para proporcionar una corrección para la concentración medida,  $C$ , de la especie electroquímica. Algunos modos de realización simplemente usan el valor estimado de  $D$  en la ecuación (3) para calcular  $C$ . Dicha determinación de  $C$  está menos sujeta a la variación no compensada en  $D$ , como es común en los sensores amperométricos en los que la respuesta de corriente se describe en gran medida mediante la ecuación (1). También es digno de mención que la corrección es independiente de la causa de la variación en  $D$  (p. ej., temperatura, hematocrito, cambio de viscosidad, etc.), la corrección se proporciona por la dependencia funcional diferente de los dos pares de electrodos sobre las

35 propiedades químicas de la muestra.

40 En cada una de las tiras ilustradas en el presente documento, se usa una matriz de electrodos para medir un analito, tal como glucosa, en una muestra. Cuando la muestra alcanza la matriz, se combina con el reactivo que se coloca adyacente a la matriz para proporcionar determinadas propiedades de impedancia eléctrica en presencia de una determinada señal eléctrica, como se entiende en la técnica, en la que la impedancia se usa como primer dato. Otra matriz, ya sea corriente arriba o corriente abajo de la primera matriz, pero preferentemente no cubierta por un reactivo, se usa para proporcionar otro estímulo eléctrico a la muestra, y la respuesta eléctrica en la matriz se usa como un segundo dato afectado de forma conocida por un interferente, tal como la temperatura,

hematocrito, o similar. Estos dos datos se combinan para arrojar un valor de concentración de analito corregido. Las dos matrices se pueden usar al mismo tiempo para analizar una única muestra en un volumen común de dimensiones muy pequeñas.

## 5 Información general

### Sistema

10 La presente invención se refiere a un sistema que es útil para evaluar un analito en un líquido de muestra. El sistema incluye dispositivos y procedimientos para evaluar el líquido de muestra frente al analito objetivo. La evaluación puede variar desde la detección de la presencia del analito hasta la determinación de la concentración de analito. El analito y el líquido de muestra pueden ser cualquiera para los cuales el sistema de prueba sea apropiado. Con fines de explicación solamente, se describe un modo de realización preferente en el que el analito es glucosa y el líquido de muestra es sangre o líquido intersticial. Sin embargo, la presente invención claramente no está limitada a ello en alcance.

### Sensor

20 Un componente del sistema es un sensor electroquímico que incluye una cámara de recepción de muestra para el líquido de muestra, y un reactivo para producir una señal electroquímica en presencia del analito de prueba. El sensor comprende preferentemente una tira reactiva desechable, particularmente una que tiene una construcción laminar que proporciona una abertura de borde a una cámara de recepción de muestra. El reactivo se dispone dentro de la cámara de recepción de muestra en posición para proporcionar la señal electroquímica a un electrodo de trabajo también posicionado dentro de la cámara. En circunstancias apropiadas, tales como para la detección de glucosa, el reactivo puede contener una enzima y opcionalmente un mediador.

### Medidor

30 El sensor se usa en combinación con un medidor para la determinación de la presencia y/o concentración de analito en el líquido de muestra. El medidor incluye convencionalmente una conexión con los electrodos del sensor y la circuitería para evaluar la señal electroquímica correspondiente a la concentración de analito. El medidor también puede incluir medios para determinar que el líquido de muestra se ha recibido por el sensor, y que la cantidad de líquido de muestra es suficiente para la prueba. El medidor típicamente almacenará y presentará los resultados del análisis, o de forma alternativa puede proporcionar los datos a un dispositivo separado.

### Característica del analito

40 El sistema puede proporcionar o bien una indicación cualitativa o bien cuantitativa para el analito. En un modo de realización, el sistema indica simplemente la presencia del analito en el líquido de muestra. El sistema también puede proporcionar una lectura de la cantidad o concentración de analito en el líquido de muestra. En un modo de realización preferente, es un rasgo de la presente invención que se obtiene una lectura altamente exacta y precisa de la concentración de analito.

### Tipo de analito

45 El sistema es útil para la determinación de una amplia variedad de analitos. La tira reactiva, por ejemplo, se adapta fácilmente para su uso con cualquier electrolito adecuado que se pueda usar para evaluar la presencia del analito. Lo más preferentemente, el sistema se configura y se usa para la prueba de un analito en un líquido biológico. Dichos analitos pueden incluir, por ejemplo, glucosa, lactato, urato, cetonas, etc. Las modificaciones conmensuradas en el sistema serán evidentes para los expertos en la técnica. Con fines de explicación, y en un modo de realización particularmente preferente, el sistema se describe con respecto a la detección de glucosa en un líquido biológico.

### Interferentes

55 Las metodologías de prueba se pueden ver afectadas de diversas maneras por la presencia de interferentes en el líquido de muestra. Por ejemplo, la prueba de glucosa en una muestra de sangre puede tener un impacto por factores tales como bilirrubina, hematocrito, ácido úrico, ascorbato, paracetamol, galactosa, maltosa y lípidos. El presente sistema es adaptable para minimizar o eliminar los efectos adversos de los interferentes que también pueden estar presentes en el líquido de muestra. Estos efectos se pueden abordar mediante la selección apropiada de los materiales y parámetros de prueba, tales como mediante la selección de electrolitos que se sabe que tienen un impacto menor, o ninguno en absoluto, por posibles interferentes. También se pueden abordar mediante la selección de dos o más reactivos que tienen sensibilidades diferenciales al interferente, pero sustancialmente la misma sensibilidad al analito de interés. Como se sabe en la técnica, también se pueden tomar otras medidas para tratar posibles efectos interferentes, tales como el uso de recubrimientos o películas que impiden que el interferente

entre en la zona de prueba. Además, se pueden usar modificaciones a las configuraciones de los electrodos o procedimientos de interrogación para minimizar el efecto de los interferentes.

#### Tipo de líquido

5 El sistema es útil con una amplia variedad de líquidos de muestra, y se usa preferentemente para la detección de analitos en un líquido biológico. En este contexto, el término "líquido biológico" incluye cualquier líquido corporal en el que se pueda medir el analito, por ejemplo, líquido intersticial, líquido dérmico, sudor, lágrimas, orina, líquido amniótico, líquido cefalorraquídeo y sangre. El término "sangre" en el contexto de la invención incluye sangre completa y sus componentes sin células, concretamente plasma y suero. Además, el sistema es útil en conexión con líquidos de referencia que se usan de manera convencional para verificar la integridad del sistema para la prueba.

15 En un modo de realización preferente, el sistema se emplea para la prueba de glucosa. El líquido de muestra en este caso puede incluir específicamente, por ejemplo, sangre capilar roja obtenida de la yema del dedo o sitios alternativos aprobados (p. ej., antebrazo, palma, brazo, pantorrilla y muslo), sangre venosa roja y soluciones de control suministradas con o para el sistema

20 El líquido se puede adquirir y administrar a la tira reactiva de cualquier manera. Por ejemplo, se puede obtener una muestra de sangre de manera convencional haciendo una incisión en la piel, tal como con una lanceta, y luego poniendo en contacto la tira reactiva con el líquido que aparece en la superficie de la piel. Es un aspecto de la presente invención que la tira reactiva sea útil con muestras de líquido muy pequeñas. Por lo tanto, es una característica deseable de la invención que solo se necesite una ligera incisión en la piel para producir el volumen de líquido requerido para la prueba, y el dolor y otras preocupaciones se pueden minimizar o eliminar con dicho procedimiento.

#### Electrodos

##### Tipo de electrodo

30 La invención se refiere a un "sensor electroquímico", que es un dispositivo configurado para detectar la presencia y/o medir la concentración de un analito por medio de reacciones de oxidación y reducción electroquímicas dentro del sensor, y/o el desarrollo de movimiento de capas cargadas dentro de la solución. Estas reacciones se transducen a una señal eléctrica que se puede correlacionar con una cantidad o concentración de analito. Por lo tanto, la tira reactiva incluye un sistema de electrodos que comprende al menos un electrodo de trabajo y un contraelectrodo dentro de la cámara de recepción de muestra. La cámara de recepción de muestra está configurada de manera tal que el líquido de muestra que entra en la cámara se coloca en contacto electrolítico tanto con el electrodo de trabajo como con el contraelectrodo. Esto permite que la corriente eléctrica fluya entre los electrodos para efectuar la electrooxidación o electrorreducción del analito o sus productos.

40 En el contexto de la presente invención, un "electrodo de trabajo" es un electrodo en el que el analito o producto se electrooxida o electrorreduce con o sin la ayuda de un mediador de oxidorreducción. El término "contraelectrodo" se refiere en el presente documento a un electrodo que está emparejado con el electrodo de trabajo y a través del que pasa una corriente electroquímica igual en magnitud y de signo opuesto a la corriente que pasa a través del electrodo de trabajo. El término "contraelectrodo" pretende incluir contraelectrodos que también funcionan como electrodos de referencia (es decir, un contraelectrodo/electrodo de referencia o auxiliar).

##### Material del electrodo

50 Los contraelectrodos y electrodos de trabajo, y las porciones restantes del sistema de electrodos, se pueden formar a partir de una variedad de materiales, como se conoce en la técnica. Los electrodos deben tener una resistencia eléctrica relativamente baja y deben ser electroquímicamente inertes en el intervalo de funcionamiento de la tira reactiva. Los conductores adecuados para el electrodo de trabajo incluyen oro, paladio, platino, carbono, titanio, dióxido de rutenio, iridio y óxido de indio y estaño, así como otros, tales como los conductores divulgados en la solicitud de sensores de analitos, que se incorporó anteriormente como referencia. El contraelectrodo se puede fabricar de los mismos o diferentes materiales. En un modo de realización preferente, ambos electrodos son electrodos de oro.

##### Aplicación del electrodo

60 Los sistemas de electrodos utilizados por la presente invención se pueden aplicar al sustrato base de cualquier manera que produzca electrodos de conductividad e integridad adecuadas. Los procedimientos ejemplares se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, pulverización catódica, impresión, etc. En un modo de realización preferente, los electrodos y otros componentes conductores se proporcionan recubriendo un sustrato base y luego retirando porciones seleccionadas del recubrimiento para producir los componentes. Un procedimiento de eliminación preferente es la ablación con láser, y más preferentemente la ablación con láser de

campo amplio, y una discusión relevante adicional se encuentra en las solicitudes de patente de EE. UU. n.ºs 09/866.030 (titulada "Biosensores con electrodos de ablación con láser con canal de cobertura continua", presentada el 25 de mayo de 2001) y 09/411.940 (titulada "Características definidas por láser para laminados y electrodos modelados", presentada el 4 de octubre de 1999). Otros procedimientos diversos de fabricación y aplicación se conocen bien en la técnica para proporcionar los componentes eléctricos, y particularmente los sistemas de electrodos, descritos en el presente documento.

#### Composición del reactivo

La tira reactiva incluye un reactivo químico dentro de la cámara de recepción de muestra para reaccionar con el analito de prueba para producir la señal electroquímica que representa la presencia del analito en el líquido de muestra. El electrolito de prueba se selecciona con respecto al analito que se va a evaluar. Como se conoce bien en la técnica, existen numerosos electrolitos disponibles para su uso con cada uno de los diversos analitos. La selección de un electrolito apropiado está, por lo tanto, bien dentro de la experiencia en la técnica, y no se requiere una descripción adicional en el presente documento a fin de permitir que se haga y use la presente invención.

Con fines del presente documento, sin embargo, se describe un modo de realización preferente en el que el analito es glucosa, aunque se debe entender que el alcance de la invención, y de las reivindicaciones, no está limitado a ello, a menos que se indique específicamente. En el caso de la glucosa, los componentes activos del electrolito de prueba típicamente incluirán una enzima para la glucosa y un mediador de oxidorreducción. La enzima oxida la glucosa en la muestra, y el mediador a su vez reacciona con la enzima reducida. Después de eso, el mediador transporta el equivalente de oxidorreducción del producto de analito a la superficie del electrodo por difusión. Allí el mediador se oxida cuantitativamente a un potencial anódico definido y la corriente resultante se relaciona con la concentración aparente de glucosa. Hay una cantidad de sistemas de reactivos adecuados para la detección de glucosa, y los ejemplos de estos están contenidos en las solicitudes de excitación de CA, sensores de analitos y biosensores, las patentes de EE. UU. n.ºs 5.385.846 y 5.997.817 y la solicitud de patente de EE. UU. (reedición) n.º 10/008.788 ("tira reactiva con biosensor electroquímico).

El electrolito para la glucosa utiliza el mediador de oxidorreducción para mediar una corriente entre el electrodo de trabajo y el analito de glucosa, que de otra manera no es muy adecuado para la reacción electroquímica directa en un electrodo. El mediador funciona como un agente de transferencia de electrones que transporta electrones entre el analito y el electrodo. Se conocen un gran número de especies de oxidorreducción y se pueden usar como mediador de oxidorreducción. En general, los mediadores de oxidorreducción preferentes son moléculas rápidamente reducibles y oxidables. Los ejemplos incluyen ferricianuro, nitrosoanilina y derivados de los mismos, y ferroceno y sus derivados.

#### Esquema de medición

En un aspecto de la presente invención, un primer par de electrodos proporciona una primera medición que se combina con una segunda medición obtenida con un segundo par de electrodos. Como se describe previamente, una tira reactiva convencional emplea al menos dos pares de electrodos (cada uno, p. ej., un electrodo de trabajo y un contraelectrodo) para determinar la concentración de analito basándose en la reacción del analito con un reactivo localizado en o adyacente a uno de los pares de electrodos. Se obtiene de este modo una medición básica de la concentración de analito. Sin embargo, a menudo es deseable corregir o compensar esa medición por otros factores, tales como el hematocrito, la temperatura, la presencia de otras especies en el líquido de muestra y similares. En un modo de realización de la presente invención, se proporciona un biosensor que emplea dos pares de electrodos, uno para hacer la medición básica del analito y el otro para proporcionar dicha corrección o compensación para la medición básica, en algunos casos para arrojar una cifra de medición final.

El uso de dos pares de electrodos puede implicar el uso de conjuntos de electrodos dispares, en los que un par comprende macroelectrodos y el otro par comprende microelectrodos. Como se usa en el presente documento, el término macroelectrodo se refiere a un electrodo en el que la característica de difusión eficaz primaria es perpendicular a la superficie del electrodo. Los macroelectrodos se dimensionan y disponen de modo que las características de difusión primaria sean características de difusión lineal. El término microelectrodo se refiere a electrodos que muestran difusión convergente, de estado estacionario o de cuasi estado estacionario en la escala de tiempo característica de la medición. Un microelectrodo es un electrodo al que la difusión radial proporciona una alteración significativa en la función de respuesta. Los microelectrodos, por ejemplo, se pueden dimensionar y posicionar de manera tal que sus características de impedancia primaria sean características de cinética de borde a borde, p. ej., entre los bordes más cercanos de los dedos. Se analizará más de esta funcionalidad con respecto a los modos de realización de ejemplo mostrados en los dibujos.

Una ventaja del uso de los microelectrodos es que estos dispositivos se pueden configurar y hacer funcionar para alcanzar muy rápidamente un cuasi estado estacionario del flujo de corriente en los electrodos, por ejemplo, en tan solo 0,50 a 3,25 segundos, o incluso en menos de medio segundo. Esta adquisición rápida del cuasi estado estacionario permite una determinación más rápida y más exacta de la concentración de analito. Esto se contrasta



con los enfoques de la técnica anterior que, por ejemplo, han estimado o proyectado el resultado basándose en las lecturas tomadas antes de que se alcance un cuasi estado estacionario.

5 Una ventaja adicional que se observa en algunos modos de realización de la invención es que la respuesta de cuasi estado estacionario a la aplicación de una señal de CC es a una magnitud mayor que el cuasi estado estacionario en muchos sistemas de la técnica anterior. Esto mejora la proporción de señal a ruido de la señal, permitiendo así que el sistema proporcione un resultado más exacto.

10 Otra ventaja adicional que se observa con las matrices intercaladas de los dedos del electrodo usados en algunas formas de la presente invención es la longitud del borde del electrodo drásticamente aumentada que se puede lograr dentro de un espacio dado. Dependiendo del diseño, los resultados se pueden derivar en aquellos sistemas con muestras más pequeñas, aun logrando la misma calidad de resultados que los sistemas que requieren muestras más grandes.

15 Se debe tener en cuenta que las ecuaciones se pueden derivar y usar para las diversas configuraciones de microelectrodos como se les ocurriría a los expertos en la técnica dada esta divulgación. También es posible usar mediciones empíricas para determinar directamente la función de respuesta de las estructuras electroquímicas presentes en cada diseño de sensor. Se debe tener en cuenta que ni una descripción analítica de las funciones de respuesta, ni la consecución de una corriente de estado estacionario son necesarias para un rendimiento del sistema mejorado.

#### 20 Descripción general - Estructura

25 La presente invención proporciona estructuras y sistemas de electrodos que son útiles en una amplia variedad de dispositivos biosensores. Se describen en el presente documento configuraciones de tira reactiva ejemplares que demuestran la utilidad de la presente invención. Sin embargo, se apreciará que los principios de la presente invención son igualmente aplicables en otros diseños de biosensores diversos. Las composiciones, tamaños y otras características particulares de los componentes básicos del biosensor no son críticos y, por lo tanto, no son limitativos.

30 Con referencia a la FIG. 1, en general, la tira 210 tiene un primer extremo 211 para la comunicación con la circuitería de excitación y la circuitería de medición (no mostrada), mientras que el extremo 218 está adaptado para recibir el líquido corporal en contacto con los electrodos como se analizará en el presente documento. La circuitería de excitación proporciona una corriente y/o potencial conocidos a través de los contactos 216 y supervisa la respuesta de corriente y/o tensión durante un período de tiempo. Las señales respectivas se desplazan entre los contactos 35 216 y los electrodos (mostrados en las FIG. 2-14) mediante los conductores 270, 272, 274 y 276. Estos conductores se fabrican de cualquiera, o una combinación, de una variedad de materiales conductores, incluidos, por ejemplo, oro o carbono, como se entenderá por los expertos en la técnica.

40 En el extremo 218, la guía de líquido con muesca 214 es en general rectangular, con una muesca rectangular 148 cortada de la misma, como se puede observar en la FIG. 2. La guía de líquido 214 descansa sobre la capa de sustrato 212 (una poliimida u otro material de otra manera conocido en la técnica), y proporciona una abertura 251 (véase la FIG. 2) para extraer el líquido desde el borde 224 hacia el conducto 262 por acción capilar. La capa de cubierta 250 descansa sobre la parte superior de la capa de guía 236 y proporciona una contención superior para la trayectoria del líquido definida en parte por la muesca 248. Estas estructuras se analizarán con más detalle a 45 continuación.

Volviendo ahora a la FIG. 2, con referencia continua a determinadas estructuras mostradas en la FIG. 1, la tira 210 incluye la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 264, la guía de líquido 214 y la capa de cubierta 218. Cuando se monta, el paso 248 está definido horizontalmente por las superficies de muesca internas 249, por arriba por la superficie inferior 258 de la capa de cubierta 218, y por debajo por la banda de reactivo 264 (que descansa sobre el par de electrodos 284, pero no sobre el par de electrodos 280) y la región del electrodo 266 sobre la superficie superior del sustrato 232. Durante un funcionamiento de prueba, el líquido que se somete a prueba entra al paso 248 a través del extremo 240 de la guía de líquido 214, pasando por los bordes 254 y 224 de la capa de cubierta 218 y el sustrato 212, respectivamente. El líquido se aspira por acción capilar hacia el paso 248, siguiendo una 55 trayectoria que se aleja de los bordes 224 y 254, y hacia el conducto 262 (véase la FIG. 1).

El paso capilar proporciona una cámara de recepción de muestra en la que están contenidos los electrodos de medición y el reactivo asociado, y la muestra de líquido que contiene el analito se pone en contacto con estos 60 componentes del biosensor. Un rasgo de la presente invención es que las dimensiones del paso capilar pueden variar sustancialmente. En un modo de realización, el paso es un volumen que tiene 1000  $\mu\text{m}$  de ancho, 100  $\mu\text{m}$  de alto y 2000  $\mu\text{m}$  de largo. Otros modos de realización, y la medición de los canales en general, se analizan en la solicitud de sensores de analitos, a la que se hace referencia anteriormente. A medida que el líquido se desplaza a lo largo de esta trayectoria, entra en contacto con el reactivo y los electrodos, como se describirá con más detalle 65 a continuación.

Sobre el sustrato 212, los contactos 278 están conectados mediante las pistas 279 a los electrodos 280. Estos electrodos 280 se extienden perpendicularmente a la longitud del sustrato 212, paralelos al borde 224 y entre sí. En un modo de realización preferente, los electrodos 280 son rectangulares, con una longitud suficiente para alcanzar a través del ancho de la muesca 248, una anchura de al menos 50  $\mu\text{m}$ , y una separación mayor que aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  entre los puntos más cercanos de los mismos. En otro modo de realización preferente, los electrodos 280 tienen aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de 100  $\mu\text{m}$ . En aún otros modos de realización preferentes, los electrodos 280 tienen aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de 250  $\mu\text{m}$ . Se les ocurrirán otras configuraciones y dimensiones a los expertos en la técnica, y se pueden usar en la presente invención según se requiera o desee, dadas las consideraciones de diseño para una tira y sistema particular.

Los contactos 282 están conectados mediante las pistas 277 al par de electrodos 284. Los electrodos 284 comprenden cada uno rectángulos alargados, paralelos, múltiples ("dedos"), que se extienden cada uno aproximadamente en paralelo al borde 224 y en perpendicular a la línea central de la muesca 248, alcanzando ambos extremos más allá de la anchura de la muesca 248. Los rectángulos se conectan en un extremo u otro a la pista 274 o 276 en un patrón alterno para formar una serie intercalada de dedos, que se analizarán con más detalle a continuación. En diversos modos de realización, cada dedo rectangular en el par de microelectrodos 284 tiene entre aproximadamente 5 y aproximadamente 75  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de aproximadamente 5 a aproximadamente 75  $\mu\text{m}$  entre los dedos adyacentes. Las anchuras del dedo y los huecos entre los dedos adyacentes son cada uno preferentemente consistentes a través de la anchura de la muesca 248.

Volviendo ahora a la FIG. 3, con referencia continua a la FIG. 2, se muestra una vista más ampliada de la porción de electrodo de la tira 210 en la FIG. 2. Como se analiza anteriormente, los electrodos 280 discurren en paralelo al borde 224 de la tira 210, y se conectan a sus pistas conductoras 270 y 272 en extremos opuestos, formando el par de electrodos 266. Sus bordes 281 más cercanos están separados por una distancia ("hueco") indicada por el número de referencia 286 que es sustancialmente constante en toda su longitud. De manera similar, los dedos 284 intercalados forman un par de electrodos 268, con dedos alternos que se conectan a las pistas conductores 274 y 276.

Volviendo a la FIG. 4, la tira 310 muestra la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 364, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. En este modo de realización, el líquido que entra en la muesca capilar 348 definida por la guía de líquido 214 primero encuentra los macroelectrodos 280. Los macroelectrodos 280 están conectados mediante los conductores 379 a los contactos 378 en el extremo 368 de la tira 310. Los electrodos 280 tienen cada uno, por ejemplo, aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de ancho, y el hueco entre ellos es también de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ . Un poco más lejos del extremo de la tira 366 está el par de electrodos 284, que son dos electrodos de cinco dedos cada uno, estando conectado cada dedo en un lado mediante un conductor 377 a un contacto 382 en el extremo de la tira 368. Cada dedo en el par de electrodos 284 es un rectángulo de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho, y cada dedo adyacente está separado del siguiente por un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$ . La banda de reactivo 364 cubre el par de electrodos 280, pero no el par de electrodos 284.

Durante una prueba, cuando la muestra cubre el par de electrodos 280, se aplica una señal de CA durante un período de tiempo a los contactos 378. De manera similar, durante un período de tiempo superpuesto después de que la muestra cubra el par de electrodos 284, se aplica una señal de CC a los contactos 382, y la respuesta eléctrica entre los electrodos en el par 284 se usa para estimar la concentración de glucosa en la muestra. La respuesta de la muestra entre los dedos del par de electrodos 280 es sensible al hematocrito de la muestra, que junto con un valor de temperatura proporcionado por un circuito basado en termistor proporciona un factor de corrección para la estimación obtenida con los electrodos 284. Téngase en cuenta que este "factor de corrección" no es necesariamente un factor multiplicativo o aditivo, sino que, en su lugar, se puede usar en una fórmula, en una tabla de consulta y/o en otras formas para corregir la estimación basándose en la temperatura y la presencia o ausencia de otros materiales en, o las propiedades de, la muestra como se entenderá por los expertos en la técnica. En este modo de realización, el volumen de sangre dentro de la muesca capilar 348 suficiente para cubrir los electrodos de medición es de aproximadamente 130  $\mu\text{l}$ .

Un modo de realización alternativo se muestra en la FIG. 5 como una tira 410. La capa de sustrato 212 está conectada con pistas con dos contactos 478, y está parcialmente cubierta con la banda de reactivo 464 (sobre los electrodos 480), la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. Los contactos 478 están conectados eléctricamente mediante pistas conductoras 477 tanto a un primer par de electrodos 466 como a un segundo par de electrodos 468, estando conectado un electrodo de cada par a cada lado a uno de los contactos 478. Téngase en cuenta que en este modo de realización la circuitería del excitador y del medidor (no mostrada) usan un único par de contactos 478 para excitar y medir la respuesta de ambos pares de electrodos. Téngase en cuenta adicionalmente que las colocaciones relativas de los microelectrodos 466 y los macroelectrodos 480 están invertidas con relación al modo de realización mostrado en la FIG. 4. Los macroelectrodos 480 de nuevo tienen, por ejemplo, aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de ancho con un hueco de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  entre ellos. También, cada electrodo en el par de microelectrodos 466 está formado por cinco dedos que están intercalados con los dedos en el otro electrodo del par. Cada dedo de nuevo tiene aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho con un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  entre los dedos vecinos.

En este modo de realización, la banda de reactivo 464 cubre el par de electrodos 468, pero no el par de electrodos 466. Cuando la muestra cubre el par de electrodos 466, el sistema usa una señal de CA a través de ese par para determinar los factores de corrección para la medición del analito. Cuando la muestra ha cubierto el par de electrodos 468, se obtiene una estimación de la concentración de analito usando procedimientos de excitación de CC conocidos en la técnica, tales como las solicitudes de patente de EE. UU. números 09/530.171 y 10/264.891, la solicitud PCT número (WO) US98/27203, la patente de EE. UU. n.º 5.997.817 y la solicitud (reedición) de tira reactiva con biosensor electroquímico. Con las dimensiones ejemplares descritas anteriormente, el volumen de la cavidad capilar es de aproximadamente 130 nl.

Volviendo ahora a la FIG. 6, se puede observar que la tira 510 comprende de nuevo la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 564, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. En este modo de realización, el electrodo de trabajo 581 descansa entre dos dedos de contraelectrodo 580, que están conectados por uno de los conductores 216 al mismo contacto. Estos electrodos 580 y 581 forman un primer par de electrodos 480, y cada uno de los tres dedos de macroelectrodo en este par de electrodos 480 tiene aproximadamente 250 µm de ancho, con un hueco de aproximadamente 250 µm a cada lado del electrodo de trabajo 581.

El segundo par de electrodos 284 comprende dos electrodos de seis y siete dedos cada uno, respectivamente, estando los dedos intercalados en un patrón alterno. Cada dedo de nuevo tiene aproximadamente 20 µm de ancho, con un hueco de aproximadamente 20 µm entre los dedos adyacentes. En este modo de realización, la capa de reactivo 564 cubre ambos pares de electrodos 480 y 284. El par de macroelectrodos 480 proporciona una respuesta de tipo Cottrell, donde la corriente es proporcional a la raíz cuadrada del coeficiente de difusión, mientras que el par de microelectrodos 284 proporciona una corriente que es directamente proporcional al coeficiente de difusión. Las dos respuestas, tomadas en conjunto, corrigen los factores ambientales para arrojar una respuesta mejorada. El volumen de muestra requerido para la medición en este modo de realización es de aproximadamente 200 nl.

Otro modo de realización alternativo se muestra en la FIG. 7. La tira 610 comprende la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 664, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. Como en la FIG. 6, el primer par de electrodos 572 comprende macroelectrodos contra y de trabajo 580 y 581, respectivamente, cada uno de aproximadamente 250 µm de ancho con un hueco de aproximadamente 250 µm entre ellos. En este modo de realización, sin embargo, el par de electrodos 661 comprende dos electrodos de tres dedos cada uno. Cada dedo tiene aproximadamente 50 µm de ancho, con un hueco de aproximadamente 50 µm entre dedos adyacentes.

El primer par de electrodos que alcanza la muestra (el par de macroelectrodos 572) se usa para obtener una medición basada en hematocrito usando técnicas de excitación de CA. El segundo par de electrodos (los microelectrodos 661) se usa para obtener una medición que depende de la glucosa dentro y el hematocrito de la muestra usando excitación de CC. La banda de reactivo 664 cubre solo el par de electrodos 661, y se requiere un volumen de muestra de aproximadamente 200 nl para llenar el volumen capilar en la región relevante. Las mediciones se combinan como parámetros para una fórmula basándose en la configuración del electrodo, el sistema de reactivos y otros factores que se le ocurrirían a un experto en la técnica.

La FIG. 8 proporciona aún otro modo de realización de la presente invención. La tira 710 comprende la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 364, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. En esta realización, el primer par de electrodos 366 comprende dos macroelectrodos, teniendo cada uno un único dedo rectangular, mientras que el segundo par de electrodos 770 comprende dos microelectrodos, teniendo cada microelectrodo cinco dedos en un patrón intercalado. Los dedos en este modo de realización tienen aproximadamente 50 µm de ancho, con un hueco de aproximadamente 30 µm entre ellos, y la banda de reactivo 364 cubre el segundo par 770. El volumen necesario para cubrir los electrodos en la porción relevante de la trayectoria capilar es de aproximadamente 170 nl.

Volviendo ahora a la FIG. 9, la tira 810 comprende la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 364, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. Un único par de contactos 878 está conectado mediante conductores 877 tanto al primer par de electrodos 866 como al segundo par de electrodos 868. El primer par de electrodos 866 comprende dos macroelectrodos 884 de un único dedo, mientras que el segundo par de electrodos 868 comprende dos microelectrodos 880, teniendo cada microelectrodo cinco dedos en un patrón intercalado. Cada electrodo en el primer par de electrodos 866 de nuevo tiene aproximadamente 250 µm de ancho, con un hueco de aproximadamente 250 µm entre ellos. El primer par de electrodos 866 se usa para obtener una primera medición basándose en el hematocrito de la muestra. Cada dedo del segundo par 868 tiene aproximadamente 50 µm de ancho con un hueco de aproximadamente 30 µm entre dedos adyacentes. Cuando la muestra cubre el segundo par de electrodos 868, se aplica una señal de CC a los contactos 878. La impedancia resultante entre los electrodos 868 se usa para obtener una segunda medición basándose en la concentración de glucosa dentro y el hematocrito de la muestra. Esa medición se combina en una fórmula con la medición obtenida a través del primer par de electrodos 866 y una señal de temperatura desde un termistor (no mostrado) para obtener un valor de concentración de glucosa corregido. La banda de reactivo 364 cubre el segundo par de electrodos 868, y el volumen requerido de muestra es de nuevo aproximadamente 170 nl.

La FIG. 10 muestra otro modo de realización alternativo, la tira 1010, que comprende la capa de sustrato 212, la capa de reactivo 1064, la guía de líquido con muesca 214 y la capa de cubierta 218. En este modo de realización, el primer par de electrodos 1081 encontrado por la muestra incluye el electrodo de trabajo 1071, un electrodo de un único dedo. El primer par de electrodos 1081 también incluye el par de contraelectrodos 1072, un electrodo de dos dedos, con un dedo a cada lado del electrodo de trabajo 1071. Cada dedo en el primer par de electrodos 1081 tiene aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  de ancho, y un hueco de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  separa cada dedo del contraelectrodo del dedo del electrodo de trabajo. Cada uno de los electrodos (es decir, el electrodo de trabajo 1071 y el contraelectrodo 1072) en el primer par de electrodos 1081 está conectado eléctricamente mediante una pista conductora 216 a un contacto 1067. El excitador del sistema se conecta a los contactos 1067 para usar el primer par de electrodos para obtener una concentración estimada de analito en la muestra.

El segundo par de electrodos 1082 comprende dos electrodos de cinco dedos cada uno. Estos dedos tienen cada uno aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  de ancho con una separación de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  entre ellos. Cada electrodo en el segundo par se conecta a una pista conductora 216 para conectarse eléctricamente a un contacto 1068, en el que los contactos se usan para excitar y medir los factores de corrección tales como el hematocrito basándose en la interacción del analito con el segundo par de electrodos.

El tercer par de electrodos 1083 también tiene una configuración de microelectrodo, teniendo cada uno de los dos electrodos en el tercer par 1083 cinco dedos intercalados con los cinco en el otro electrodo. Cada dedo de nuevo tiene aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  entre ellos. Cada electrodo en el tercer par 1083 está conectado mediante una pista conductora 216 a un contacto 1069, y se excita mediante esos contactos para detectar la suficiencia del volumen de muestra, basándose en la respuesta eléctrica entre esos electrodos cuando la muestra ha alcanzado un grado suficiente a través de la cavidad de muestra 1048. Téngase en cuenta que la capa de reactivo 1064 cubre el par de electrodos 1081 corriente arriba en este modo de realización. La cavidad de muestra en este modo de realización requiere aproximadamente 220 nl de líquido de muestra para cubrir los tres pares de electrodos.

Volviendo ahora a la FIG. 11, la tira 1110 comprende la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 1164, la capa de guía de líquido con muesca 1114 con la muesca 1148 y la capa de cubierta 1118. El primer par de electrodos 1170 del extremo de muestra 1166 de la tira 1110 comprende dos electrodos de cinco dedos cada uno, donde cada dedo tiene aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho, y un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  separa cada dedo adyacente. Este par de electrodos se usa para determinar la concentración de interferentes tal como el hematocrito mediante el uso de técnicas de excitación de CA y medición de impedancia.

El segundo par de electrodos 1171 del extremo de muestra 1166 de la tira 1110 comprende dos electrodos de tres dedos cada uno. Cada dedo tiene aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho y un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  que separa los dedos adyacentes. Este sistema deriva una estimación de la concentración de glucosa compensada en temperatura aplicando técnicas de excitación de CA o CC a este segundo par de electrodos 1171. El volumen de muestra requerido para llenar el canal capilar y cubrir los electrodos en este modo de realización es de aproximadamente 69 nl.

Volviendo ahora a la FIG. 12, la tira 1210 comprende el sustrato 212, la banda de reactivo 1264, la guía de líquido con muesca 1114 y la capa de cubierta 1118. El primer par de electrodos 1266 del extremo de muestra 1260 de la tira 1210 incluye dos electrodos de cinco dedos cada uno. Este sistema usa el primer par de electrodos 1266 en la tira 1210 para obtener una medición basándose en parte sustancial en la detección de interferentes para la combinación con otra medición, que se obtiene usando el segundo par de electrodos 1268. El segundo par de electrodos desde el extremo de muestra de la tira 1210 es el par de electrodos 1268, que incluye dos electrodos, teniendo cada uno tres dedos, y el par 1268 está cubierto por la capa de reactivo 1264. Los dedos en el segundo par de electrodos 1268 tienen también aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho y están separados por un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$ . Este segundo par de electrodos 1268 se usa por el sistema para estimar la concentración de analito en la muestra. Mientras que el primer par de electrodos 1266 implementa las técnicas de CA, el segundo par de electrodos 1268 se excita por una señal de CA o CC. Corriente abajo más lejos del extremo de muestra (más allá del segundo par de electrodos 1268) está el tercer electrodo 1270, que es un dedo de electrodo único de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho, conectado mediante el conductor 1274 al contacto 1272. La respuesta de la señal de CA entre este tercer electrodo 1270 y el primer par de electrodos 1166 o el segundo par de electrodos 1168 proporciona una señal de suficiencia de muestra para el sistema. En una variación de este modo de realización, el tercer electrodo 1270 funciona como un electrodo en un circuito con un segundo par de electrodos 1168, para la aplicación de diversas técnicas de detección y medición conocidas en la técnica.

La FIG. 13 muestra la tira 1410, que comprende el sustrato 212, la banda de reactivo 1464, la guía de líquido 1414 con la muesca 1448 y la capa de cubierta 1418. El primer conjunto de electrodos 1170 desde el extremo de muestra 1166 de la tira 1410 incluye dos electrodos, teniendo cada uno cinco dedos. Los dedos en los electrodos 1170 tienen cada uno aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  que separa dedos intercalados adyacentes.

El segundo conjunto de electrodos 1171 comprende dos electrodos que tienen tres dedos cada uno. Los dedos de los electrodos 1171 tienen cada uno aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho, con un hueco de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  entre dedos intercalados adyacentes. Mientras que el primer par de electrodos 1170 se usa por el sistema para determinar el hematocrito de la muestra y calcular un factor de corrección, se deriva una estimación de la concentración de glucosa a partir de la respuesta del segundo conjunto de electrodos 1171 en presencia de la muestra y el reactivo. El tercer par de electrodos 1471 es dos electrodos que tienen dos dedos cada uno. En este modo de realización, se aplica un potencial a través del tercer par 1471 hasta que la muestra alcanza el par, cambiando así la impedancia presentada entre los electrodos. El sistema puede luego concluir que la muestra ha cubierto suficientemente el primer conjunto 1170 y el segundo conjunto 1171 de electrodos para hacer un análisis exacto. Se requiere un volumen de muestra de aproximadamente 63 nl para cubrir los tres conjuntos de electrodos en este modo de realización ejemplar.

La FIG. 14 muestra la tira 1410, que tiene la capa de sustrato 212, la banda de reactivo 1464, la guía de líquido con muesca 1414 (con la muesca 1448) y la capa de cubierta 1418. El primer par de electrodos 1466 define una primera zona de detección 1476, y comprende dos electrodos de cinco dedos cada uno. Los dedos tienen aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  a través, e incluyen un hueco de aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  entre dedos intercalados. Este par 1466 se usa para proporcionar una respuesta que refleja el hematocrito de la muestra, permitiendo que el sistema corrija la concentración estimada de glucosa en la muestra según se determina al usar el segundo par de electrodos 1468. El segundo par de electrodos 1468 define la segunda zona de detección 1478, e incluye dos electrodos que tienen tres dedos cada uno. Los tamaños de dedo y los huecos para el segundo par de electrodos 1468 son los mismos que para el primer par de electrodos 1466. El segundo par de electrodos 1468 se usa para obtener factores de corrección para la estimación de concentración obtenida por el primer par de electrodos 1166, y usa técnicas de medición de CA/impedancia.

La fig. 15 muestra la tira 1510, una variación de la tira en la fig. 11, donde los pares de electrodos 1570 y 1571 y las capas que los cubren se modificarían ligeramente. En particular, el par de electrodos 1570 comprende un electrodo de trabajo que tiene cuatro dedos, cada uno de 50  $\mu\text{m}$  de ancho con un ancho de hueco de 20  $\mu\text{m}$ . El contraelectrodo correspondiente en el par de electrodos 1570 tiene tres dedos, también de 50  $\mu\text{m}$  de ancho. El segundo par de electrodos 1571 comprende un electrodo de trabajo que tiene dos dedos, cada uno de 100  $\mu\text{m}$  de ancho, y un contraelectrodo que tiene un único dedo que también tiene 100  $\mu\text{m}$  de ancho, con un ancho de hueco de 20  $\mu\text{m}$ . En este modo de realización, el reactivo 1564 cubriría solo el par de electrodos 1571, mientras que el recubrimiento 1565 cubriría el par de electrodos 1570. El recubrimiento 1565 es un recubrimiento selectivo de la permeabilidad, selectivo del tamaño, selectivo de iones u otro que limita las porciones o componentes de la muestra que afectan a la medición en el par de electrodos 1570, como se conoce bien en la técnica. En variaciones de este modo de realización, estarían presentes tres o más pares de electrodos, y cada par de electrodos estaría cubierto con un reactivo diferente u otro recubrimiento, o una combinación de recubrimientos para proporcionar un número correspondiente de mediciones con diferentes sensibilidades, en los que las mediciones se combinarían para determinar la salida de medición final. Por lo demás, excepto por las constantes y funciones derivadas de la geometría de la celda y la selección del recubrimiento 1565 y el reactivo 1564, la medición se produce como se describe en relación con la fig. 11.

Diversos aspectos de los modos de realización descritos se pueden combinar como se desee o sea necesario, de acuerdo con los parámetros de diseño y las preferencias para un sistema dado. Por ejemplo, puede haber una correspondencia de uno a uno entre los electrodos y los contactos en una tira, como se muestra, por ejemplo, en la FIG. 4. De forma alternativa, todos los electrodos en los que los dedos se combinan en el mismo lado de una tira pueden estar conectados eléctricamente al mismo contacto, como se muestra, por ejemplo, en la FIG. 5, proporcionando una relación de muchos a uno.

Además, cualquier diseño analizado en el presente documento puede acomodar uno o más electrodos de "suficiencia de dosis" corriente abajo de los usados para analizar la muestra, como se muestra en las FIG. 11 y 14. Dichos electrodos de suficiencia de dosis pueden comprender dos o más electrodos, y la circuitería asociada podría determinar si la muestra ha alcanzado esos electrodos basándose en la impedancia presentada entre ellos. Los modos de realización alternativos incluyen un electrodo de suficiencia de dosis único, y la circuitería del medidor y del excitador usan la impedancia entre el mismo y un electrodo de medición (contraelectrodo o electrodo de trabajo, par de estimación o corrección) para detectar la presencia del líquido de muestra en el espacio entre esos electrodos.

Como se describe previamente, el biosensor puede incluir de manera similar un sistema de electrodos de detección de dosis que sea comparable al sistema de electrodos de suficiencia de dosis excepto que esté localizado más cerca del borde de la tira reactiva, corriente arriba de los electrodos de medición cuando la muestra entra a la tira reactiva. Dicho sistema de electrodos de detección de dosis puede incluir un único electrodo que funcione en combinación con la medición u otros electrodos proporcionados por separado. De forma alternativa, el sistema de electrodos de detección de dosis puede incluir un par de electrodos que cooperen entre sí para indicar cuándo un líquido de muestra ha llenado el hueco entre los electrodos de detección de dosis. Por lo tanto, se observa que los electrodos de detección de dosis son análogos a los electrodos de suficiencia de dosis en términos de

funcionamiento, pero difieren en cuanto a la localización de los electrodos en su posición corriente arriba con relación a los electrodos de medición.

5 En otras variaciones, se usa un termistor en el sistema para determinar la temperatura, que se usa junto con la lectura del hematocrito para corregir la estimación de glucosa. En otras, el segundo par de electrodos proporciona una estimación de glucosa compensada en temperatura usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

10 En aún otras variaciones, el par de electrodos que la muestra encuentra primero es un par de macroelectrodos, mientras que en otras, es un par de microelectrodos. En cualquier caso, cada electrodo comprende 1, 2, 3, 4, 5 o más dedos de dimensión apropiada, todos conectados eléctricamente tanto entre sí como a un contacto para la comunicación con la electrónica del medidor/excitador.

15 Aún variaciones adicionales usan otras combinaciones de mediciones para lograr los resultados deseados. En general, estas variaciones aplican señales eléctricas a dos o más electrodos para obtener un número correspondiente de señales de respuesta. Debido a la diferencia en la señal (CA frente a CC, espectro, amplitud y similares), la forma o dimensiones del electrodo, el reactivo aplicado a la muestra (o posiblemente la falta de reactivo en uno o más electrodos), y/u otras diferencias, las señales de respuesta son sensibles a diferentes combinaciones de concentración de analito e interferentes. En un ejemplo de este tipo, una primera respuesta se correlaciona con el hematocrito de la muestra, mientras que una segunda respuesta se correlaciona con una combinación de hematocrito y la concentración de glucosa en la muestra. En otro ejemplo de este tipo, una primera respuesta se correlaciona con la temperatura, una segunda respuesta se correlaciona con una combinación de temperatura y hematocrito, y una tercera respuesta se correlaciona con una combinación de temperatura, hematocrito y glucosa. Es probable que la(s) función/funciones de resultado varíen para cada diseño, pero se pueden determinar empíricamente por los expertos en la técnica sin excesiva experimentación.

25 Los expertos en la técnica apreciarán que, mientras los modos de realización del presente documento se han descrito en términos de combinación de mediciones o de tomar una medición y determinar un factor de corrección, los sistemas de acuerdo con la presente invención pueden usar cualquier geometría adecuada y cualquier técnica apropiada para obtener y combinar la pluralidad de mediciones para lograr la detección final o el resultado de la medición. Es decir, aquellos que llevan a la práctica la presente invención pueden usar más o menos electrodos, y cualquier fórmula para combinar lecturas que sea adecuada a la luz de las geometrías, reactivos y otras elecciones de diseño del sistema hechas en conexión con ese diseño.

30 La detección exacta de analitos se puede lograr en un sistema basado en tiras de volumen más pequeño de acuerdo con la presente invención, sin impacto perjudicial para el conector, que en los sistemas de la técnica anterior. Esto permite que una muestra más pequeña sea suficiente para la medición, ahorrando tiempo y molestias para los usuarios del sistema.

35 Mientras que la invención se ha ilustrado y descrito en detalle en los dibujos y la descripción anterior, la misma se debe considerar como ilustrativa y no de carácter restrictivo, entendiéndose que solo se han mostrado y descrito los modos de realización preferentes y que se desean proteger todos los cambios y modificaciones que se le ocurriría a un experto en la técnica relevante.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1.) Una tira reactiva (310, 410, 510, 610, 710, 810, 1010) para someter a prueba un analito en un líquido corporal u otro usando matrices de electrodos múltiples con diferentes sensibilidades a interferentes, definiendo la tira reactiva un paso capilar (214), estando dimensionado el paso de manera que induzca el movimiento de una muestra de líquido corporal a lo largo de una trayectoria predeterminada a través del paso, comprendiendo la tira reactiva:
- 10 un primer conjunto de electrodos (284, 480, 661, 1081) en comunicación eléctrica con el paso para obtener una primera medición correlacionada con la concentración de un analito en la muestra; y
- 15 un segundo conjunto de electrodos (280, 484, 572, 1082) en comunicación eléctrica con el paso para obtener una segunda medición correlacionada con el analito y una o más propiedades de la muestra;
- 20 caracterizada por que
- un conjunto de electrodos que comprende un par de electrodos con dedos intercalados sustancialmente paralelos, teniendo cada electrodo (284, 484, 661, 1082) al menos dos dedos, y estando cada uno de los dedos a menos de aproximadamente 50 µm del otro dedo más cercano; y siendo los electrodos (280, 480, 572, 1081) del otro conjunto rectangulares y teniendo una separación mayor que aproximadamente 250 µm entre los puntos más cercanos de los mismos.
- 25 2.) La tira reactiva de la reivindicación 1, en la que el un conjunto de electrodos comprende adicionalmente que cada uno de los dedos tenga menos de 50 µm de ancho.
- 30 3.) La tira reactiva de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un tercer conjunto de electrodos (1083) en comunicación eléctrica con la trayectoria para determinar cuándo una muestra ha entrado una distancia predeterminada en el paso.
- 35 4.) La tira reactiva de la reivindicación 3, en la que el tercer conjunto de electrodos es un único electrodo que está más cerca de la entrada del paso que tanto el primer conjunto de electrodos como el segundo conjunto de electrodos.
- 40 5.) La tira reactiva de la reivindicación 3, en la que el tercer conjunto de electrodos comprende un primer electrodo de detección de dosis y un segundo electrodo de detección de dosis, estando ambos más cerca de una entrada del paso que tanto el primer como el segundo conjunto de electrodos.
- 45 6.) La tira reactiva de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un tercer conjunto de electrodos en comunicación eléctrica con la trayectoria para determinar cuándo una muestra ha llenado el paso para cubrir el primer conjunto de electrodos y el segundo conjunto de electrodos, en la que el tercer conjunto de electrodos comprende un electrodo de trabajo de suficiencia de muestra y un contraelectrodo de suficiencia de muestra, ambos de los cuales están más alejados de la entrada del paso que tanto el primer conjunto de electrodos como el segundo conjunto de electrodos.
- 50 7.) La tira reactiva de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente material reactivo sobre el primer conjunto de electrodos, donde el material reactivo se combina con el líquido corporal para producir una reacción de oxidorreducción.
- 8.) La tira reactiva de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente material reactivo sobre el segundo conjunto de electrodos, donde el material reactivo se combina con el líquido corporal para producir una reacción de oxidorreducción.

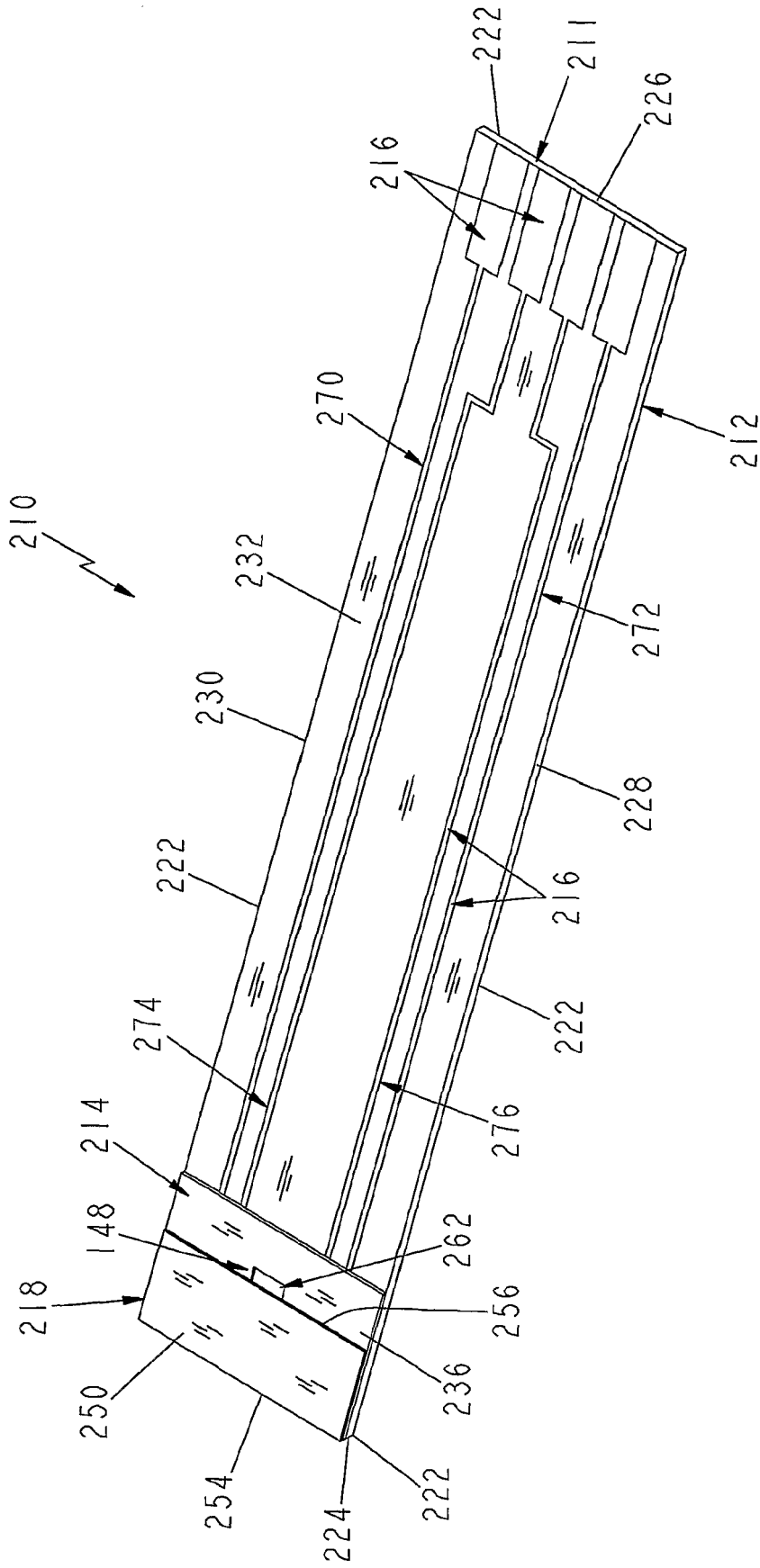


FIG. 1



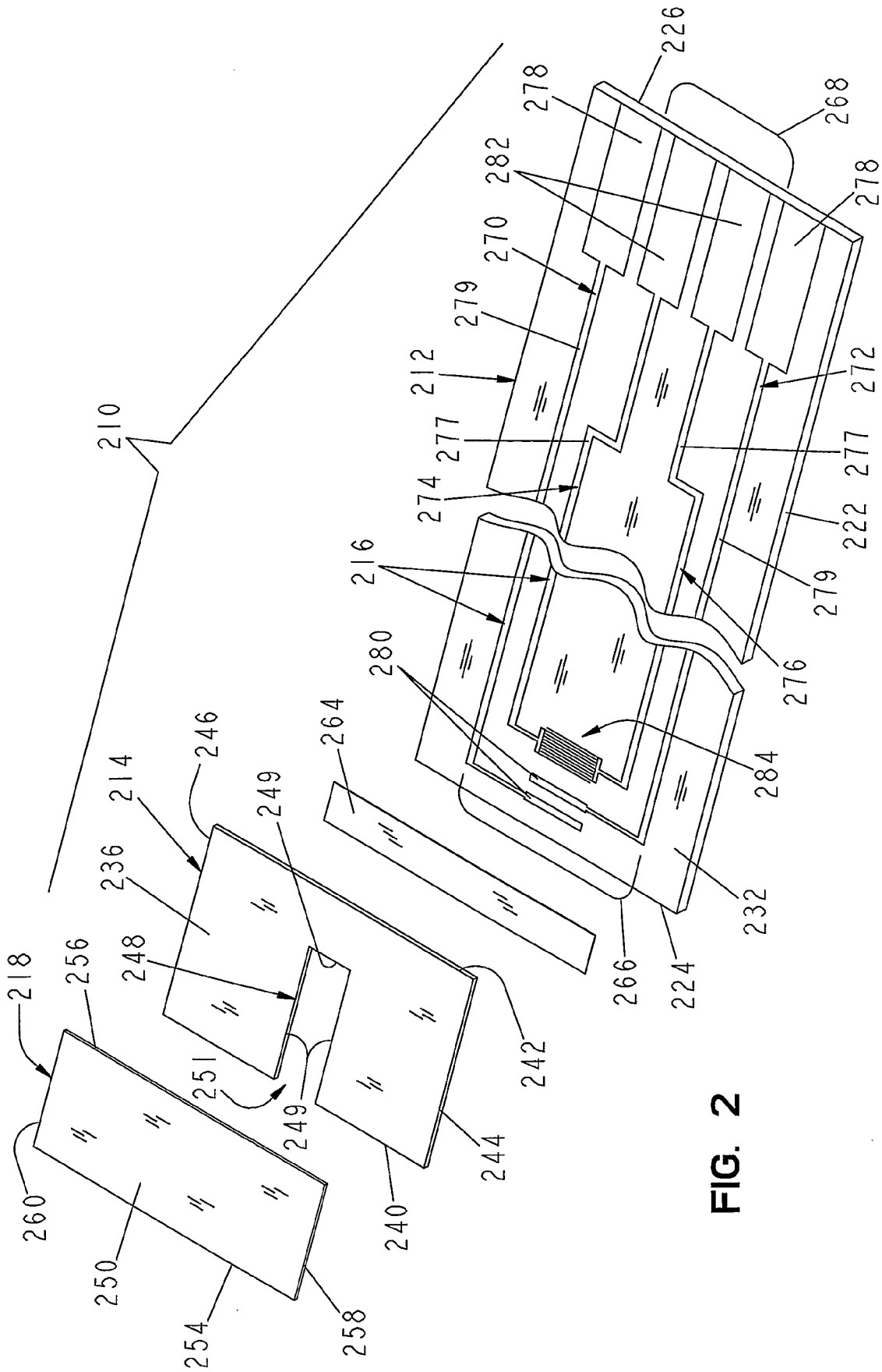
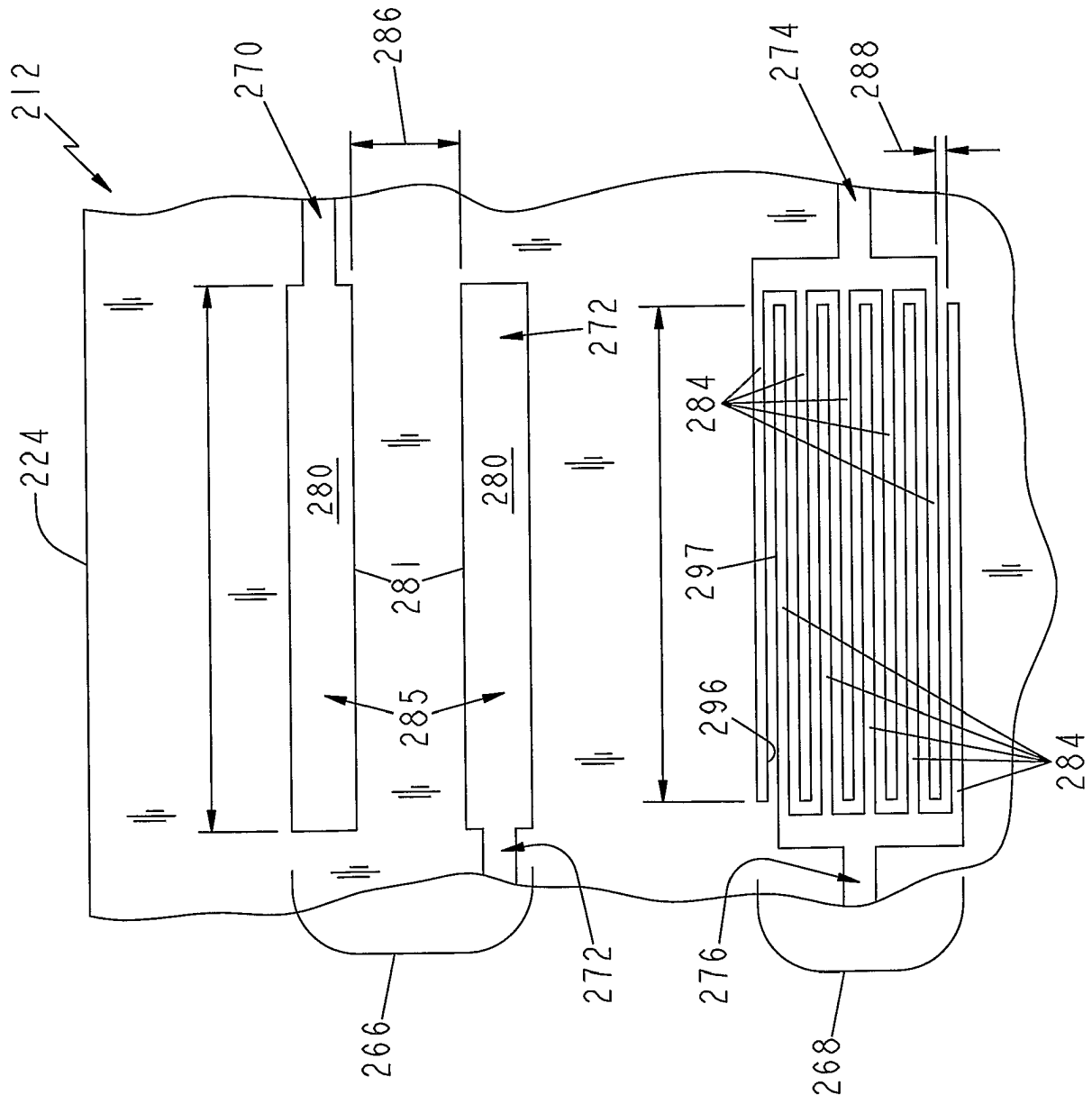


FIG. 2

FIG. 3



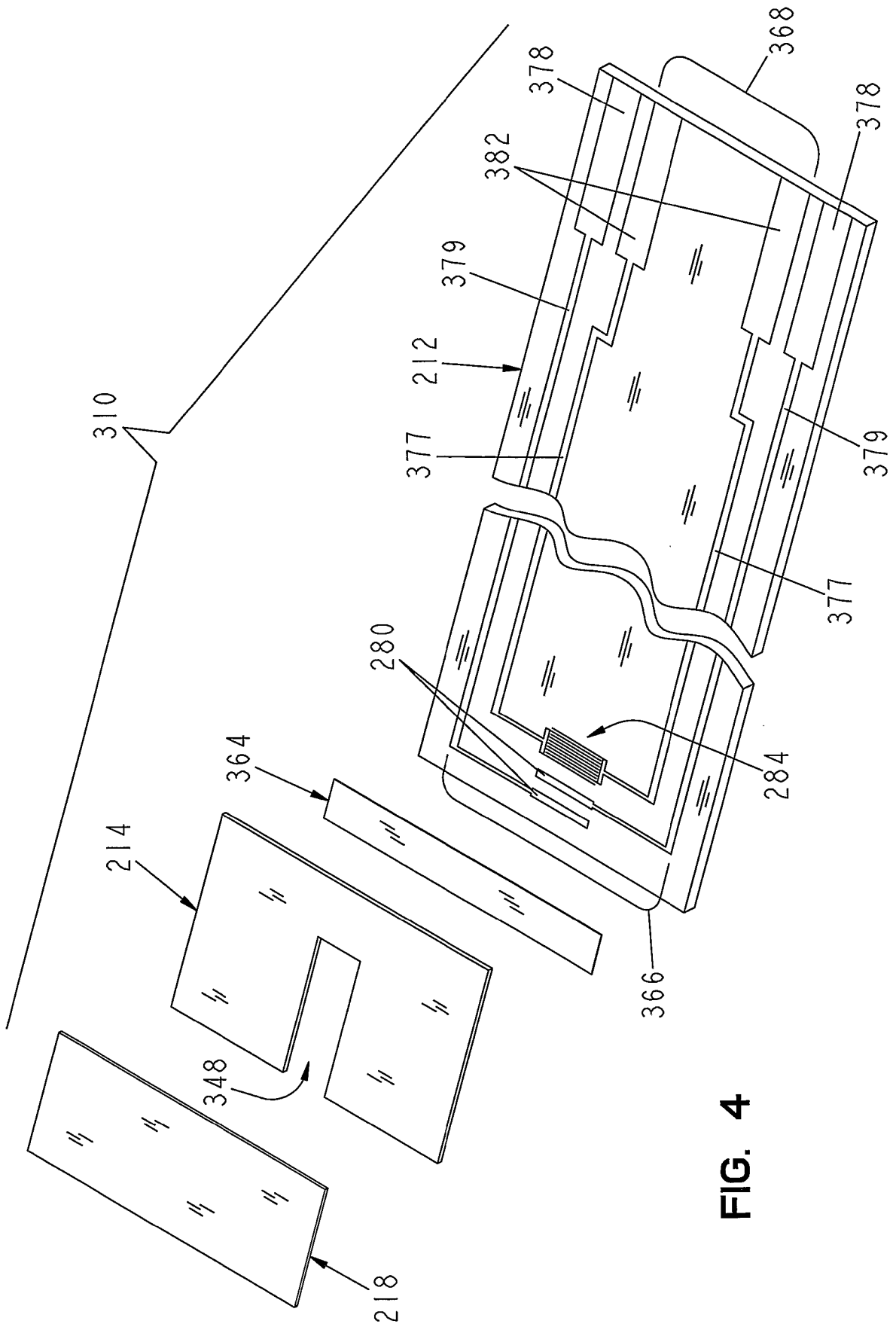
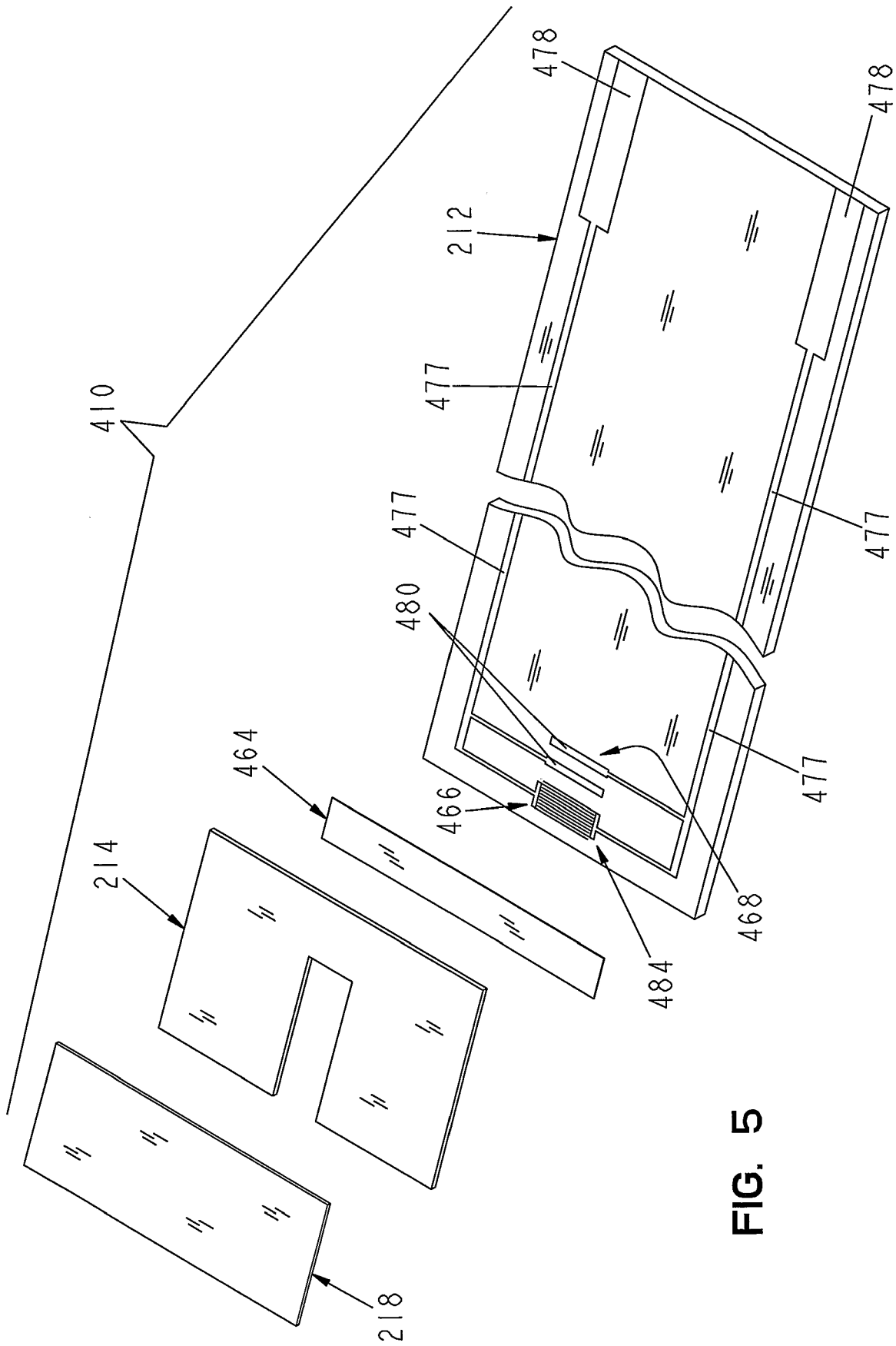


FIG. 4



**FIG. 5**

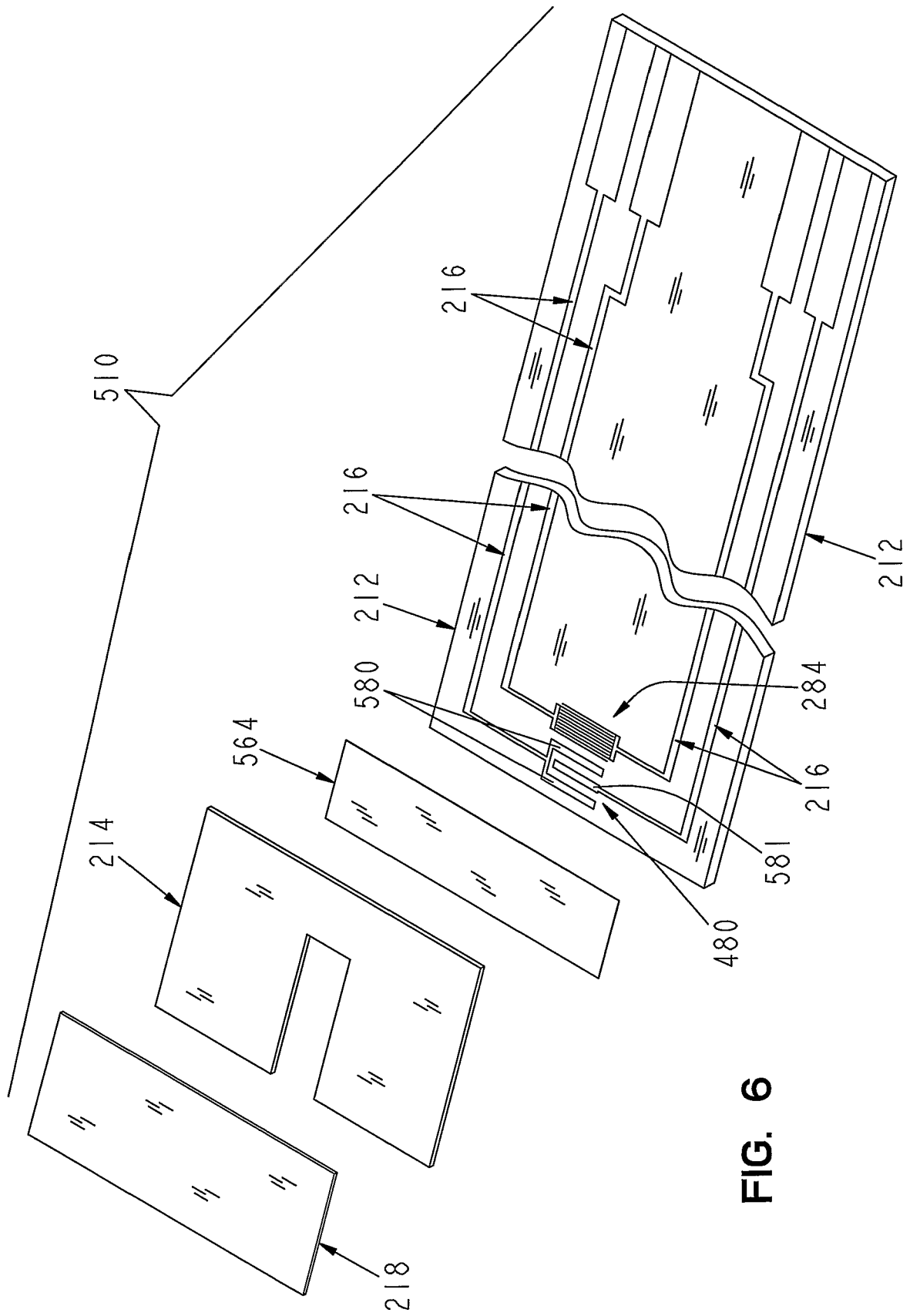


FIG. 6

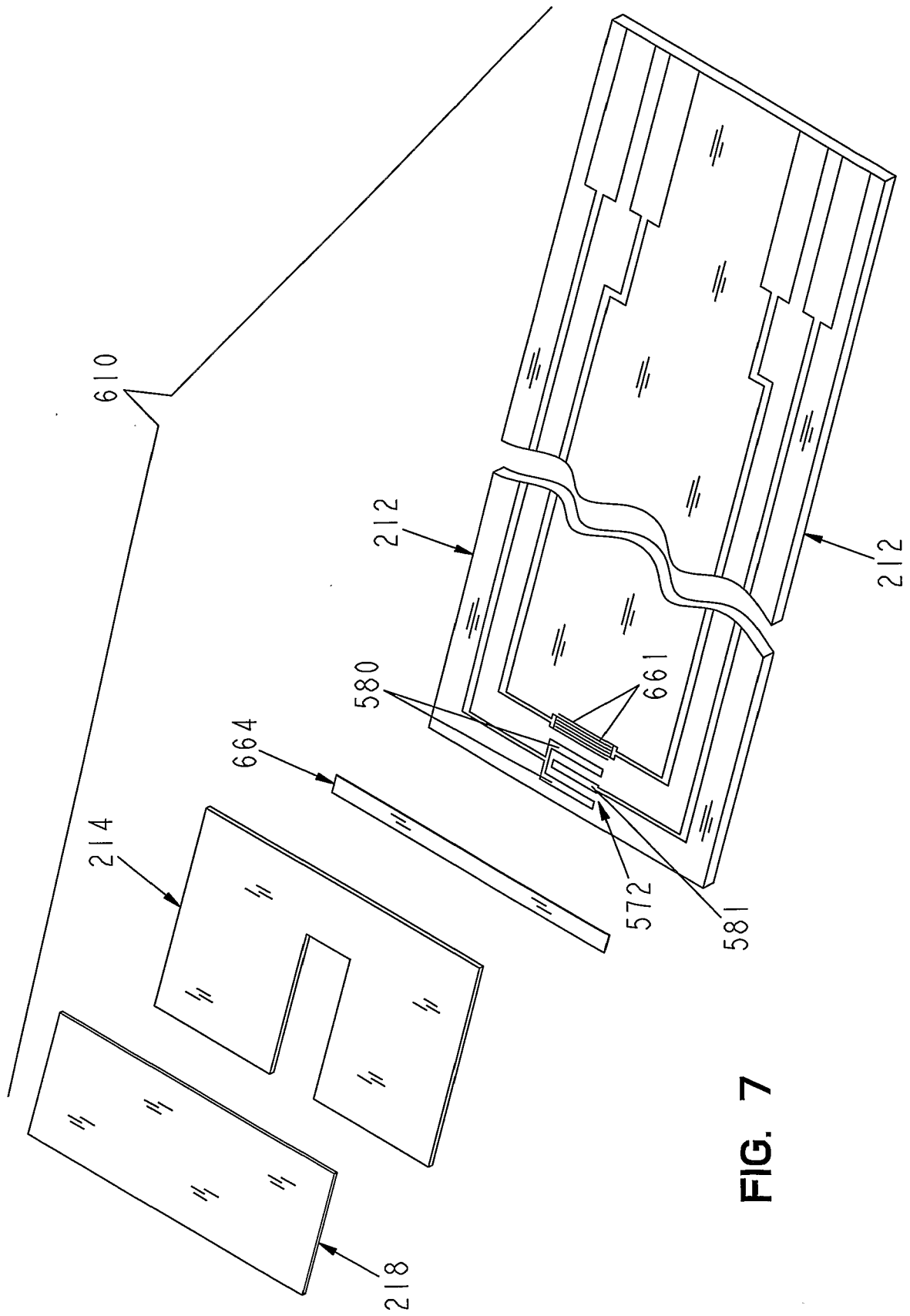


FIG. 7

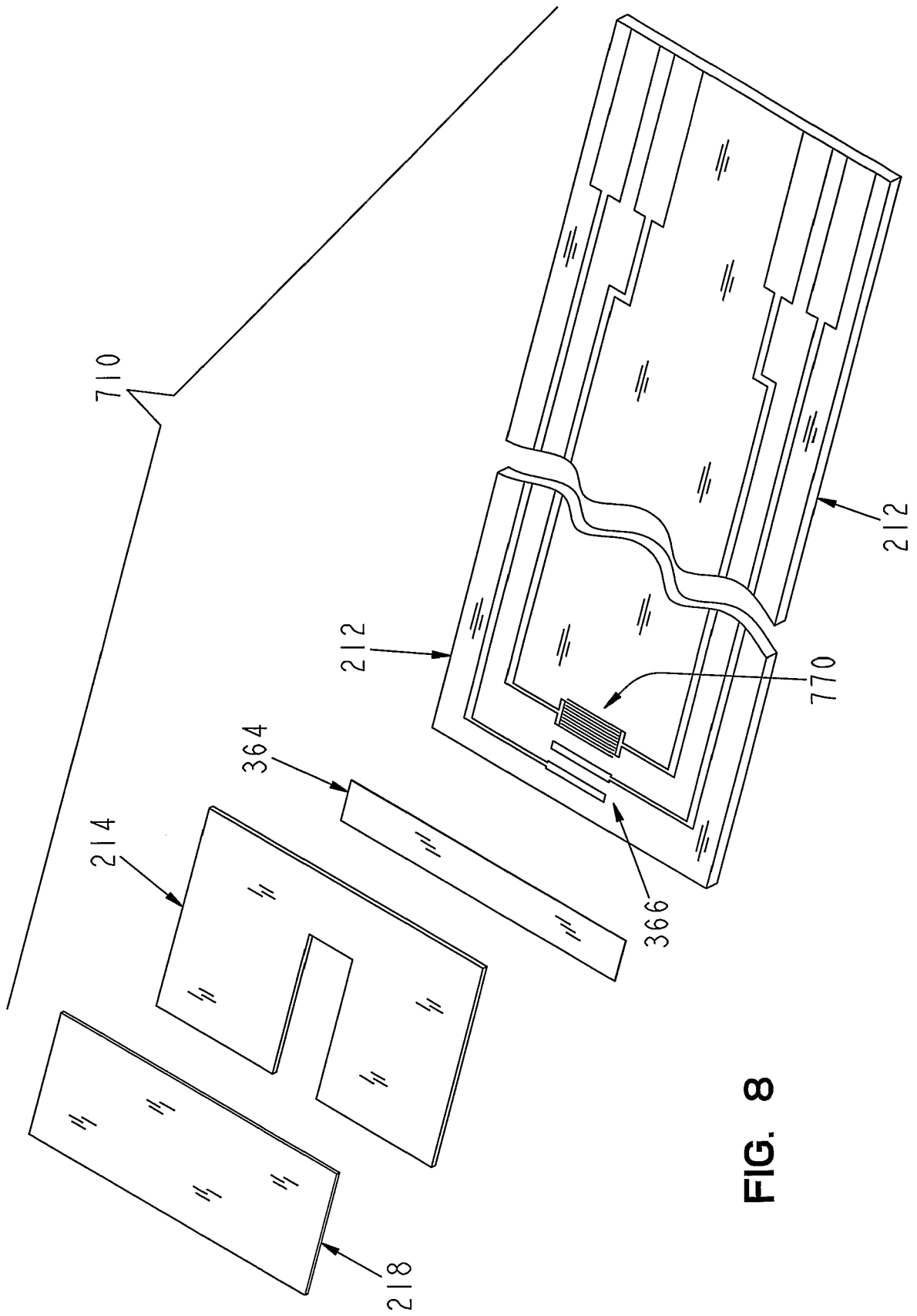


FIG. 8

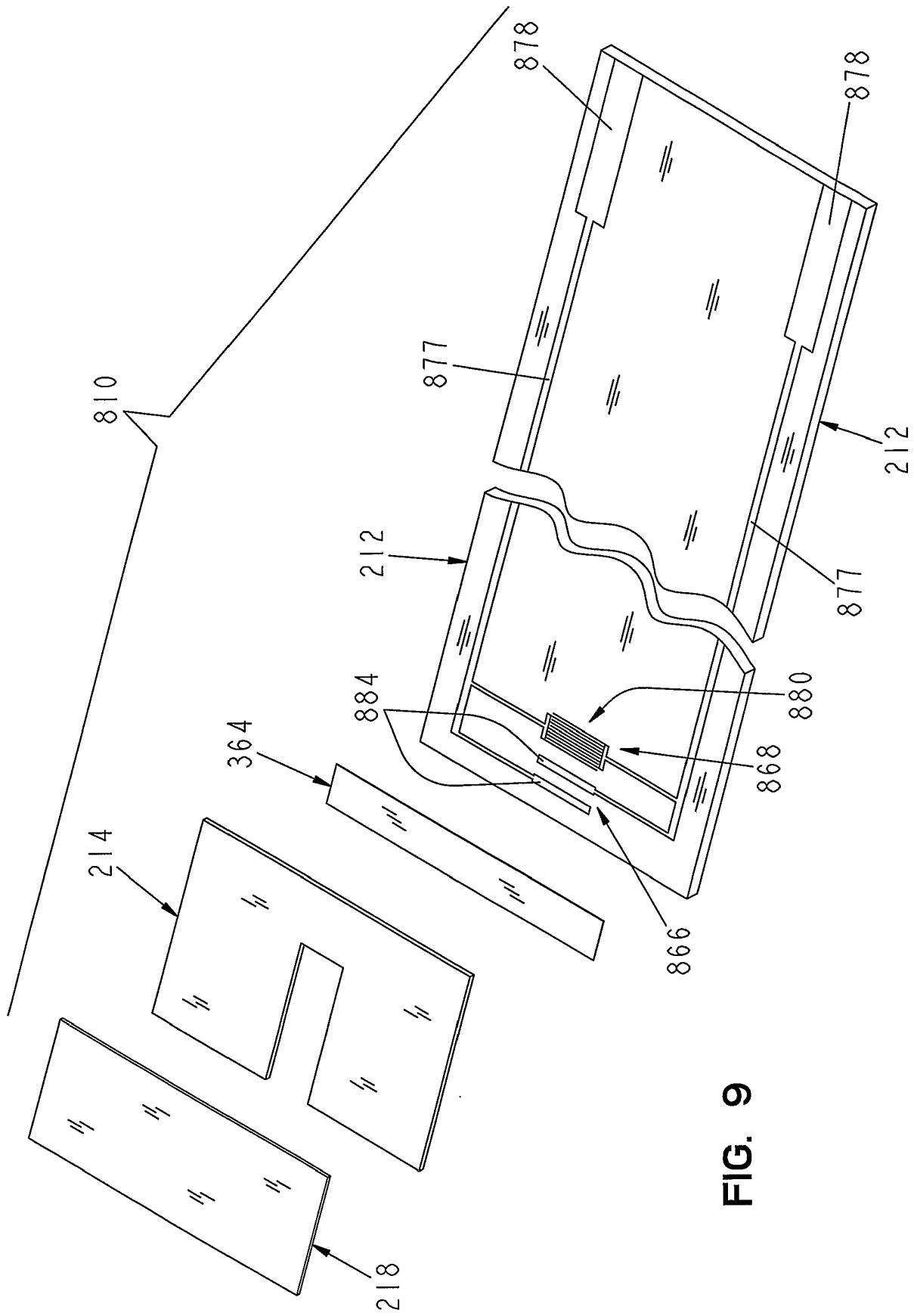
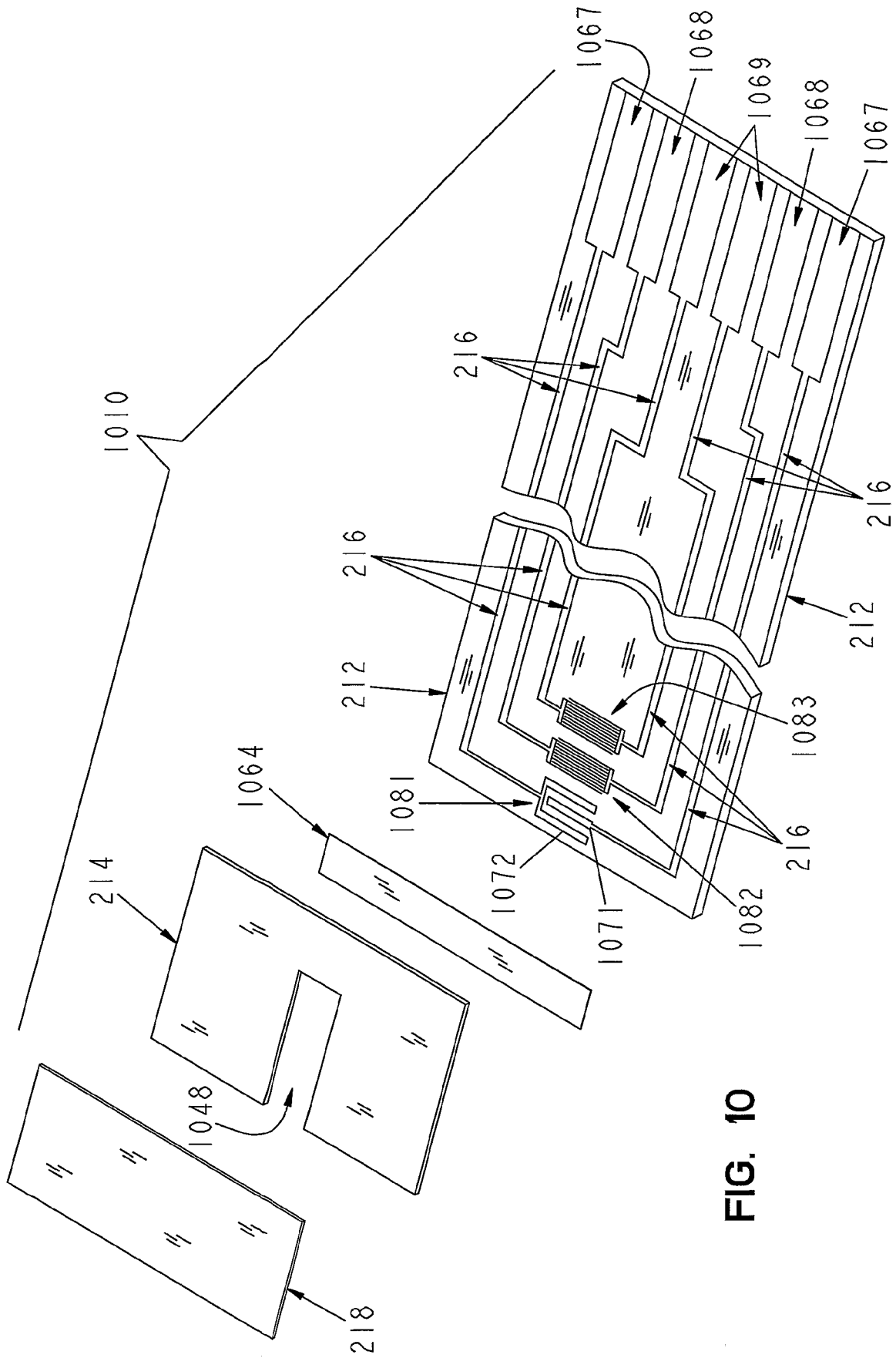


FIG. 9





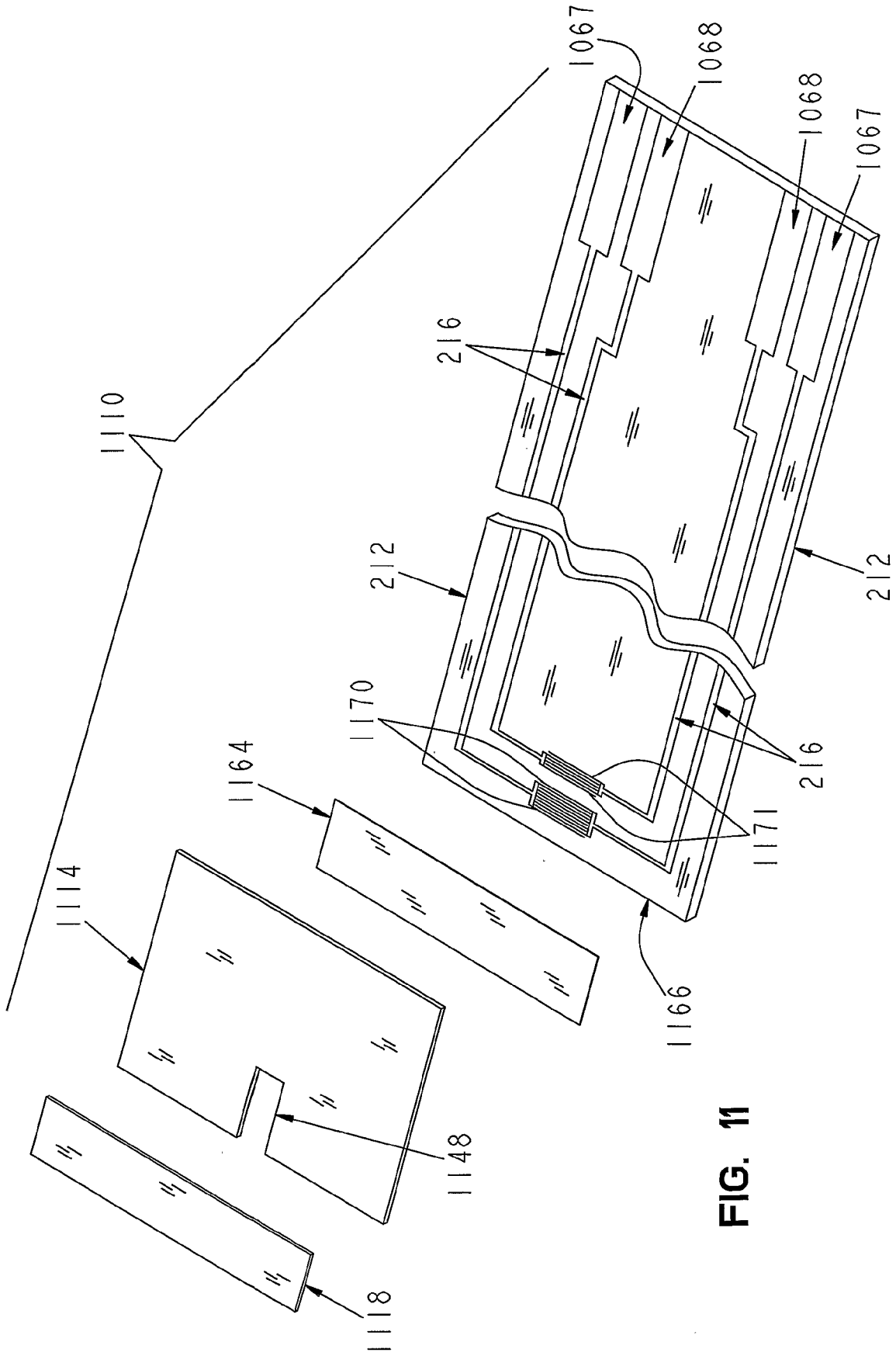


FIG. 11

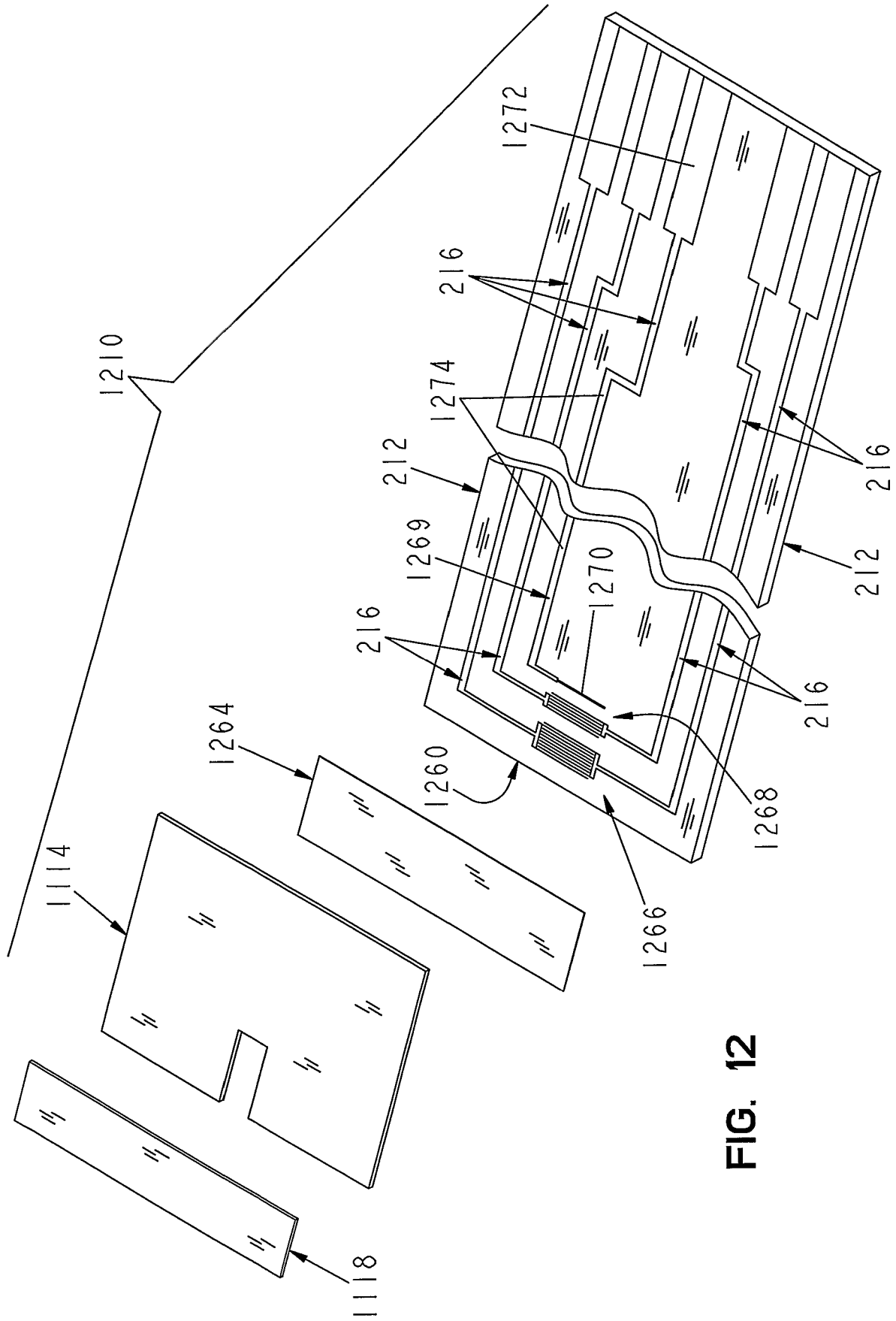


FIG. 12

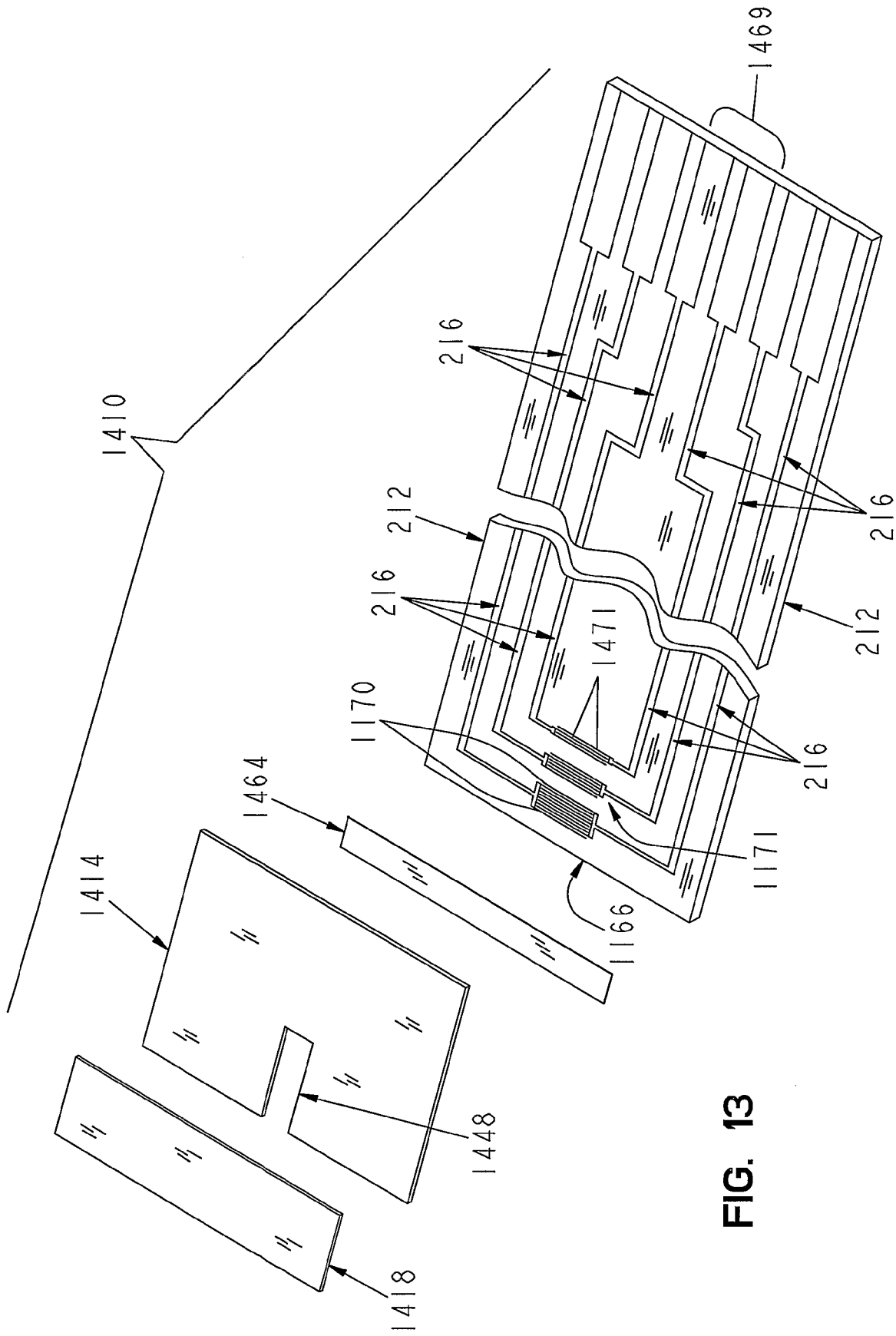
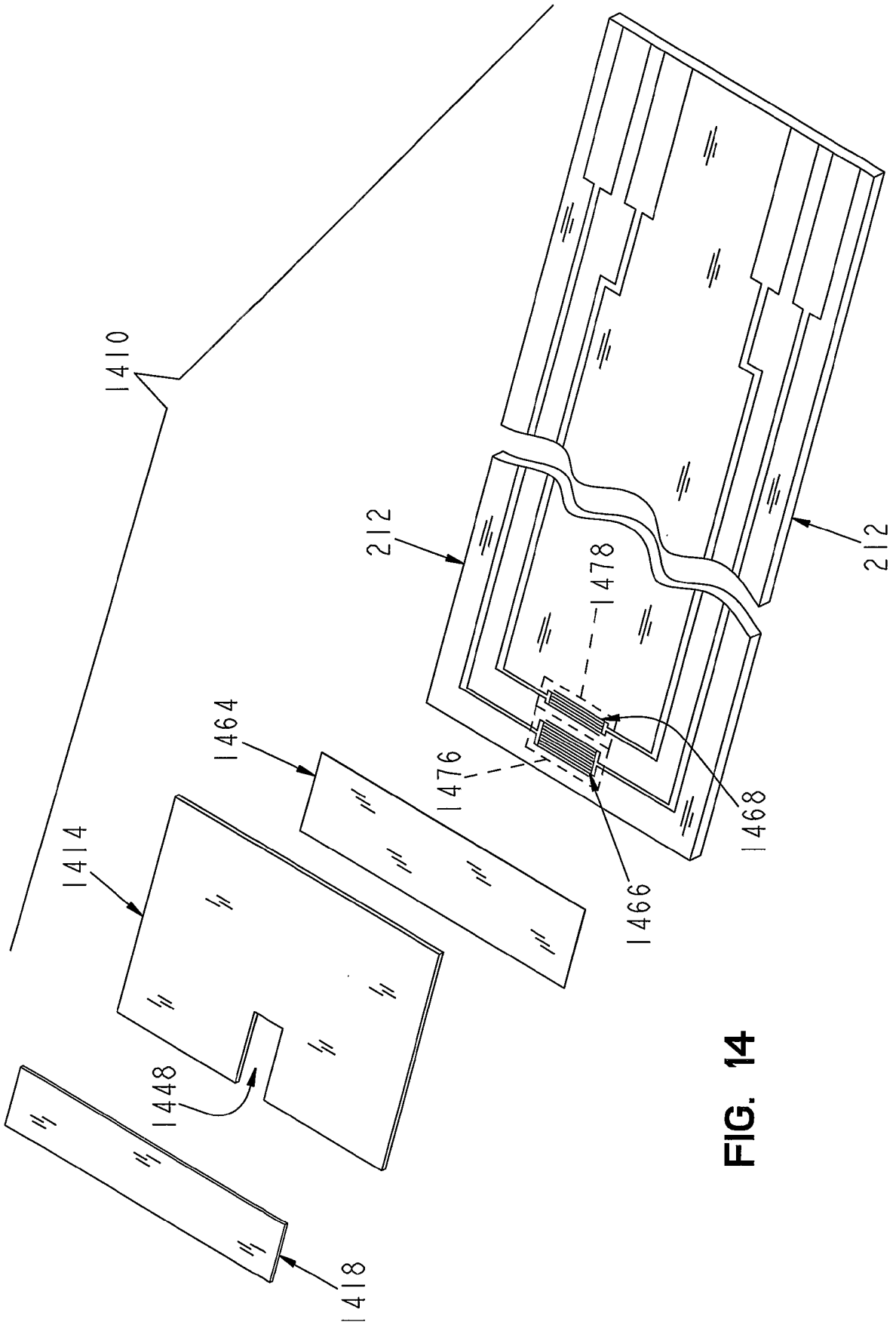


FIG. 13



**FIG. 14**

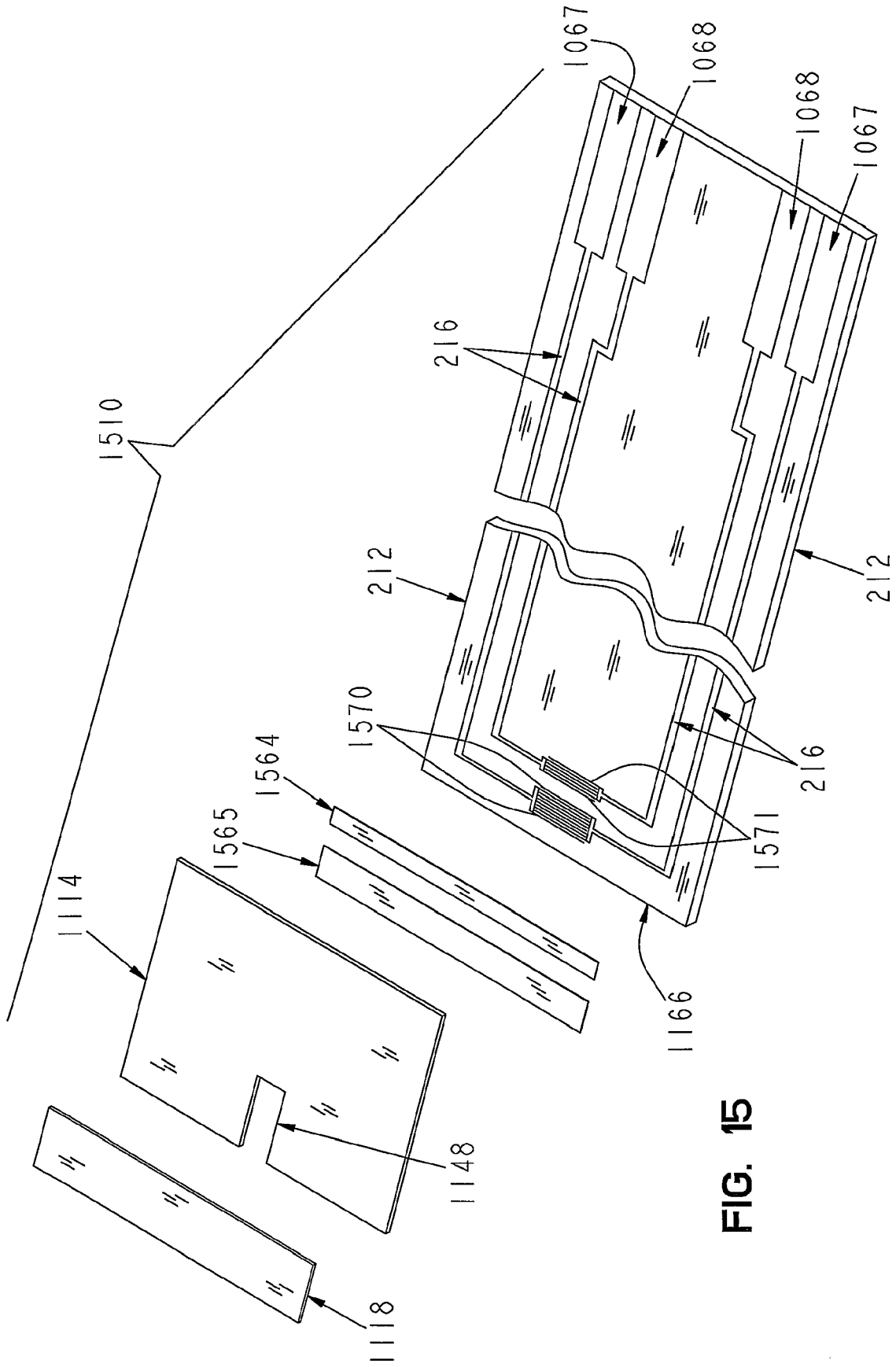


FIG. 15