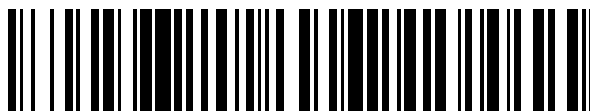


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 553**

51 Int. Cl.:

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2010 E 10252088 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2333542**

54 Título: **Método y sistema de suficiencia de llenado**

30 Prioridad:

11.12.2009 US 285916 P

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

13.04.2018

73 Titular/es:

**LIFESCAN SCOTLAND LTD (100.0%)
Beechwood Park North Inverness
Inverness-shire IV2 3ED, GB**

72 Inventor/es:

**RODGERS, JAMES IAIN;
MILLS, LEANNE;
CARDOSI, MARCO;
LEACH, CHRIS y
MOFFAT, JAMES**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 663 553 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).

Método y sistema de suficiencia de llenado**Descripción**

5 Esta solicitud se refiere a un sistema de medición que tiene un medidor y una tira reactiva.

Antecedentes

10 Los sensores electroquímicos se han usado durante mucho tiempo para detectar o medir la presencia de sustancias en muestras de fluidos. Los sensores electroquímicos incluyen una mezcla reactiva que contiene al menos un agente de transferencia de electrón (también referido como "mediador de electrón") y una proteína bio-analítica específica de analito (por ejemplo, una enzima particular), y uno o más electrodos. Tales sensores dependen de la transferencia de electrón entre el mediador de electrón y las superficies de electrodo y funcionan midiendo las reacciones redox electroquímicas. Cuando se usan en un sistema o dispositivo biosensor electroquímico, las reacciones de transferencia de electrón se controlan por medio de una señal eléctrica que se correlaciona con la concentración del analito que se está midiendo en la muestra de fluido.

20 El uso de tales sensores electroquímicos para detectar analitos en fluidos corporales, como sangre o productos derivados de sangre, lágrimas, orina y saliva, se ha hecho importante y, en algunos casos, vital para mantener la salud de ciertos individuos. En el campo del cuidado de la salud, personas como diabéticas, por ejemplo, deben controlar un constituyente particular en sus fluidos corporales. Un número de sistemas son capaces de analizar un fluido corporal, como sangre, orina o saliva, para controlar de manera conveniente el nivel de un constituyente fluido particular, como colesterol, proteínas y glucosa. Los pacientes que sufren diabetes, un trastorno del páncreas donde la producción insuficiente de insulina previene la digestión apropiada de azúcar, necesitan controlar cuidadosamente sus niveles de glucosa en sangre diariamente. Los análisis rutinarios y un control de glucosa en sangre para personas con diabetes pueden reducir el riesgo de daños serios en ojos, nervios y riñones.

25 Los biosensores electroquímicos pueden estar afectados negativamente por la presencia de sustancias obstaculizadoras en la muestra de análisis que pueden afectar indeseablemente a la medición y llevar a imprecisiones en la señal detectada. Otra fuente de imprecisión viene de la muestra insuficiente que se está aplicando a la tira reactiva. Estas fuentes de imprecisión pueden provocar una lectura imprecisa de glucosa, y que el paciente no sea consciente de un nivel de glucosa en sangre potencialmente peligroso.

30 Se conoce, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos N° 5.582.697, la existencia de un electrodo de detección de llenado adicional situado corriente abajo del electrodo de trabajo para determinar que un volumen suficiente de fluido se ha aplicado a la tira reactiva. Un electrodo adicional aumenta el tamaño de la célula del electrodo que aumenta el tamaño de la muestra requerida para llenar la célula.

Resumen de la divulgación

40 Los solicitantes han reconocido una necesidad de un sistema y método que pueden usarse para determinar suficiencia de volumen de una muestra de fluido aplicada a una tira reactiva donde no es necesario un electrodo separado de detección de llenado.

45 En vista de lo anterior y de acuerdo con un aspecto, se proporciona un método para determinar la suficiencia de volumen de una muestra de fluido aplicada a una tira reactiva como se expone en la reivindicación 1. Un sistema de medición de analito que comprende un medidor de analito configurado para realizar el método reivindicado se expone en la reivindicación 6. Las características preferentes adicionales se detallan en las reivindicaciones dependientes acompañantes.

Breve descripción de los dibujos

50 Los dibujos acompañantes, que aquí se incorporan y constituyen parte de esta especificación, ilustran realizaciones de la invención preferentes en el presente, y, junto con la descripción general dada anteriormente y la descripción detallada dada más abajo, sirven para explicar características de la invención (donde los mismos números representan los mismos elementos), de los cuales:

55 La Figura 1 ilustra una vista superior de un sistema para medir al menos dos concentraciones de analito;
 La Figura 2 ilustra una vista en perspectiva en despiece de una tira reactiva;
 60 La Figura 3 ilustra una vista superior de la tira reactiva mostrada en la Figura 2;
 Las Figuras 4A y 4B ilustran realizaciones ejemplares de una vista superior de una capa mediadora y una capa reactiva dispuestas sobre una capa conductora en una parte distal de una tira reactiva;
 La Figura 5 ilustra una realización ejemplar de un esquema de los componentes funcionales del medidor mostrado en la Figura 1 que forman una conexión eléctrica con la tira reactiva de las Figuras 2 y 3;

65

La Figura 6 ilustra una realización ejemplar de un diagrama de flujo de un método para determinar suficiencia de volumen usando el sistema mostrado en la Figura 1;

La Figura 7 ilustra una realización ejemplar de un diagrama que muestra los voltajes de prueba aplicados por el medidor a la tira reactiva;

5 La Figura 8A ilustra una realización ejemplar de un diagrama que muestra corrientes de prueba generadas cuando los voltajes de prueba se aplican a la tira reactiva;

La Figura 8B ilustra la corriente de prueba generada en el segundo electrodo cuando los voltajes de prueba de la Figura 7 se aplican a la tira reactiva;

10 La Figura 8C ilustra la correlación entre la corriente generada en el primer electrodo en t_1 y la corriente en el segundo electrodo t_T basada en datos históricos generados para un grupo de tiras reactivas calibradas.

La Figura 8D ilustra la correlación entre la segunda corriente t_T y la segunda corriente real t_T .

La Figura 9A ilustra una rejilla consensuada de errores antes de aplicar una realización ejemplar del método objeto a los datos obtenidos con tiras de ensayo como se muestra en las Figuras 2 y 3;

15 La Figura 9B ilustra una rejilla consensuada de errores después de aplicar una realización ejemplar del método objeto a los datos obtenidos con tiras de ensayo como se muestra en las Figuras 2 y 3;

Descripción detallada de realizaciones ilustrativas

20 La siguiente descripción detallada debería leerse con referencia a los dibujos, donde los mismos elementos en diferentes dibujos están idénticamente numerados. Los dibujos, que no son necesariamente a escala, representan realizaciones seleccionadas y no pretenden limitar el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, y no a modo de limitación, los principios de la invención. Esta descripción posibilitará claramente a un experto en la técnica a hacer y usar la invención, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, incluyendo lo que en el presente se cree que es el mejor modo de realizar la invención.

25 Como aquí se usan, los términos “alrededor de” o “aproximadamente” para cualquier valor o rango numérico indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que parte de o la colección de componentes funcionen para su fin previsto como aquí se describe. Además, como aquí se usan, los términos “paciente”, “huésped”, “usuario” y “sujeto” se refieren a cualquier sujeto humano o animal y no pretenden limitar los sistemas o métodos a uso humano, aunque el uso de la invención objeto en un paciente humano representa una realización preferente.

30 La Figura 1 ilustra un sistema 100 para medir al menos dos concentraciones de analito donde el sistema 100 incluye un medidor 102 y una tira reactiva 200. El medidor 102 incluye un monitor 104, una caja 106, una pluralidad de botones de interfaz de usuario 108, y un puerto de tira 110. El medidor 102 puede además incluir un circuito electrónico dentro de la caja 106 como una memoria 120, un microprocesador 122, componentes electrónicos para aplicar un voltaje de prueba, y también para medir al menos dos valores de corriente de prueba. Una parte proximal 204 de la tira de ensayo 200 puede insertarse en el puerto de tira 110. El monitor 104 puede generar al menos dos concentraciones de analito, por ejemplo, concentración de glucosa y/o cetona, y puede usarse para mostrar una interfaz de usuario para estimular a un usuario a realizar una prueba. La pluralidad de botones de interfaz de usuario 108 permite a un usuario operar el medidor 102 navegando a través del software de interfaz de usuario. El monitor 104 puede incluir opcionalmente una luz trasera.

35 Un puerto opcional de datos 114 acepta un conector adecuado unido a un cable conector, lo que permite que el medidor 102 se enlace con un dispositivo externo como un ordenador personal. El puerto de datos 114 puede ser cualquier puerto que permita la transmisión de datos (en serie o en paralelo) como, por ejemplo, puerto en serie o en paralelo en forma con cable o sin cable. Un ordenador personal, que tenga un software apropiado, permite la entrada y modificación de información de configuración (por ejemplo, hora actual, fecha e idioma) y puede realizar análisis de datos recogidos por el medidor 102. Además, el ordenador personal puede ser capaz de realizar funciones de análisis avanzado y/o transmitir datos a otros ordenadores (esto es, mediante internet) para un mejor diagnóstico y tratamiento. El medidor conector 102 con un ordenador local o remoto facilitar un tratamiento mejorado a los profesionales sanitarios.

40 Las Figuras 2 y 3 son vistas ejemplares en perspectiva en despiece y superior montada, respectivamente, de la tira reactiva 200, que puede incluir siete capas dispuestas sobre un sustrato 205. Las siete capas dispuestas sobre un sustrato 205 pueden ser una capa conductora 250, una capa de aislamiento 216, una capa mediadora 222, una primera capa reactiva 224 y una segunda capa reactiva 226, una capa adhesiva 260, una capa hidrofílica 270 y una capa superior 280. La tira reactiva 200 puede estar fabricada en una serie de etapas donde la capa conductora 250, la capa de aislamiento 216, la capa mediadora 222, la primera capa reactiva 224, la segunda capa reactiva 226 y la capa adhesiva 260 están secuencialmente depositadas sobre el sustrato 205 usando, por ejemplo, un proceso de serigrafía. La capa hidrofílica 270 y la capa superior 280 pueden depositarse de un papel en rodillo y laminarse en el sustrato 205 como un laminado integrado o como capas separadas. La tira reactiva 200 tiene una parte distal 203 y una parte proximal 204, como se muestra en la Figura 2.

65

La tira reactiva 200 puede incluir una cámara receptora de muestra 292 a través de la cual puede extraerse una muestra de sangre. La cámara receptora de muestra 292 puede incluir una entrada en un extremo proximal de la tira reactiva 200. En la capa hidrofílica 270 se incluye una salida o ventilación de aire, como se describirá más abajo. Una muestra de sangre puede aplicarse a la entrada para llenar una cámara receptora de muestra 292 para que al menos puedan medirse dos concentraciones de analito. Los bordes laterales de una parte cortada de capa adhesiva 260 situados adyacentes a la primera y segunda capa reactiva 224 y 226 definen una pared de la cámara receptora de muestra 292, como se ilustra en la Figura 2. Una parte inferior o "suelo" de la cámara receptora de muestra 292 puede incluir una parte de sustrato 205, una capa conductora 250 y una capa de aislamiento 216. Una parte superior o "techo" de cámara receptora de muestra 292 puede incluir una parte hidrofílica distal 232.

Para la tira reactiva 200, como se ilustra en la Figura 2, el sustrato 205 puede usarse como una base para ayudar a sujetar posteriormente las capas aplicadas. El sustrato 205 puede estar en forma de lámina de poliéster como material de tereftalato de polietileno (PET) comercialmente disponible por proveedores como, por ejemplo, Mitsubishi. El sustrato 205 puede estar en formato de rollo, normalmente 350 micrones de grosor por 370 milímetros de ancho y aproximadamente 60 metros de largo.

Se requiere una capa conductora para formar electrodos que pueden usarse para la medición electroquímica de glucosa. La capa conductora 250 puede estar hecha de una tinta de carbono que se serigrafía sobre el sustrato 205. En un proceso de serigrafía, la tinta de carbono se carga en una pantalla y después se transfiere a través de la pantalla usando una escobilla de goma. La tinta de carbono impresa puede secarse usando aire caliente a aproximadamente 140 °C. La tinta de carbono puede incluir resina VAGH, negro de carbón, grafito (KS15) y uno o más disolventes para la mezcla de resina, carbono y grafito. Más particularmente, la tinta de carbono puede incorporar una proporción adecuada de negro de carbono: resina VAGH en la tinta de carbono, que está comercialmente disponible en, por ejemplo, DuPont, Fujifilm Sericol, Gwent, Acheson o Eltecks.

Para la tira reactiva 200, como se ilustra en la Figura 2, la capa conductora 250 puede incluir un primer electrodo de trabajo 212, un segundo electrodo de trabajo 214, un electrodo de referencia 210 que se comparte por el primer electrodo de trabajo y el segundo electrodo de trabajo 212 y 214, una almohadilla de contacto de referencia 211, una primera almohadilla de contacto 213, una segunda almohadilla de contacto 215, una pista de electrodo de referencia 207, una pista del primer electrodo de trabajo 208, una pista del segundo electrodo de trabajo 209 y una barra de detección de tira 217. En el ejemplo mostrado en la Figura 2, el electrodo de referencia 210 está situado entre el primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo de trabajo 214, de tal manera que se minimiza la comunicación entre el primer y el segundo electrodo de trabajo 212 y 214. También, el primer electrodo de trabajo 212 está corriente arriba del electrodo de referencia 210 y el segundo electrodo de trabajo 214. En otro ejemplo (no mostrado), el segundo electrodo de trabajo 214 está corriente arriba del electrodo de referencia 210 y el primer electrodo de trabajo 212.

La capa conductora puede estar formada por tinta de carbono. La almohadilla de contacto de referencia 211, la primera almohadilla de contacto 213 y la segunda almohadilla de contacto 215 pueden estar configuradas para conectarse eléctricamente a un medidor de prueba. La pista del electrodo de referencia 207 proporciona una vía eléctricamente continua desde el electrodo de referencia 210 a la almohadilla de contacto de referencia 211. Similarmente, la pista del primer electrodo de trabajo 208 proporciona una vía eléctricamente continua desde el primer electrodo de trabajo 212 a la primera almohadilla de contacto 213. Similarmente, la pista del segundo electrodo de trabajo 209 proporciona una vía desde el segundo electrodo de trabajo 214 a la segunda almohadilla de contacto 215. La barra de detección de tira 217 está eléctricamente conectada a la almohadilla de contacto de referencia 211. Un medidor de prueba puede detectar que la tira reactiva 200 se ha insertado apropiadamente al medir una continuidad entre la almohadilla de contacto de referencia 211 y la barra de detección de barra 217.

La capa de aislamiento 216 puede incluir una abertura rectangular 218 que expone una parte del electrodo de referencia 210, el primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo de trabajo 214, que pueden estar humedecidos por una muestra líquida. El área del primer electrodo de trabajo 212, el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 puede definirse como el área expuesta a la muestra líquida. Además de definir un área de electrodo, la capa de aislamiento 216 previene que la muestra líquida toque las pistas de electrodo 207, 208 y 209. Es importante definir de manera precisa el área funcional de un electrodo de trabajo porque la magnitud de la corriente de prueba es directamente proporcional al área efectiva del electrodo. Como ejemplo, la capa de aislamiento 216 puede ser tinta Ercon que pueden comprarse en Ercon, Inc. La tira reactiva en este punto puede tratarse con plasma. El plasma, que consisten en particular ionizadas altamente energéticas, se crea mediante C.A a alto voltaje a temperaturas y presiones atmosféricas. El plasma resultante, colocado aproximadamente a 100 milímetros del sustrato, se barre corriente abajo en una corriente de aire para impactar en el sustrato. Se usa tratamiento de plasma para modificar la superficie de los electrodos con base de carbono serigrafado. Se cree que esta modificación de superficie aumenta la actividad electroquímica de la superficie de carbono y aumenta la energía de superficie de las capas impresas lo que permite una mejor adhesión entre ellas y posteriormente las capas impresas. También se cree que el tratamiento con plasma mejora la electroquímica de la superficie de carbono haciendo que la reacción con el mediador sea más ideal.

La capa mediadora 222 incluye un mediador tal como, por ejemplo, ferrocianuro y un cofactor tal como, por ejemplo, nicotinamida adenina dinucleótido (NADH). En una realización, la capa mediadora 222 incluye ferricianuro de potasio, NADH, tampón Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, anti-espuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli(vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua analar.

La primera y segunda capa reactiva 224 y 226 están dispuestas sobre la capa mediadora 222, como se ilustra en la Figura 2. La segunda capa reactiva 226 está dispuesta sobre la capa mediadora 222 sobre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. La primera y segunda capa reactiva 224 y 226 pueden incluir sustancias químicas tales como una enzima que reacciona de manera selectiva con un analito de interés de tal manera que pueda determinarse la concentración de analito. Los analitos ejemplares de interés para controlar diabetes incluyen glucosa y cetonas. En una realización, la primera capa reactiva 224 incluye al menos una enzima que reacciona de manera selectiva con cetonas y la segunda capa reactiva 226 incluye una enzima que reacciona de manera selectiva con glucosa. En otro ejemplo (no mostrado), la primera capa reactiva 224 no incluye una enzima que reacciona de manera selectiva con un analito y la segunda capa reactiva 226 incluye una enzima que reacciona de manera selectiva con glucosa.

En una realización, los componentes en la capa reactiva usados para determinar la concentración de cetona incluyen beta-hidroxibutirato deshidrogenasa (BHD), tampón Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, ferricianuro de potasio, anti-espuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli(vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua analar. En una realización, la capa reactiva usada para medir cetonas incluye una segunda enzima como, por ejemplo, diaforasa.

Los ejemplos de enzimas adecuadas para su uso en la capa reactiva para medir glucosa pueden incluir glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa. Más específicamente, la glucosa deshidrogenasa de puede tener un cofactor pirrilo-quinolina quinona (PQQ) o un cofactor flavina adenina dinucleótido (FAD). En una realización, los componentes en la capa reactiva que se usa para determinar la concentración de glucosa pueden incluir glucosa oxidasa, tampón Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, ferricianuro de potasio, anti-espuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli(vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua analar.

La primera y segunda capa reactiva 224 y 226 pueden formarse a partir de una tinta reactiva, que se dispone en la capa mediadora 222 y se seca. Hay que tener en cuenta que la tinta reactiva puede ser referida como una tinta de enzima o una formulación reactiva. Una tinta reactiva contiene típicamente un líquido, como un tampón, para dispersar y/o disolver materiales usados para la detección electroquímica de un analito tal como glucosa. En una realización, la primera y segunda capa reactiva 224 y 226 pueden estar serigrafadas en dos etapas sucesivas en la capa mediadora 222. La tinta reactiva puede cargarse en una pantalla hasta que se desborde. Después, puede usarse una escobilla de goma para transferir la tinta reactiva a través de la pantalla y a la capa mediadora 222. Después de la deposición, la tinta reactiva puede secarse usando aire caliente a aproximadamente 50 °C.

En un ejemplo, el área de la primera capa reactiva 224 es suficientemente grande para cubrir el área completa del primer electrodo de trabajo 212 y la segunda capa reactiva 226 es suficientemente grande para cubrir el área completa del segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. Cada una de la primera y segunda capa reactiva 224 y 226 incluye una anchura y longitud que son suficientemente grandes para al menos representar el área más grande de electrodo que puede usarse en la tira reactiva 200. La anchura de la primera y segunda capa reactiva 224 y 226 puede ser aproximadamente 2 milímetros, que es más del doble de una anchura de abertura rectangular 218.

En referencia a la Figura 2, una capa adhesiva 260 puede estar dispuesta sobre la tira reactiva 200 después de la deposición de la primera y segunda capa reactiva 224 y 226. Las partes de capa adhesiva 260 pueden estar alineadas para estar inmediatamente adyacentes, o tocar, o parcialmente superponerse a la primera y segunda capa reactiva 224 y 226. La capa adhesiva 260 puede incluir un adhesivo de presión de copolímero acrílico sensible al agua que está comercialmente disponible por proveedores. La capa adhesiva 260 está dispuesta sobre una parte de la capa de aislamiento 216, la capa conductora 250 y el sustrato 205. La capa adhesiva 260 se une a la capa hidrofílica 270 en la tira reactiva 200.

La capa hidrofílica 270 puede incluir una parte hidrofílica distal 232 y una parte hidrofílica proximal 234, como se ilustra en la Figura 2. Se incluye un espacio 235 entre la parte hidrofílica distal 232 y la parte hidrofílica proximal 234. El espacio 235 sirve como una ventilación lateral para aire cuando la sangre llena la cámara receptora de muestra 292. La capa hidrofílica 270 puede ser un poliéster que tenga una superficie hidrofílica como un revestimiento antiniebla, que está comercialmente disponible.

La capa final que se añadirá a la tira reactiva 200 es la capa superior 280, como se ilustra en la Figura 2. La capa superior 280 puede incluir una parte clara 236 y una parte opaca 238. La parte superior 280 está dispuesta sobre y adherida a la capa hidrofílica 270. La capa superior 280 puede ser un poliéster que tiene un revestimiento adhesivo sobre un lado. Debería señalarse que la parte clara 236 se superpone sustancialmente a la parte hidrofílica distal 232, lo que permite a un usuario confirmar visualmente que la cámara receptora de muestra 292 puede estar

suficientemente llena. La parte opaca 238 ayuda al usuario a observar un alto grado de contraste entre un fluido con color como, por ejemplo, sangre dentro de la cámara receptora de muestra 292 y la parte opaca 238.

5 La Figura 5 muestra un esquema simplificado del medidor 102 que se comunica con la tira reactiva 200. El medidor 102 incluye un conector de referencia 180, un primer conector 182 y un segundo conector 184, que respectivamente forman una conexión eléctrica con el contacto de referencia 211, el primer contacto 213 y el segundo contacto 215. Los tres conectores anteriormente mencionados son parte de un puerto de tira 110. Cuando se realiza una prueba, una primera fuente de voltaje de prueba 186 puede aplicar un primer voltaje de prueba V_1 entre el primer electrodo de trabajo 212 y el electrodo de referencia 210. Como resultado del primer voltaje de prueba V_1 , el medidor 102 puede después medir una primera corriente de prueba I_1 . De manera similar, la segunda
10 fuente de voltaje de prueba 188 aplica un segundo voltaje de prueba V_2 entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. Como resultado del segundo voltaje de prueba V_2 , el medidor 102 puede después medir una segunda corriente de prueba I_2 . En una realización, el primer voltaje de prueba V_1 y el segundo voltaje de prueba V_2 pueden ser iguales.

15 Como se ilustra en la Figura 4A, los tres electrodos (el primer electrodo de trabajo 212, el electrodo de referencia 210 y el segundo electrodo de trabajo 214) están cubiertos con una capa matriz que tiene un mediador adecuado, como, por ejemplo, rutenio o ferricianuro, dispuesto sobre ellos. Un primer reactivo de enzima 224 está dispuesto sobre el primer electrodo de trabajo 212 y el electrodo de referencia 210. Un segundo reactivo de enzima 226 está dispuesto sobre el electrodo de referencia 210 y el segundo electrodo de trabajo 214. Se cree que esta disposición permite la detección de dos analitos diferentes.

20 Para explicar el funcionamiento de esta realización se hace referencia a la disposición esquemática de una parte de la tira de ensayo en la Figura 4B. En la Figura 4B, todos los electrodos (210, 212 y 214) de la tira reactiva están cubiertos con la capa matriz 222 que tiene un mediador adecuado (por ejemplo, ferricianuro) dispuesto sobre ella. La tira reactiva se inserta en el medidor que aplica un primer voltaje de aproximadamente 0V a cada par de electrodos (el primer par siendo el primer electrodo de trabajo 212 y el electrodo de referencia 210 y el segundo par siendo el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210). Cuando la tira reactiva se llena con sangre 230 que contiene una pluralidad de analitos (por ejemplo, cetonas y glucosa), las enzimas reaccionan con ferricianuro una vez que se humedece con sangre 230 para formar ferrocianuro. Manteniendo el primer voltaje (por ejemplo, $\approx 0V$), se cree que la reoxidación electro-catalítica de ferrocianuro a ferricianuro no ocurre hasta que se aplica un segundo voltaje (por ejemplo, aproximadamente 400 mV). Donde el segundo reactivo de enzima 226 incluye glucosa deshidrogenasa (que puede incluir cofactor PQQ o cofactor FAD), la reacción en el segundo electrodo de trabajo 214 es más rápida, lo que permite que el ferrocianuro se acumule rápidamente en el segundo electrodo de trabajo 214. Se cree que cualquier ferrocianuro acumulado en el primer electrodo de trabajo 212 es mucho menor que en el segundo electrodo de trabajo 214. Así, se establece un gradiente de concentración de ferrocianuro entre el primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo de trabajo 214, que se cree que genera una diferencia potencial entre el primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo de trabajo 214.

40 Sin embargo, ya que los tres electrodos están eléctricamente conectados con la muestra 230 que actúa como un puente de sal, se crea un circuito, que genera un segundo flujo de corriente negativa para restablecer el potencial debido al primer voltaje aplicado (por ejemplo, $\approx 0V$). Se cree que esto causa oxidación de ferrocianuro a ferricianuro en el segundo electrodo de trabajo 214 y una reducción correspondiente de ferricianuro a ferrocianuro en el primer electrodo de trabajo 212. Efectivamente, durante el primer periodo de tiempo con el primer voltaje (por ejemplo, $\approx 0V$) aplicado, el segundo electrodo de trabajo 214 actúa como un electrodo “de trabajo” y el primer electrodo de trabajo 212 actúa como un electrodo de “referencia” asumiendo que cualquier corriente inversa que fluya en el primer par de electrodos (212 y 210) es proporcionalmente pequeña. Debido a que el segundo reactivo de enzima 226 se deposita para cubrir sustancialmente el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210, se cree que el electrodo de referencia 210 actúa durante el primer periodo de tiempo como un segundo electrodo de trabajo con el primer electrodo de trabajo 212 actuando como un único electrodo de referencia. Ya que la segunda corriente que se está midiendo durante el segundo periodo de tiempo es un medición de un único electrodo mientras la corriente medida durante el primer periodo de tiempo se deriva efectivamente de dos electrodos agregados (esto es, el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210), se cree que si la primera corriente medida durante el primer periodo de tiempo y la segunda corriente medida durante el segundo periodo de tiempo muestran buena correlación, entonces se asume que la reacción del electrodo de referencia durante el primer periodo de tiempo fue similar a la reacción del segundo electrodo de trabajo durante el primer periodo de tiempo. Esta similitud implica, por lo tanto, que los electrodos se cubrieron suficientemente con la muestra de sangre 230, esto es, una tira reactiva suficientemente llena donde tanteo el segundo electrodo de trabajo 214 como el electrodo de referencia 210 estuvieron suficientemente cubiertos y por lo tanto se comportaron de manera similar.

50 Por el contrario, si hubiera un acuerdo pobre entre la segunda corriente medida durante el segundo periodo de tiempo para el segundo electrodo de trabajo 214 y la primera corriente medida durante el primer periodo para el primer par de electrodos (primer electrodo de trabajo 212 y electrodo de referencia 210), entonces se cree que una fuente probable de esta discrepancia será una respuesta desigual de los dos electrodos normalmente equivalentes durante el primer periodo de tiempo, lo que implica que los electrodos no estuvieron suficientemente llenos.

65

Por ello, al aplicar un primer voltaje adecuado (por ejemplo, aproximadamente 0 voltios) a un primer electrodo de trabajo 212 y al electrodo de referencia 210 durante un primer periodo de tiempo y un segundo voltaje diferente al primer voltaje durante un segundo periodo de tiempo mientras se mide una segunda corriente generada por el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 y al comparar esta segunda corriente medida con una segunda corriente estimada para una muestra fisiológica 230 depositada en tres electrodos de la tira, los solicitantes han sido capaces de detectar suficiente llenado de muestra de los tres electrodos sin necesidad de un cuarto electrodo.

En referencia a la Figura 6, ahora se describirán un método 300 para determinar la suficiencia de volumen de una muestra de fluido aplicada a una tira reactiva que usa el medidor anteriormente mencionado 102 y realizaciones de tira reactiva 200. En una etapa ejemplar 310, se proporcionan un medidor 102 y una tira reactiva 200. El medidor 102 incluye un circuito electrónico que puede usarse para aplicar (Fig. 7) al menos un primer voltaje de prueba V_0 durante un periodo de tiempo t_1 y al menos un segundo voltaje de prueba V_2 después de t_1 a t_T a la tira reactiva y para medir una primera corriente $I_{w1_Medida@t1}$ (durante el primer periodo de tiempo t_1) que fluye a través del primer electrodo de trabajo 212 y una segunda corriente $I_{w2_Medida@tT}$ (durante el segundo periodo de tiempo t_T) que fluye a través del segundo electrodo de trabajo 214. En una etapa ejemplar 320, después de haber aplicado una muestra de fluido a una tira reactiva 200, se aplica un primer voltaje de prueba V_0 , por ejemplo, aproximadamente 0 milivoltios entre el primer electrodo de trabajo 212, el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 en t_0 durante un primer periodo de tiempo t_1 . El primer periodo de tiempo t_1 es típicamente desde aproximadamente 0 segundos a aproximadamente 4 segundos y es más típicamente aproximadamente 3 segundos.

La Figura 8A es una tiempo ejemplar para tabla de corriente de una corriente transitoria A1 (esto es, la respuesta a corriente eléctrica medida en nanoamperios como una función de tiempo) que se mide cuando el primer voltaje de tiempo V_0 y el segundo voltaje de tiempo V_2 de la Figura 7 se aplican al primer electrodo de trabajo de la tira reactiva 200. La Figura 8A también muestra una corriente transitoria A2 para el segundo electrodo de trabajo. En la etapa ejemplar 330, en o cerca del final del primer periodo de tiempo t_1 , se mide la primera corriente de prueba $I_{w1_Medida@t1}$ entre el primer electrodo de trabajo 212 y el electrodo de referencia 210 (y normalmente se registra en el medidor). En la etapa ejemplar 340, después del primer periodo de tiempo t_1 , se aplica un segundo voltaje de prueba V_2 entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 en el tiempo t_1 durante un tiempo total de prueba t_T .

En el tiempo t_T se mide una segunda corriente de prueba $I_{w2_Medida@tT}$ desde el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 (y normalmente se registra en el medidor) en o cerca del final del segundo voltaje de prueba V_2 . El segundo voltaje de prueba V_2 aplicado entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 puede ser generalmente de desde aproximadamente +100 milivolios a aproximadamente +600 milivolios. En una realización donde el segundo electrodo de trabajo 212 es tinta de carbono y el mediador es ferricianuro, el segundo voltaje de prueba V_2 es aproximadamente +400 milivolios. Las combinaciones de otro mediador y material de electrodo pueden requerir diferentes voltajes de prueba. La duración del segundo voltaje de prueba V_2 puede ser generalmente desde aproximadamente 2 a 6 segundos y es típicamente 5 segundos. Típicamente, el tiempo t_T se mide en relación con el tiempo t_1 . En la práctica, la segunda corriente de prueba $I_{w2_Medida@tT}$ es la media de un conjunto de mediciones obtenidas durante un intervalo corto, por ejemplo, cinco mediciones obtenidas en intervalos de 0,01 segundos comenzando en t_T .

En la etapa ejemplar 360, la primera corriente de prueba conocida $I_{w1_Conocida@t1}$ y la segunda corriente conocida $I_{w2_Conocida@tT}$ se determinan a partir de una datos de calibración almacenados en el medidor 102. La curva de calibración puede generarse en la fábrica haciendo un gráfico de la primer corriente de prueba conocida $I_{w1_Conocida@t1}$ como una función de la segunda corriente de prueba conocida $I_{w2_Conocida@tT}$ desde en t_T a partir de muestras con datos conocidos de buen llenado, como por ejemplo en la Figura 8C.

La Figura 8C muestra que cada primera corriente $I_{w1_Conocida@t1}$ en el final del primer periodo de tiempo t_1 , hay una correspondiente segunda corriente $I_{w2_Conocida@tT}$ en el final del segundo periodo de tiempo t_T agrupada alrededor de varias áreas entre estos dos valores de corriente para muestras con suficiente volumen de llenado. A partir de estar primer corriente y segunda corriente, puede generarse una línea de correlación C mostrada en la Figura 8C a partir de datos aceptables de llenado de muestra.

A partir de esta correlación entre la primera corriente medida y la segunda corriente conocida en la Fig. 8C, puede determinarse una corriente estimada $I_{w2_Estimada@tT}$ al localizar dónde estaría la primera corriente medida $I_{w1_Medida@t1}$ (de la etapa 330) a lo largo de la línea C de la Figura 8C y trazando dónde tal valor de la primera corriente medida $I_{w1_Medida@t1}$ correspondería a una segunda corriente estimada a lo largo del eje x de la Fig. 8C. Hay que señalar que este proceso también se conseguiría con una tabla de consultas. Esta corriente estimada, designada como $I_{w2_Estimada@tT}$ se compara con la segunda corriente medida $I_{w2_Medida@tT}$ en el segundo periodo de tiempo t_T para determinar si hay derivaciones inaceptables de una correspondencia exclusiva. A partir de la Figura 8D, puede verse que puede establecerse una suficiente correlación entre la segunda corriente estimada y la segunda corriente medida (L1) con un estándar adecuado de desviaciones, lo que indica un llenado aceptable (L2 y L3).

En resumen, la primera corriente medida en t_1 se usa junto con datos conocidos de buen llenado (Fig. 8C) para predecir una segunda corriente estimada en el segundo periodo de tiempo t_T (para un lote dado de tiras reactivas). La segunda corriente estimada en el tiempo t_T (como se deriva de la Fig. 8C) después se compara con la segunda corriente real medida en t_T en la Fig. 8D para determinar si la segunda corriente real medida es sustancialmente igual a o está dentro de una desviación porcentual aceptable de la segunda corriente estimada.

En la etapa ejemplar 380, se muestra una condición de error si la diferencia entre la $I_{w2_{Medida@tT}}$ medida y la segunda corriente estimada $I_{w2_{Medida@tT}}$ es mayor que el límite de aceptación. En una realización, la segunda corriente medida durante el segundo periodo de tiempo puede ser diferente de la segunda corriente durante el segundo periodo de tiempo en no más de aproximadamente +/- 40 por ciento.

EJEMPLO 1: Determinación de suficiencia de volumen con una tira reactiva como se muestra en las Figura 2 y 3.

Las tiras reactivas como las mostradas en las Figuras 2 y 3 se probaron con 154 muestras de sangre total que tenían concentraciones de glucosa que oscilaban entre aproximadamente 60 mg/dL y aproximadamente 500 mg/dL y niveles de hematocrito que oscilaban entre aproximadamente 30 y aproximadamente 55%. Para cada una de estas muestras, se midió una corriente durante el primer periodo de tiempo en el primer electrodo de trabajo aproximadamente 3 segundos después de haber aplicado un primer voltaje de aproximadamente 0 milivoltios a la tira reactiva. La corriente durante el segundo periodo de tiempo también se midió en el segundo electrodo de trabajo aproximadamente 5 segundos después de haber aplicado un segundo voltaje (de un valor diferente al del primer voltaje) durante un segundo periodo de tiempo después del primer periodo de tiempo de 400 milivoltios a la tira reactiva. Para 30 de un total de 154 muestras, se aplicó muestra insuficiente a la tira reactiva.

Las Figura 9A y 9B ilustran rejillas consensuadas de errores de concentraciones de glucosa de prueba como una función de la concentración de glucosa de referencia como se determina en un instrumento de referencia. El análisis de rejilla consensuada de errores proporciona un método para evaluar la precisión clínica de un dispositivo para control de glucosa en sangre. La rejilla de error es tal que un análisis categoriza una repuesta del dispositivo contra una valor de referencia en una de cinco zonas de precisión clínica, esto es, zonas A-E. La zona A indica resultados clínicamente precisos; zona B indica resultados que no son clínicamente precisos pero plantean un mínimo riesgo para la salud del paciente; y las zonas C a E indican resultados clínicamente imprecisos que plantean un mayor riesgo para la salud del paciente (véase Parkes, Joan L. et al., *A New Consensus Error Grid to Evaluate the Clinical Significance of Inaccuracies in the Measurement of Blood Glucose*, Diabetes Care, Vol. 23, Nº 8, 1143-1147 [2000]). Las especificaciones pueden desarrollarse en base al porcentaje de resultados que están clasificadas dentro de las varias zonas de error. En el ejemplo actual, es deseable que al menos 95% de los datos se encuentren dentro de las zonas A y B. La Figura 9A ilustra datos que incluyen resultados de pruebas de tiras que se llenaron por completo con muestra y tiras que se llenaron parcialmente con muestra. La Figura 9B ilustra datos con resultados de tiras parcialmente llenas retirados. En la Tabla 1 más abajo se muestra un resumen del porcentaje de datos que se clasifican dentro de cada zona para todos los datos y con los datos retirados de las tiras parcialmente llenas.

Tabla 1: Resumen de análisis de rejilla consensuada de errores

Zona	Porcentaje dentro de zona para todos los datos	Porcentaje dentro de zona con datos retirados de tiras parcialmente llenas
A	81,8	97,6
B	3,2	2,4
C	5,8	0,0
D	9,0	0,0
E	0,0	0,0

Los datos en la Tabla 1 ilustran un aumento en el porcentaje de puntos de datos en la Zona A cuando los datos de las tiras parcialmente llenas se retiran.

En conclusión, el sistema y métodos aquí descritos e ilustrados pueden usarse para determinar la eficiencia de volumen sin un electrodo de detección de llenado.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la suficiencia de volumen de una muestra de fluido aplicada a una tira reactiva eléctricamente conectada a un medidor para medir una concentración de glucosa, comprendiendo el método:
- 5 aplicar (320) un primer voltaje entre un primer electrodo de trabajo, un electrodo de referencia compartido y un segundo electrodo de trabajo, estando el primer electrodo cubierto con una primera capa reactiva de enzima, el electrodo de referencia y el segundo electrodo de trabajo cubiertos con una segunda capa reactiva de enzima, la primera y segunda capa reactiva de enzima dispuestas sobre una capa mediadora;
- 10 medir (330) una corriente durante el primer periodo de tiempo en el primer electrodo de trabajo;
- aplicar (340) un voltaje diferente al primer voltaje durante un segundo periodo de tiempo después del primer periodo de tiempo entre el electrodo de referencia y el segundo electrodo de trabajo;
- 15 medir (350) una corriente durante el segundo periodo de tiempo en el segundo electrodo de trabajo con el medidor; predecir (360) una segunda corriente estimada durante el segundo periodo de tiempo en el segundo electrodo de trabajo, donde la segunda corriente estimada durante el segundo periodo de tiempo se determina a partir de la primera corriente medida en correlación con los datos conocidos de la primera corriente y los datos conocidos de la segunda corriente de muestras suficientemente llenas;
- 20 evaluar (370) una diferencia entre la segunda corriente medida durante el segundo periodo de tiempo y la segunda corriente estimada durante el segundo periodo de tiempo en el segundo electrodo de trabajo; y mostrar (380) una condición de error que indica insuficiencia de volumen si la diferencia entre la segunda corriente medida durante el segundo periodo de tiempo y la segunda corriente estimada durante el segundo periodo de tiempo es mayor que un límite de aceptación.
2. El método de la reivindicación 1, donde el primer voltaje comprende cero voltios.
- 25 3. El método de la reivindicación 1, donde el primer voltaje se aplica entre el electrodo de referencia, el primer electrodo de trabajo y el segundo electrodo de trabajo durante aproximadamente cero segundos a aproximadamente 4 segundos.
- 30 4. El método de la reivindicación 1, donde el voltaje diferente al primer voltaje durante un segundo periodo de tiempo después del primer periodo de tiempo comprende desde aproximadamente 200 milivoltios a aproximadamente 500 milivoltios.
- 35 5. El método de la reivindicación 1, donde el límite de aceptación comprende desde aproximadamente -40% a aproximadamente +40% entre la segunda corriente medida y estimada.
- 40 6. Un sistema de medición de analito (102) para medir al menos una concentración de glucosa en fluido fisiológico de un usuario, comprendiendo el sistema:
- una tira reactiva (200) que incluye un sustrato que tiene un primer electrodo de trabajo (212) cubierto con una primera capa reactiva dispuesta sobre una capa matriz que tiene un mediador, y un electrodo de referencia (210) y un segundo electrodo (214) que tiene una segunda capa reactiva dispuesta sobre la capa matriz, estando los electrodos conectados a correspondientes almohadillas de contacto (213, 211, 215); y
- 45 un medidor de analito que tiene un circuito de prueba (120, 122) en conexión con un puerto de tira reactiva (110) que recibe las almohadillas de contacto de la tira reactiva para que el medidor esté configurado para realizar el método de las reivindicaciones 1 a 5.
- 50
- 55
- 60
- 65

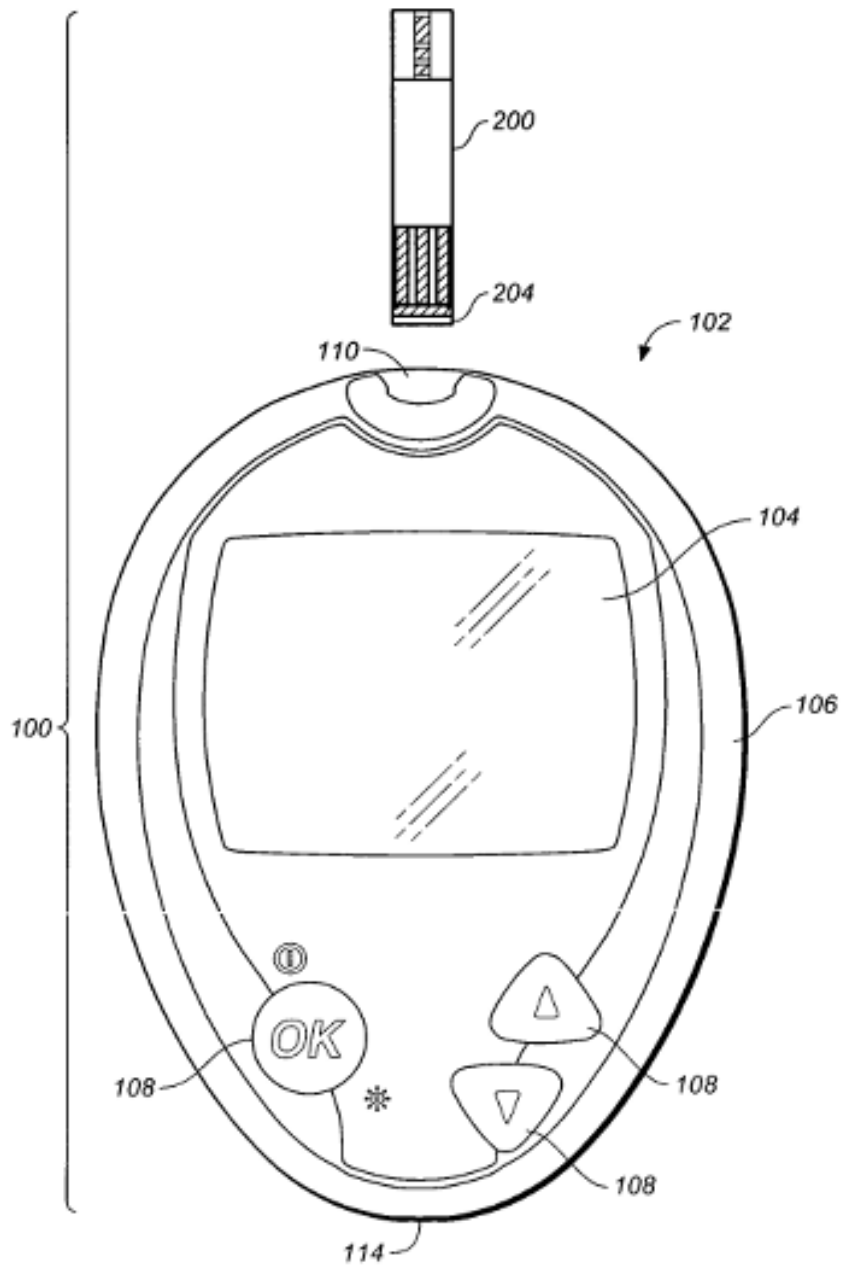


FIG. 1

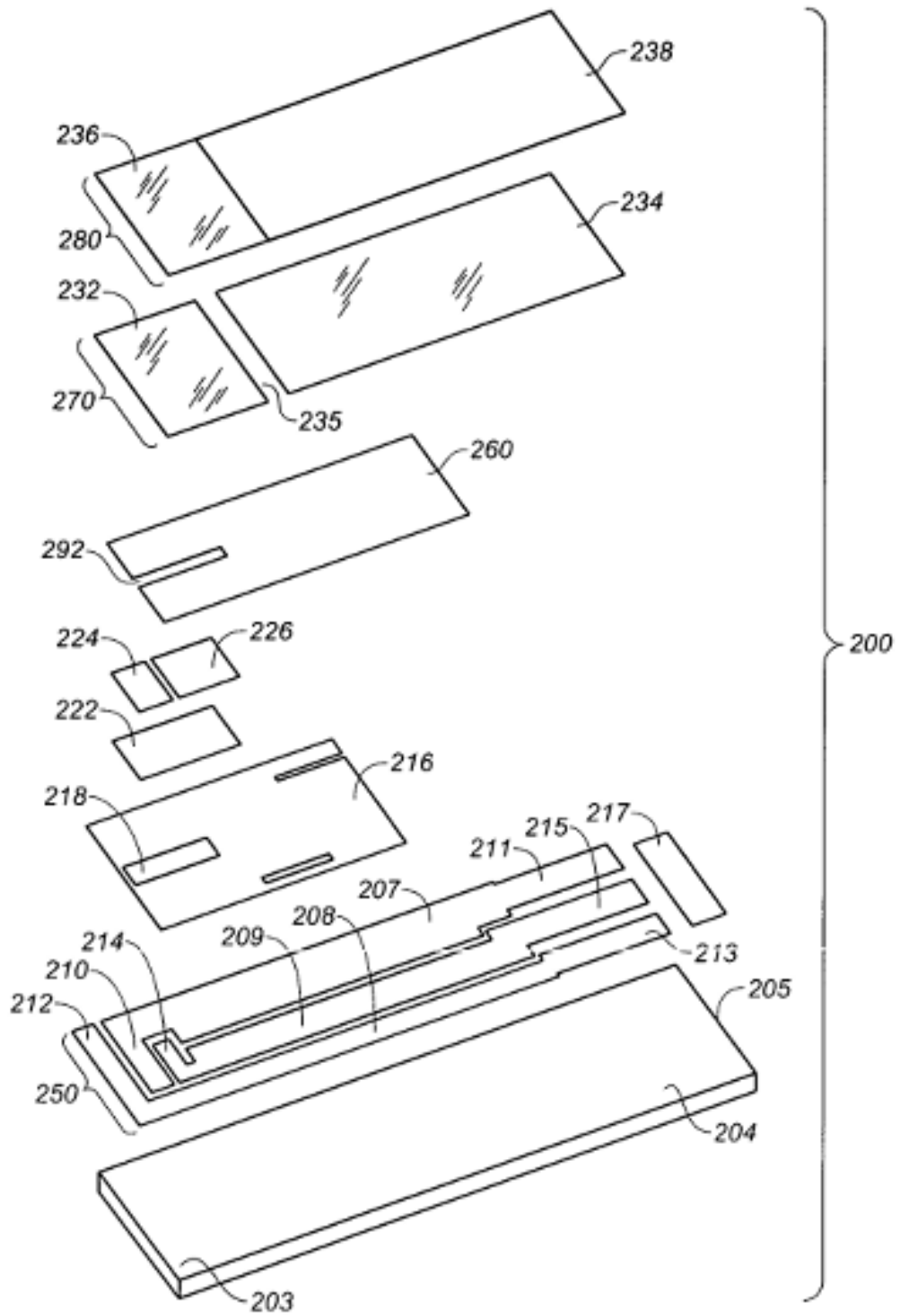


FIG. 2

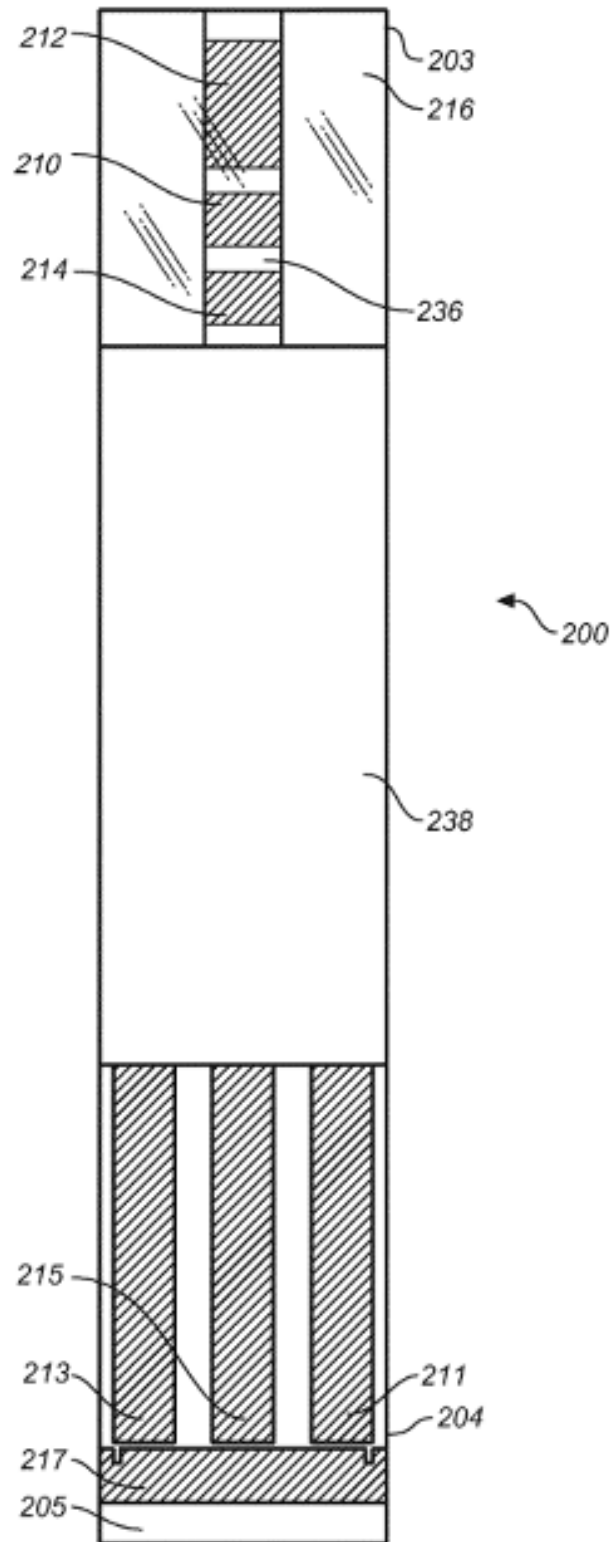


FIG. 3

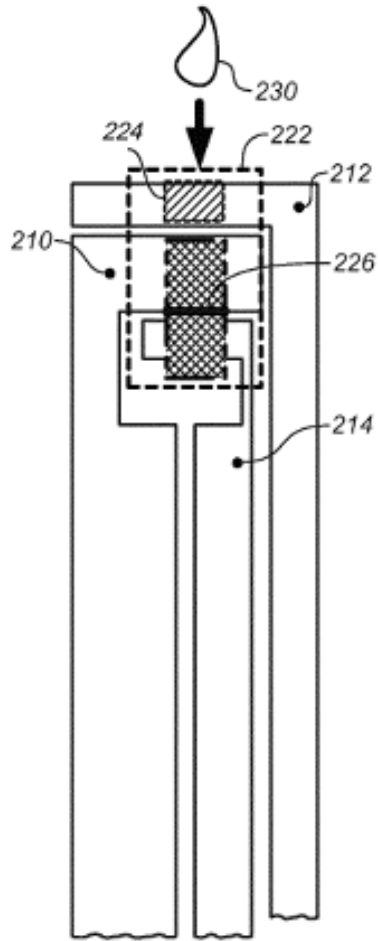


FIG. 4A

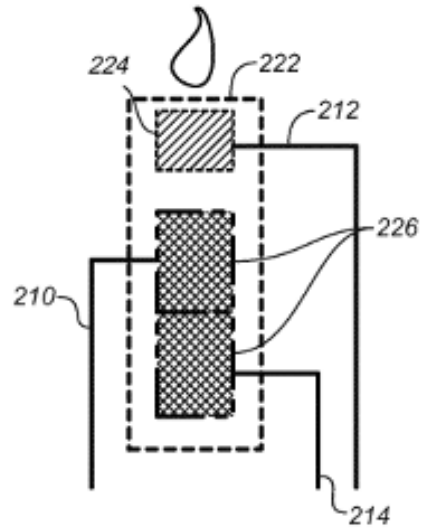


FIG. 4B

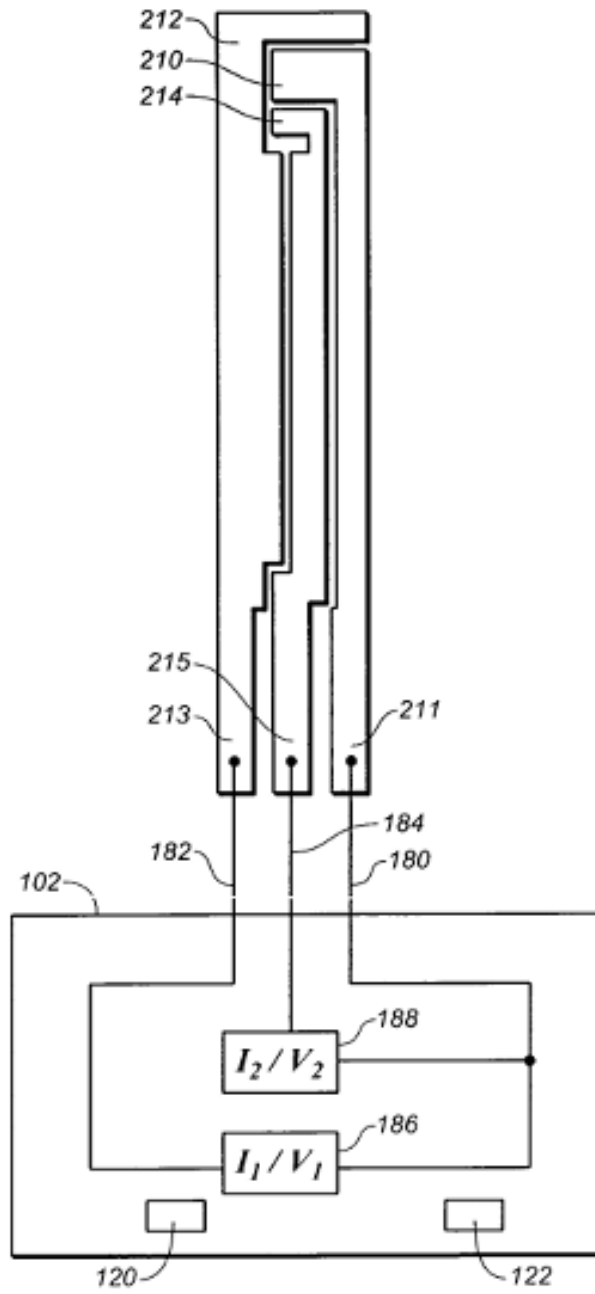


FIG. 5

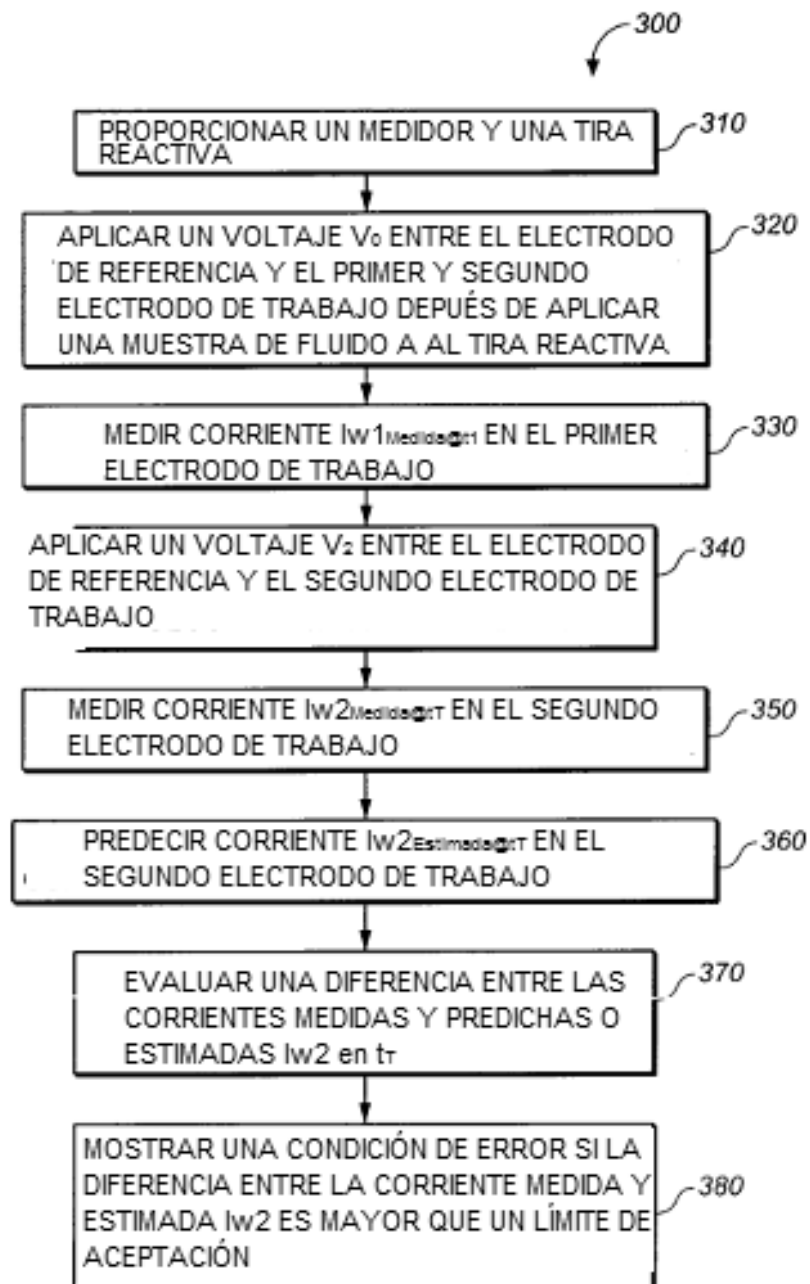


FIG. 6

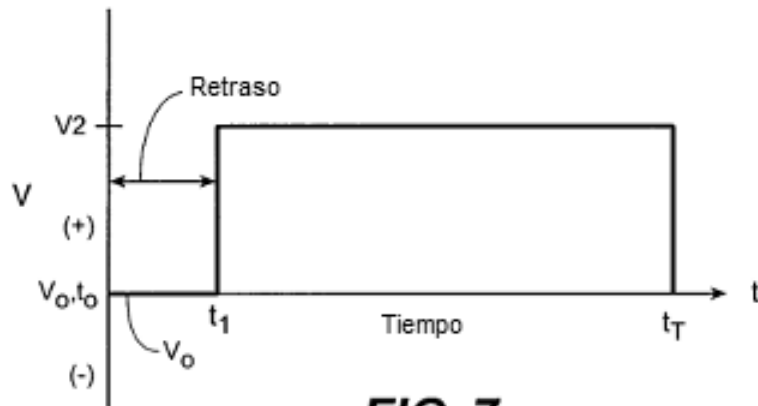


FIG. 7

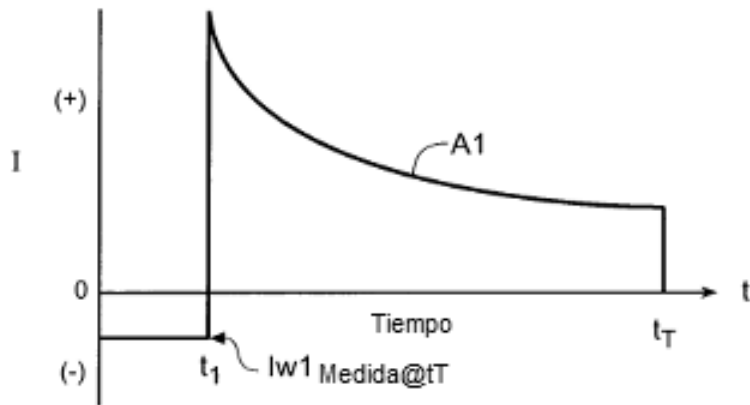


FIG. 8A

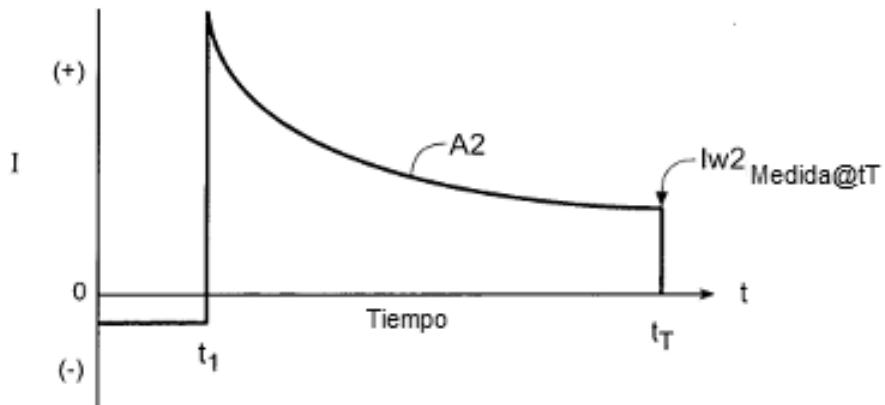


FIG. 8B

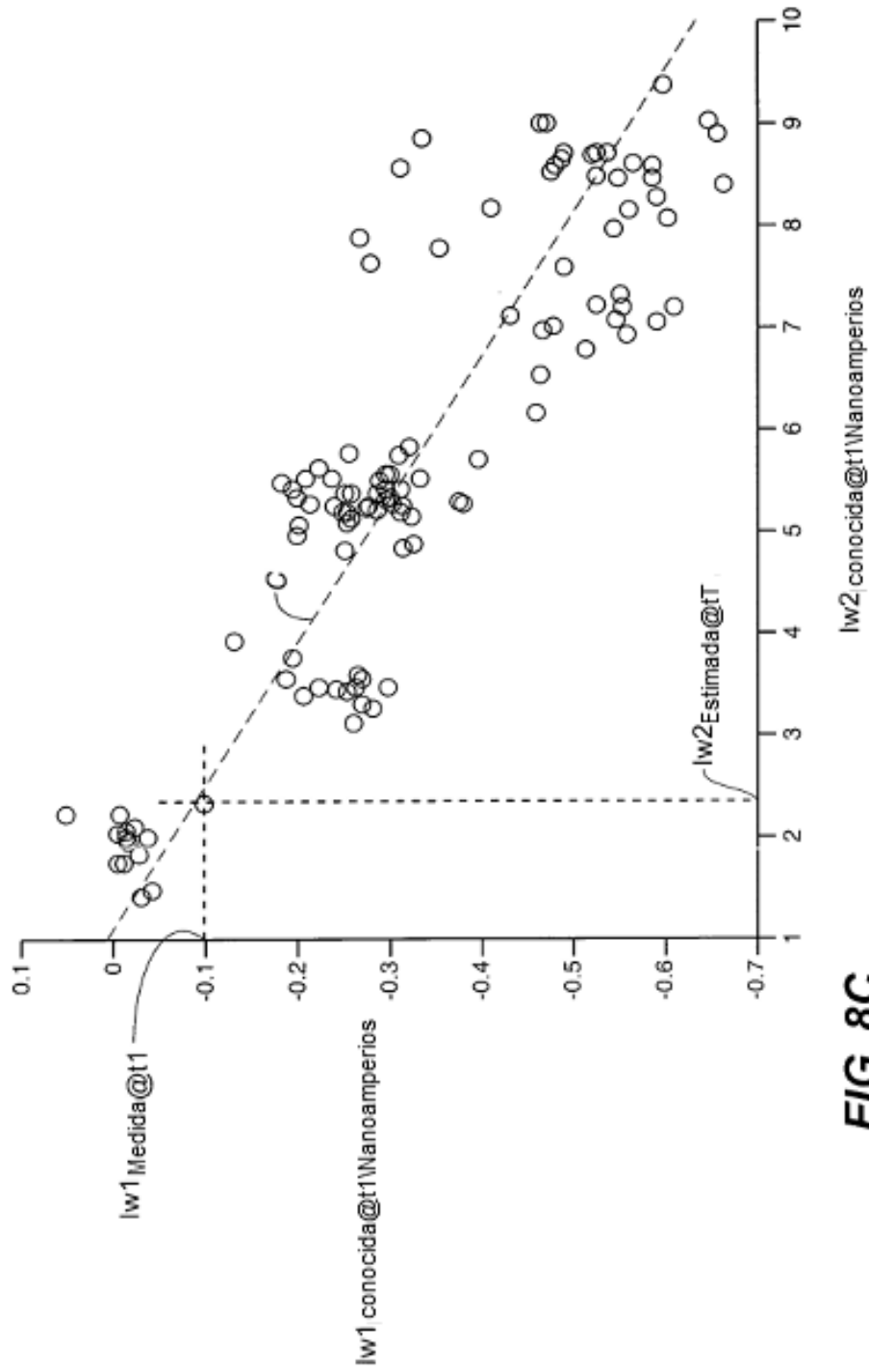


FIG. 8C

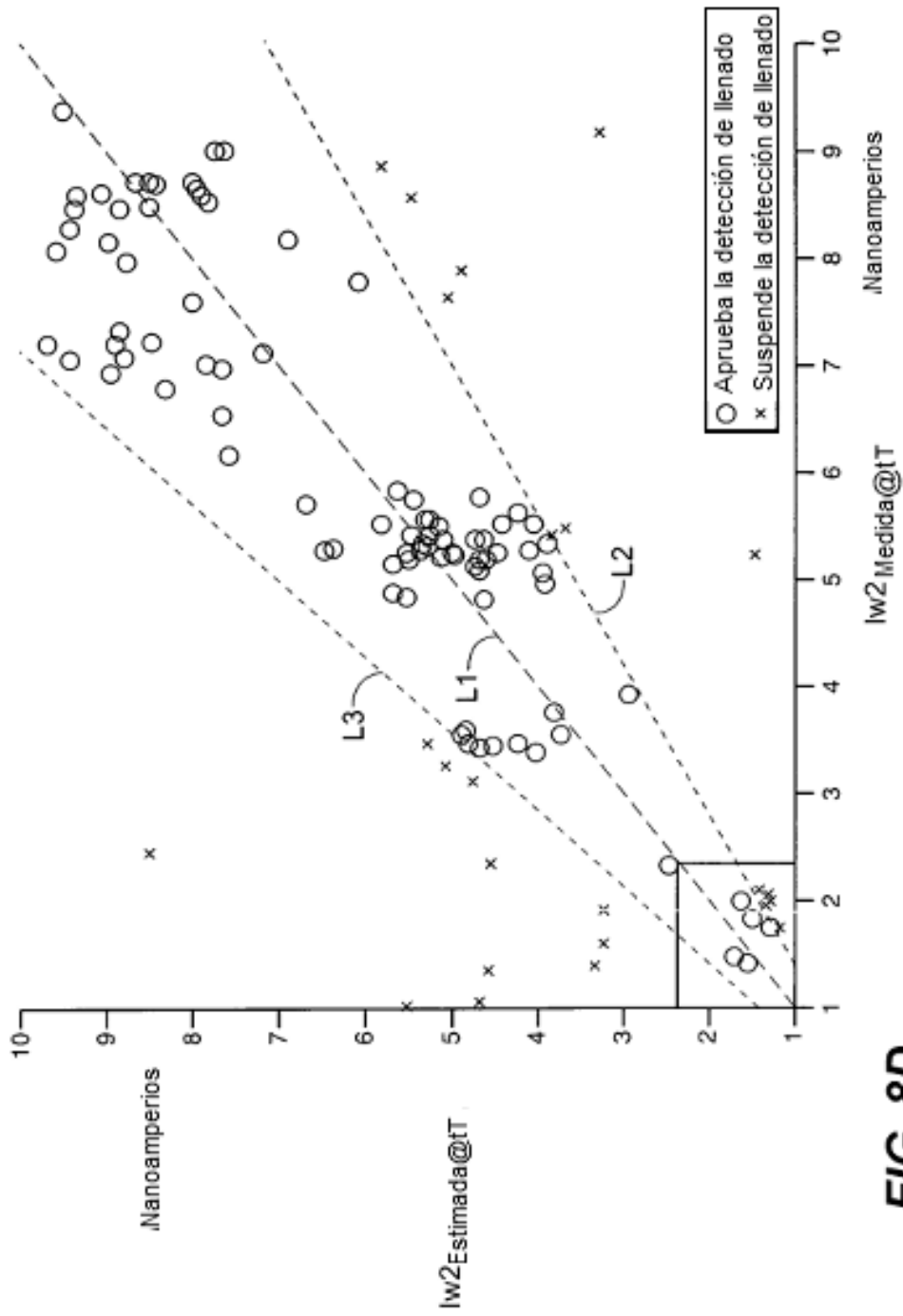


FIG. 8D

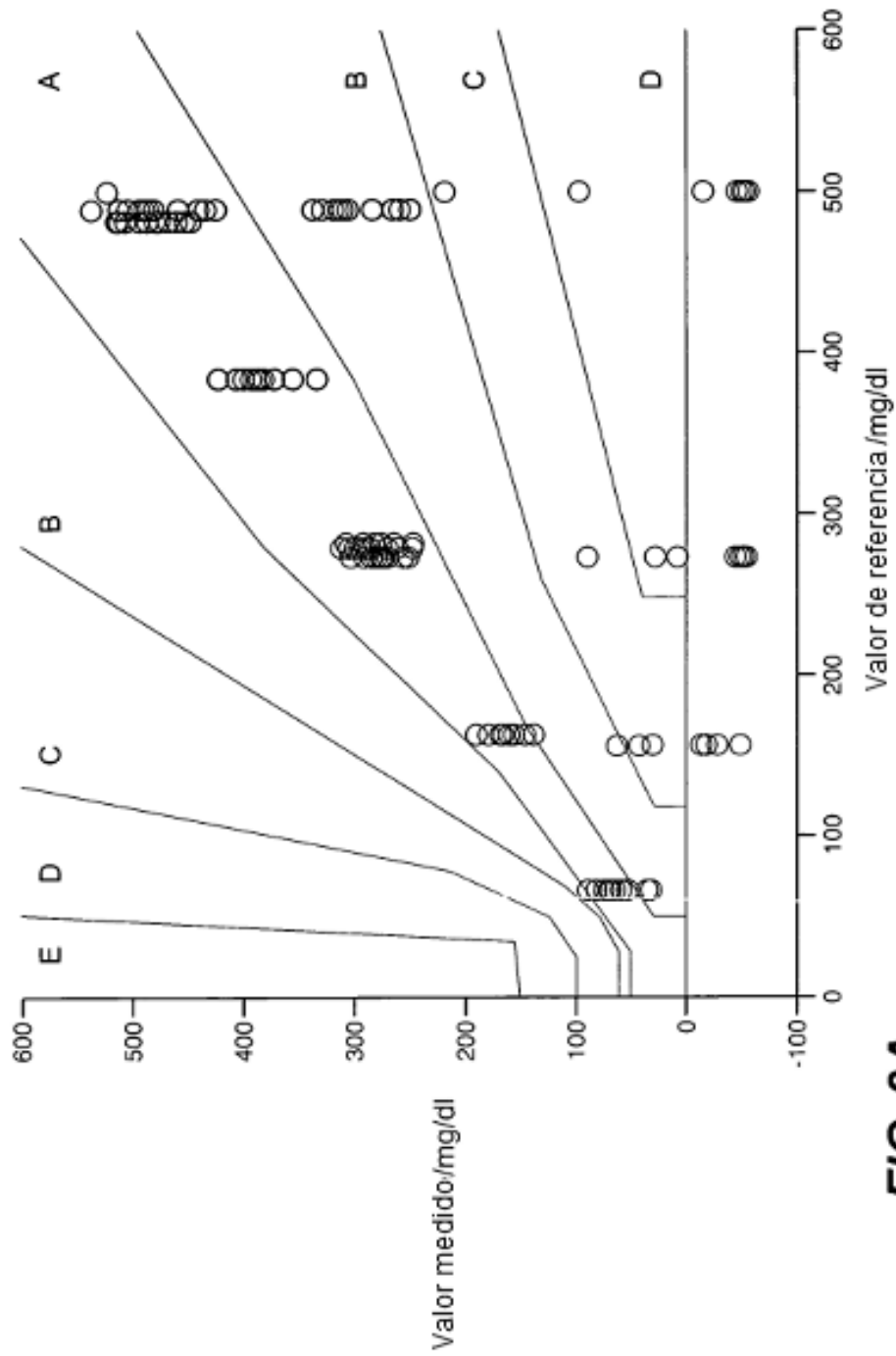


FIG. 9A

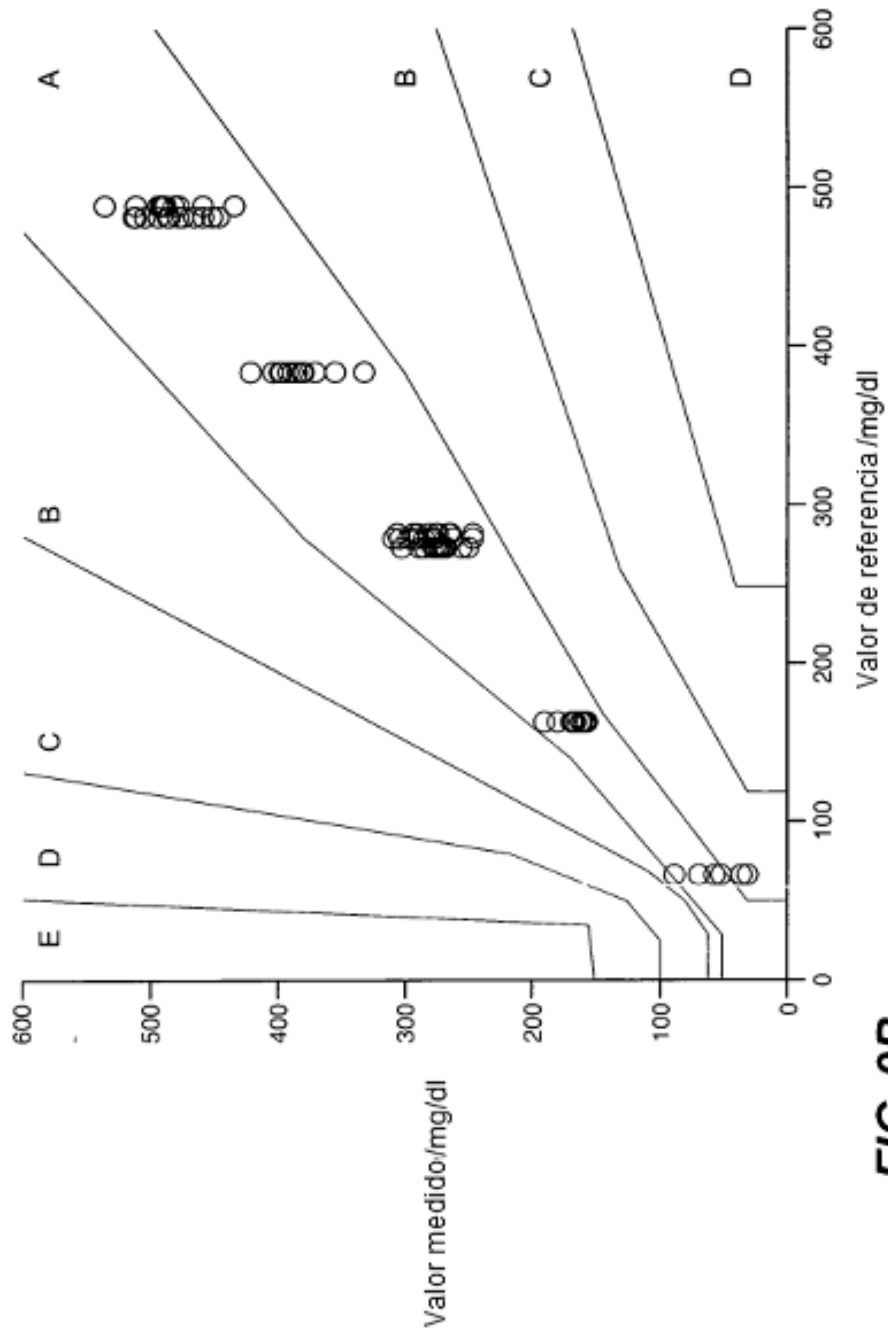


FIG. 9B