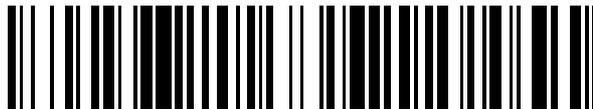


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 676**

51 Int. Cl.:

G01N 33/487 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2010 E 13169262 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 2634572**

54 Título: **Método para determinar una corriente de prueba corregida por hematocritos en mediciones de glucosa**

30 Prioridad:

04.09.2009 US 240133 P

29.09.2009 US 246858 P

14.12.2009 US 286106 P

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

31.05.2018

73 Titular/es:

LIFESCAN SCOTLAND LIMITED (100.0%)

Beechwood Park North

Inverness IV2 3ED, GB

72 Inventor/es:

MCCOLL, DAVID;

CRAGGS, ADAM;

MACKINTOSH, STEPHEN;

BLYTHE, STEVE y

CARDOSI, MARCO

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 670 676 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 para determinar una corriente de prueba corregida por hematocritos en mediciones de glucosa**Descripción****5 ANTECEDENTES**

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 de reactivos que contiene al menos un agente de transferencia de electrones (también llamado 'mediador de electrones') y una proteína biocatalítica específica para analitos (por ejemplo, una enzima particular), y uno o más electrodos. Estos sensores se basan en la transferencia electrónica o transferencia de electrones entre el mediador de electrones y la superficie de los electrodos y funcionan midiendo reacciones redox electroquímicas (también llamadas reacciones de reducción-oxidación electroquímicas). Cuando se usan en un dispositivo o sistema con biosensores electroquímicos, las reacciones de transferencias electrónicas se monitorizan mediante una señal eléctrica que se corresponde con la concentración del analito que se está midiendo en la muestra de fluidos.

El uso de estos sensores electroquímicos para detectar analitos en fluidos corporales, como sangre o productos derivados de la sangre, lágrimas, orina y saliva, ha adquirido importancia y, en algunos casos, se ha convertido en algo vital para conservar la salud de algunas personas. En el campo de la sanidad y la salud, las personas como los diabéticos, por ejemplo, deben monitorizar un componente particular de sus fluidos corporales. Hay diversos sistemas que pueden analizar un fluido corporal, como la sangre, la orina o la saliva, para monitorizar adecuadamente el nivel de un componente fluido particular como, por ejemplo, el colesterol, las proteínas y la glucosa. Los pacientes que padecen diabetes, un trastorno del páncreas en el que una producción insuficiente de insulina impide la correcta digestión del azúcar, necesitan monitorizar cuidadosamente sus niveles de glucosa en la sangre cada día. Analizar habitualmente y controlar la glucosa en sangre de las personas con diabetes puede reducir el riesgo de que padezcan daños severos en ojos, nervios y riñones.

Los biosensores electroquímicos pueden verse afectados de manera negativa por la presencia de ciertos componentes sanguíneos que pueden afectar a las mediciones de manera perjudicial y provocar errores o imprecisiones en la señal detectada. Estas imprecisiones pueden conducir a lecturas de glucosa inexactas, haciendo que, por ejemplo, el paciente no sea consciente de un nivel de azúcar en sangre potencialmente peligroso. Como ejemplo, se puede mencionar que el nivel de hematocrito en sangre (esto es, el porcentaje de la cantidad de sangre que está ocupada por glóbulos rojos) puede afectar de manera errónea a la medición de la concentración de analitos resultante.

Las variaciones en el volumen de glóbulos rojos (o eritrocitos) en la sangre pueden causar variaciones en las lecturas de glucosa medidas con tiras de prueba electroquímicas desechables. Normalmente, se observa una tendencia o desviación negativa (esto es, una menor concentración de analitos calculada) con un hematocrito alto, mientras que se observa una desviación positiva (esto es, una mayor concentración de analitos calculada) con un hematocrito bajo. Con un hematocrito alto, por ejemplo, los glóbulos rojos pueden impedir la reacción de las enzimas y los mediadores electroquímicos, reducir el índice de disolución química -puesto que hay menos volumen plasmático para disolver los reactivos químicos- y ralentizar la difusión del mediador. Estos factores pueden dar como resultado una lectura de glucosa más baja de la esperada, ya que se produce una menor corriente durante el proceso electroquímico. De manera inversa, con un hematocrito bajo, hay menos glóbulos rojos de lo esperado que pueden afectar a la reacción electroquímica, y, como resultado de ello, puede darse una medición mayor de corriente. Además, la resistencia de la muestra de sangre también depende del hematocrito, lo cual puede afectar a las mediciones del voltaje y/o de la corriente.

Se han utilizado diversas estrategias para reducir o evitar las variaciones en la glucosa de la sangre debidas al hematocrito. Por ejemplo, se han diseñado tiras de prueba que incorporan redes o mallas para eliminar los glóbulos rojos de las muestras, o que incluyen diversos compuestos o preparaciones diseñados para aumentar la viscosidad de los glóbulos rojos y atenuar los efectos de un hematocrito bajo para determinar la concentración. Otras tiras de prueba incluyen agentes de lisis y sistemas configurados para determinar la concentración de hemoglobina en un intento para corregir el hematocrito. Además, se han diseñado biosensores para medir hematocrito midiendo las variaciones ópticas tras irradiar con luz la muestra sanguínea, o midiendo hematocrito basándose en una función del tiempo de llenado de una cámara de muestra. Estos métodos tienen algunas desventajas.

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

Los autores han identificado la necesidad de idear un sistema y un método que pueden usarse para determinar una concentración de glucosa precisa que sortea las desventajas e inconvenientes que hay en este campo.

Teniendo en cuenta todo lo anterior y de acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un método para manejar un sistema de medición de analitos que incluye un medidor y una tira de prueba (o tira reactiva). La tira de prueba puede incluir un electrodo de referencia, un primer electrodo de trabajo y un segundo

electrodo de trabajo, de manera que el primer electrodo de trabajo y el segundo electrodo de trabajo están revestidos de una primera capa reactiva y una segunda capa reactiva, respectivamente. Las respectivas primera y segunda capas reactivas se encuentran en una capa de matriz ('matrix layer', en inglés) que tiene un mediador. El medidor puede incluir un circuito electrónico para aplicar un voltaje (o tensión) de prueba entre el electrodo de referencia y el primer electrodo de trabajo y para aplicar un segundo voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el segundo electrodo de trabajo. El medidor también puede incluir un procesador de señales para medir diversas corrientes de prueba y para calcular la concentración de glucosa a partir de las corrientes de prueba. El método puede realizarse aplicando un voltaje de prueba entre el electrodo de referencia y el segundo electrodo de trabajo; midiendo con el medidor una primera corriente de prueba, una segunda corriente de prueba y una tercera corriente de prueba en el electrodo de trabajo después de aplicar a la tira de prueba una muestra de sangre que contiene un analito; verificando la concentración de glucosa de la primera, segunda y tercera corriente de prueba; y visualizando la concentración de glucosa.

La invención está dirigida a un método para determinar una corriente de prueba corregida por hematocritos como se define en la reivindicación 1.

En un método ejemplar, la concentración de glucosa puede ser un valor obtenido mediante la siguiente manera:

$$G = \frac{\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right] - \text{intercepción 1}}{\text{inclinación 1}}$$

donde:

G incluye la concentración de glucosa -con el hematocrito corregido-;

I1 incluye la primera corriente de prueba;

I2 incluye la segunda corriente de prueba;

I3 incluye la tercera corriente de prueba;

p incluye un término de potencia;

intercepción 1 incluye el valor del intercepto (también llamado 'ordenada en el origen', 'intersección'; o 'intercept', en inglés), que se determina a partir de una regresión lineal de un gráfico o representación gráfica de

$$\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right]$$

vs. una concentración de glucosa de referencia; y

inclinación 1 incluye el valor de la pendiente, que se determina a partir de una regresión lineal de un gráfico de

$$\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right]$$

vs. la concentración de glucosa de referencia.

En esta realización, el término de potencia **p** ('power term', en inglés) depende del valor umbral de la primera corriente de prueba **I1** y puede ser de entre alrededor de uno y alrededor de cuatro. Si la primera corriente de prueba **I1** está por encima del valor umbral, entonces la ecuación de arriba se usa para calcular la concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- **G**. Si la primera corriente de prueba **I1** está al nivel del valor umbral o por debajo de este, entonces el término de potencia **p** se iguala a cero en la ecuación de arriba y el término

$$\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p$$

ES 2 670 676 T3

se convierte en uno. El valor umbral del primer test de corriente **I1** puede ser de entre alrededor de 4 microamperios y alrededor de 7 microamperios.

De acuerdo con la invención, el término de potencia **p** incluye un valor obtenido a partir de:

$$p = a - \frac{b}{I_3}$$

donde **a** incluye un primer parámetro de ajuste y **b** incluye un segundo parámetro de ajuste y en donde

tanto el primer parámetro de ajuste **a** como el segundo parámetro de ajuste **b** van desde alrededor de cero hasta alrededor de cinco.

En otra realización, los parámetros de ajuste **a** y **b** específicos para lotes pueden determinarse calculando el primer término de potencia para la primera combinación del primer parámetro de ajuste y calculando el segundo parámetro de ajuste de la siguiente manera:

$$p1 = a - \frac{b}{I_3}$$

donde **p1** incluye el primer término de potencia;

determinando la corriente de cada una de las diversas muestras analizadas con el lote de tiras de prueba de la siguiente manera:

$$I_{\text{correcto}} = \left(\frac{I_1}{I_2} \right)^{p1} * I_3$$

donde **I_{corrected}** incluye la corriente con el hematocrito corregido;

calculando la pendiente y el intercepto a partir de una regresión lineal de un gráfico sobre la corriente con el hematocrito corregido vs. una concentración de referencia de glucosa en plasma; estimando una concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- para cada muestra de la siguiente manera:

$$G_{\text{correcto}} = \frac{I_{\text{correcto}} - \text{Intercepto2}}{\text{Inclinación2}}$$

donde **G_{corrected}** incluye la concentración de glucosa con el hematocrito corregido, **intercept2** un valor de intercepto determinado a partir de una regresión lineal de un gráfico de **I_{corrected}** vs. una concentración de glucosa de referencia; y **inclinación2** incluye un valor de pendiente que se determina en base a una regresión lineal de un gráfico sobre **I_{correcto}** vs. una concentración de glucosa de referencia;

valorando una desviación o sesgo para cada una de las concentraciones de glucosa -con el hematocrito corregido- con ecuaciones cuya forma es la siguiente:

$$\text{Bias}_{\text{abs}} = G_{\text{corrected}} - G_{\text{referencia}}$$

G_{referencia} es menos de 75mg/dL y

$$\text{Bias}\% = \frac{G_{\text{correcto}} - G_{\text{referencia}}}{G_{\text{referencia}}}$$

G_{referencia} es mayor o igual que 75mg/dL;

donde **Bias_{abs}** incluye el sesgo absoluto, **Bias%** incluye el sesgo porcentual y **G_{referencia}** incluye la concentración de glucosa de referencia;

estimando la exactitud de la primera combinación del primer y segundo parámetro de ajuste con la siguiente fórmula:

donde **n15** incluye el número de puntos de información (o puntos de referencia) para un criterio de sesgo dado y **n** incluye el número total de puntos de referencia;

$$\text{Exactitud} = \frac{n-15 \cdot 100}{n}$$

5 calculando una pendiente de hematocrito en base a una regresión lineal de un gráfico de los sesgos vs. el porcentaje de hematocrito;

estableciendo la desviación estándar del sesgo con la siguiente fórmula:

$$10 \quad s = \left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

15 donde s incluye la desviación estándar, n incluye el número de muestras, x_i incluye la muestra y \bar{x} incluye el promedio de la muestra;

repetiendo los pasos previos con todas las combinaciones del primer y segundo parámetro de ajuste;

20 trazando un espacio de calibración de exactitud del espacio de calibración de exactitud para todas las combinaciones del primer y segundo parámetro de ajuste; trazando un espacio de calibración de exactitud del espacio de calibración de la pendiente de hematocrito para todas las combinaciones del primer y segundo parámetro de ajuste; generando un gráfico de superficie combinado para todas las combinaciones del primer y segundo parámetro de ajuste que cumplen los criterios de aceptación relacionados con la exactitud y la pendiente de hematocrito; y determinando el primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste específicos para lotes en base al gráfico de superficie combinado.

25 En otra realización, el método para determinar parámetros de ajuste específicos para lotes puede incluir, además, determinar un conjunto de parámetros de calibración específicos para lotes, por ejemplo, la pendiente y el intercepto.

30 En otra realización más, el método para determinar parámetros de ajuste específicos para lotes puede incluir, además, determinar parámetros de ajuste para múltiples lotes de tiras de prueba y, después, determinar las zonas de superposición de todos los lotes en los gráficos de superficie combinados de los espacios de calibración de exactitud (o espacios de calibración de precisión) y de los espacios de calibración de la pendiente de hematocrito.

35 En otra realización más, se proporciona un método para determinar una corriente de prueba -con el hematocrito corregido- que se mide con un sistema que incluye una tira de prueba y un medidor. El método puede realizarse aplicando un voltaje de prueba entre un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo revestido(s) con una capa reactiva dispuesta sobre una capa de matriz que tiene un mediador; midiendo con el medidor una primera corriente de prueba, una segunda corriente de prueba y una tercera corriente de prueba en el electrodo de trabajo después de aplicar a la tira de prueba una muestra de sangre que contiene un analito; y verificando una corriente de prueba -con el hematocrito corregido- mediante un ratio (o proporción) de la primera corriente de prueba con respecto a la segunda corriente de prueba elevado a un término de potencia y multiplicando el ratio por la tercera corriente de prueba, en la que el término de potencia es una función de un primer parámetro de ajuste y un segundo parámetro de ajuste.

40 En otra realización más, se proporciona un sistema de medición de analitos para medir al menos la concentración de glucosa en un fluido fisiológico de un usuario. El sistema incluye una tira de prueba y un medidor. La tira de prueba incluye un sustrato que tiene un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo revestido con una capa reactiva, que está dispuesta en una capa de matriz que tiene un mediador. Los electrodos están conectados con sus correspondientes placas de contacto. El medidor de analitos tiene un circuito de prueba conectado con un puerto de una tira de prueba que aloja a las placas de contacto de la tira de prueba, de manera que el medidor está configurado para aplicar un voltaje de prueba después de depositar fluido fisiológico en los electrodos y para determinar la concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- a partir de la primera, segunda y tercera corrientes de prueba medidas en un primer, segundo y tercer intervalo discreto después de aplicar un voltaje de prueba con el medidor.

50 Las realizaciones, características y ventajas de la invención resultarán evidentes para aquellas personas versadas en la materia cuando se analicen tomando como referencia la siguiente descripción -más detallada- de las realizaciones ejemplares junto con las ilustraciones anexas, que primero se describen brevemente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

60 Los dibujos anexas, que se incluyen en el presente texto y forman parte de esta especificación, ilustran las realizaciones de la invención que se prefieren actualmente, y, junto con la descripción general que se ha ofrecido previamente y la descripción detallada que se ofrece más adelante, sirven para explicar las características de la

invención (de modo que los números representan o hacen referencia a elementos o componentes similares), donde:

- 5 La Figura 1 ilustra una realización ejemplar de una vista superior de un sistema para medir dos concentraciones de analitos;
- La Figura 2 ilustra una realización ejemplar de una vista en perspectiva despiezada de una tira de prueba;
- La Figura 3 ilustra una realización ejemplar de una vista superior de la tira de prueba mostrada en la Figura 2;
- 10 La Figura 4 ilustra una realización ejemplar de un esquema o diagrama de los componentes funcionales del medidor que se muestra en la Figura 1 formando una conexión eléctrica con la tira de prueba de las Figuras 2 y 3;
- 15 La Figura 5A ilustra una realización ejemplar de un diagrama de flujo de un método para estimar la concentración de glucosa con el hematocrito corregido utilizando el sistema mostrado en la Figura 1;
- La Figura 6 ilustra una realización ejemplar de una gráfica que muestra los voltajes de prueba que el medidor aplica a la tira de prueba;
- 20 La Figura 7 ilustra una realización ejemplar de una gráfica que muestra las corrientes de prueba que se generan cuando los voltajes de prueba de la Figura 6 se aplican a la tira de prueba;
- 25 La Figura 8 ilustra una realización ejemplar de un gráfico de superficie sobre el espacio de calibración de exactitud de todas las combinaciones del primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste para un lote de tiras de prueba que tienen la realización mostrada en las Figuras 2 y 3;
- La Figura 9 ilustra una realización ejemplar de un gráfico de superficie sobre el espacio de calibración de la pendiente de hematocrito de todas las combinaciones del primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste para un lote de tiras de prueba que tienen la realización mostrada en las Figuras 2 y 3;
- 30 La Figura 10 ilustra una realización ejemplar de un gráfico de superficie combinado sobre todas las combinaciones del primer y el segundo parámetro de prueba que cumplen los criterios de aceptación de exactitud y pendiente de hematocrito, y utiliza los datos de las Figuras 8 y 9;
- 35 Las Figuras 11A y 11B ilustran un análisis de la rejilla de errores de Clarke ('Clarke Error Grid analysis', en inglés) que muestra la concentración de glucosa de prueba trazada como una función de la concentración de glucosa de referencia antes de y después de aplicar una realización ejemplar a los datos de prueba, respectivamente; y
- 40 Las Figuras 11C y 11D ilustran un análisis de la rejilla de errores de Parkes ('Parkes Error Grid analysis', en inglés) que muestra la concentración de glucosa de prueba trazada como una función de la concentración de glucosa de referencia antes de y después de aplicar una realización ejemplar a los datos de prueba, respectivamente.
- 45 Los datos de prueba de las Figuras 11A y 11B se usaron junto con datos adicionales y después de aplicar un sistema adecuado de detección o manejo de errores.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

- 50 La siguiente descripción detallada debe leerse tomando como referencia los dibujos o ilustraciones, en los que los elementos o componentes similares de las diferentes ilustraciones están numerados de idéntica manera. Las ilustraciones, que no están necesariamente a escala, representan realizaciones seleccionadas y no pretenden limitar el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, y de manera no limitativa, los principios de la invención. Dicha descripción hace posible que alguien versado en la materia desarrolle la invención y haga uso de ella, y describe diferentes realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, incluyendo el que, actualmente, se considera el mejor modo de llevar a cabo la invención.

- 60 Tal y como se utilizan en el presente texto, los términos 'alrededor' o 'aproximadamente', cuando hacen referencia a valores numéricos o a rangos o intervalos, indican una tolerancia dimensional válida que permite que la parte o el conjunto de componentes funcionen adecuadamente para realizar su propósito tal y como se describe en el presente texto. Además, tal y como se utilizan en el presente texto, los términos 'paciente', 'huésped', 'usuario' y 'sujeto' hacen referencia a cualquier individuo humano o animal y no pretenden limitar los sistemas o métodos al uso con humanos, a pesar de que el uso de la invención en pacientes humanos es una realización preferida.

- 65 La Figura 1 ilustra un sistema 100 para medir al menos dos concentraciones de analitos; dicho sistema 100 puede incluir un medidor 102 y una tira de prueba 200. El medidor 102 puede incluir un monitor o dispositivo de

visualización 104, un armazón o cubierta 106, diversos botones 108 para la interfaz del usuario y un puerto 110 para la tira. Además, el medidor 102 puede incluir un sistema de circuitos en el armazón 106, como, por ejemplo, una memoria 120, un microprocesador 122, componentes electrónicos para aplicar un voltaje de prueba, y también para medir al menos dos valores de corrientes de prueba. Se puede introducir una parte proximal 204 de la tira de prueba 200 en el puerto para la tira 110. El monitor de visualización 104 puede mostrar al menos dos concentraciones de analitos, por ejemplo, una concentración de glucosa y/o cetona, y puede usarse para mostrar una interfaz de usuario para ayudar al usuario a realizar una prueba. Los diversos botones de la interfaz del usuario 108 permiten al usuario manejar el medidor 102 navegando a través del software de la interfaz del usuario. De manera opcional, el monitor de visualización puede incluir una luz de fondo.

Un puerto de datos 114 opcional acepta un conector válido acoplado a un cable de conexión, permitiendo así que el medidor 102 se conecte a un dispositivo externo como, por ejemplo, un ordenador personal. El puerto de datos 114 puede ser cualquier puerto que permite la transmisión de datos (en serie o paralela) como, por ejemplo, un puerto en serie o paralelo con cables o sin cables. Un ordenador personal que incorpore el software adecuado permite la entrada y la modificación de los parámetros de configuración (por ejemplo, la hora actual, la fecha y el idioma), y puede realizar análisis de los datos que ha recogido el medidor 102. Además, el ordenador personal puede realizar funciones de análisis avanzadas y/o transmitir datos e información a otros ordenadores (por ejemplo, por Internet) para mejorar el diagnóstico y el tratamiento. Conectar el medidor 102 con un ordenador local o remoto facilita un tratamiento mejorado a los profesionales de la salud.

Las Figuras 2 y 3 son una vista en perspectiva despiezada y una vista superior montada -ambas ejemplares-, respectivamente, de la tira de prueba 200, que puede incluir siete capas dispuestas sobre un sustrato 205. Las siete capas dispuestas en el sustrato 205 pueden ser una capa conductora 250, una capa de aislamiento 216, una capa de matriz 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 de prueba 200 puede fabricarse siguiendo una serie de pasos, de manera que la capa conductora 250, la capa de aislamiento 216, la capa de matriz 222, la primera capa reactiva 224, la segunda capa reactiva 226 y la capa adhesiva 260 se depositan secuencialmente en el sustrato 205 utilizando, por ejemplo, un proceso de serigrafía. La capa hidrofílica (o hidrófila) 270 y la capa superior 280 pueden extraerse de un rollo de reserva y laminarse en el sustrato 205 como láminas integradas o como capas separadas. La tira de prueba 200 tiene una parte distal 203 y una parte proximal 204, tal y como se muestra en la Figura 2.

La tira de pruebas 200 puede incluir una cámara para alojar las muestras 292, a través de la cual se puede introducir una muestra. La cámara para alojar muestras 292 puede incluir una entrada en un extremo proximal de la tira de pruebas 200. Se incluye una salida o conducto de ventilación en la capa hidrofílica 270, tal y como se explicará más adelante. Se puede aplicar una muestra de sangre a la entrada para rellenar la cámara para alojar muestras 292 de manera que se midan al menos dos concentraciones de analitos. Los bordes laterales de la parte recortada de la capa adhesiva 260, situados junto a la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226, delimitan una pared de la cámara para alojar muestras 292, tal y como se ilustra en la Figura 2. La parte inferior o 'suelo' de la cámara para alojar muestras 292 puede incluir una parte de sustrato 205, capa conductora 250 y capa de aislamiento 216. La parte superior o 'techo' de la cámara para alojar muestras 292 puede incluir una parte distal hidrofílica 232.

Tal y como se ilustra en la Figura 2, para la tira de pruebas 200 se puede utilizar un sustrato 205 como cimientado o base para ayudar a sujetar las capas aplicadas posteriormente. El sustrato 205 puede tener la forma de una hoja de poliéster como, por ejemplo, un material de polietileno tereftalato (PET). El sustrato 205 puede venir en formato de rollo, que, teóricamente, tiene 350 micras de grosor, 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 la glucosa. La capa conductora 250 puede estar hecha a partir de una tinta de carbón que se serigrafía en el sustrato 205. En un proceso de serigrafía, la tinta de carbón se carga en una pantalla y después se transfiere a través de la pantalla utilizando una especie de escobilla. La tinta de carbón impresa puede secarse usando aire caliente a unos 140°C de temperatura. La tinta de carbón puede incluir resina VAGH, negro de carbón, grafito y uno o más disolventes para la resina, el carbón y la mezcla de grafito. Más particularmente, la tinta de carbón puede incluir un ratio adecuado de negro de carbón:resina VAGH.

Para la tira de prueba 200, tal y como se ilustra en la Figura 2, la capa conductora 250 puede incluir un electrodo de referencia 210, un primer electrodo de trabajo 212, un segundo electrodo de trabajo 214, una placa de contacto de referencia 211, una primera placa de contacto 213, una segunda placa de contacto 215, un tramo del electrodo de referencia 207, un primer tramo del electrodo de trabajo 208, un segundo tramo del electrodo de trabajo 209, y una banda para detectar tiras 217. En la realización que se muestra en la Figura 2, el electrodo de referencia 210 está situado entre el primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo 214, de manera que se minimizan las comunicaciones o interferencias entre el primer y el segundo electrodo de trabajo 212 y 214.

La capa conductora 250 puede formarse a partir de una tinta de carbón. La placa de contacto de referencia

211, la primera placa de contacto 213 y la segunda placa de contacto 215 pueden estar diseñadas para conectarse eléctricamente a un medidor de prueba. El tramo del electrodo de referencia 207 proporciona un camino eléctricamente continuo desde el electrodo de referencia 210 hasta la placa de contacto de referencia 211. De manera similar, el tramo del primer electrodo de trabajo 208 proporciona un camino eléctricamente continuo desde el primer electrodo de trabajo 212 hasta la primera placa de contacto 213. De manera similar, el tramo del segundo electrodo de trabajo 209 proporciona un camino eléctricamente continuo desde el segundo electrodo de trabajo 214 hasta la segunda placa de contacto 215. La banda para detectar tiras 217 está conectada eléctricamente con la placa de contacto de referencia 211. Un medidor de prueba puede detectar que la tira de prueba 200 ha sido introducida correctamente midiendo la continuidad entre la placa de contacto de referencia 211 y la banda para detectar tiras 217.

La capa de aislamiento 216 puede incluir una abertura o rendija rectangular 218 que deja expuesta una parte del electrodo de referencia 210, un primer electrodo de trabajo 212 y un segundo electrodo de trabajo 214, que puede humedecerse debido a 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 que queda expuesta a la muestra líquida. Además de delimitar el área de los electrodos, la capa de aislamiento 216 evita que una muestra líquida toque los tramos de electrodos 207, 208 y 209. Se cree que el área funcional de un electrodo de trabajo debe estar definida con precisión, puesto que la magnitud de la corriente de prueba es directamente proporcional al área efectiva del electrodo. Por poner un ejemplo, la capa de aislamiento 216 puede ser la tinta de Ercon E6110-116 Jet Black Insulayer™, que puede adquirirse gracias a Ercon, Inc. La tira de prueba en este punto puede tratarse con plasma. El plasma se crea con corriente alterna (CA) de alto voltaje entre dos o más fuentes de plasma separadas por unos 100 milímetros y que giran en torno a un eje generalmente vertical a temperatura ambiente para crear un anillo de plasma. El anillo de plasma está diseñado para estar separado del sustrato 205 -que puede incluir el electrodo de la tira de pruebas- por una distancia de entre aproximadamente 5 milímetros y aproximadamente 30 milímetros, y, preferiblemente, de entre alrededor de 10 milímetros y alrededor de 20 milímetros. El voltaje que utiliza el controlador de plasma puede configurarse para que sea de alrededor de 5 kVA, y el voltaje que se suministra a los electrodos de plasma es, preferiblemente, menor de unos 2 kVA. La frecuencia de la CA es de entre alrededor de 16 kHz y alrededor de 20 kHz. El anillo de plasma resultante, que está compuesto de partículas ionizadas y altamente energéticas, es arrastrado hacia abajo en dirección al sustrato 205 usando aire filtrado, comprimido y generalmente libre de contaminantes a una presión absoluta de 1,2 bares o más, preferiblemente alrededor de 2,5 bares, y con una tasa de flujo volumétrico de menos de 2 metros cúbicos de aire por hora, hacia el sustrato 205, que puede estar moviéndose ortogonalmente respecto al flujo de aire a una velocidad de entre unos 5 metros por minuto y unos 15 metros por minuto y, preferiblemente, 10 metros por minuto aproximadamente. El anillo de plasma puede estar situado junto a otros anillos de plasma a lo largo del recorrido de los sustratos. El número de anillos de plasma puede ir desde uno a todos los que sean necesarios a lo largo del recorrido del sustrato o de manera transversal a este recorrido para ayudar a modificar la superficie del sustrato. El plasma se utiliza para modificar la superficie de los electrodos con base de carbón serigrafiado. Se cree que esta modificación de la superficie o tratamiento de plasma aumenta la actividad electroquímica de la superficie de carbón y aumenta la energía superficial de las capas impresas, propiciando una mejor adhesión entre estas y las capas impresas posteriormente. También se cree que el tratamiento de plasma mejora la electroquímica de la superficie del carbón y hace que la reacción con el mediador sea más perfecta.

La capa de matriz 222 puede incluir un mediador como, por ejemplo, ferricianuro y un cofactor como, por ejemplo, nicotinamida adenina dinucleótico (NADH). En una realización, la capa de matriz 222 puede incluir ferricianuro de potasio, NADH, 'buffer' o tampón de Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, Antiespuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli (vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua AnalAR.

La primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 están dispuestas en la capa de matriz 222, tal y como se ilustra en la Figura 2. La primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 pueden incluir componentes químicos como una enzima que reacciona de manera selectiva con un analito de interés, de manera que se puede determinar la concentración de analitos. La capa reactiva puede incluir una enzima y un mediador. Las enzimas ejemplares que son aptas para usarse en la capa reactiva incluyen glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa (con cofactor de pirroloquinolina quinona, 'PQQ') y glucosa deshidrogenasa (con cofactor de flavín adenín dinucleótido, 'FAD'). El mediador ejemplar apto para usarse en la capa reactiva incluye ferricianuro, que, en este caso, está en forma oxidada. La capa reactiva puede configurarse para transformar físicamente la glucosa en un subproducto y generar en el proceso una cantidad de mediador reducido (por ejemplo, ferricianuro) que es proporcional a la concentración de glucosa. El electrodo de trabajo puede medir entonces la concentración del mediador reducido en forma de corriente. A su vez, el medidor de glucosa 102 puede convertir la magnitud de corriente a concentración de glucosa.

Los analitos ejemplares que son de interés para monitorizar la diabetes incluyen la glucosa y las cetonas. En una realización, la primera capa reactiva 224 puede incluir al menos una enzima que reacciona de manera selectiva con la glucosa. En otra realización, la primera capa reactiva 224 puede incluir una enzima que reacciona de manera selectiva con la glucosa y la segunda capa reactiva 226 puede incluir al menos una enzima que reacciona de manera selectiva con las cetonas.

En una realización, los componentes de la capa reactiva utilizados para determinar la concentración de

cetona pueden incluir beta-hidroxibutirato deshidrogenasa (BHD), 'buffer' de Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, ferricianuro de potasio, Antiespuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli (vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua AnalaR. En otra realización, la capa reactiva utilizada para medir las cetonas puede incluir una segunda enzima como, por ejemplo, diaforasa.

5 Los ejemplos de enzimas aptas para usarse en la capa reactiva para medir la glucosa pueden incluir tanto glucosa oxidasa como glucosa deshidrogenasa. Más específicamente, la glucosa deshidrogenasa puede tener un cofactor de pirroloquinolina quinona (PQQ) o un cofactor de flavín adenín dinucleótido (FAD). En una realización, los componentes de la capa reactiva que se usa para determinar la concentración de glucosa pueden incluir glucosa oxidasa, 'buffer' de Tris-HCL, hidroxietilcelulosa, ferricianuro de potasio, Antiespuma DC 1500, Cabosil TS 610, poli (vinil pirrolidona vinil acetato), Triton X-100, cloruro de calcio y agua AnalaR.

15 La primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 pueden estar formadas a partir de una tinta reactiva, que se coloca sobre la capa de matriz 222 y se deja secar. Nótese que también puede hacerse referencia a la tinta reactiva como tinta enzimática o preparación reactiva. Normalmente, una tinta enzimática contiene un líquido, como un 'buffer' o tampón, para dispersar y/o disolver los materiales utilizados para la detección electroquímica de un analito como la glucosa. En una realización, la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 pueden serigrafarse sobre la capa de matriz 222 en dos pasos consecutivos. La tinta reactiva puede cargarse en una pantalla hasta que esta esté llena. Después, se puede usar una especie de escobilla para transferir la tinta reactiva a través de la pantalla y hasta la capa de matriz 222. Después de depositarse, la tinta reactiva puede secarse usando aire caliente a alrededor de 50°C.

25 En una realización, el área de la primera capa reactiva 224 y la segunda capa reactiva 226 es suficientemente grande como para cubrir toda el área del primer electrodo de trabajo 212 y el segundo electrodo de trabajo 214, respectivamente. Tanto la primera capa reactiva 224 como la segunda capa reactiva 226 tienen una anchura y una longitud lo suficientemente grandes como para abarcar al menos el área de electrodos más grande que puede usarse en la tira de prueba 200. La anchura de la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 puede ser de unos 2 milímetros, es decir, más del doble de ancha que la apertura rectangular 218.

30 La capa adhesiva 260 puede colocarse en la tira de prueba después de depositar la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226. Algunas partes de la capa adhesiva 260 pueden alinearse para estar justo al lado de, tocar o superponerse parcialmente con la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226. La capa adhesiva 260 puede incluir un adhesivo -con base de agua y sensible a la presión- de copolímeros acrílicos, que se encuentra disponible comercialmente. La capa adhesiva 260 está colocada sobre una parte de la capa de aislamiento 216, la capa conductora 250 y el sustrato 205. La capa adhesiva 260 une la capa hidrofílica 270 con la tira de pruebas 200.

40 La capa hidrofílica 270 puede incluir una parte distal hidrofílica 232 y una parte proximal hidrofílica 234. El hueco o espacio 235 actúa como un conducto de ventilación lateral para el aire mientras la sangre rellena la cámara para alojar muestras 292. La capa hidrofílica 270 puede ser un poliéster que tiene una superficie hidrofílica como, por ejemplo, un revestimiento antiniebla, que está disponible comercialmente de la mano de 3M.

45 La última capa que se añade a la tira de pruebas 200 es la capa superior 280, tal y como se ilustra en la Figura 2. La capa superior 280 puede incluir una parte clara o despejada 236 y una parte opaca 238. La capa superior 280 está colocada sobre la capa hidrofílica 270 y adherida a ella. La capa superior 280 puede ser un poliéster que tiene un revestimiento adhesivo en un lado. Debe entenderse que la parte clara 236 básicamente se superpone a la parte hidrofílica distal 232, lo que permite al usuario confirmar visualmente que la cámara para alojar muestras 292 puede estar lo suficientemente llena. La parte opaca 238 ayuda al usuario a observar el alto nivel de contraste entre un fluido con color, como, por ejemplo, la sangre de la cámara para alojar muestras 292, y la parte opaca 238.

50 En otra realización, el sistema puede incluir un medidor y una tira de prueba para medir un analito, por ejemplo, glucosa, tal y como se describe en las patentes de EE UU nºs 5 708 247, 5 951 836, 6 241 862 y 7 112 265 (todas ellas se incluyen por completo en el presente texto a modo de referencia).

55 La Figura 4 muestra un esquema simplificado del medidor 102 interactuando con la tira de prueba 200. El medidor 102 puede incluir un conector de referencia 180, un primer conector 182 y un segundo conector 184, que forman, respectivamente, una conexión eléctrica con el contacto de referencia 211, el primer contacto 213 y el segundo contacto 215. Los tres conectores mencionados forman parte del puerto de la tira 110. Cuando se realiza un análisis, una primera fuente de voltaje de prueba 186 puede aplicar un voltaje de prueba V_{WE2} entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. Como resultado del voltaje de prueba V_{WE2} , el medidor 102 puede medir después una corriente de prueba V_{WE2} en el segundo electrodo de trabajo. De manera similar, una segunda fuente de voltaje de prueba 188 aplica un voltaje de prueba V_{WE1} entre el primer electrodo de trabajo 212 y el electrodo de referencia 210. Como resultado del voltaje de prueba V_{WE1} , el medidor 102 puede medir después una corriente de prueba V_{WE1} . En una realización, el voltaje de prueba V_{WE2} y el segundo voltaje de prueba V_{WE1} pueden ser casi iguales. Para simplificar la descripción de las siguientes secciones, el conjunto de instrucciones para determinar una concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- se describirá solamente para un electrodo

de trabajo y el electrodo de referencia. Debe entenderse que las realizaciones no deberían limitarse a un electrodo de trabajo y al electrodo de referencia, sino que también pueden usarse múltiples electrodos de trabajo.

5 En referencia a la Figura 5A, ahora se describirá un método 300 para determinar una concentración de analitos con el hematocrito corregido (por ejemplo, de glucosa) que hace uso de las realizaciones del medidor 102 y la tira de prueba 200 previamente mencionadas.

10 En el paso ejemplar 310, se proporcionan el medidor 102 y la tira de prueba 200. El medidor 102 puede incluir un sistema de circuitos electrónico que puede usarse para aplicar al menos una prueba de voltaje a la tira de prueba y para medir la corriente que circula al menos a través del segundo electrodo de trabajo 214. El medidor 102 también puede incluir un procesador de señales con un conjunto de instrucciones para el método que determina al menos una concentración de analitos en una muestra de fluidos, tal y como se ha desvelado en el presente texto. En una realización, los analitos son glucosa y cetona de la sangre.

15 La Figura 6 es una gráfica ejemplar de un voltaje de prueba aplicado a una tira de prueba 200. Antes de aplicar una muestra de fluido a la tira de prueba 200, el medidor de prueba 102 está en un modo de detección de fluidos en el que se aplica un voltaje de prueba de alrededor de 400 milivoltios entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. En el paso ejemplar 320, la muestra de fluidos se aplica a la tira de prueba en t_0 y se deja que reaccione con la primera y la segunda capa reactiva 224 y 226 durante un tiempo de reacción t_R . La presencia de la muestra en la zona de reacción de la tira de prueba 200 se determina midiendo la corriente que circula a través del segundo electrodo de trabajo 214. Se determina que el principio del periodo o tiempo de reacción t_R comienza cuando la corriente que circula a través del segundo electrodo de trabajo 214 alcanza el valor deseado, normalmente alrededor de 0,150 nanoamperios (no se muestra), y en ese punto se aplica un voltaje de prueba de cero milivoltios entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210. Normalmente, el tiempo de reacción t_R es de entre alrededor de 2 segundos y alrededor de 4 segundos tras el comienzo de la medición, y, más habitualmente, es de alrededor de 3 segundos tras el comienzo de la medición, esto es, después de t_1 . En el paso ejemplar 330, tras el tiempo de reacción t_R , el voltaje de prueba del método se aplica a la tira de prueba 200 en t_1 durante un tiempo de prueba total t_T . En un método alternativo (no se muestra), el tiempo de reacción t_R se omite de tal manera que el comienzo de la prueba se da tan pronto como haya suficiente corriente circulando a través del segundo electrodo de trabajo 214.

La Figura 7 es una gráfica ejemplar de una oscilación de corriente A (esto es, la respuesta de corriente eléctrica medida en nanoamperios como una función de tiempo) que se mide cuando el voltaje de prueba de la Figura 6 se aplica a la tira de prueba 200. Generalmente, las corrientes de prueba I_i que se obtienen de las oscilaciones de corriente A son indicativas de la concentración de analitos en la muestra, tal y como se explicará en el paso ejemplar 350 de más abajo. En referencia a las Figuras 6 y 7, en el paso ejemplar 340, después de aplicar el voltaje de prueba entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 en el tiempo t_1 , se miden una primera corriente de prueba I_1 , una segunda corriente de prueba I_2 y una tercera (o última) corriente de prueba I_3 en los tiempos t_2 , t_3 y t_T , respectivamente. El voltaje de prueba que se aplica entre el segundo electrodo de trabajo 214 y el electrodo de referencia 210 es, generalmente, de entre alrededor de +100 milivoltios y alrededor de +600 milivoltios. En una realización, en la que el segundo electrodo de trabajo es tinta de carbón y el mediador es ferricianuro, el voltaje de prueba es de alrededor de +400 milivoltios. Otras combinaciones de mediadores y materiales de electrodos requerirán diferentes voltajes de prueba. Generalmente, la duración del primer voltaje de prueba es de entre alrededor de 4 y 6 segundos después del tiempo de reacción y, normalmente, es de alrededor de 5 segundos después del tiempo de reacción. Normalmente, el tiempo t_i se mide en relación con el tiempo t_1 . En la práctica, cada corriente de prueba I_i es el promedio de un conjunto de medidas obtenidas durante un corto intervalo, por ejemplo, cinco medidas obtenidas en intervalos de 0,01 segundos, empezando en t_{i+1} , donde I oscila entre 1 y 3.

50 En referencia a la Figura 5A, en el paso ejemplar 350, la concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- puede determinarse del siguiente modo:

$$55 \quad G = \frac{\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right] - \text{Intercepción1}}{\text{Inclinación1}} \quad (1)$$

donde:

60 G es la concentración de glucosa con el hematocrito corregido;

I_1 es la primera corriente de prueba;

I_2 es la segunda corriente de prueba;

I_3 es la tercera corriente de prueba;

65 p es un término de potencia que determina la fuerza de la corrección del hematocrito: cuanto mayor sea la magnitud de p , mayor será la corrección del hematocrito, esto es, mayor será el término

5

$$\left(\frac{I_1}{I_2} \right)$$

en la Ecuación 1;

10

intercepción 1 es el valor del intercepto (también llamado 'ordenada en el origen', 'intersección'; o 'intercept', en inglés), que se determina a partir de una regresión lineal de un gráfico o representación gráfica de

15

$$\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right]$$

vs. una concentración de glucosa de referencia; y

20

inclinación1 puede ser el valor de la pendiente, que se determina a partir de una regresión lineal de un gráfico de vs. la concentración de glucosa de referencia.

25

$$\left[\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p I_3 \right]$$

30

En una realización, la primera corriente de prueba I_1 puede ser desde alrededor de 3 segundos tras un tiempo de reacción hasta alrededor de 4 segundos tras un tiempo de reacción t_1 ; la segunda corriente de prueba I_2 puede ser desde alrededor de 4 segundos tras un tiempo de reacción t_1 hasta alrededor de 5 segundos tras un tiempo de reacción t_1 ; y la tercera corriente de prueba I_3 puede ser de alrededor de 5 segundos tras un tiempo de reacción t_1 . En una realización, la primera corriente de prueba I_1 debe medirse en un tiempo en el que el ruido de señales es bajo. Con las tiras de prueba tratadas con plasma, la primera corriente de prueba debe medirse a unos 3,5 segundos, la segunda corriente de prueba debe medirse a unos 4,5 segundos y la tercera corriente de prueba a unos 5 segundos. Con las tiras de prueba no tratadas, la primera corriente de prueba debe medirse a unos 4 segundos, la segunda corriente de prueba debe medirse a unos 4,5 segundos y la tercera corriente de prueba a unos 5 segundos.

35

40

En una realización, el término de potencia p ('power term', en inglés) depende del valor umbral de la primera corriente de prueba I_1 y puede ser de entre alrededor de uno y alrededor de cuatro. Si la primera corriente de prueba I_1 está por encima del valor umbral, entonces la Ecuación 1 se usa para calcular la concentración de glucosa con el hematocrito corregido G . Si la primera corriente de prueba I_1 está al nivel del valor umbral o por debajo de este, entonces el término de potencia p se iguala a cero en la Ecuación 1 y el término

45

50

$$\left(\frac{I_1}{I_2} \right)^p$$

se convierte en uno. En una realización, el valor umbral del primer test de corriente I_1 puede ser de entre alrededor de 4 microamperios y alrededor de 7 microamperios.

55

El término de potencia p comprende un valor obtenido a partir de:

60

$$p = a - \frac{b}{I_3} \tag{2}$$

donde a es un primer parámetro de ajuste y b es un segundo parámetro de ajuste.

65

Sustrayendo el inverso de I_3 del primer parámetro de ajuste a , el término de potencia p aumenta para valores grandes de I_3 y disminuye para valores pequeños de I_3 , de manera que se corresponde con concentraciones

de glucosa altas y bajas, respectivamente. En una realización, el primer parámetro de ajuste **a** y el segundo parámetro de ajuste **b** tienen un valor de entre alrededor de cero y alrededor de cinco. Para valores de glucosa bajos, por ejemplo, menos que alrededor de 75mg/dL, el valor de **p** es, preferiblemente, de alrededor de 1, mientras que para otros valores de glucosa, el valor de **p** puede ser desde alrededor de 1,5 hasta alrededor de 3,5. En el paso ejemplar 340, la concentración de glucosa con el hematocrito corregido puede visualizarse en el medidor 102.

En referencia a la Figura 5B, se describirá ahora un método 400 para determinar un primer y segundo parámetro de ajuste **a** y **b** específicos para lotes. En el paso ejemplar 410, se proporcionan diversas combinaciones del primer y segundo parámetro de ajuste **a** y **b**. En una realización en la que el primer y el segundo parámetro de ajuste pueden variar desde alrededor de cero hasta alrededor de cinco con incrementos de 0,1, son posibles un total de 2601 combinaciones de parámetros de ajuste. En el paso ejemplar 420, el primer término de potencia **p1** para la primera combinación del primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste puede determinarse con la Ecuación 3.

En el paso ejemplar 430, se puede determinar con la siguiente fórmula la corriente -con el hematocrito corregido- para cada una de las diversas muestras analizadas con el lote de tiras de prueba:

$$I_{\text{correcto}} = \left(\frac{I_1}{I_2} \right)^{p1} * I_3 \quad (3)$$

donde $I_{\text{corrected}}$ es una corriente con el hematocrito corregido y **p1** es el primer término de potencia.

En el paso ejemplar 440, el **slope2** ('Pendiente2') y el **intercept2** ('Intercepto2') se determinan a partir de una regresión lineal de un gráfico sobre la corriente con el hematocrito corregido vs. la concentración de referencia de la glucosa plasmática.

En el paso ejemplar 450, la concentración de glucosa con el hematocrito corregido se determina para cada una de las diversas muestras mediante la siguiente fórmula:

$$G_{\text{correcto}} = \frac{I_{\text{correcto}} - \text{Intercepto2}}{\text{Pendiente 2}} \quad (4)$$

$G_{\text{corrected}}$ ('Gcorregida') es la concentración de glucosa con el hematocrito corregido; **intercepto2** es el valor del intercepto determinado a partir de una regresión lineal de un gráfico sobre $I_{\text{corrected}}$ vs. una concentración de glucosa de referencia $G_{\text{referencia}}$; y **inclinación2** es el valor de la pendiente determinado a partir de una regresión lineal de un gráfico sobre $I_{\text{corrected}}$ vs. una concentración de glucosa de referencia;

En el paso ejemplar 460, se determina un sesgo o desviación para cada concentración de glucosa con el hematocrito corregido, y se utilizan ecuaciones con la forma siguiente:

$$Bias_{abs} = G_{\text{correcto}} - G_{\text{referencia}} \text{ de } G_{\text{referencia}} \text{ menos de } 75 \text{ mg/dL y} \quad (5)$$

$$Bias_{\%} = \frac{(G_{\text{correcto}} - G_{\text{referencia}})}{G_{\text{referencia}}} \text{ por } G_{\text{referencia}} \geq 75 \text{ mg/dL} \quad (6)$$

donde:
Bias_{abs} es un sesgo absoluto;
Bias_% es un sesgo porcentual;
G_{corrected} se ha definido previamente para la Ecuación 4; y
G_{reference} es la concentración de glucosa de referencia;

En el paso ejemplar 470, se determina la exactitud de la primera combinación del primer y el segundo parámetro de ajuste, y se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{Exactitud} = \frac{n15}{n} * 100 \quad (7)$$

n15 es el número de puntos de referencia (o puntos de información) para un criterio de sesgo dado; y **n** es el número total de puntos de referencia;

En el paso ejemplar 480, se determina una pendiente de hematocrito a partir de una regresión lineal de un gráfico sobre el sesgo vs. el porcentaje de hematocrito.

5 En el paso ejemplar 490, se determina la desviación estándar del sesgo (que puede ser un sesgo promedio) utilizando la siguiente fórmula o ecuación:

$$10 \quad s = \left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (8)$$

donde:

15 **s** es la desviación estándar;
n es el número de muestras;
x_i es la muestra; y
 \bar{x} es el promedio de la muestra.

20 La desviación estándar del sesgo (que puede ser un sesgo promedio) es una medida del ruido, y viene presentada en el set de instrucciones.

25 En el paso ejemplar 500, se repiten los pasos previos para todas las combinaciones del primer y el segundo parámetro de ajuste. En el paso ejemplar 510, se genera un gráfico de superficie 800 (Figura 8) del espacio de calibración de exactitud para todas las combinaciones del primer parámetro de ajuste **a** y el segundo parámetro de ajuste **b**. Una zona o región 802 de exactitud aceptable se puede determinar a partir del espacio de calibración de exactitud. La zona 802 señala el área de mayor exactitud, aproximadamente $\pm 15\%$ o alrededor de 12 mg/dL para cumplir los requisitos de precisión. Los datos generados por el gráfico 800 se calculan a partir de un lote de tiras de prueba de carbón tratadas con plasma. En una realización, se usa una precisión o exactitud mínima de un 95% como criterio de aceptación.

30 En el paso ejemplar 520, se determina un gráfico de superficie 900 (Figura 9) del espacio de calibración de la pendiente de hematocrito para todas las combinaciones del primer parámetro de ajuste **a** y el segundo parámetro de ajuste **b**. Después, puede determinarse la máxima pendiente de hematocrito negativa a partir del espacio de calibración de la pendiente de hematocrito. En una realización, el criterio de aceptación de la pendiente de hematocrito es mayor que un sesgo de -0,6% por % de hematocrito, tal y como indica la zona o región 902 del gráfico 900.

35 En el paso ejemplar 530, se determina un gráfico de superficie combinado 1000 (Figura 10) sobre el espacio de calibración de exactitud y el espacio de calibración de la pendiente de hematocrito para todas las combinaciones del primer parámetro de ajuste **a** y el segundo parámetro de ajuste **b**.

40 En el paso ejemplar 540, se determinan el primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste -específicos para lotes- a partir de la zona en el gráfico de superficie combinado en la que se cumplen los criterios de aceptación para la precisión y la pendiente de hematocrito. En una realización, el criterio de aceptación para la precisión es mayor que 95% y el criterio de aceptación para la pendiente de hematocrito es mayor que un sesgo de -0,5% por % de hematocrito. El primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste -específicos para lotes- pueden usarse entonces para determinar un conjunto de parámetros de calibración específicos para lotes, por ejemplo, pendiente e intercepto, repitiendo los pasos 420, 430 y 440 del método 400. Para usar el mismo conjunto de parámetros de ajuste con múltiples lotes de tiras de prueba, puede determinarse un conjunto de parámetros de ajuste para cada lote mediante el método 400 y, después, pueden determinarse las zonas que se superponen en el espacio de calibración combinado de exactitud y hematocrito para todos los lotes. Esto es, se conservan las combinaciones que cumplen los criterios adecuados (por ejemplo, cuya exactitud es mayor que 95% y cuya pendiente es mayor que un sesgo del -0,6% por % de hematocrito) en las Figuras 8 y 9. La región elevada de la Figura 10 ilustra el espacio de calibración resultante.

55 **EJEMPLO:** Determinación de la concentración de glucosa -con el hematocrito corregido- usando una tira de pruebas tal y como se muestra en las Figuras 2 y 3.

60 Se analizó un lote de tiras de prueba con 432 muestras de sangre entera que tenían al menos tres concentraciones de glucosa diferentes (esto es, 55 mg/dL, 240 mg/dL y 450 mg/dL) y niveles de hematocrito que iban del 30% al 55%. La concentración de glucosa con el hematocrito corregido se determinó para cada punto de datos (o punto de información) en el mapeo de datos ('data mapping', en inglés), tal y como se ha explicado previamente en los métodos 300 y 400. Se determinó un gráfico de superficie 800 del espacio de calibración de exactitud para todas las combinaciones de los parámetros de ajuste **a** y **b**, y se ilustra en la Figura 8. La zona elevada 802 en el centro del gráfico de superficie señala el área de precisión aceptable, por ejemplo, mayor que el 95% de los valores dentro de los requisitos de sesgo de la Organización Internacional de Normalización (ISO) de

alrededor de +/-15% para los valores de glucosa iguales o mayores que alrededor de 75 mg/dL, o alrededor de 12 mg/dL para los valores de glucosa menores que alrededor de 75 mg/dL.

También se determinó (y se muestra en la Figura 9) un gráfico de superficie 900 sobre el espacio de calibración de la pendiente de hematocrito para todas las combinaciones de los parámetros de ajuste **a** y **b** para concentraciones de glucosa mayores que alrededor de 100 mg/dL y menores que alrededor de 300 mg/dL, puesto que se cree que este intervalo es el más resistente a la corrección de hematocrito. La zona 902 en el centro del gráfico cumple los criterios de aceptación para la pendiente de hematocrito mayor que un sesgo de alrededor de -0,6% por % de hematocrito.

Las Figuras 8 y 9 ilustran un gran espacio de calibración que es característico del efecto que tienen todas las combinaciones posibles (2061) de los parámetros de ajuste sobre la precisión y la pendiente de hematocrito. Visualizar los datos de este modo proporciona un método para reducir este gran espacio de calibración a un conjunto útil de parámetros de ajuste. La Figura 8 sugiere dónde hay una región (por ejemplo, 802) de precisión que se encuentra dentro de los criterios de aceptación. La región 802 puede reducirse aún más tomando en cuenta la pendiente de hematocrito junto con la precisión. Esto puede lograrse estableciendo unos criterios de aceptación para la precisión y la pendiente de hematocrito en cada combinación de los parámetros de ajuste. Usando un requisito de precisión de más del 95% de los datos dentro de los límites de sesgo de ISO de +/-15% para los valores de glucosa iguales o mayores que 75 mg/dL, o 12 mg/dL para los valores de glucosa menores que 75 mg/dL (Figura 8), y un requisito de hematocrito mayor que un sesgo de -0,6% por % de hematocrito (Figura 9), se puede determinar un espacio de calibración 1000, tal y como ilustra la zona sombreada de la Figura 10. El espacio de calibración puede reducirse usando criterios de aceptación más estrictos; por ejemplo, aumentando la precisión requerida y reduciendo la pendiente de hematocrito permitida, lo cual da como resultado un conjunto menor de parámetros de ajuste específicos para lotes.

Una vez que se ha obtenido el conjunto preferido de parámetros de ajuste **a** y **b** a partir del mapeo de datos, pueden aplicarse al conjunto de datos y se repite el proceso explicado previamente para determinar las pendientes y los interceptos para las corrientes con el hematocrito compensado y los valores de glucosa de referencia. Entonces, se establecen los parámetros de ajuste y calibración para el lote en cuestión. Cuando se trabaja con múltiples lotes, deberían repetirse todos los pasos con cada lote individual, y deberían hallarse zonas en el espacio de calibración que permiten utilizar el mismo conjunto de parámetros de ajuste (por ejemplo, creando la Figura 10 para cada lote y buscando zonas de superposición).

Las Figuras 11A y 11B ilustran gráficos de la rejilla de errores de Clarke de la concentración de glucosa de prueba como una función de la concentración de glucosa de referencia, tal y como se han determinado mediante un instrumento de referencia. Un análisis de la rejilla de errores de Clarke proporciona un método para obtener la precisión clínica de un dispositivo que monitoriza la glucosa en sangre. La rejilla de errores de este análisis clasifica la respuesta de un dispositivo frente a un valor de referencia en una de las cinco zonas de precisión clínica (es decir, zonas A-E). La Zona A indica resultados clínicamente exactos; la Zona B indica resultados que no son clínicamente exactos pero representan un riesgo mínimo para la salud del paciente; y las zonas C a E indican resultados clínicamente inexactos que representan un riesgo potencial cada vez mayor para la salud del paciente (ver Clarke, William L. et al., 'Evaluating Clinical Accuracy of Systems for Self-Monitoring of Blood Glucose, Diabetes Care', Vol. 10 No. 5, 622-628 [1987]). Las especificaciones pueden desarrollarse basándose en el porcentaje de los resultados que se incluyen dentro de las diversas zonas de la rejilla de errores. En el ejemplo que nos ocupa, es deseable que al menos un 95% de los datos se incluyan en la zona A y que el resto de los datos se incluyan en la zona B. La Figura 11A ilustra los datos sin corregir del lote de tiras de prueba analizadas con 432 muestras de sangre entera. La Figura 11B ilustra el mismo conjunto de datos, pero corrigiendo el hematocrito del método y aplicándolo a los datos previamente descritos en los métodos 300 y 400. En la Tabla 1 de abajo, se muestra un resumen del porcentaje de datos que se incluyen en cada zona, con los datos corregidos y los datos sin corregir.

Tabla 1: Resumen del Análisis de la Rejilla de Errores de Clarke

Zona	Porcentaje dentro de la Zona (Datos sin corregir)	Porcentaje dentro de la Zona (Datos corregidos)
A	92,2	98,6
B	6,7	1,2
C	0,1	0,1
D	0,9	0,0
E	0,0	0,0

Los datos de la Tabla 1 ilustran un aumento en el porcentaje de puntos de referencia en la Zona A cuando el método empleado se usa para corregir los datos por el efecto del hematocrito.

Los datos también se pueden presentar como un porcentaje que se incluye dentro de los diferentes criterios de sesgo de la ISO, tal y como se ilustra en la Tabla 2 de más abajo. Los pasos 410-470 del método se usaron para determinar el porcentaje de cada criterio de sesgo.

Tabla 2: Resumen de los Resultados de Sesgo

Criterios de Sesgo de la ISO (%)	Porcentaje dentro de los Criterios de Sesgo (Datos sin corregir)	Porcentaje dentro de los Criterios de Sesgo (Datos corregidos)
+/-20	92,3	98,6
+/-15	83,7	97,1
+/-10	66,3	85,4

Los datos de la Tabla 2 indican un aumento en el porcentaje de datos que se incluyen dentro de cada criterio de sesgo de la ISO cuando el método empleado se usa para corregir los datos por el efecto del hematocrito.

Las Figuras 11C y 11D ilustran gráficos de la rejilla de errores de Parkes sobre los mismos datos que se muestran en las Figuras 11A y 11B, aplicando un sistema de detección de errores para eliminar los valores atípicos. La rejilla de errores de Parkes es la sucesora de la rejilla de errores de Clarke, y se diferencia de esta porque (a) cuenta con el consenso de un mayor número de físicos y (b) modifica los límites de riesgo basándose en los avances en el conocimiento que se han adquirido desde la publicación original de Clarke et al. (ver Parkes, Joan L. et al., 'A New Consensus ErrorGrid to Evaluate the Clinical Significance of Inaccuracies in the Measurement of Blood Glucose', Diabetes Care, Vol. 23, No. 8, 1143-1147 [2000]). La rejilla de errores de Parkes elimina las discontinuidades o interrupciones de los niveles de riesgo (esto es, saltarse las categorías de riesgo al pasar de un límite de zona a otro) de la rejilla de errores de Clarke.

La Figura 11C ilustra los datos sin corregir del lote de tiras de prueba testado con 761 muestras de sangre entera y de manera que se han eliminado los valores atípicos aplicando un sistema de detección de errores. La Figura 11D ilustra el mismo conjunto de datos que la Figura 11C, pero corrigiendo el hematocrito del método empleado y aplicándolo a los datos previamente descritos en los métodos 300 y 400. Es deseable que al menos un 95% de los datos se incluyan en la zona A y el resto de datos se incluyan en la zona B. En la Tabla 3 de abajo, se muestra un resumen del porcentaje de datos que se incluyen en cada zona, con los datos corregidos y los datos sin corregir.

Tabla 3: Resumen del Análisis de la Rejilla de Errores de Parkes

Zona	Porcentaje dentro de la Zona (Datos sin corregir)	Porcentaje dentro de la Zona (Datos corregidos)
A	96,8	99,2
B	3,2	0,8
C	0,0	0,0
D	0,0	0,0
E	0,0	0,0

Los datos de la Tabla 3 ilustran un incremento en el porcentaje de puntos de información (o puntos de referencia) en la Zona A cuando el método empleado se usa para corregir los datos del efecto del hematocrito.

En resumen, el sistema y los métodos descritos e ilustrados en el presente texto pueden utilizarse para determinar la concentración de glucosa con el hematocrito corregido. Por consiguiente, se cree que el resultado de glucosa obtenido con el sistema y el método ejemplares empleados es más preciso.

A pesar de que la invención se ha descrito desde el punto de vista de las variaciones particulares y las figuras ilustrativas, aquellas personas con conocimientos ordinarios en la materia comprenderán que la invención no se limita a las variaciones o figuras descritas. Además, a pesar de que los métodos y pasos descritos previamente indican que ciertos acontecimientos suceden en un cierto orden, aquellas personas con conocimientos ordinarios en la materia comprenderán que el orden de algunos pasos puede modificarse y que estas modificaciones están en conformidad con las variaciones de la invención. Asimismo, algunos de los pasos pueden realizarse simultáneamente en un proceso paralelo cuando sea posible, y también pueden realizarse de manera secuencial tal y como se ha explicado previamente.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Reivindicaciones

1. Un método para determinar la corriente de prueba corregida por hematocritos medible con un sistema que tiene una tira de prueba y un medidor, el método comprendiendo:

5 aplicar un voltaje de prueba entre un electrodo de referencia y un electrodo de trabajo revestidos con una capa reactiva dispuesta sobre una capa de matriz que tiene un mediador;
 medir una primera corriente de prueba, una segunda corriente de prueba y una tercera corriente de prueba en el electrodo de trabajo con el medidor después de que se haya aplicado una muestra de sangre que
 10 contiene un analito a la tira de prueba; y
 comprobar una corriente de prueba corregida por hematocritos mediante una proporción de la primera corriente de prueba con la segunda corriente de prueba elevado a un término de potencia y multiplicando la proporción por la tercera corriente de prueba, en la que el término de potencia comprende una función de un
 15 primer parámetro de ajuste y un segundo parámetro de ajuste,

en donde el primer y el segundo parámetros de ajuste específicos del lote se evalúan calculando un primer término de potencia para una primera combinación del primer parámetro de ajuste y el segundo parámetro de ajuste con la siguiente:

$$20 \quad p1 = a - \frac{b}{I_3}$$

donde

25 p1 comprende un primer término de potencia
 I₃ comprende la tercera corriente de prueba; y
 a y b son el primer y el segundo parámetros de ajuste, respectivamente,

30 en donde cada uno del primer y segundo parámetros de ajuste es de aproximadamente cero a aproximadamente 5.

2. El método de la reivindicación 1, que comprende además:

35 computar una inclinación e intercepción a partir de una regresión lineal de un gráfico de corriente corregida por hematocrito frente a una concentración de glucosa en plasma de referencia para un lote de tira de prueba;
 estimar una concentración de glucosa corregida por hematocritos para cada una de la pluralidad de muestras con la siguiente:

$$40 \quad G_{\text{corregido}} = \frac{I_{\text{corregido}} - \text{intercepción}2}{\text{inclinación} 2}$$

donde:

45 G_{corregido} comprende la concentración de glucosa corregida por hematocritos
 intercepción2 comprende un valor de intercepción determinado a partir de la regresión lineal de un gráfico de I_{corregido} frente a la concentración de glucosa de referencia; y
 50 inclinación2 comprende un valor de inclinación determinado a partir de la regresión lineal de un gráfico de I_{corregido} frente a la concentración de glucosa de referencia;

evaluar un sesgo para cada concentración de glucosa corregida por hematocritos con la siguiente:

$$55 \quad \text{Sesgo}_{\text{abs}} = G_{\text{corregido}} - G_{\text{referencia}} \text{ para } G_{\text{referencia}} \text{ menor de } 75 \text{ mg/dl}$$

y

$$60 \quad \text{Sesgo}_{\%} = \frac{G_{\text{corregido}} - G_{\text{referencia}}}{G_{\text{referencia}}} \text{ para } G_{\text{referencia}} \text{ mayor de o igual a } 75 \text{ mg/dl}$$

donde

65 Sesgo_{abs} comprende el sesgo absoluto;

ES 2 670 676 T3

Sesgo% comprende el sesgo porcentual; y
G_{referencia} comprende la concentración de glucosa de referencia;

5 estimar una precisión para la primera combinación del primer y el segundo parámetros de ajuste con la siguiente:

$$Precisión = \frac{n15}{n} * 100$$

10 donden15 comprende el número de puntos de datos dentro de un criterio de sesgo; y
n comprende el número total de puntos de datos;

15 computar una inclinación de hematocritos a partir de una regresión lineal de un gráfico del sesgo frente al porcentaje de hematocritos;
establecer una desviación estándar del sesgo con la siguiente:

$$s = \left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

20 donde:

25 s comprende la desviación estándar;
n comprende el número de muestras;
x_i comprende la muestra; y
x comprende la media de la muestra;

30 repetir los pasos anteriores para todas las combinaciones del primer y el segundo parámetros de ajuste;
trazar un espacio de calibración de precisión del espacio de calibración de precisión para todas las combinaciones del primer y el segundo parámetros de ajuste;
trazar un espacio de calibración de precisión del espacio de calibración de la inclinación de hematocritos para todas las combinaciones del primer y el segundo parámetros de ajuste;
generar un gráfico de superficies combinado para todas las combinaciones del primer y el segundo parámetros de ajuste que cumplan los criterios de tanto precisión como inclinación de hematocritos; y
35 determinar el primer y el segundo parámetros de ajuste específicos del lote a partir del gráfico de superficies combinado.

40 **3.** El método de la reivindicación 1, que comprende además determinar los valores de calibración con el primer y el segundo parámetros de ajuste específicos del lote.

4. El método de la reivindicación 1, en el que el término de potencia comprende un valor de aproximadamente uno a aproximadamente cuatro.

45 **5.** El método de la reivindicación 1, en el que la primera corriente de prueba comprende una corriente medida de aproximadamente tres a aproximadamente cuatro segundos después del inicio de la medición.

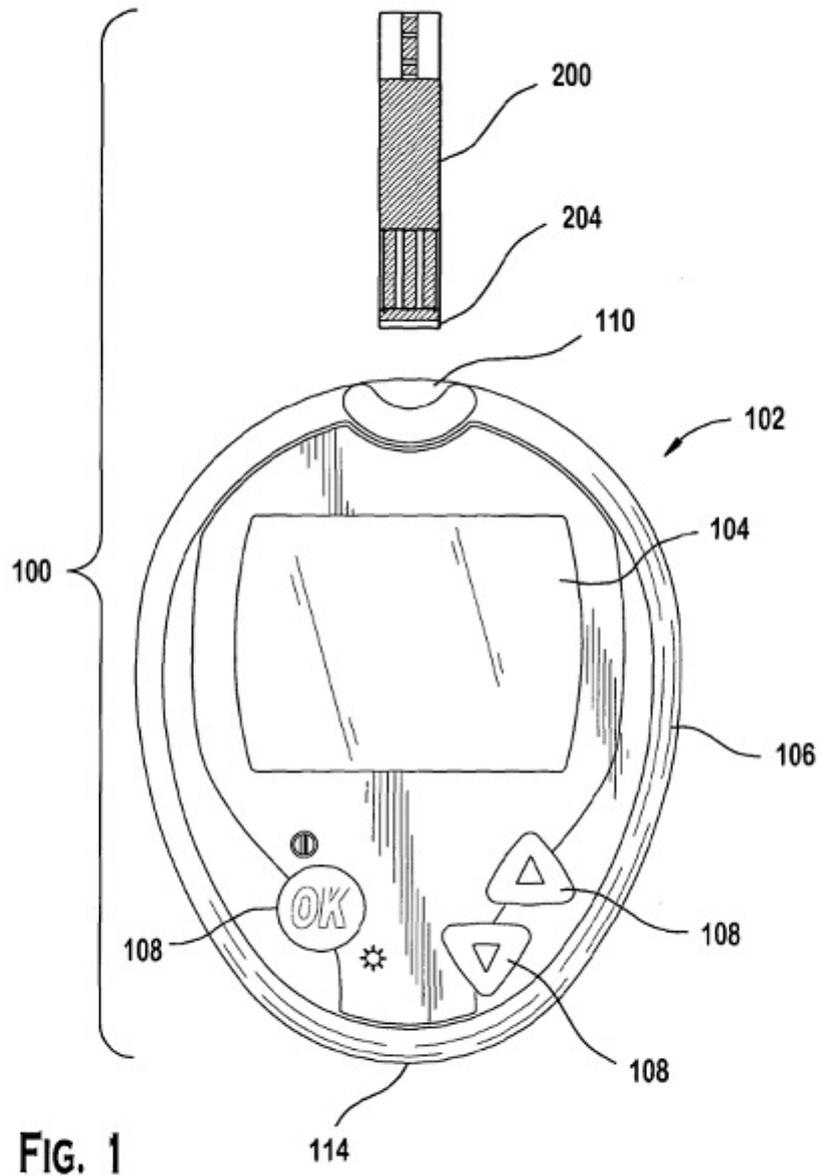
6. El método de la reivindicación 1, en el que la segunda corriente comprende una corriente medida de aproximadamente cuatro a aproximadamente cinco segundos después del inicio de la medición.

50 **7.** El método de la reivindicación 1, en el que la tercera corriente comprende una corriente a aproximadamente cinco segundos después del inicio de la medición.

55

60

65



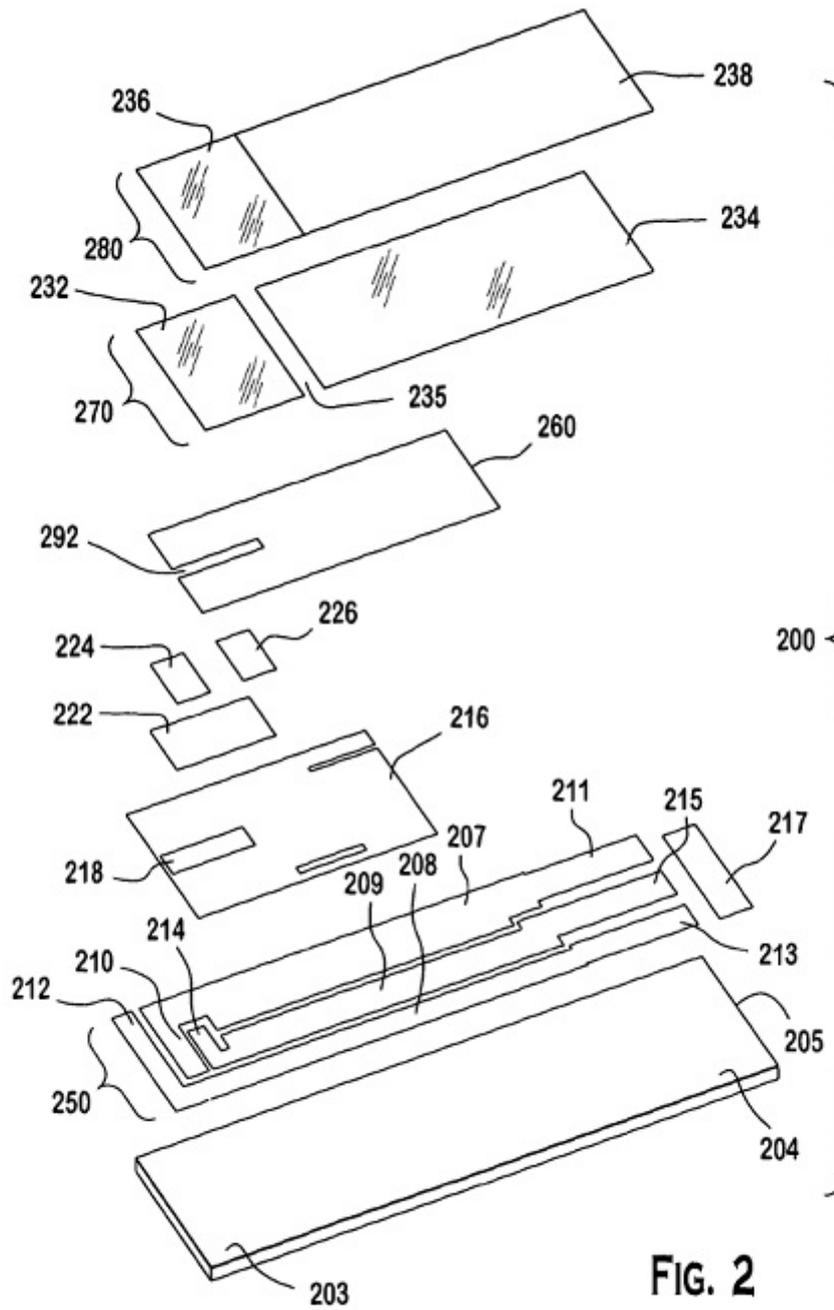


FIG. 2

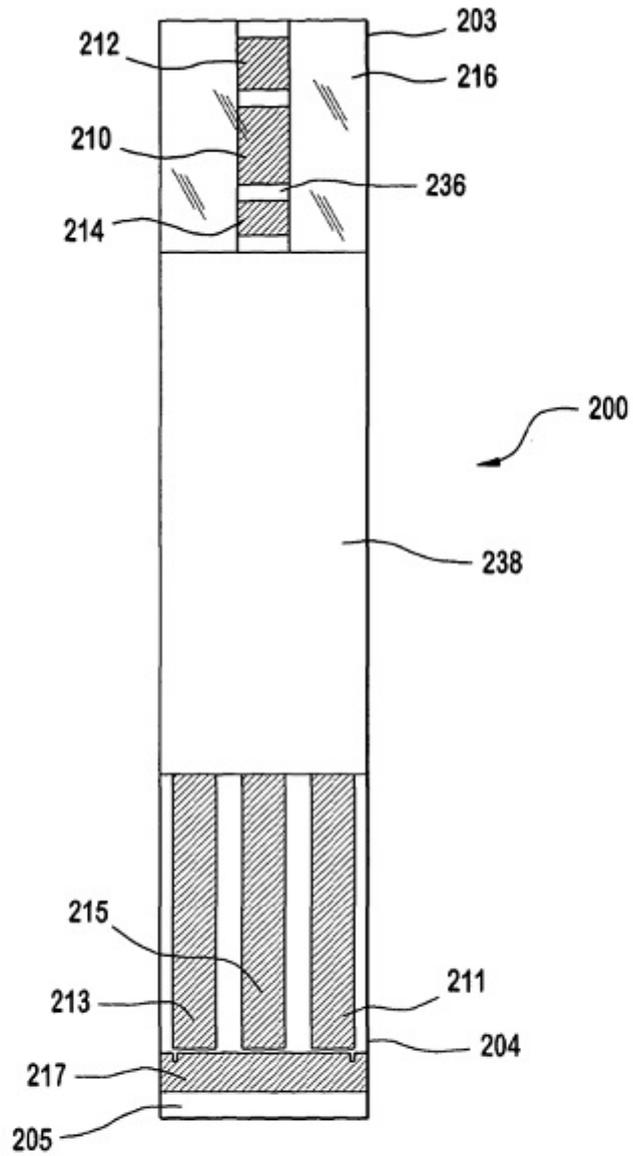


FIG. 3

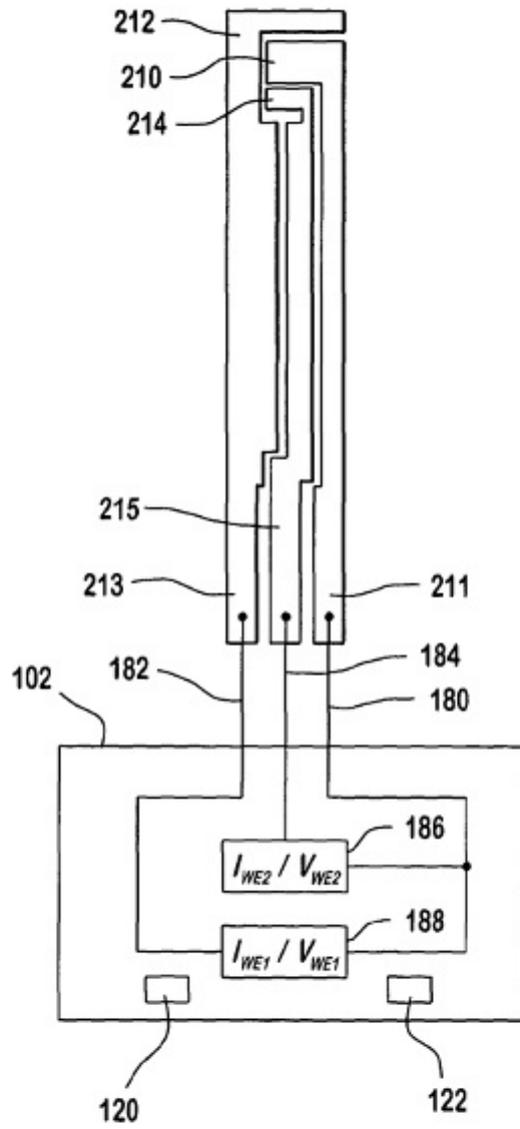


FIG. 4

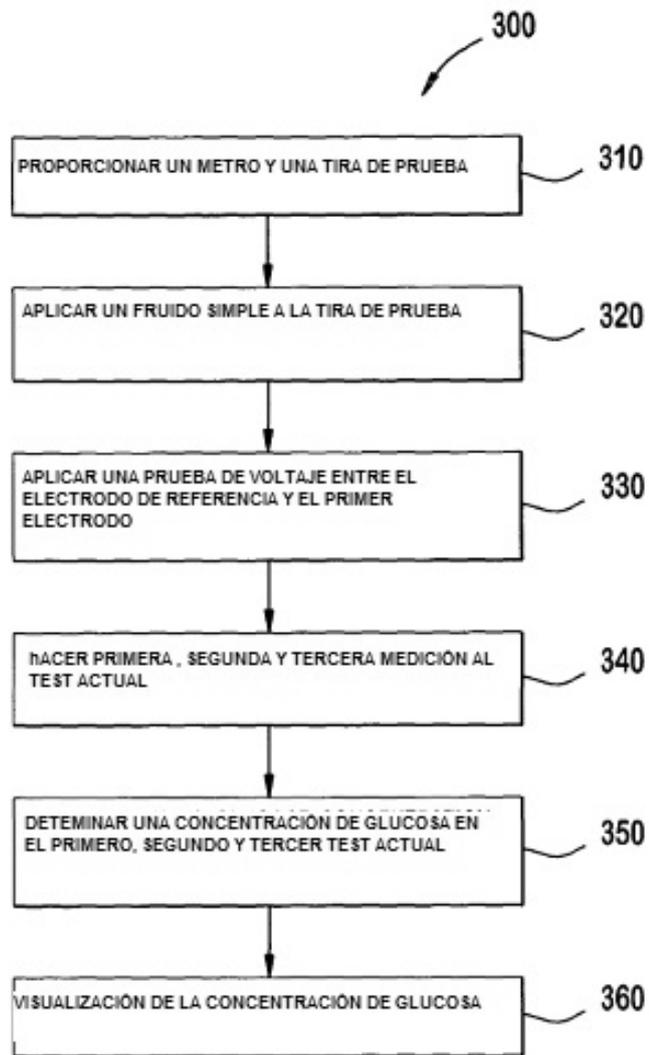
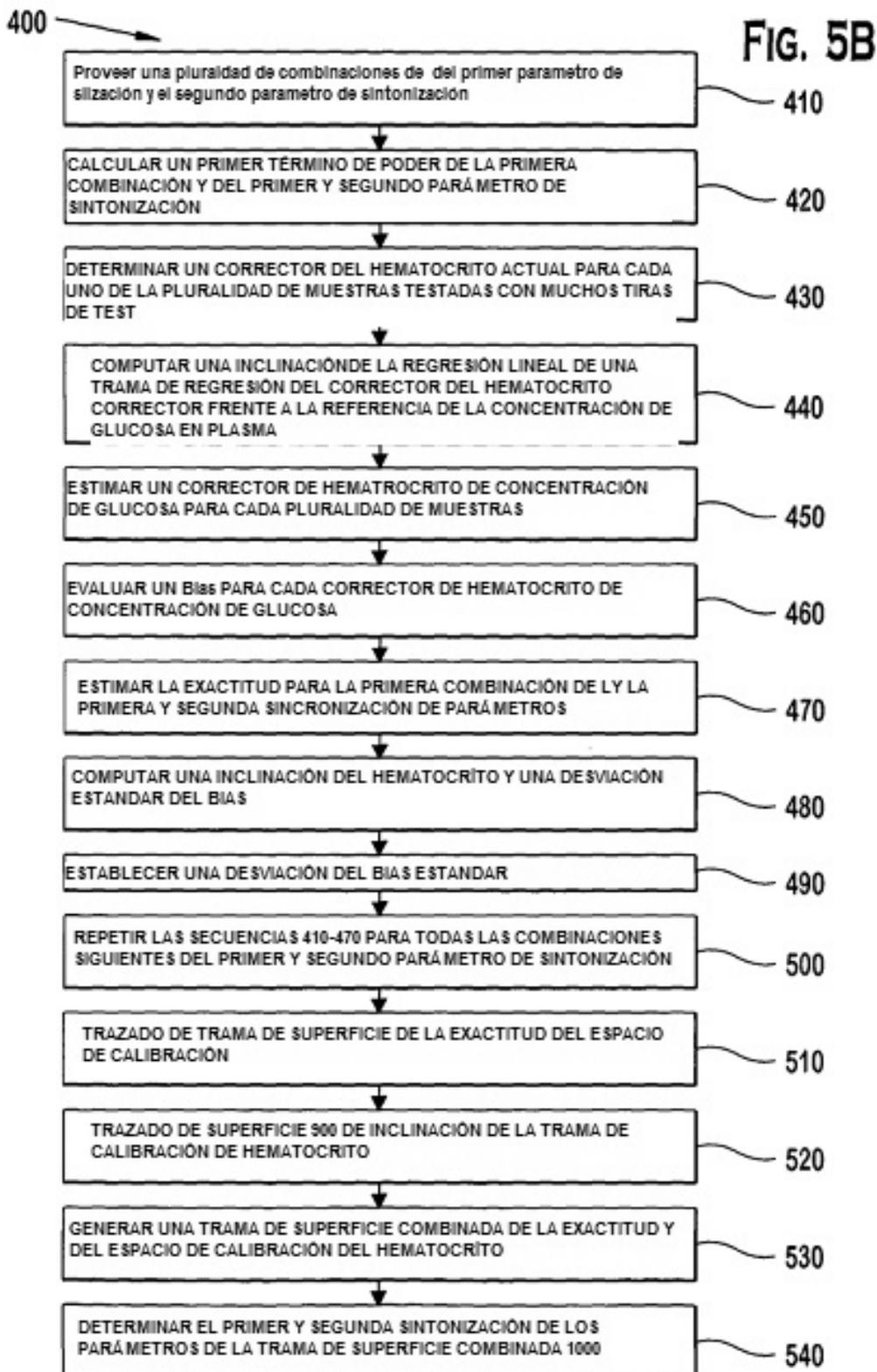


FIG. 5A



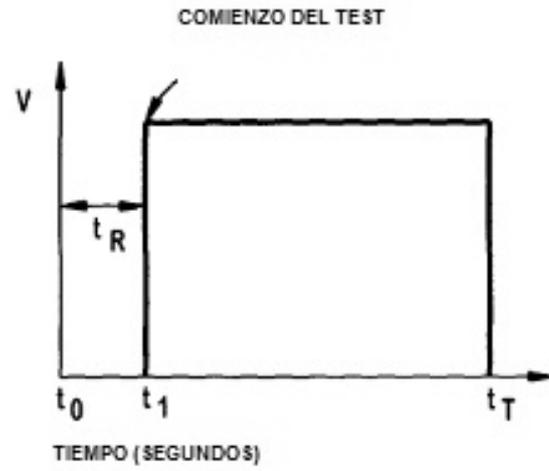


FIG. 6

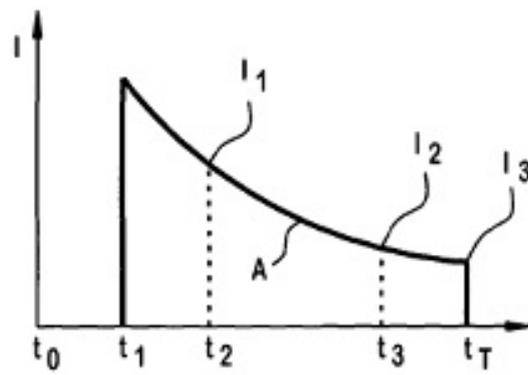


FIG. 7

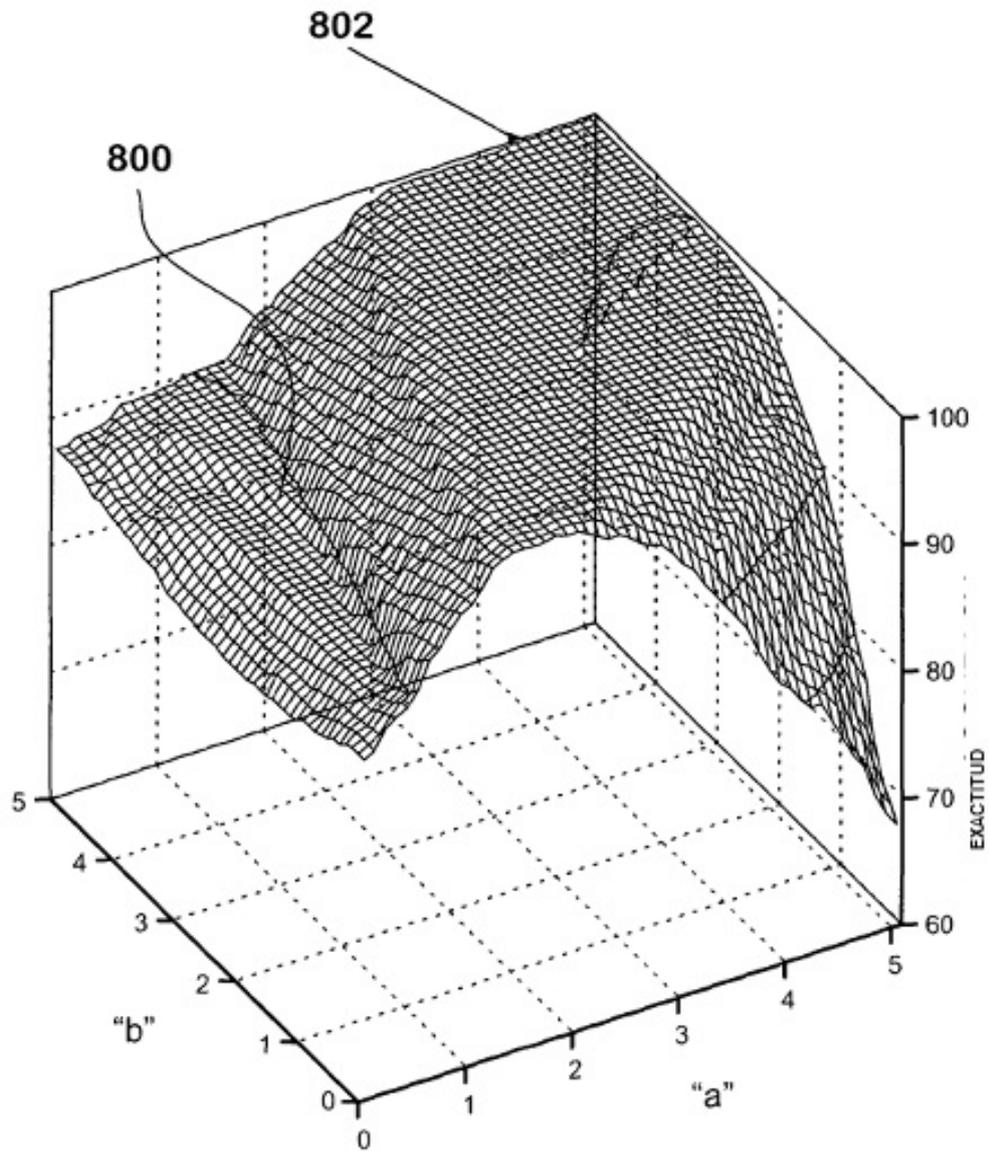


FIG. 8

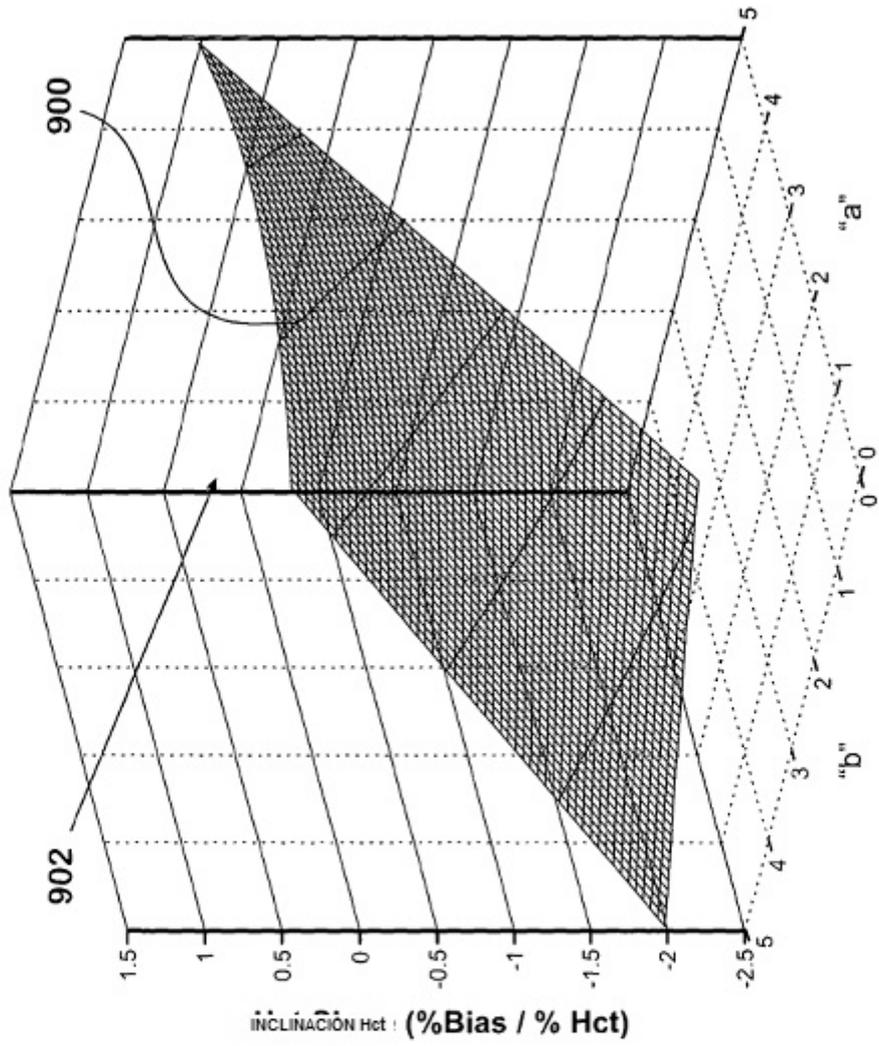


FIG. 9

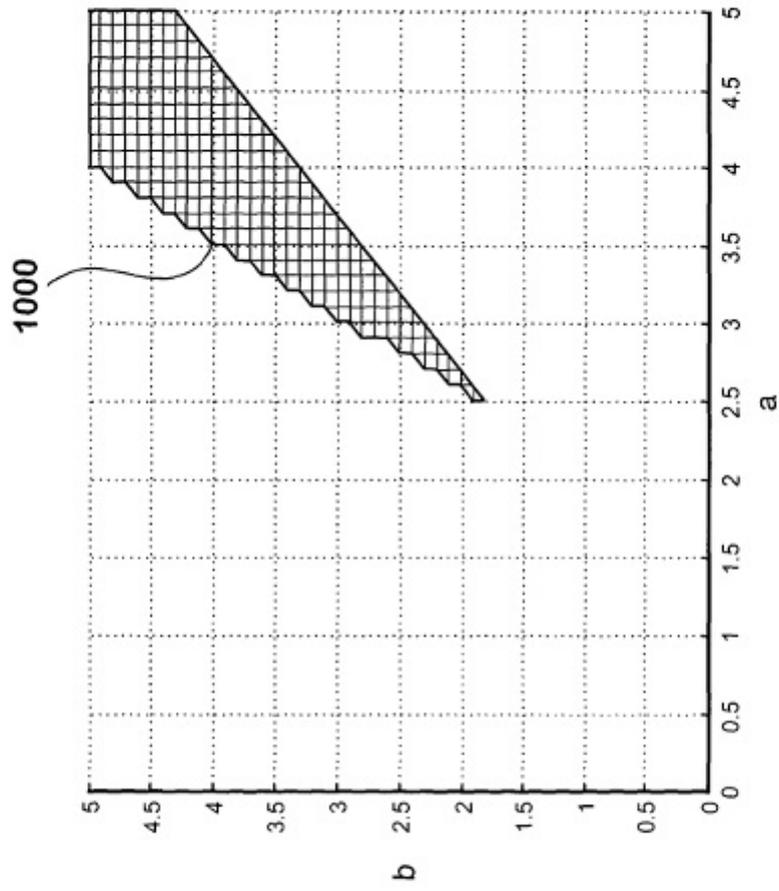


FIG. 10

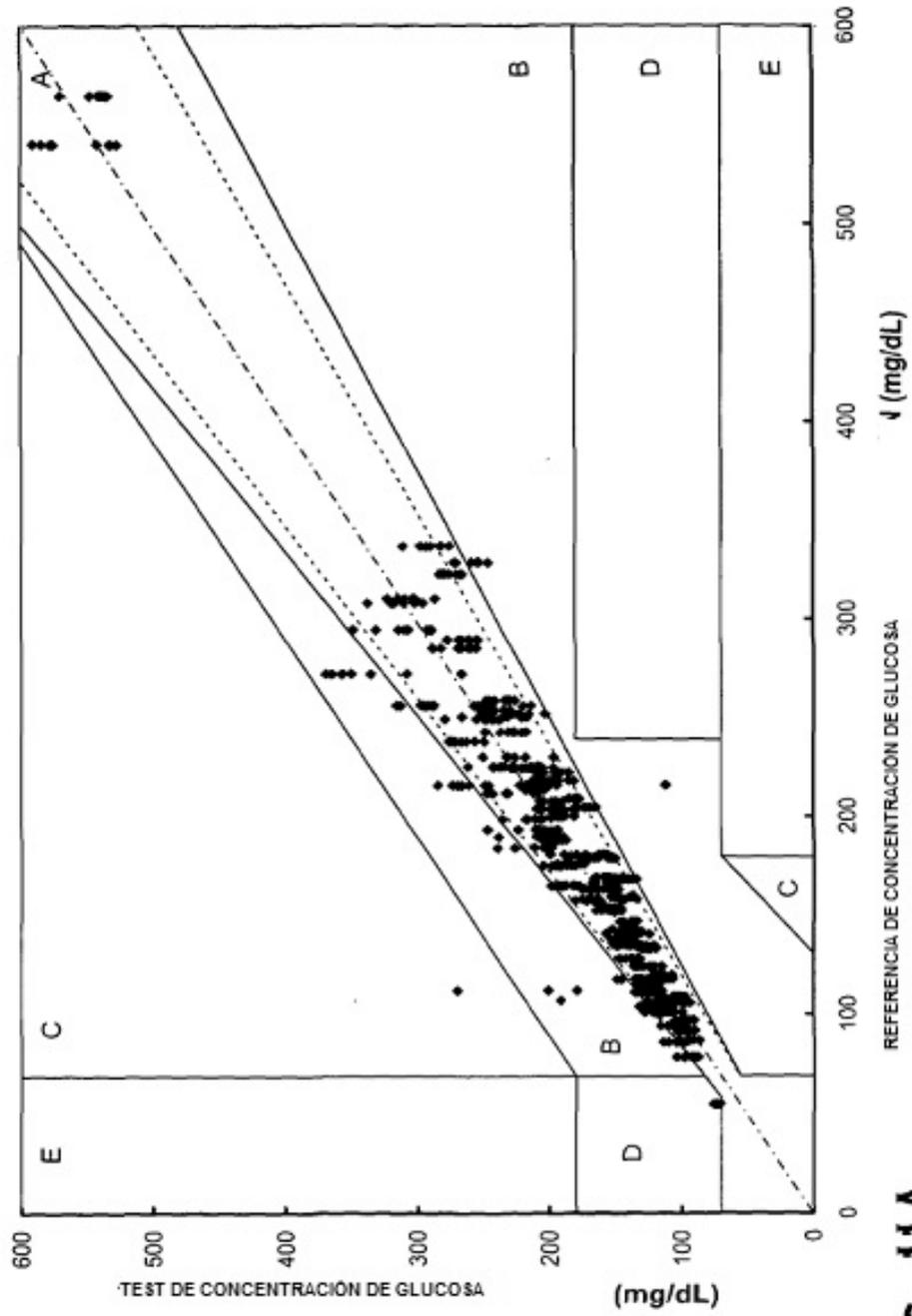


FIG. 11A

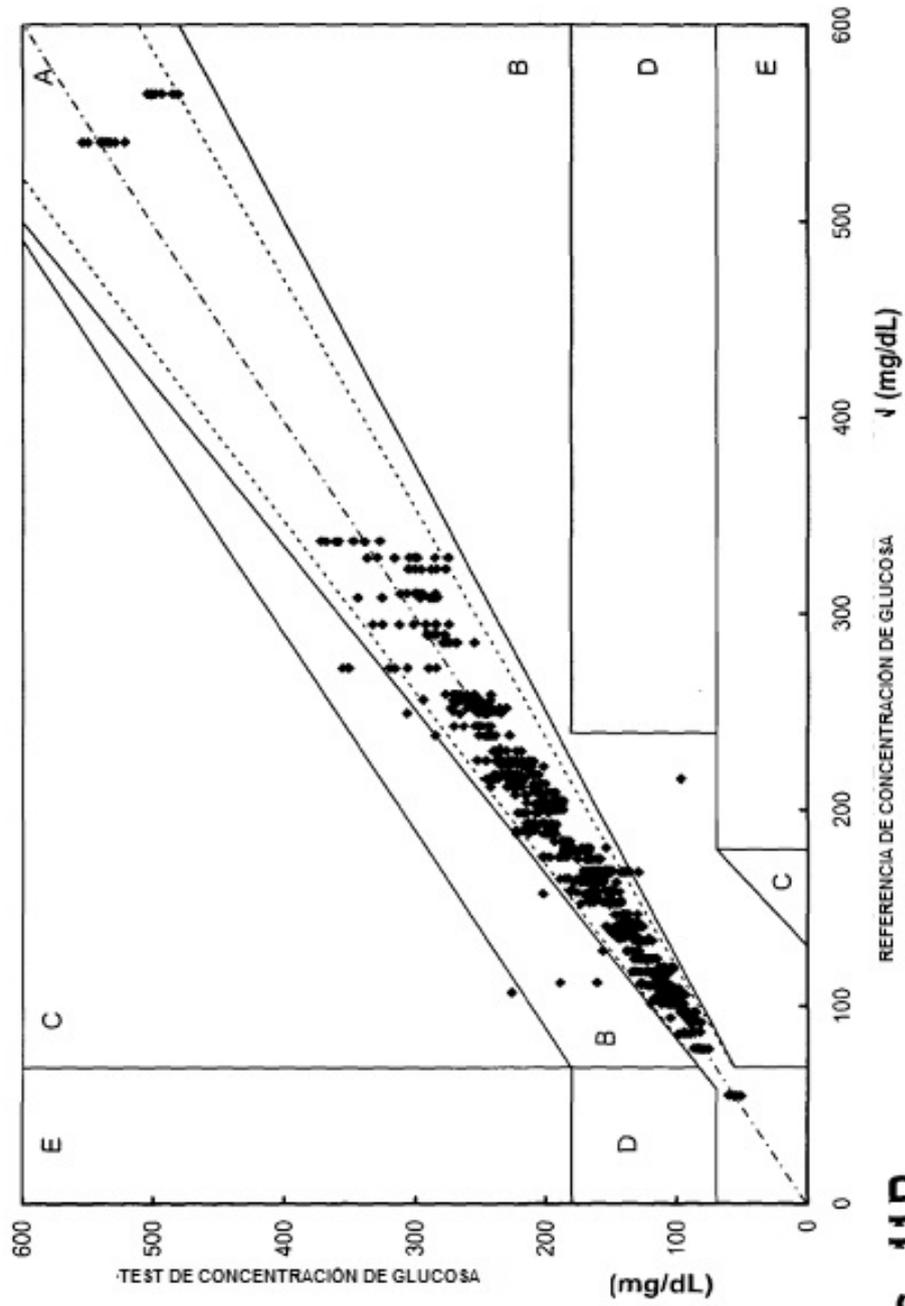


FIG. 11B

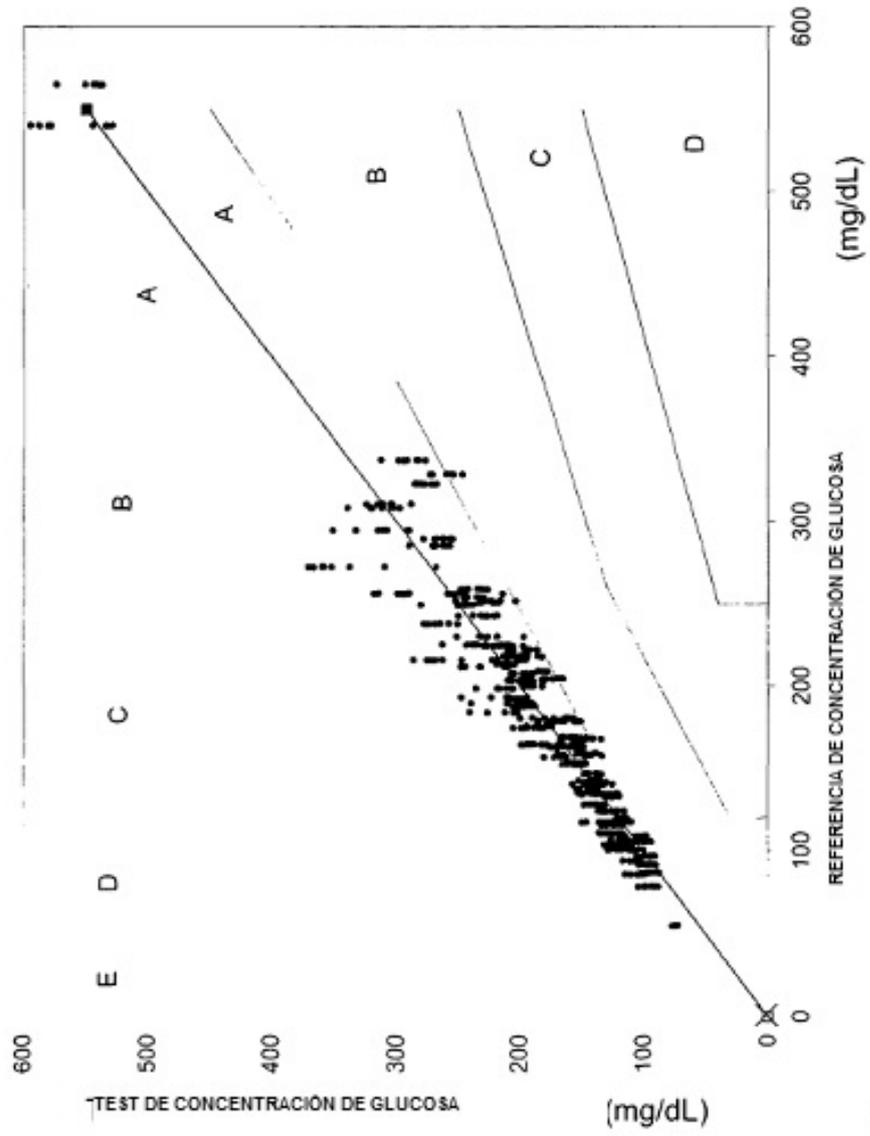


FIG. 11C

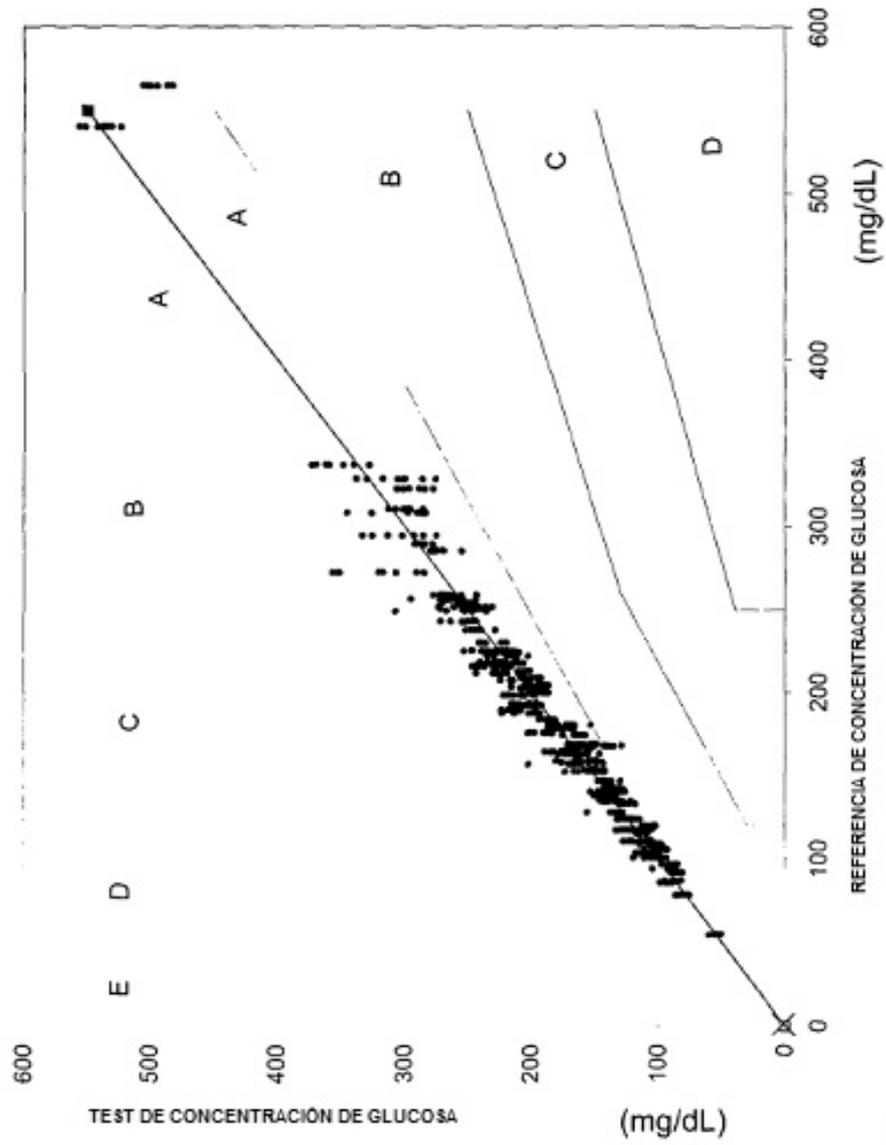


FIG. 11D