

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 520**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.12.2012 PCT/GB2012/053277**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2013 WO13098564**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2012 E 12810419 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.05.2018 EP 2798340**

54 Título: **Un método de determinación de la concentración de glucosa usando una tira electroquímica de prueba y basada en múltiples medidas discretas definidas por hematocrito detectado**

30 Prioridad:

**29.12.2011 US 201161581087 P**  
**29.12.2011 US 201161581089 P**  
**29.12.2011 US 201161581099 P**  
**29.12.2011 US 201161581100 P**  
**31.05.2012 US 201261654013 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.06.2018**

73 Titular/es:

**LIFESCAN SCOTLAND LIMITED (100.0%)**  
**Beechwood Business Park North Inverness**  
**Inverness-Shire IV2 3ED, GB**

72 Inventor/es:

**MALECHA, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 673 520 T3**

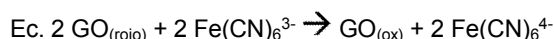
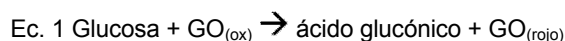
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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).

## Un método de determinación de la concentración de glucosa usando una tira electroquímica de prueba y basada en múltiples medidas discretas definidas por hematocrito detectado

### Descripción

#### FONDO

[0001] Biosensores de glucosa electroquímicos, tales como los utilizados en el kit de toda la prueba de sangre OneTouch® Ultra®, que está disponible en LifeScan, Inc., están diseñados para medir la concentración de glucosa en una muestra de sangre de pacientes con diabetes. La medición de glucosa puede basarse en la oxidación selectiva de glucosa por la enzima oxidasa de glucosa (GO). Las reacciones que pueden ocurrir en un biosensor de glucosa se resumen a continuación en las ecuaciones 1 y 2.



[0002] Como se ilustra en la Ecuación 1, la glucosa se oxida a ácido glucónico por la forma oxidada de la oxidasa de glucosa ( $\text{GO}_{(\text{ox})}$ ). Debe notarse que  $\text{GO}_{(\text{ox})}$  también puede denominarse "enzima oxidada". Durante la reacción en la Ecuación 1, la enzima oxidada  $\text{GO}_{(\text{ox})}$  se convierte a su estado reducido, que se denota como  $\text{GO}_{(\text{rojo})}$  (es decir, "enzima reducida"). A continuación, la enzima reducida  $\text{GO}_{(\text{rojo})}$  se vuelve a oxidar de nuevo a  $\text{GO}_{(\text{ox})}$  por reacción con  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  (denominado mediador oxidado o ferricianuro) como se ilustra en la Ecuación 2. Durante la regeneración de  $\text{GO}_{(\text{rojo})}$  vuelve a su estado oxidado  $\text{GO}_{(\text{ox})}$ ,  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  se reduce a  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  (denominado mediador reducido o ferrocianuro).

[0003] Cuando se llevan a cabo las reacciones expuestas anteriormente con una señal de prueba aplicada entre dos electrodos, una corriente de prueba puede ser creada por la re-oxidación electroquímica del mediador reducido en la superficie del electrodo. Por lo tanto, dado que, en un entorno ideal, la cantidad de ferrocianuro creada durante la reacción química descrita anteriormente es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra colocada entre los electrodos, la corriente de prueba generada sería proporcional al contenido de glucosa de la muestra. Un mediador, como el ferricianuro, es un compuesto que acepta electrones de una enzima como la oxidasa de glucosa y luego dona los electrones a un electrodo. A medida que aumenta la concentración de glucosa en la muestra, también aumenta la cantidad de mediador reducido formado; por lo tanto, existe una relación directa entre la corriente de prueba, resultante de la reoxidación del mediador reducido y la concentración de glucosa. En particular, la transferencia de electrones a través de la interfaz eléctrica da como resultado el flujo de una corriente de prueba (2 moles de electrones por cada mol de glucosa que se oxida). La corriente de prueba resultante de la introducción de glucosa puede, por lo tanto, ser referida como una corriente de glucosa.

[0004] Biosensores electroquímicos pueden verse afectados negativamente por la presencia de ciertos componentes de la sangre que pueden afectar indeseablemente la medición y conducir a inexactitudes en la señal detectada. Esta inexactitud puede dar como resultado una lectura de glucosa incorrecta, dejando al paciente inconsciente de un nivel de azúcar en sangre potencialmente peligroso, por ejemplo. A modo ejemplar, el nivel de hematocrito en sangre (es decir, el porcentaje de la cantidad de sangre que está ocupada por los glóbulos rojos) puede afectar erróneamente una medida de concentración de analito resultante.

[0005] Las variaciones en un volumen de células rojas de la sangre dentro de la sangre pueden causar variaciones en las lecturas de glucosa medidas con biosensores electroquímicos desechables. Típicamente, un sesgo negativo (es decir, concentración de analito calculada más baja) se observa a un hematocrito alto, mientras que se observa un sesgo positivo (es decir, una concentración de analito más alta calculada) a hematocrito bajo. En el hematocrito alto, por ejemplo, los glóbulos rojos pueden impedir la reacción de las enzimas y los mediadores electroquímicos, reducir la velocidad de disolución química ya que hay menos volumen de plasma para solvatar los reactivos químicos y la lenta difusión del mediador. Estos factores pueden dar lugar a una lectura de glucosa inferior a la esperada ya que se produce menos corriente durante el proceso electroquímico. Por el contrario, a un bajo nivel de hematocrito, menos glóbulos rojos pueden afectar la reacción electroquímica de lo esperado, y una mayor corriente medida puede resultar. Además, la resistencia a la muestra de sangre también depende del hematocrito, lo que puede afectar las mediciones de voltaje y/o corriente.

[0006] Varias estrategias se han utilizado para reducir o evitar variaciones basadas en hematocrito sobre la glucosa en sangre. Por ejemplo, los biosensores se han diseñado para incorporar mallas para eliminar los glóbulos rojos de las muestras, o han incluido diversos compuestos o formulaciones diseñadas para aumentar la viscosidad de los glóbulos rojos y atenuar el efecto del bajo hematocrito en las determinaciones de concentración. Otras tiras de prueba han incluido agentes de lisis y sistemas configurados para determinar la concentración de hemoglobina en un intento de corregir los efectos del hematocrito. Además, los biosensores se han configurado para medir el hematocrito midiendo una respuesta eléctrica de la muestra de fluido mediante señales de corriente alterna o cambios en las variaciones ópticas después de irradiar la muestra de sangre con luz o midiendo el hematocrito en

función del tiempo de llenado de la cámara de muestra. Una técnica común de las estrategias que implican la detección de hematocrito es el uso del valor de hematocrito medido para corregir o cambiar la concentración de analito medida, cuya técnica se muestra y describe en general en las siguientes publicaciones de solicitud de patente de Estados Unidos números 2010/0283488; 2010/0206749; 2009/0236237; 2010/0276303; 2010/0206749; 2009/0223834; 2008/0083618; 2004/0079652; 2010/0283488; 2010/0206749; 2009/0194432; o las Patentes de Estados Unidos N<sup>os.</sup>, 7,972,861 y 7,258,769.

## RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

**[0007]** El solicitante ha proporcionado varias realizaciones de una técnica para permitir una medición de glucosa mejorada usando una relación entre el punto de tiempo de muestreo y el hematocrito para derivar o calcular un punto de tiempo de muestreo específico que puede usarse para calcular una concentración de analito más precisa a partir de un biosensor electroquímico. Esta nueva técnica provista no se basa en la(s) corrección(es) o modificación(es) a realizar en una medición del analito, reduciendo así el tiempo de prueba al mismo tiempo que mejora la precisión. Además, como se usa a lo largo de esta descripción, la "característica física" comprende hematocrito y el "analito" es glucosa.

**[0008]** En un primer aspecto, se proporciona un método para determinar una concentración de analito de una muestra fisiológica con un biosensor como se ha definido en la reivindicación 1.

**[0009]** Con referencia a estos aspectos, las siguientes características también pueden utilizarse en varias combinaciones con estos aspectos. Por ejemplo, el paso de definir la segunda duración del tiempo de muestreo puede incluir obtener un valor absoluto de una diferencia entre el tiempo de muestreo específico definido y un punto de tiempo predeterminado para definir un tiempo de inicio (T1) y un tiempo de finalización (T2) aproximadamente igual al punto de tiempo de muestreo específico, y la duración del primer tiempo de muestreo puede incluir aproximadamente 10 segundos o menos desde el paso de depositar la muestra; la etapa de obtención adicional puede incluir definir una segunda duración del tiempo de muestreo que solapa la primera duración del tiempo de muestreo e incluye una porción de la primera señal transitoria y sus magnitudes con respecto al tiempo de la segunda duración del tiempo de muestreo, en donde la porción se designa como segunda señal transitoria; la etapa de obtener la segunda señal transitoria puede incluir extraer de la primera señal transitoria una porción de la primera señal transitoria que se designa como una segunda señal transitoria que está dentro de la segunda duración del tiempo de muestreo; la obtención de magnitudes respectivas de la segunda señal transitoria a intervalos de tiempo seleccionados discretos puede incluir el cálculo de una magnitud de la segunda señal transitoria durante cada intervalo de tiempo seleccionado.

**[0010]** En cualquiera de estas características, la magnitud de la segunda señal transitoria en cada uno de la pluralidad de intervalos discretos puede incluir una magnitud media de la señal muestreada a lo largo de cada intervalo; la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden estar en orden secuencial; la aplicación de la primera señal puede solaparse con la activación de la segunda señal; la aplicación de la primera señal puede incluir dirigir una señal alternativa a la muestra de modo que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alternativa; la aplicación de la primera señal puede incluir dirigir una señal óptica a la muestra de modo que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal óptica; la dirección puede incluir conducir señales de alternancia primera y segunda a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia puede incluir una frecuencia que la segunda frecuencia; la primera frecuencia puede ser al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia; la primera frecuencia puede incluir cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 250 kHz, o aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 90 kHz; la obtención puede incluir extraer de la primera señal transitoria una segunda señal transitoria referenciada con respecto a la segunda duración del tiempo de muestreo; la obtención puede incluir eliminar señales de las primeras señales transitorias que están fuera de la segunda duración del tiempo de muestreo para dejar la segunda señal transitoria dentro de la segunda duración del tiempo de muestreo; la derivación puede incluir el almacenamiento de magnitudes de la segunda señal transitoria para cada intervalo discreto en la segunda duración del tiempo de muestreo.

**[0011]** En aspectos adicionales, se proporciona un sistema de medición de analito según la reivindicación 11 que incluye una tira de prueba y un medidor de analito según la reivindicación 10. La tira de ensayo incluye un sustrato, una pluralidad de electrodos dispuestos sobre el sustrato y se conecta a los respectivos conectores de electrodo. El analizador según la reivindicación 10 incluye una carcasa, un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodo de la tira de prueba.

**[0012]** En cualquiera de los aspectos adicionales, las siguientes características también pueden ser utilizadas en combinación con los aspectos antes mencionados. Por ejemplo, la pluralidad de electrodos puede incluir al menos dos electrodos para medir la característica física y al menos otros dos electrodos para medir la concentración de analito; los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos pueden estar dispuestos en la misma cámara provista en el sustrato; los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos pueden estar dispuestos en cámaras diferentes provistas sobre el sustrato; los al menos dos electrodos pueden comprender dos electrodos para medir la característica física y la concentración del analito; la pluralidad de electrodos puede incluir

dos electrodos para medir la característica física y la concentración del analito; todos los electrodos pueden estar dispuestos en el mismo plano definido por el sustrato; un reactivo puede disponerse próximo a los al menos otros dos electrodos y no se puede disponer ningún reactivo sobre al menos dos electrodos.

5 **[0013]** Estas y otras realizaciones, características y ventajas serán evidentes para los expertos en la técnica cuando se toman con referencia a la siguiente descripción más detallada de los ejemplos de realización de la descripción en conjunción con los dibujos adjuntos que se describen primero brevemente.

10 **[0014]** En cualquiera de los aspectos anteriores, la muestra de fluido/fisiológico puede ser sangre. En cualquiera de los aspectos anteriores, el nivel de hematocrito puede ser entre 30% y 55%. En cualquiera de los aspectos anteriores, la primera y/o la segunda señal pueden ser una señal eléctrica. En particular, la señal alterna puede ser una señal eléctrica alterna. En cualquiera de los aspectos anteriores, donde H representa, o es, la característica física de la muestra, está en forma de hematocrito. En cualquiera de los aspectos anteriores, la característica física se puede determinar a partir de una característica medida, tal como la impedancia o la diferencia o desviación del ángulo de fase entre la señal de entrada y la señal de salida de la muestra.

15 **[0015]** En los aspectos mencionados anteriormente de la divulgación, los pasos de extraer, definir, obtener, dividir, derivar, determinar, calcular y/o almacenar (posiblemente junto con una ecuación) se pueden realizar por un circuito electrónico o un procesador. Estos pasos también pueden implementarse como instrucciones ejecutables almacenadas en un medio legible por computadora; las instrucciones, cuando son ejecutadas por una computadora pueden realizar los pasos del método antes mencionado.

20 **[0016]** En aspectos adicionales de la descripción, hay medios legibles por ordenador, comprendiendo cada medio instrucciones ejecutables, que, cuando se ejecuta por un ordenador, realizan las etapas del método anteriormente mencionado.

25 **[0017]** En aspectos adicionales de la descripción, hay dispositivos, tales como medidores de prueba o dispositivos de prueba de analitos, comprendiendo cada dispositivo o metro un circuito electrónico o procesador configurado para realizar las etapas del método anteriormente mencionado.

30 **[0018]** En aspectos adicionales de la descripción, hay dispositivos, tales como medidores de prueba o dispositivos de prueba de analitos, comprendiendo cada dispositivo o metro un circuito electrónico o procesador configurado para realizar las etapas del método anteriormente mencionado.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 **[0018]** Los dibujos adjuntos, que se incorporan en el presente documento y constituyen parte de esta memoria descriptiva, ilustran realizaciones actualmente preferidas de la divulgación, y, junto con la descripción general dada anteriormente y la descripción detallada dada a continuación, sirven para explicar las características de la divulgación (en donde los mismos números representan elementos similares), en los cuales:

La Figura 1 ilustra un sistema de medición de analitos.

La Figura 2A ilustra en forma esquemática simplificada los componentes del medidor 200.

40 La Figura 2B ilustra en forma esquemática los componentes de otra variación más de los componentes del medidor 200.

La Figura 3A (1) ilustra el biosensor 100 del sistema de la Figura 1 en el que hay dos electrodos sensores de características físicas aguas arriba de los electrodos de medición.

45 La Figura 3A (2) ilustra una variación de la tira de prueba de la Figura 3A (1) en la que se proporciona un electrodo de protección o conexión a tierra para la entrada próxima de la cámara de prueba;

La Figura 3A (3) ilustra una variación de la tira de prueba de la Figura 3A (2) en la que un área de reactivo se ha extendido aguas arriba para cubrir al menos uno de los electrodos sensores de característica física;

50 La Figura 3A (4) ilustra una variación de la tira de prueba 100 de las Figuras 3A (1), 3A (2) y 3A (3) en la que ciertos componentes de la tira de prueba se han integrado juntos en una sola unidad;

La Figura 3A (5) ilustra una vista en planta del biosensor.

La Figura 3A (6) ilustra una vista en planta de primer plano de los electrodos en el biosensor.

55 La Figura 3B ilustra una variación del biosensor de las Figuras 3A (1-6) en la que un electrodo sensor de característica física está dispuesto cerca de la entrada y el otro electrodo sensor de característica física está en el extremo terminal de la célula de prueba con los electrodos de medición dispuestos entre el par de electrodos sensores característicos físicos.

Las Figuras 3C y 3D ilustran variaciones de las Figuras 3A (1-6) en las que los electrodos sensores de característica física están dispuestos uno al lado del otro en el extremo terminal de la cámara de prueba con los electrodos de medición aguas arriba de los electrodos sensores de característica física.

60 Las Figuras 3E y 3F ilustran una disposición de electrodos sensores de característica física similar a la de las Figuras 3A (1-6) en la que el par de electrodos sensores de característica física están próximos a la entrada de la cámara de prueba.

La Figura 3G es una vista simplificada, en perspectiva, en despiece ordenado de un biosensor analítico de acuerdo con una realización de la presente descripción;

La Figura 3H es una vista superior simplificada del biosensor analítico de la Figura 3G;

65 La Figura 3I es una vista lateral en sección transversal simplificada del biosensor analítico de la Figura 3H tomada a lo largo de la línea A-A de la Figura 3H;

La Figura 3J es una vista extrema en sección transversal simplificada del biosensor analítico de la Figura 3H tomada a lo largo de la línea B-B de la Figura 3H; y

La Figura 3K es una vista simplificada, en perspectiva y en despiece ordenado de una tira de prueba analítica de acuerdo con una realización de la presente descripción;

La Figura 3L es una vista superior simplificada del sustrato eléctricamente aislante y una porción de una primera capa conductora estampada de un biosensor analítico de la Figura 3K;

La Figura 3M es una vista superior simplificada de la primera capa espaciadora estampada del biosensor analítico de la Figura 3K;

La Figura 3N es una vista superior simplificada de la segunda capa espaciadora estampada del biosensor analítico de la Figura 3K;

La Figura 3O es una vista lateral en sección transversal simplificada del biosensor analítico de la Figura 3K tomada a lo largo de la línea A-A de las Figuras 2A;

La Figura 3P es una vista simplificada, en perspectiva y en despiece ordenado de una tira de prueba analítica de acuerdo con otra realización de la presente descripción;

La Figura 3Q es una vista superior simplificada del sustrato eléctricamente aislante y la primera capa conductora estampada del biosensor analítico de la Figura 3P;

La Figura 3R es una vista superior simplificada de una parte de una segunda capa espaciadora estampada y una segunda capa conductora estampada del biosensor analítico de la Figura 3P;

La Figura 3S es una vista superior simplificada de una tercera capa espaciadora estampada del biosensor analítico de la Figura 3P;

La Figura 3T es una vista lateral en sección transversal simplificada del biosensor analítico de la Figura 3P tomada a lo largo de la línea B-B de las Figuras 3Q.

La Figura 4A ilustra un gráfico de tiempo sobre el potencial aplicado al biosensor de la Figura 1.

La Figura 4B ilustra un gráfico del tiempo sobre la corriente de salida del biosensor de la Figura 1.

La Figura 5 ilustra una forma de onda aplicada a la cámara de prueba y una forma de onda medida desde la cámara de prueba para mostrar un retraso de tiempo entre las formas de onda.

La Figura 6A ilustra un diagrama lógico de un método ejemplar para lograr una determinación de analito más precisa.

La Figura 6B ilustra una variación en el proceso lógico de la Figura 6A.

La Figura 7A ilustra los transitorios de la señal de salida que se muestrean durante una duración de la secuencia de prueba para las respectivas concentraciones de glucosa alta, media y baja para cada gama de hematocritos al 30%, 42% y 55%.

La Figura 7B ilustra la relación entre los hematocritos y el momento en el que se mide una magnitud de la señal transitoria.

La Figura 7C ilustra una salida de señal transitoria, es decir, una "primera señal transitoria" de las señales transitorias de la Figura 7B.

La Figura 7D ilustra la extracción de una parte de la salida de señal transitoria en la Figura 7C y los intervalos de temporización ejemplares para medir las magnitudes de esta porción, caracterizada aquí como una "segunda señal transitoria".

La Figura 7E ilustra las señales extraídas de la Figura 7B y se desplazan hacia la izquierda, de modo que el tiempo de inicio para cada una de las segundas señales transitorias es aproximadamente cero.

La Figura 8A ilustra los datos de las mediciones de prueba realizadas con la técnica conocida que muestra un sesgo relativamente alto junto con variaciones sustanciales en el sesgo con respecto a los valores de hematocrito superior e inferior.

Las Figuras 8B, 8C, 8D, 8E, 8F y 8G ilustran datos de mediciones de prueba realizadas con variaciones de la técnica ejemplar de la presente memoria de manera que los datos muestran el sesgo de menos de  $\pm 15\%$  para el intervalo de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55% mientras se logran relativamente pocas variaciones en el sesgo para los hematocritos a valores extremos.

## MODOS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

**[0019]** La siguiente descripción detallada debe leerse con referencia a los dibujos, en los que elementos similares en diferentes dibujos están numerados de forma idéntica. Los dibujos, 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, no a modo de limitación, los principios de la invención. Esta descripción permitirá claramente a un experto en la materia hacer y usar la invención, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, que incluyen lo que actualmente se cree que es el mejor modo de llevar a cabo la invención.

**[0020]** Como se usa en el presente documento, los términos "alrededor de" o "aproximadamente" para cualquier valor o intervalos numéricos indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que la parte o colección de componentes funcionen para su finalidad prevista, como se describe en el presente documento. Más específicamente, "aproximadamente" o "alrededor de" pueden referirse al rango de valores  $\pm 10\%$  del valor indicado, por ejemplo "aproximadamente 90%" puede referirse al rango de valores de 81% a 99%. Como se usa en el presente documento, "un valor absoluto" de una diferencia se refiere a la magnitud de la diferencia, es decir, siempre es positiva. Además, como se usa en el presente documento, los términos "paciente", "anfitrión", "usuario" y "sujeto"

se refieren a cualquier sujeto humano o animal y no están destinados a limitar los sistemas o métodos al uso humano, aunque el uso del objeto de la invención en un paciente humano representa una realización preferida. Como se usa en el presente documento, la "señal oscilante" incluye señal(es) de tensión o señal(es) de corriente que, respectivamente, cambian la polaridad o la dirección alternativa de la corriente o son multidireccionales. También se usa aquí, la frase "señal eléctrica" o "señal" pretende incluir señal de corriente continua, señal alterna o cualquier señal dentro del espectro electromagnético. Los términos "procesador"; "microprocesador"; o "microcontrolador" tienen el mismo significado y están destinados a ser utilizados indistintamente.

**[0021]** La Figura 1 ilustra un medidor de prueba 200, para probar los niveles de analito en la sangre de un individuo con un biosensor producido mediante los métodos y técnicas ilustrados y descritos en este documento. El medidor de prueba 200 puede incluir entradas de interfaz de usuario (206, 210, 214), que pueden estar en forma de botones, para entrada de datos, navegación de menús y ejecución de comandos. Los datos pueden incluir valores representativos de la concentración de analito y/o información relacionada con el estilo de vida cotidiano de un individuo. La información, que está relacionada con el estilo de vida cotidiano, puede incluir la ingesta de alimentos, el uso de medicamentos, la ocurrencia de chequeos de salud, el estado general de salud y los niveles de ejercicio de un individuo. El medidor de prueba 200 también puede incluir una pantalla 204 que se puede usar para informar de los niveles de glucosa medidos y para facilitar la entrada de información relacionada con el estilo de vida.

**[0022]** El medidor de prueba 200 puede incluir una primera entrada de interfaz de usuario 206, una segunda entrada de interfaz de usuario 210, y una tercera entrada de interfaz de usuario 214. Las entradas de interfaz de usuario 206, 210, y 214 facilitan la entrada y el análisis de los datos almacenados en el dispositivo de prueba permitiendo a un usuario navegar a través de la interfaz de usuario mostrada en la pantalla 204. Las entradas de interfaz de usuario 206, 210 y 214 incluyen una primera marca 208, una segunda marca 212 y una tercera marca 216, que ayudan a correlacionar entradas de interfaz de usuario a caracteres en la pantalla 204.

**[0023]** El medidor de prueba 200 se puede activar mediante la inserción de un biosensor 100 (o sus variantes 400, 500, o 600) en un conector de puerto de tira 220, presionando y manteniendo brevemente la primera entrada de interfaz de usuario 206, o mediante la detección de tráfico de datos a través de un puerto de datos 218. El medidor de prueba 200 se puede desconectar eliminando el biosensor 100 (o sus variantes 400, 500 o 600), presionar y mantener brevemente la primera entrada de la interfaz de usuario 206, navegar y seleccionar una opción de apagado del medidor desde la pantalla del menú principal, o al no presionar ningún botón durante un tiempo predeterminado. La pantalla 104 puede incluir opcionalmente una luz de fondo.

**[0024]** En una realización, el medidor de prueba 200 puede ser configurado para no recibir una entrada de calibración, por ejemplo, desde cualquier fuente externa, cuando se cambia de un primer lote de tiras reactivas a un segundo lote de tiras reactivas. Por lo tanto, en una realización a modo de ejemplo, el medidor está configurado para no recibir una entrada de calibración de fuentes externas, tales como una interfaz de usuario (tales como entradas 206, 210, 214), una tira de prueba insertada, una clave de código separada o una franja de código, puerto de datos 218. Tal entrada de calibración no es necesaria cuando todos los lotes de tira de prueba tienen una característica de calibración sustancialmente uniforme. La entrada de calibración puede ser un conjunto de valores asignados a un lote de tira de prueba particular. Por ejemplo, la entrada de calibración puede incluir una pendiente de lote y un valor de intersección de lote para un lote de tira de prueba particular. La entrada de calibraciones, como la pendiente del lote y los valores de intercepción, pueden preconfigurarse dentro del medidor como se describirá a continuación.

**[0025]** Con referencia a la Figura 2A, se muestra un diseño interno ejemplar del medidor de prueba 200. El medidor de prueba 200 puede incluir un procesador 300, que en algunas realizaciones descritas e ilustradas en este documento es un microcontrolador RISC de 32 bits. En las realizaciones preferidas descritas e ilustradas en este documento, el procesador 300 se selecciona preferiblemente de la familia MSP 430 de microcontroladores de potencia ultrabaja fabricados por Texas Instruments of Dallas, Texas. El procesador puede conectarse bidireccionalmente a través de los puertos de I/O 314 a una memoria 302, que en algunas realizaciones descritas e ilustradas aquí es una EEPROM. También conectados al procesador 300 a través de los puertos I/O 214 están el puerto de datos 218, las entradas de interfaz de usuario 206, 210 y 214, y un controlador de pantalla 320. El puerto de datos 218 puede conectarse al procesador 300, permitiendo así la transferencia de datos entre la memoria 302 y un dispositivo externo, como una computadora personal. Las entradas de interfaz de usuario 206, 210 y 214 están conectadas directamente al procesador 300. El procesador 300 controla la pantalla 204 a través del controlador de pantalla 320. La memoria 302 puede precargarse con información de calibración, como pendiente de lote y valores de intersección de lote, durante la producción del medidor de prueba 200. Se puede acceder a la información de calibración precargada y el procesador 300 puede usarla al recibir una señal adecuada (tal como corriente) de la tira a través del conector de puerto de tira 220 para calcular un nivel de analito correspondiente (como concentración de glucosa en sangre) usando la señal y la información de calibración sin recibir la entrada de calibración de ninguna fuente externa.

**[0026]** En las realizaciones descritas e ilustradas en el presente documento, el medidor de prueba 200 puede incluir una aplicación específica de circuito integrado (ASIC) 304, a fin de proporcionar circuitería electrónica utilizada en las mediciones de nivel de glucosa en sangre que se ha aplicado a un biosensor 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) insertado en el conector de puerto de tira 220. Las tensiones analógicas pueden pasar hacia y desde el ASIC

304 por medio de una interfaz analógica 306. Las señales analógicas de la interfaz analógica 306 pueden convertirse en señales digitales mediante un convertidor A/D 316. El procesador 300 incluye además un núcleo 308, una ROM 310 (que contiene código de computadora), una RAM 312 y un reloj 318. En una realización, el procesador 300 está configurado (o programado) para desactivar todas las entradas de interfaz de usuario excepto para una sola entrada en una pantalla de un valor de analito por la unidad de visualización, como, por ejemplo, durante un período de tiempo después de una medición de analito. En una realización alternativa, el procesador 300 está configurado (o programado) para ignorar cualquier entrada de todas las entradas de la interfaz de usuario excepto por una sola entrada cuando la unidad de visualización muestra un valor de analito. Las descripciones e ilustraciones detalladas del medidor 200 se muestran y describen en la publicación de solicitud de patente internacional número WO2006070200.

**[0027]** La Figura 3A (1) es una vista en perspectiva despiezada de ejemplo de una tira de ensayo 100, que puede incluir siete capas dispuestas sobre un sustrato 5. Las siete capas dispuestas sobre el sustrato 5 pueden ser una primera capa conductora 50 (que también puede ser denominada capa de electrodo 50), una capa de aislamiento 16, dos capas de reactivo superpuestas 22a y 22b, una capa adhesiva 60 que incluye partes adhesivas 24, 26 y 28, una capa hidrófila 70 y una capa superior 80 que forma una cubierta 94 para la tira de ensayo 100. La tira de ensayo 100 puede fabricarse en una serie de etapas en las que la capa conductora 50, la capa de aislamiento 16, las capas de reactivo 22 y la capa de adhesivo 60 se depositan secuencialmente sobre el sustrato 5 utilizando, por ejemplo, un proceso de impresión de pantalla. Obsérvese que los electrodos 10, 12 y 14 están dispuestos para contactar con la capa de reactivo 22a y 22b, mientras que los electrodos detectores de la característica física 19a y 20a están separados y no en contacto con la capa de reactivo 22. La capa hidrófila 70 y capa superior 80 se pueden disponer de un material en rollo y laminar sobre el sustrato 5 como un laminado integrado o como capas separadas. La tira de prueba 100 tiene una parte distal 3 y una parte proximal 4 como se muestra en la Figura 3A (1).

**[0028]** La tira de ensayo 100 puede incluir una cámara de recepción de muestra 92 a través de la cual una muestra de fluido fisiológico 95 puede ser aspirada o depositada (Fig. 3A (2)). La muestra de fluido fisiológico discutida aquí puede ser sangre. La cámara de recepción de muestras 92 puede incluir una entrada en un extremo proximal y una salida en los bordes laterales de la tira de prueba 100, como se ilustra en la Figura 3A (1). Se puede aplicar una muestra de fluido 95 a la entrada a lo largo del eje L-L (Figura 3A (2)) para llenar una cámara de recepción de muestras 92 de modo que se pueda medir el analito a partir de la muestra. Los bordes laterales de una primera almohadilla adhesiva 24 y una segunda almohadilla adhesiva 26 situados adyacentes a la capa de reactivo 22 definen cada uno una pared de la cámara receptora de muestra 92, como se ilustra en la Figura 3A (1). Una parte inferior o "techo" de la cámara receptora de muestras 92 puede incluir una porción del sustrato 5, la capa conductora 50 y la capa aislante 16, como se ilustra en la Figura 3A (1). Una parte superior o "techo" de la cámara de recepción de muestras 92 puede incluir una parte hidrófila distal 32, como se ilustra en la Figura 3A (1). Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la Figura 3A (1), el sustrato 5 se puede usar como base para ayudar a soportar capas aplicadas posteriormente. El sustrato 5 puede estar en la forma de una lámina de poliéster tal como un material de tetraftalato de polietileno (PET) (Hostaphan PET suministrado por Mitsubishi). El sustrato 5 puede tener un formato de rollo, nominalmente 350 micras de espesor por 370 milímetros de ancho y aproximadamente 60 metros de largo.

**[0029]** Se requiere una capa conductora para la formación de electrodos que pueden ser utilizados para la medición electroquímica de glucosa. La primera capa conductora 50 puede estar hecha de una tinta de carbón que se imprime por serigrafía sobre el sustrato 5. En un proceso de impresión serigráfica, la tinta de carbón se carga en una pantalla y luego se transfiere a través de la pantalla usando una escobilla de goma. La tinta de carbón impresa se puede secar con aire caliente a aproximadamente 140°C. La tinta de carbono puede incluir resina VAGH, negro de humo, grafito (KS 15) y uno o más solventes para la mezcla de resina, carbón y grafito. Más particularmente, la tinta de carbono puede incorporar una relación de negro de carbono: resina VAGH de aproximadamente 2,90:1 y una relación de grafito: negro de humo de aproximadamente 2,62:1 en la tinta de carbono.

**[0030]** Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la Figura 3A (1), la primera capa conductora 50 puede incluir un electrodo de referencia 10, un primer electrodo de trabajo 12, un segundo electrodo de trabajo 14, electrodos sensores tercero y cuarto característicos físicos 19a y 19b, una primera almohadilla de contacto 13, una segunda almohadilla de contacto 15, una almohadilla de contacto de referencia 11, una primera pista de electrodo de trabajo 8, una segunda pista de electrodo de trabajo 9, una pista de electrodo de referencia 7 y una barra de detección de franja 17. Los electrodos sensores característicos físicos 19a y 20a están provistos con respectivas pistas de electrodo 19b y 20b. La capa conductora puede formarse a partir de tinta de carbono. La primera almohadilla de contacto 13, la segunda almohadilla de contacto 15 y la almohadilla de contacto de referencia 11 pueden adaptarse para conectarse eléctricamente a un medidor de prueba. La primera pista de electrodo de trabajo 8 proporciona una vía eléctricamente continua desde el segundo electrodo de trabajo 14 hasta la segunda almohadilla de contacto 15. De manera similar, la pista de electrodo de referencia 7 proporciona una vía eléctricamente continua desde el electrodo de referencia 10 a la almohadilla de contacto de referencia 11. La barra de detección de tira 17 está conectada eléctricamente a la almohadilla de contacto de referencia 11. Las pistas de electrodo tercera y cuarta 19b y 20b se conectan a los electrodos respectivos 19a y 20a. Un medidor de prueba puede detectar que la tira de prueba 100 se ha insertado correctamente midiendo una continuidad entre la almohadilla de contacto de referencia 11 y la barra de detección de tira 17, como se ilustra en la Figura 3A (1).

5  
10  
15

**[0031]** En la realización de la Figura 3A (2) que es una variación de la tira de prueba de la Figura 3A (1), se proporciona un electrodo adicional 10a como una extensión de cualquiera de la pluralidad de electrodos 19a, 20a, 14, 12 y 10. Debe observarse que el electrodo de protección o puesta a tierra 10a incorporado se usa para reducir o eliminar cualquier acoplamiento de capacitancia entre el dedo o el cuerpo del usuario y los electrodos de medición característicos 19a y 20a. El electrodo de puesta a tierra 10a permite que cualquier capacitancia se dirija alejándose de los electrodos detectores 19a y 20a. Para hacer esto, el electrodo de puesta a tierra 10a puede conectarse a cualquiera de los otros cinco electrodos o a su propia almohadilla de contacto separada (y pista) para conectarse a tierra en el medidor en lugar de una o más de las almohadillas de contacto 15, 17, 13 a través de pistas respectivas 7, 8 y 9. En una realización preferida, el electrodo de puesta a tierra 10a está conectado a uno de los tres electrodos que tiene el reactivo 22 dispuesto sobre el mismo. En una realización más preferida, el electrodo de puesta a tierra 10a está conectado al electrodo 10. Siendo el electrodo de puesta a tierra, es ventajoso conectar el electrodo de tierra al electrodo de referencia (10) para no aportar corriente adicional a las mediciones del electrodo de trabajo que puede provenir de compuestos que interfieren en el fondo de la muestra. Además, conectando el electrodo 10a de protección o de puesta a tierra al electrodo 10, se cree que esto aumenta eficazmente el tamaño del contraelectrodo 10 que puede llegar a ser limitante especialmente a altas señales. En la realización de la Figura 3A (2), el reactivo está dispuesto de manera que no están en contacto con los electrodos de medición 19a y 20a. Alternativamente, en la realización de la Figura 3A (3), el reactivo 22 está dispuesto de manera que el reactivo 22 contacta con al menos uno de los electrodos detectores 19a y 20a.

20

**[0032]** En la versión alternativa de la tira de prueba 100, que se muestra aquí en la Figura 3A (4), la capa superior 38, capa de película hidrófila 34 y el espaciador 29 se han combinado juntos para formar un conjunto integrado para montaje en el sustrato 5 con capa de reactivo 22' dispuesta próxima a la capa de aislamiento 16'.

25  
30  
35

**[0033]** En la Figura 3A (5), que se puede ver en la vista en planta que los primeros dos electrodos 19a y 20a están más cercanos a la entrada del canal receptor de sangre 18. Las pistas de los electrodos están configuradas para acoplarse con cinco superficies de contacto respectivas del puerto de recepción de la tira. Como se muestra en la Figura 3A (6), que es un primer plano del extremo de recepción de muestra de la tira 100, la primera pista de electrodo 19a está espaciada a una distancia L1 de la segunda pista de electrodo 20a. La segunda pista de electrodo 20a está espaciada a una distancia L2 del electrodo 10, cuya distancia L2 puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 1/2 de L1. El grosor h1 del electrodo 19a puede ser del mismo tamaño o diferente en comparación con el grosor h2 del segundo electrodo 20a. Para el electrodo 10, el espesor h3 puede ser de aproximadamente 6 a aproximadamente 7 veces el grosor h1, mientras que los espesores respectivos h4 y h5 pueden ser de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 veces los de h1 o h2. En la realización preferida, la distancia L1 puede ser de aproximadamente 1,2 milímetros y el grosor h1 puede ser de aproximadamente 0,2 milímetros.

40  
45  
50  
55

**[0034]** Las variaciones del biosensor 100 (Figuras 3A (1-6)) se muestran en las Figuras 3B-3T. Brevemente, con respecto a las variaciones del biosensor 100 (ilustradas ejemplarmente en las Figuras 3B a 3T), estos biosensores incluyen una capa de reactivo enzimático dispuesta sobre el electrodo de trabajo, una capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa conductora estructurada y configurada para definir una cámara de muestra dentro del biosensor analítico, y una segunda capa conductora con diseño dispuesta encima de la primera capa conductora estampada. La segunda capa conductora modelada incluye un primer electrodo de medición de desplazamiento de fase y un segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase. Además, los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están dispuestos en la cámara de muestra y están configurados a medida, junto con el medidor de prueba manual, un desplazamiento de fase de una señal eléctrica forzada a través de una muestra de fluido corporal introducida en la cámara de muestra durante el uso del biosensor analítico. Dichos electrodos de medición de desplazamiento de fase también se denominan aquí electrodos de medición de desplazamiento de fase de fluido corporal. Se cree que los biosensores analíticos de diversas realizaciones descritas en este documento son ventajosos porque, por ejemplo, los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están dispuestos por encima de los electrodos de trabajo y de referencia, permitiendo así una cámara de muestra de un volumen ventajosamente bajo. Esto contrasta con una configuración en la que los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están dispuestos en una relación coplanar con los electrodos de trabajo y de referencia, requiriendo así un volumen de muestra de fluido corporal mayor y cámara de muestra para permitir la muestra de fluido corporal para cubrir los electrodos de medición de cambio de fase primero y segundo, así como los electrodos de trabajo y de referencia.

60

**[0035]** En la realización de la Figura 3B, los electrodos de medición de analito 10, 12, y 14 están dispuestos en la misma configuración general que en las FIGs. 3A (1, 2, 3, 4, 5 o 6). Los electrodos 19a y 20a para detectar el nivel de hematocrito, sin embargo, están dispuestos en una configuración separada en la que un electrodo 19a está próximo a una entrada 92a a la cámara de prueba 92 y otro electrodo 20a está en el extremo opuesto de la cámara de prueba 92. Al menos uno de los electrodos en el biosensor está dispuesto para estar en contacto con una capa de reactivo 22.

65

**[0036]** En las Figuras 3C, 3D, 3E y 3F, los electrodos sensores de hematocrito 19a y 20a están dispuestos adyacentes entre sí y pueden estar colocados en el extremo opuesto 92b de la entrada 92a a la cámara de prueba 92 (Figs. 3C y 3D) o adyacentes a la entrada 92a (Figuras 3E y 3F). En todas estas realizaciones, los electrodos



sensores de característica física están separados de la capa de reactivo 22 de modo que estos electrodos sensores característicos físicos no se vean afectados por la reacción electroquímica del reactivo en presencia de una muestra de fluido (por ejemplo, sangre o fluido intersticial) que contiene glucosa.

5 **[0037]** Con referencia a las Figuras 3G a 3J, el biosensor analítico basado en electroquímica 400 incluye una capa de sustrato eléctricamente aislante 402, una primera capa conductora estampada 404 dispuesta en la capa de sustrato eléctricamente aislante, una capa de reactivo enzimático 406 (para mayor claridad representada en Figura 3G solamente), una capa espaciadora estampada 408, una segunda capa conductora modelada 410 dispuesta encima de la primera capa conductora estampada 404, y una capa superior eléctricamente aislante 412. La capa espaciadora estampada 408 está configurada de manera que el biosensor analítico basado en electroquímica 400 también incluye una cámara de muestra 414 formada en la misma con una capa espaciadora 408 con diseño que define las paredes exteriores de la cámara de muestra 414.

15 **[0038]** La primera capa conductora estampada 404 incluye tres electrodos, un contraelectrodo 404a (también denominado electrodo de referencia), un primer electrodo de trabajo 404b y un segundo electrodo de trabajo 404c (véase la Figura 3G).

20 **[0039]** La segunda capa conductora modelada 410 incluye un primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 411 y un segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 413. La segunda capa conductora modelada 410 también incluye un primer contacto de sonda de desplazamiento de fase 416 y un segundo contacto de sonda de desplazamiento de fase 418.

25 **[0040]** Durante el uso del biosensor analítico con base electroquímica 400 para determinar un analito en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, concentración de glucosa en sangre en una muestra de sangre entera), los electrodos 404a, 404b y 404c son empleados por un medidor asociado (no mostrado) para monitorear una respuesta electroquímica del biosensor analítico basado en electroquímica. La respuesta electroquímica puede ser, por ejemplo, una corriente electroquímica inducida por reacción. La magnitud de dicha corriente puede entonces correlacionarse, teniendo en cuenta la característica física de la muestra de fluido corporal determinada por el desplazamiento de fase de la muestra de fluido corporal, con la cantidad de analito presente en la muestra de fluido corporal bajo investigación. Durante dicho uso, se aplica una muestra de fluido corporal al bioensayo analítico 400 basado en electroquímica y, de ese modo, se recibe en la cámara de muestra 414.

35 **[0041]** La capa de sustrato 402 eléctricamente aislante puede ser cualquier sustrato eléctricamente aislante adecuado conocido por un experto en la técnica que incluye, por ejemplo, un sustrato de nylon, sustrato de policarbonato, un sustrato de poliimida, un sustrato de cloruro de polivinilo, un sustrato de polietileno, un sustrato de polipropileno, un sustrato de poliéster glicolado (PETG), un sustrato de poliestireno, un sustrato de silicio, sustrato de cerámica, sustrato de vidrio o un sustrato de poliéster (por ejemplo, un sustrato de poliéster de 7 milímetros de grosor). El sustrato eléctricamente aislante puede tener cualquier dimensión adecuada que incluye, por ejemplo, una dimensión de anchura de aproximadamente 5 mm, una dimensión de longitud de aproximadamente 27 mm y una dimensión de espesor de aproximadamente 0,5 mm.

45 **[0042]** La primera capa conductora estampada 404 puede formarse de cualquier material conductor de electricidad adecuado tal como, por ejemplo, oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio o combinaciones de los mismos (por ejemplo, óxido de estaño dopado con indio). Además, se puede emplear cualquier técnica adecuada o combinación de técnicas para formar la primera capa conductora estampada 404 que incluye, por ejemplo, bombardeo iónico, evaporación, electrodeposición, serigrafía, impresión por contacto, ablación con láser o impresión por huecogrado. Un espesor típico pero no limitante para la capa conductora con diseño está en el rango de 5 nanómetros a 400 nanómetros.

50 **[0043]** Como es sabido, los biosensores de analitos con base electroquímica convencionales (por ejemplo, tiras de ensayo) emplean un electrodo de trabajo junto con un electrodo contador asociado/de referencia y la capa de reactivo enzimático para facilitar una reacción electroquímica con un analito de interés y, de este modo, determinar la presencia y/o concentración de ese analito. Por ejemplo, un biosensor de analito basado en electroquímica para la determinación de la concentración de glucosa en una muestra de sangre puede emplear un reactivo enzimático que incluye la enzima oxidasa de glucosa y el mediador ferricianuro (que se reduce al mediador ferrocianuro durante la reacción electroquímica). Tales tiras de prueba de analito convencionales y las capas de reactivo enzimático se describen, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos 5.708.247; 5.951.836; 6.241.862; y 6.284.125. A este respecto, la capa de reactivo empleada en diversas realizaciones proporcionadas en este documento puede incluir cualquier reactivo enzimático soluble en muestra adecuado, con la selección de reactivos enzimáticos que dependen del analito a determinar y la muestra de fluido corporal. Por ejemplo, si se va a determinar glucosa en una muestra de sangre, la capa de reactivo enzimático 406 puede incluir oxidasa de glucosa o deshidrogenasa de glucosa junto con otros componentes necesarios para la operación funcional.

65 **[0044]** En general, la capa de reactivo enzimático 406 incluye al menos una enzima y un mediador. Los ejemplos de mediadores adecuados incluyen, por ejemplo, rutenio, cloruro de rutenio de hexamina (III), ferricianuro, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de osmio-bipiridilo y derivados de quinona. Ejemplos de enzimas adecuadas

incluyen oxidasa de glucosa, deshidrogenasa de glucosa (GDH) usando un co-factor de quinona de pirroloquinolina (PQQ), GDH usando un co-factor de dinucleótido de adenina de nicotinamida (NAD), y GDH usando un cofactor dinucleótido de adenina de flavina (FAD). La capa de reactivo enzimático 406 se puede aplicar durante la fabricación utilizando cualquier técnica adecuada que incluya, por ejemplo, impresión de pantalla.

5 [0045] El solicitante señala que la capa de reactivo enzimático 406 también puede contener tampones adecuados (tales como, por ejemplo, Tris HCl, citraconato, citrato y fosfato), hidroxietilcelulosa [HEC], carboximetilcelulosa, etilcelulosa y alginatos, estabilizadores enzimáticos y otros aditivos como se conoce en el campo.

10 [0046] Más detalles con respecto al uso de los electrodos y capas de reactivo enzimático para la determinación de las concentraciones de analitos en una muestra de fluido corporal, aunque en la ausencia de los electrodos de medición de desplazamiento de fase, tiras de ensayo analítico y métodos relacionados descritos en el presente documento, están en la Patente de los Estados Unidos N° 6.733.655.

15 [0047] La capa espaciadora 408 modelada puede estar formada de cualquier material adecuado que incluye, por ejemplo, una capa de adhesivo sensible a la presión de doble cara, de 95 micrómetros, una capa adhesiva activada por calor, o una capa plástica adhesiva termoestable. La capa espaciadora estampada 408 puede tener, por ejemplo, un espesor en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, y más  
20 preferiblemente entre aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 200 micrómetros.

[0048] La segunda capa conductora modelada 410 se puede formar de cualquier material conductor adecuado que incluye, por ejemplo, cobre, plata, paladio, oro y materiales de carbono conductores. La segunda capa conductora modelada 410 puede estar dispuesta, por ejemplo, sobre una superficie inferior de la capa superior 412 eléctricamente aislante (como se representa en las Figuras 3G-3J) o incrustada en la superficie inferior de la capa superior 412 eléctricamente aislante. Segunda capa conductora modelada 410 puede tener cualquier grosor  
25 adecuado que incluye, por ejemplo, un espesor en el intervalo de 20 micras a 400 micras.

[0049] El primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 411 y el electrodo de medición de desplazamiento de segunda fase 413 de la segunda capa conductora modelada 410 están separados dentro de la cámara de muestra 414 por un espacio (en la dirección horizontal de la Figura 3J) que es adecuado para la medición de desplazamiento de fase. Tal espacio puede ser, por ejemplo, en el rango de 20 micras a 1.400 micras con un espacio típico de 500 micras. Por otra parte, el área superficial del electrodo de medición de primer desplazamiento de fase 111 y el segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 113 que está expuesta a una muestra de fluido corporal dentro de la cámara de muestra 414 es típicamente de aproximadamente 0,5 mm<sup>2</sup>, pero puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mm<sup>2</sup> a aproximadamente 2,0 mm<sup>2</sup>.

[0050] El biosensor analítico basado en electroquímica 400 puede fabricarse, por ejemplo, mediante la formación secuencial alineada de la primera capa conductora estampada 404, la capa enzimática de reactivo 406, la capa espaciadora estampada 408, la segunda capa conductora estampada 410 y la capa superior eléctricamente aislante 412 en la capa de sustrato eléctricamente aislante 402. Puede usarse cualquier técnica adecuada conocida por un experto en la técnica para llevar a cabo dicha formación alineada secuencialmente, que incluye, por ejemplo, serigrafía, fotolitografía, fotograbado, deposición química en fase vapor, pulverización catódica, técnicas de laminación de cintas y combinaciones de los mismos.

[0051] Biosensores analíticos de acuerdo con realizaciones proporcionadas en este documento se pueden configurar, por ejemplo, para la conexión eléctrica operable (a través de, por ejemplo, contactos de sonda de desplazamiento de fase primero y segundo 416 y 418) y el uso con la interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica de un medidor de prueba portátil como se describe en la solicitud de patente en trámite 13/250.525 [identificada tentativamente por el N° de expediente DDI5209USNP].

[0052] Se ha determinado que existe una relación entre la reactancia de una muestra de sangre entera y la característica física de esa muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre completa) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando una señal de corriente alterna (CA) es forzada a través de la muestra de fluido corporal, el cambio de fase de la señal alterna dependerá de tanto la frecuencia del voltaje de la señal alterna como la característica física de la muestra. Por lo tanto, la característica física de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, impulsando señales alternas de una frecuencia conocida (o frecuencias conocidas) a través de la muestra de fluido corporal y detectando su desplazamiento de fase. Los electrodos de medición de desplazamiento de fase de biosensores analíticos de diversas realizaciones descritas en este documento son particularmente adecuados para uso en tales mediciones de desplazamiento de fase ya que los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están en contacto directo con una muestra de fluido corporal presente en la cámara de muestra.

[00523] El solicitante señala que para diversas realizaciones de biosensores analíticos (por ejemplo, una tira de prueba analítica basada en electroquímica) descritos aquí para su uso con un medidor de prueba manual en la determinación de un analito en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre completa) puede

incluir un sustrato eléctricamente aislante, una primera capa conductora modelada dispuesta sobre el sustrato eléctricamente aislante y que tiene un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. El biosensor analítico también puede incluir una capa de reactivo enzimático dispuesta en el electrodo de trabajo, una primera capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa conductora estampada y que define tanto un primer canal receptor de muestra como una cámara de muestra de determinación de analito dentro del biosensor analítico, y una segunda capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa espaciadora estampada y que define al menos un segundo canal de recepción de muestra. Además, el biosensor analítico incluye además una cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal en comunicación fluidica con el segundo canal de recepción de muestra. Además, el primer canal de recepción de muestra y la cámara de muestra de determinación de analito del biosensor analítico se aíslan del segundo canal de recepción de muestra y la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal del biosensor analítico.

**[0054]** El solicitante cree que los biosensores analíticos de diversas formas de realización descritos en este documento son beneficiosos en que, por ejemplo, el aislamiento (fluídico y eléctrico) entre la cámara de muestra de determinación del analito y la cámara de muestra por desplazamiento de fase de fluido corporal evita la interferencia potencial entre la determinación del analito en la muestra de fluido corporal y una medición de desplazamiento de fase del fluido corporal. El solicitante observa que se obtienen ciertas ventajas haciendo que el primer canal de recepción de muestra y la cámara de determinación de analito se separen del segundo canal de recepción de muestra y la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal por porciones de las capas espaciadoras estampadas primera y/o segunda que pueden ser más delgadas, proporcionando así un biosensor analítico con una sección transversal pequeña, pero mecánicamente estable.

**[0055]** Con referencia a las Figuras 3K-3O, el biosensor analítico basado en electroquímica 500 incluye un sustrato eléctricamente aislante 502, una primera capa conductora estampada 504 dispuesta en la capa de sustrato eléctricamente aislante, una capa de reactivo enzimático 506 (ilustrada para claridad en la Figura 3K solamente), una primera capa espaciadora estampada 508, una segunda capa espaciadora estampada 510 y una cubierta superior 511. En la realización de la Figura 3K, la primera capa espaciadora estampada 508 y la segunda capa espaciadora estampada 510 se representan como estructuras de dos capas. Sin embargo, las capas espaciadoras estampadas primera y segunda empleadas en diversas realizaciones proporcionadas en la presente pueden ser capas unitarias o cualquier otra capa formada adecuadamente.

**[0056]** La primera capa espaciadora estampada 508 está configurada de manera que el biosensor analítico basado en electroquímica 500 también incluye un primer canal receptor de muestra 512 y una cámara de muestra de determinación de analito 514. La primera capa espaciadora configurada 508 también está configurada para definir una fase fluida corporal. desplazar la cámara de muestra 516 y una cámara de muestreo de determinación de analito 518 (para mayor claridad no representada en la Figura 3K).

**[0057]** La segunda capa 510 espaciadora estampada está configurada para definir un segundo canal 520 de recepción de muestra y una cámara de ventilación de desplazamiento de fase de fluido corporal 522 (para claridad no representada en la Figura 3K).

**[0058]** La primera capa de conductor estampada 504 incluye un primer electrodo 524 de medición de desplazamiento de fase, un segundo electrodo 526 de medición de desplazamiento de fase, dos electrodos 528a y 528b de trabajo y un electrodo 530 de referencia. Para mayor claridad, la Figura 3L representa solo el primer electrodo de medición de cambio de fase 524 y el segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 526 y no la totalidad de la primera capa de conductor estampada 504.

**[0059]** El primer canal receptor de muestra 512 y la cámara de muestra de determinación de analito 514 están aislados, tanto de forma fluida como eléctrica, del segundo canal de recepción de muestra 520 y la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 516 (véase la Figura 3O en particular en donde las capas de conductor estampadas primera y segunda se omiten para mayor claridad). Además, en la realización de la Figura 3O, la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal está dispuesta en una configuración lado a lado con la cámara de muestra de determinación de analito.

**[0060]** Durante el uso del biosensor analítico con base electroquímica 500 para determinar un analito en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, concentración de glucosa en sangre en una muestra de sangre entera), electrodos de trabajo y referencia se emplean por un medidor asociado (no mostrado) para supervisar una respuesta electroquímica del biosensor analítico basado en electroquímica. La respuesta electroquímica puede ser, por ejemplo, una corriente electroquímica inducida por reacción. La magnitud de dicha corriente puede entonces correlacionarse, teniendo en cuenta el hematocrito de la muestra de fluido corporal determinado por el cambio de fase de la muestra de fluido corporal, con la cantidad de analito presente en la muestra de fluido corporal bajo investigación. Durante tal uso, una muestra de fluido corporal se aplica al biosensor analítico con base electroquímica 500 y, por tanto, recibida tanto en cámara de muestra de determinación del analito 514 y cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 516.

**[0061]** El sustrato eléctricamente aislante 502 puede ser cualquier sustrato eléctricamente aislante adecuado

conocido por un experto en la técnica que incluye, por ejemplo, un sustrato de nylon, sustrato de policarbonato, un sustrato de poliimida, un sustrato de cloruro de polivinilo, un sustrato de polietileno, un sustrato de polipropileno, un sustrato de poliéster glicolado (PETG), un sustrato de poliestireno, un sustrato de silicio, un sustrato de cerámica, un sustrato de vidrio o un sustrato de poliéster (por ejemplo, un sustrato de poliéster de 7 milímetros de grosor). El sustrato eléctricamente aislante puede tener cualquier dimensión adecuada que incluye, por ejemplo, una dimensión de anchura de aproximadamente 5 mm, una dimensión de longitud de aproximadamente 27 mm y una dimensión de espesor de aproximadamente 0,5 mm.

**[0062]** La primera capa conductora 504 estampada se puede formar de cualquier material eléctricamente conductor adecuado tal como, por ejemplo, oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio o combinaciones de los mismos (por ejemplo, óxido de estaño dopado con indio). Además, se puede emplear cualquier técnica o combinación de técnicas adecuadas para formar la primera capa de conductor estampada 504 que incluye, por ejemplo, bombardeo iónico, evaporación, electrodeposición, serigrafía, impresión por contacto, ablación con láser o impresión por huecograbado. Un espesor típico pero no limitante para la capa conductora con diseño está en el rango de 5 nanómetros a 500 nanómetros.

**[0063]** El solicitante señala que los biosensores de analitos basados en electroquímicos convencionales emplean un electrodo de trabajo junto con un electrodo contador/referencia asociado y una capa de reactivo enzimático para facilitar una reacción electroquímica con un analito de interés y, por lo tanto, determinan la presencia y/o concentración de ese analito. Por ejemplo, un biosensor de analito basado en electroquímica para la determinación de la concentración de glucosa en una muestra de sangre puede emplear un reactivo enzimático que incluye la oxidasa de glucosa de enzima y el mediador ferricianuro (que se reduce al mediador ferrocianuro durante la reacción electroquímica). Tales tiras de prueba de analito convencionales y capas de reactivo enzimático se describen, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos 5.708.247; 5.951.836; 6.241.862; y 6.284.125. A este respecto, la capa de reactivo empleada en diversas realizaciones proporcionadas en este documento puede incluir cualquier reactivo enzimático soluble en muestra adecuado, con la selección de reactivos enzimáticos que dependen del analito a determinar y la muestra de fluido corporal. Por ejemplo, si se va a determinar glucosa en una muestra de sangre, la capa de reactivo enzimático 506 puede incluir oxidasa de glucosa o deshidrogenasa de glucosa junto con otros componentes necesarios para la operación funcional.

**[0064]** En general, la capa de reactivo enzimático 506 incluye al menos una enzima y un mediador. Los ejemplos de mediadores adecuados incluyen, por ejemplo, ferricianuro, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de bipyridilo de osmio y derivados de quinona. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen oxidasa de glucosa, deshidrogenasa de glucosa (GDH) usando un co-factor de pirroloquinolinquinona (PQQ), GDH usando un co-factor de dinucleótido de adenina de nicotinamida (NAD), y GDH usando un co-factor de dinucleótido de adenina de flavina (FAD). La capa de reactivo enzimático 506 se puede aplicar durante la fabricación usando cualquier técnica adecuada que incluya, por ejemplo, impresión de pantalla.

**[0065]** El solicitante observa que la capa de reactivo enzimático 506 también puede contener tampones adecuados (tales como, por ejemplo, Tris HCl, citraconato, citrato y fosfato), hidroxietilcelulosa [HEC], carboximetilcelulosa, etilcelulosa y alginatos, estabilizadores enzimáticos y otros aditivos como se conoce en el campo.

**[0066]** Más detalles con respecto al uso de los electrodos y capas de reactivo enzimático para la determinación de las concentraciones de analitos en una muestra de fluido corporal, aunque en la ausencia de los electrodos de medición de desplazamiento de fase, cámaras de muestras por desplazamiento de fase de fluido corporal y segundas tiras de prueba analíticas de canales receptores de muestra, y métodos relacionados descritos en este documento, están en la Patente de los Estados Unidos N° 6.733.655.

**[0067]** Las capas espaciadoras estampadas primera y segunda 508 y 510, respectivamente, pueden formarse de cualquier material adecuado que incluye, por ejemplo, una capa adhesiva sensible a la presión de doble cara de 95 micrómetros, una capa adhesiva activada por calor o un adhesivo termoestable de capa plástica. La primera capa espaciadora estampada 508 puede tener, por ejemplo, un espesor en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, y más preferiblemente entre aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 600 micrómetros.

**[0068]** El biosensor analítico basado en electroquímica 500 puede fabricarse, por ejemplo, mediante la formación secuencial alineada de la primera capa conductora 504 estampada, la capa 506 de reactivo enzimático, la primera capa 508 estampada, y la segunda capa 510 estampada sobre un sustrato eléctricamente aislante 502. Puede usarse cualquier técnica adecuada conocida por un experto en la técnica para lograr dicha formación alineada secuencialmente, que incluye, por ejemplo, serigrafía, fotolitografía, fotograbado, deposición de vapor químico, pulverización catódica, técnicas de laminación de cinta y combinaciones de las mismas.

**[0069]** Biosensores analíticos de acuerdo con realizaciones se pueden configurar, por ejemplo, para nection conexión eléctrica operable y uso con la interfaz de célula de muestra de biosensor analítico de un medidor de prueba manual como se describe en la solicitud pendiente de patente 13/250.525 [tentativamente identificado por el

Nº de expediente DDI5209USNP], que se incorpora aquí como referencia a esta solicitud con una copia provista en el Apéndice.

5 [0070] Se ha determinado que existe una relación entre la reactancia de una muestra de sangre entera y la característica física de esa muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (p. ej., una muestra de sangre completa) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando una señal alterna como, por ejemplo, una señal de corriente alterna (CA) es forzada a través de la muestra de fluido corporal, el desplazamiento de fase de señal alterna dependerá tanto de la frecuencia del voltaje de la señal alterna como de la característica física de la muestra. Por lo tanto, la característica física de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, impulsando señales alternas de frecuencias conocidas a través de la muestra de fluido corporal y detectando su desplazamiento de fase. Los electrodos de medición de desplazamiento de fase de tiras analíticas de diversas realizaciones descritas en este documento son particularmente adecuados para uso en tales mediciones de desplazamiento de fase dado que los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están en contacto directo con una muestra de fluido corporal presente en la cámara de muestra.

15 [0071] Con referencia a las Figuras 3P-3T, la tira de prueba analítica basada en electroquímica 600 incluye un sustrato eléctricamente aislante 602, una primera capa conductora estampada 604 dispuesta en la capa de sustrato eléctricamente aislante, una capa de reactivo enzimático 606 (para mayor claridad ilustrada en Figura 3P solamente), una primera capa espaciadora estampada 608, una segunda capa conductora estampada 609, una segunda capa espaciadora estampada 610 y una cubierta superior 611. En la realización de la Figura 3P, la primera capa espaciadora estampada 608 y la segunda capa espaciadora estampada 610 se representan como estructuras de dos capas. Sin embargo, Las capas espaciadoras estampadas primera y segunda empleadas en diversas realizaciones proporcionadas en este documento pueden ser capas unitarias o cualquier otra capa adecuadamente formateada.

25 [0072] La primera capa espaciadora estampada 608 está configurada de manera que el biosensor analítico 600 basado en electroquímica incluye también un primer canal de recepción de muestra 612, una cámara de muestra de determinación de analito 614 y un respiradero de cámara de muestra de determinación de analito 618 (no representado en la Figura 3P) pero representado con líneas discontinuas en la Figura 3R). El respiradero de cámara de muestra de determinación de analito 618 está configurado para ayudar en la introducción de una muestra de fluido corporal en la cámara de muestra de determinación de analito 614 a través del primer canal receptor de muestra 612.

35 [0073] La segunda capa espaciadora estampada 610 está configurada para definir un segundo canal receptor de muestra 620, una cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal 616 y un respiradero de cámara de cambio de fase de fluido corporal 622 (no representado en la Figura 3P pero representado con líneas discontinuas en la Figura 3S). El respiradero de cámara de desplazamiento de fase de fluido corporal 622 está configurado para ayudar en la introducción de una muestra de fluido corporal en la cámara de muestra de cambio de fase de líquido corporal 616 a través del segundo canal de recepción de muestra 620.

40 [0074] La primera capa conductora estampada 604, dos electrodos de trabajo 628a y 628b (representados en las Figuras 3P y 3Q) y un electrodo de referencia 630 (también representado en las Figuras 3P y 3Q). La segunda capa conductora modelada 609 incluye un primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 624 y un segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 626 y está dispuesta encima de la primera capa espaciadora estampada 608 e incrustada en la estructura de dos capas de la segunda capa espaciadora intercalada 610.

45 [0075] El primer canal de recepción de muestra 612 y la cámara de muestra de determinación de analito 614 están aislados, tanto de forma fluida como eléctrica, del segundo canal de recepción de muestra 620 y la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 616 (véase la Figura 3T en particular en donde las capas de conductor estampadas primera y segunda no se representan para mayor claridad).

50 [0076] En las diversas realizaciones de la tira de prueba, hay dos mediciones que se realizan en una muestra de sangre depositada sobre la tira de prueba. Una medición es la de la glucosa en la muestra de sangre, mientras que la otra es la de la característica física en la misma muestra. Ambas mediciones (glucosa y hematocrito) pueden realizarse en secuencia, simultáneamente o superponiéndose en duración. Por ejemplo, la medición de glucosa se puede realizar primero, luego la característica física; la medición de la característica física primera, luego la medición de la glucosa; ambas medidas al mismo tiempo; o una duración de una medición puede superponerse a la duración de la otra medición. Cada medida se analiza en detalle como sigue con respecto a las Figuras 4A, 4B y 5.

55 [0077] La Figura 4A es un gráfico ilustrativo de una señal de prueba aplicada a la tira de prueba 100 y sus variaciones mostradas aquí en las Figuras 3A-3T. Antes de aplicar una muestra de fluido a la tira de ensayo 100 (o sus variantes 400, 500 o 600), el medidor de prueba 200 se encuentra en un modo de detección de fluido en el que se aplica una primera señal de prueba de aproximadamente 400 milivoltios entre el segundo electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. Preferiblemente, se aplica una segunda señal de prueba de aproximadamente 400 milivoltios simultáneamente entre el primer electrodo de trabajo (por ejemplo, el electrodo 12 de la tira 100) y el electrodo de referencia (por ejemplo, el electrodo 10 de la tira 100). Alternativamente, la segunda señal de prueba

- también se puede aplicar contemporáneamente de manera que un intervalo de tiempo de la aplicación de la primera señal de prueba se superpone con un intervalo de tiempo en la aplicación del segundo voltaje de prueba. El medidor de prueba puede estar en un modo de detección de fluido durante el intervalo de tiempo de detección de fluido  $T_{FD}$  antes de la detección de fluido fisiológico en el momento de inicio en cero. En el modo de detección de fluido, el medidor de prueba 200 determina cuándo se aplica un fluido a la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) de manera que el fluido moje el segundo electrodo de trabajo 14 y el electrodo de referencia 10. Una vez que el medidor de prueba 200 reconoce que el fluido fisiológico se haya aplicado debido a, por ejemplo, un aumento suficiente de la corriente de prueba medida en el segundo electrodo de trabajo 14, el medidor de prueba 200 asigna un segundo marcador de cero a tiempo cero "0" y comienza el intervalo de tiempo de ensayo  $T_1$ . El medidor de prueba 200 puede muestrear la salida transitoria de corriente a una velocidad de muestreo adecuada, tal como, por ejemplo, cada 1 milisegundo por cada 100 milisegundos. Tras la finalización del intervalo de tiempo de ensayo  $T_1$ , se retira la señal de prueba. Para simplificar, la Figura 4A solo muestra la primera señal de prueba aplicada a la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600).
- [0078]** En lo sucesivo, una descripción de cómo se determina la concentración de analito a partir de los transitorios de corriente conocidos (por ejemplo, la respuesta de corriente eléctrica medida en microamperios en función del tiempo) que se miden cuando los voltajes de prueba de la Figura 4A se aplican a la tira reactiva 100 (o sus variantes 400, 500 o 600).
- [0079]** En la Figura 4A, los voltajes de ensayo primero y segundo aplicados a la tira de prueba 100 (o sus variantes descritas en el presente documento) son generalmente de aproximadamente 100 milivoltios a aproximadamente 600 milivoltios. En una realización en la que los electrodos incluyen tinta de carbón y el mediador incluye ferricianuro, la señal de prueba es aproximadamente +400 milivoltios. Otras combinaciones de mediadores y materiales de electrodos requerirán diferentes voltajes de ensayo, como es conocido por los expertos en la técnica. La duración de los voltajes de prueba es generalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 segundos después de un período de reacción y típicamente es de aproximadamente 3 segundos después de un período de reacción. Típicamente, el tiempo de secuencia de prueba  $T_S$  se mide en relación con el tiempo  $t_0$ . Al mantenerse el voltaje 401 en la Figura 4A durante la duración de  $T_S$ , se generan señales de salida, que se muestran aquí en la Figura 4B con el transitorio de corriente 702 para el primer electrodo de trabajo 12 que comienza en tiempo cero y también el transitorio de corriente 704 el segundo electrodo de trabajo 14 también se genera con respecto al tiempo cero. Se observa que aunque los transitorios de señal 702 y 704 se han colocado en el mismo punto cero referencial para explicar el proceso, en término físico, existe un ligero diferencial de tiempo entre las dos señales debido al flujo de fluido en la cámara hacia cada uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 a lo largo del eje L-L. Sin embargo, los transitorios actuales se muestrean y configuran en el microcontrolador para tener el mismo tiempo de inicio. En la Figura 4B, los transitorios de corriente se acumulan hasta un momento pico próximo  $T_p$ , en cuyo momento, la corriente descende lentamente hasta aproximadamente uno de 2,5 segundos o 5 segundos después del tiempo cero. En el punto 706, aproximadamente a los 5 segundos, la señal de salida para cada uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 puede medirse y sumarse. De forma alternativa, la señal de solo uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 puede duplicarse.
- [0080]** Con referencia de nuevo a la Fig. 2B, el sistema acciona una señal a medir o muestrear las señales de salida  $I_E$  de al menos uno de los electrodos de trabajo (12 y 14) en uno cualquiera de una pluralidad de puntos de tiempo o posiciones de  $T_1, T_2, T_3, \dots, T_N$ . Como puede verse en la Fig. 4B, la posición de tiempo puede ser cualquier punto de tiempo o intervalo en la secuencia de prueba  $T_S$ . Por ejemplo, la posición de tiempo a la cual se mide la señal de salida puede ser un único punto de tiempo  $T_{1,5}$  a 1,5 segundos o un intervalo 708 (por ejemplo, intervalo~10 milisegundos o más dependiendo de la tasa de muestreo del sistema) solapando el punto de tiempo  $T_{2,8}$  cerca de 2,8 segundos.
- [0081]** Desde el conocimiento del código de calibración por lotes de desplazamiento y la pendiente por lotes para la tira de prueba en particular 100 y sus variaciones en las Figuras 3B-3T, se puede calcular la concentración de analito.
- [0082]** Se hace notar que "Intercepción" y "Pendiente" son los valores obtenidos mediante la medición de los datos de calibración de un lote de tiras de prueba. Normalmente, alrededor de 1.500 tiras (o más en algunos casos) se seleccionan al azar del lote. El fluido fisiológico (por ejemplo, muestras de sangre) de los donantes se agrega a varios niveles de analito, generalmente seis concentraciones de glucosa diferentes. Normalmente, la sangre de 12 donantes diferentes se agrega a cada uno de los seis niveles. A ocho tiras se les administra sangre de donantes y niveles idénticos para que se realicen un total de  $12 \times 6 \times 8 \approx 576$  pruebas para ese lote. Estos se comparan con el nivel real del analito (p. ej., la concentración de glucosa en sangre) midiéndolos con un analizador de laboratorio estándar como Yellow Springs Instrument (YSI). Se traza un gráfico de la concentración de glucosa medida contra la concentración de glucosa real (o corriente medida versus corriente YSI) y una fórmula  $y = mx+c$  cuadrados mínimos ajustados al gráfico para dar un valor para la pendiente del lote  $m$  y la intersección del lote  $c$  para las tiras restantes del lote.
- [0083]** Merece la pena señalar aquí que los componentes diferentes, los sistemas y procedimientos descritos anteriormente permiten que el solicitante proporcione el sistema de medición de analito que hasta ahora no estaba

disponible en la técnica. En particular, este sistema incluye una tira de prueba que tiene un sustrato y una pluralidad de electrodos dispuestos sobre el sustrato y conectados a los respectivos conectores de electrodo. El sistema incluye además un analizador que tiene una carcasa, un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodo de la tira de prueba, y un microprocesador 300. El microprocesador 300 está en comunicación eléctrica con el conector de puerto de tira de prueba 220 para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas desde la pluralidad de electrodos.

**[0084]** Con referencia a la Figura 2B, detalles de una implementación preferida del medidor 200 donde el mismo número en las respectivas Figuras 2A y 2B tiene una descripción común. En la Figura 2B, un conector de banda de conexión 220 está conectado a la interfaz analógica 306 por cinco líneas que incluyen una línea de detección de impedancia EIC para recibir señales de electrodo(s) sensor(es) característico(s) físico(s), alternando señales de conducción de CA de línea de señal al electrodo de detección característico físico, línea de referencia Ref para un electrodo de referencia, y líneas de detección de corriente del respectivo electrodo de trabajo 1 y electrodo de trabajo 2 (es decir,  $I_{we1}$  e  $I_{we2}$ ). También se puede proporcionar una línea de detección de tira 221 para el conector 220 para indicar la inserción de una tira de prueba. La interfaz analógica 306 proporciona cuatro entradas al procesador 300: (1) impedancia real  $Z'$ ; (2) impedancia imaginaria  $Z''$ ; (3) corriente muestreada o medida desde el electrodo de trabajo 1 del biosensor o  $I_{we1}$ ; (4) corriente muestreada o medida desde el electrodo de trabajo 2 del biosensor o  $I_{we2}$ . Hay una salida del procesador 300 a la interfaz 306 para excitar una señal oscilante AC (de cualquier valor desde aproximadamente 25 kHz hasta 250 kHz o superior) a los electrodos sensores característicos físicos. Un diferencial de fase P (en grados) puede determinarse a partir de la impedancia real  $Z'$  y la impedancia imaginaria  $Z''$  donde:

$$P = \tan^{-1} \{ Z'' / Z' \}$$

Ec. 3,1

y la magnitud M (en ohmios y convencionalmente escrita como  $|Z|$ ) de la línea  $Z'$  y  $Z''$  de la interfaz 306 se puede determinar donde

$$M = \sqrt{(Z')^2 + (Z'')^2}$$

Ec. 3,2

**[0085]** En este sistema, el microprocesador está configurado para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de manera que un punto de tiempo de muestreo específico se determina a partir de una característica física de una muestra de fluido fisiológico se deriva, (b) aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos, y (c) medir una salida de corriente de uno de la pluralidad de electrodos en el punto de tiempo específico definido de modo que se determina una concentración de analito. El "punto de tiempo específico" también puede denominarse aquí "punto de tiempo especificado". Para este sistema, la pluralidad de electrodos de la tira de prueba o biosensor incluye al menos dos electrodos para medir la característica física y al menos otros dos electrodos para medir la concentración de analito. Por ejemplo, los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos están dispuestos en la misma cámara provista en el sustrato. Alternativamente, los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos están dispuestos en cámaras diferentes provistas sobre el sustrato. Se observa que, para algunas realizaciones, todos los electrodos están dispuestos en el mismo plano definido por el sustrato. En particular, en algunas de las realizaciones descritas en este documento, se dispone un reactivo cerca de los al menos otros dos electrodos y no se dispone reactivo sobre al menos dos electrodos. Una característica de la nota en este sistema es la capacidad de proporcionar una medición precisa del analito dentro de aproximadamente 10 segundos de la deposición de una muestra fisiológica en el biosensor como parte de la secuencia de prueba.

**[0086]** Una descripción de la técnica del solicitante para determinar la característica física de la muestra de sangre se proporciona en relación a la Figura 5. En la Figura 5, el sistema 200 (Fig. 2) aplica una primera señal de entrada oscilante 800 a una primera frecuencia (por ejemplo, de aproximadamente 25kilo-Hertz a 250 kHz o más) a un par de electrodos. El sistema también está configurado para medir o detectar una primera señal de salida oscilante 802 desde el tercer y cuarto electrodos, que, en particular, implican la medición de una primera diferencia de tiempo  $\Delta t_1$  entre las primeras señales de entrada y de salida de oscilación. Al mismo tiempo o durante las duraciones de tiempo superpuestas, el sistema también puede aplicar una segunda señal de entrada oscilante (no mostrada por brevedad) a una segunda frecuencia (por ejemplo, aproximadamente 100 kilohercios a aproximadamente 1 megahertz o más, y preferiblemente aproximadamente 250 kilohercios) a un par de electrodos y luego medir o detectar una segunda señal de salida oscilante desde el tercer y cuarto electrodos, que pueden implicar la medición de una segunda diferencia de tiempo  $\Delta t_2$  (no mostrada) entre las primeras señales de entrada y de salida de oscilación. A partir de estas señales, el sistema estima una característica física de la muestra de sangre basada en los diferenciales de primera y segunda vez  $\Delta t_1$  y  $\Delta t_2$ . A partir de entonces, el sistema puede derivar una concentración de glucosa. La estimación de la característica física se puede hacer aplicando una ecuación de la forma

$$HCT_{EST} = \frac{(C_1 \Delta t_1 - C_2 \Delta t_2 - C_3)}{m_1}$$

Ec. 3,3

donde

10 cada uno de  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  es una constante operativa para la tira reactiva,  $m_1$  representa un parámetro a partir de datos de regresiones.

15 **[0087]** Los detalles de esta técnica ejemplar se pueden encontrar en la Solicitud de Patente de EE.UU. Provisional S.N. 61/530.795 presentada el 2 de septiembre de 2011, titulada "Hematocrit Corrected Glucose Measurements for Electrochemical Test Strip Using Time Differential of the Signal" con el N° de expediente DDI-5214USPSP.

20 **[0088]** Otra técnica para determinar la característica física puede ser por dos mediciones independientes de característica física. Esto se puede obtener determinando: (a) la impedancia de la muestra de sangre a una primera frecuencia y (b) el ángulo de fase de la muestra de sangre a una segunda frecuencia sustancialmente más alta que la primera frecuencia. En esta técnica, la muestra de sangre se modela como un circuito con reactancia desconocida y resistencia desconocida. Con este modelo, se puede determinar una impedancia (como se indica mediante la notación " $|Z|$ ") para la medición (a) a partir del voltaje aplicado, el voltaje en una resistencia conocida (por ejemplo, la resistencia de la tira intrínseca) y la tensión en la impedancia desconocida  $V_z$ ; y de forma similar, para la medición (b) el ángulo de fase puede medirse a partir de una diferencia de tiempo entre las señales de entrada y de salida por los expertos en la técnica. Los detalles de esta técnica se muestran y describen en la solicitud de patente provisional pendiente S.N. 61/530.808 presentada el 2 de septiembre de 2011 (N° de expediente DDI5215PSP). También se pueden utilizar otras técnicas adecuadas para determinar la característica física de la muestra de fluido fisiológico tales como, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 4.919.770 o "Electric Cell-Substrate Impedance Sensing (ECIS) as a Noninvasive Means to Monitor the Kinetics of Cell Spreading to Artificial Surfaces" de Joachim Wegener, Charles R. Keese e Ivar Giaever y publicado por Experimental Cell Research 259, 158-166 (2000) doi: 10.1006/excr.2000.4919, disponible en línea en <http://www.idealibrary.com/>; "Utilization of AC Impedance Measurements for Electrochemical Glucose Sensing Using Glucose Oxidase to Improve Detection Selectivity" por Takuya Kohma, Hidefumi Hasegawa, Daisuke Oyamatsu y Susumu Kuwabata y publicado por Bull. Chem. Soc. Jpn. Vol. 80, No. 1, 158-165 (2007).

35 **[0089]** Otra técnica para determinar la característica física puede obtenerse conociendo la diferencia de fase (por ejemplo, ángulo de fase) y la magnitud de la impedancia de la muestra. En un ejemplo, se proporciona la siguiente relación para la estimación de la característica física o característica de impedancia de la muestra ("CI"):

$$IC = M^2 * y_1 + M * y_2 + y_3 + P^2 * y_4 + P * y_5$$

Ec. 3,4

40 donde: M (de la ecuación 3,2) representa una magnitud  $|Z|$  de una impedancia medida (en ohmios); P (de la ecuación 3,1) representa una diferencia de fase entre las señales de entrada y de salida (en grados)  $y_1$  es aproximadamente  $-3.2e-08$  y  $\pm 10\%$ , 5% o 1% del valor numérico proporcionado aquí;

45  $y_2$  es aproximadamente  $4.1e-03$  y  $\pm 10\%$ , 5% o 1% del valor numérico proporcionado aquí;  $y_3$  es aproximadamente  $-2.5e + 01$  y  $\pm 10\%$ , 5% o 1% del valor numérico provisto aquí;  $y_4$  es aproximadamente  $1.5e-01$  y  $\pm 100\%$ , 5% o 1% del valor numérico provisto aquí; y  $y_5$  es aproximadamente 5,0 y  $\pm 10\%$ , 5% o 1% del valor numérico proporcionado aquí.

50 **[0090]** Se hace notar aquí que, cuando la frecuencia de la señal de CA de entrada es alta (por ejemplo, mayor que 75 kHz) a continuación, los términos paramétricos  $y_1$  e  $y_2$  relativos a la magnitud de la impedancia de M puede ser  $\pm 200\%$  de los valores ejemplares dado aquí de tal manera que cada uno de los términos paramétricos puede incluir cero o incluso un valor negativo. Por otro lado, cuando la frecuencia de la señal de CA es baja (por ejemplo, menos de 75 kHz), los términos paramétricos  $y_4$  e  $y_5$  se relacionan con el ángulo de fase P puede ser  $\pm 200\%$  de los valores ejemplares dados en este documento, de modo que cada uno de los términos paramétricos puede incluir cero o incluso un valor negativo. Se observa aquí que una magnitud de H, como se usa en el presente documento, es generalmente igual a la magnitud de CI. En una implementación ejemplar, el término H o HCT es igual a CI ya que el término H o HCT se usa en esta solicitud.

55 **[0091]** En otra implementación alternativa, se proporciona la Ecuación 3,5. La ecuación 3,5 es la derivación exacta de la relación cuadrática, sin usar ángulos de fase como en la Ecuación 3,4.



$$IC = \frac{-y_2 + \sqrt{y_2^2 - (4y_3(y_1 - M))}}{2y_1}$$

Ec. 3,5

donde:

CI es la característica de impedancia [%];

M es la magnitud de impedancia [Ohm];

y<sub>1</sub> es aproximadamente 1.2292e1 y ± 10%, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí;

y<sub>2</sub> es aproximadamente -4.3431e2 y ± 10%, 5% o 1% del valor numérico proporcionado aquí;

y<sub>3</sub> es aproximadamente 3.5260e4 y ± 10%, 5% o 1% del valor numérico proporcionado aquí.

**[0092]** En virtud de los componentes diversos, sistemas y conocimientos proporcionados en el presente documento, al menos un método de determinar una concentración de analito de una muestra fisiológica, que puede, por ejemplo, ser la sangre (y las variaciones de tal método) se consigue por el solicitante. Brevemente, las técnicas del solicitante implican obtener información o datos sobre al menos una característica física de una muestra de fluido fisiológico, derivar un tiempo de muestreo específico en una secuencia de prueba de duración de tiempo de muestreo, conducir una señal predeterminada a la muestra, medir o muestrear una primera señal de salida transitoria de la muestra durante la duración del tiempo de muestreo de la secuencia de prueba; definir un rango de tiempo específico que incluye el tiempo de muestreo específico en la duración del tiempo de muestreo de la secuencia de prueba, extraer magnitudes de la primera señal transitoria a intervalos discretos respectivos dentro del intervalo de tiempo específico y determinar la concentración de analito en función de las magnitudes extraídas de la primera señal transitoria contenida dentro del rango específico de tiempo.

**[0093]** Con referencia a la Figura 6A, el método implica el depósito de una muestra fisiológica en un biosensor en el paso 904 (por ejemplo, en forma de una tira de ensayo 100 como se muestra en las Figuras 3A (1-6)-3T y preferiblemente Figuras 3A (1-6) que se ha insertado en un medidor (paso 902). Una vez que se enciende el medidor 200, se aplica un voltaje a la tira 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) y cuando la muestra se deposita sobre la cámara de prueba, el voltaje aplicado transforma físicamente el analito en la muestra en una forma diferente debido a la reacción enzimática del analito con el reactivo en la cámara de prueba. A medida que la muestra fluye al canal capilar de la célula de prueba, se obtiene al menos una característica física de la muestra (paso 908). En particular, la etapa de obtener o medir la característica física (paso 908) puede incluir aplicar una primera señal a la muestra para derivar una característica física de la muestra, mientras que el paso 906 de iniciar una reacción enzimática (por ejemplo, mediante la aplicación de señales eléctricas a la muestra y al reactivo) puede implicar conducir una segunda señal a la muestra durante un tiempo que puede coincidir con la secuencia de prueba ("primera duración del tiempo de muestreo"). La activación de una segunda señal en la muestra (mediante electrodos) en el paso 910 permite una medición de las señales de salida de la muestra (a través de los electrodos) durante un período de tiempo, que puede ser igual a la duración del primer tiempo de muestreo. La señal de salida también se puede caracterizar aquí como una primera señal transitoria (por ejemplo, curvas transitorias 1002, 1004 y 1006 en la Figura 7A que se relacionan con el tiempo y las magnitudes) a la que se hace referencia con respecto a ambas magnitudes (por ejemplo, microamperios) y tiempo (p. ej., milisegundos). En el paso 912, se realiza una extracción o determinación de un tiempo de muestreo específico T basándose en los valores de la característica física de la muestra. En un punto posterior de esta solicitud se proporcionará una discusión sobre cómo se extrae el tiempo de muestreo específico T de las características físicas. Con referencia de nuevo a la Figura 6A, en la etapa 914, se mide o muestrea la primera salida de señal transitoria (y se representa en la Figura 7A, en la que la primera señal transitoria se correlaciona con el tiempo y la magnitud, dando una gráfica de magnitud (por ejemplo, corriente) contra tiempo) durante una duración de tiempo de muestreo de secuencia de prueba de aproximadamente 0 segundos a aproximadamente 10 segundos. En el paso 916, un intervalo específico de tiempo (desde T1 a T2) que incluiría el tiempo de muestreo específico T en la primera duración del tiempo de muestreo se define como una segunda duración del tiempo de muestreo. En el paso 918, el procesador del sistema mide o muestra las magnitudes de la primera señal transitoria (por ejemplo, 1002a) que se encuentran dentro del intervalo de tiempo específico (o la segunda duración del tiempo de muestreo). Aunque todas las magnitudes se miden en el paso 918, solo las magnitudes seleccionadas que ocurren en diferentes intervalos dentro de la segunda duración del tiempo de muestreo (o intervalo de tiempo específico) son utilizadas por el procesador para convertir estas magnitudes en un valor de concentración de analito en el paso 920.

**[0094]** El proceso de extracción de magnitudes de la primera señal transitoria para proporcionar la segunda señal transitoria se puede entender con referencia a las Figuras 7C y 7D. En la Figura 7C, la primera señal transitoria 1002a se ilustra con referencia a la magnitud (en microamplificadores desde aproximadamente 20 a aproximadamente 180 microamperios) y el tiempo (primera duración del tiempo de muestreo de aproximadamente 0

a aproximadamente 7 segundos). Para extraer magnitudes seleccionadas de la primera señal transitoria 1002a, el sistema debe definir primero el intervalo temporal específico T1-T2, caracterizado aquí como "segunda duración del tiempo de muestreo". Esto se realiza mediante la determinación del tiempo de muestreo específica T.

5 **[0095]** Una vez que el tiempo de muestreo específico T se determina, la hora de inicio T1 de este rango específico puede ser determinada mediante la adopción de una diferencia de tiempo de muestreo específica T (en segundos) y un tiempo predeterminado A (también en segundos). El tiempo de finalización T2 se establece para que sea igual al tiempo de muestreo específico T. Una vez que se define el rango T1-T2, el sistema elimina todas las señales transitorias fuera de este intervalo de tiempo específico, que se ve en la Figura 7D. Para permitir el procesamiento, la señal transitoria remanente (ahora definida como una segunda señal transitoria 1002a') puede dividirse en intervalos (que son intervalos iguales) y designarse en la Figura 7D con los números "1" a "22" para cada intervalo del segundo transitorio 1002a'. El sistema puede determinar un valor cercano a la magnitud para cada intervalo como sea posible. Sin embargo, es preferible, para facilitar el procesamiento, utilizar un promedio de las magnitudes muestreadas dentro de cada intervalo como la magnitud representativa de ese intervalo específico. Se observa que la segunda señal transitoria 1002a' puede compensarse para reducir la confusión al calcular las magnitudes seleccionadas de modo que el tiempo de inicio T1 se establezca para que comience en cero segundos, mostrado aquí en la Figura 7E, junto con otras señales transitorias extraídas de primeras señales transitorias de la Fig. 7A.

20 **[0096]** Ahora que una visión general se ha proporcionado de la técnica del solicitante, se dará ahora detalles de particulares técnicas utilizadas en algunos de los pasos en la Figura 6A o 6B. En particular, el paso de aplicación de la primera señal implica dirigir una señal alterna proporcionada por una fuente de alimentación apropiada (por ejemplo, el medidor 200) a la muestra de manera que se determina una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna. Esto puede incluir conducir la primera y la segunda señal alterna a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia. Preferiblemente, la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia. Como ejemplo, la primera frecuencia puede ser cualquier frecuencia en el intervalo de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 100 kHz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 250 kHz a aproximadamente 1 MHz o más. Como se usa en este documento, la frase "señal alterna" puede tener algunas porciones de la señal alternando en polaridad o todas las señales de corriente alterna o una corriente alterna con un desfase de corriente continua o incluso una señal multidireccional combinada con una señal de corriente continua.

35 **[0097]** Una vez que la característica física de la muestra ha sido determinada u obtenida de una técnica adecuada, la característica física puede utilizarse para definir un tiempo de muestreo T específico en el que durante la secuencia de prueba se utiliza la señal de salida de la cámara de prueba para el refinamiento adicional de las señales de salida transitorias medidas para proporcionar una salida de la concentración de analito en la muestra. Específicamente, el solicitante ha encontrado una relación entre la característica física y la concentración del analito, como se muestra aquí en la Figura 7A, donde el hematocrito está relacionado con la concentración del analito (mostrado por las magnitudes actuales en microamperios). Esta relación se ha explorado más a fondo de modo que el inventor pudo derivar una relación directa entre el tiempo de muestreo específico de la muestra y la característica física de la muestra, que se muestra aquí en la Figura 7B como línea 708. Como consecuencia, al conocer el estado físico característico de la muestra de la Ecuación 4 anterior, la relación 708 en la Figura 7B puede explotarse para permitir que se especifique el tiempo de muestreo específico para acomodar los diferentes niveles de características físicas a fin de lograr mediciones de concentración de glucosa mucho más precisas.

45 **[0098]** En la Figura 7A, se puede observar que a medida que la concentración de analito (proporcional a la salida de corriente) aumenta, el pico de la alta concentración de glucosa (denotado por 1002a, 1004a, y 1006a) está desplazado hacia la derecha en comparación con la concentración media de glucosa (indicada por 1002b, 1004b y 1006b). De forma similar, el pico de la concentración de glucosa media está más a la derecha de la Fig. 7A en comparación con la concentración baja de glucosa (indicada por 1002c, 1004c y 1006c). También se puede ver aquí que el estado estacionario de las concentraciones bajas de glucosa (1002c, 1004c y 1006c) se alcanza antes que las concentraciones de glucosa en el medio (1002b, 1004b y 1006b). Este patrón se repite para concentraciones altas de glucosa (1002a, 1004a y 1006b) en comparación con las concentraciones de glucosa media.

55 **[0099]** A partir de datos de la Figura 7A, el inventor fue capaz de derivar una segunda relación de grado entre la característica física detectada y el tiempo de muestreo, que se muestra aquí como la línea 708 en la Figura 7B. En la Figura 7B, una curva 708 se ajusta a valores de hematocrito a aproximadamente 30%, 42% y aproximadamente 55% y valores de glucosa para estos intervalos de hematocritos (de la Figura 7A). El inventor encuentra que esta curva ajustada es una ecuación de la forma:

$$60 \quad \text{Tiempo de muestreo específico} = x_1 H^{x_2} + x_3 \quad \text{Ec. 4}$$

donde (por conveniencia),

"Tiempo de muestreo específico" se designa como un punto de tiempo aproximado desde el inicio de la secuencia de prueba para muestrear la señal de salida de la tira reactiva, H representa la característica física de la muestra;

65  $x_1$  es aproximadamente 4,3e5;

$x_2$  es aproximadamente -3,9; y  
 $x_3$  es aproximadamente 4,8.

5 **[0100]** Aunque el método puede indicar solo un punto de tiempo de muestreo, el método puede incluir el muestreo al  
 requerirse muchos puntos de tiempo, tal como, por ejemplo, muestrear la salida de corriente sobre puntos de tiempo  
 discretos múltiples o continuamente (por ejemplo, en el tiempo de muestreo especificado tal como, cada 10  
 10 milisegundos a 100 milisegundos o constantemente durante una duración) desde el inicio de la secuencia de prueba  
 hasta al menos aproximadamente 10 segundos o menos después del inicio y los resultados almacenados para su  
 procesamiento cerca del final de la secuencia de prueba. El solicitante señala que el tiempo de muestreo apropiado  
 se mide desde el inicio de la secuencia de prueba, pero se puede utilizar cualquier dato apropiado para determinar  
 cuándo muestrear la corriente de salida. Como cuestión práctica, el sistema puede programarse para muestrear la  
 corriente de salida en un intervalo de muestreo de tiempo apropiado durante toda la secuencia de prueba, como por  
 15 ejemplo, un muestreo cada 100 milisegundos o incluso tan poco como aproximadamente cada 1 milisegundo. En  
 esta variación, el tiempo de muestreo específico es el valor utilizado para determinar con mayor precisión un  
 intervalo de tiempo específico de la primera duración del tiempo de muestreo.

**[0101]** En lugar de calcular a partir de la Ecuación 4 para el tiempo de muestreo específico en la secuencia de  
 prueba de aproximadamente 0 a aproximadamente 7 segundos, una tabla de consulta, representada ejemplarmente  
 20 aquí con referencia a la Tabla 1 también puede utilizarse en lugar de la Ecuación 4 o además de la Ecuación 4 para  
 especificar un punto de tiempo de muestreo apropiado. En la Tabla 1, el procesador del sistema usa el valor de la  
 característica física para buscar el momento apropiado en el que se muestrea o mide la salida de señal del  
 biosensor para determinar la concentración de analito. Por ejemplo, una vez que se ha determinado la característica  
 física, en este caso se puede deducir un 33% de hematocrito, el tiempo en que se utiliza la señal de salida del  
 25 biosensor 100 para determinar la concentración de analito en la Tabla 1, que muestra que el tiempo de muestreo  
 específico es a aproximadamente 5,32 segundos después del comienzo de la secuencia de prueba.

**Tabla 1**

Physical Characteristic (i.e., Hematocrit %)	Specific Time T (seconds)
30	5,56
31	5,46
32	5,38
33	5,32
34	5,26
35	5,2
36	5,16
37	5,12
38	5,08
39	5,06
40	5,02
41	5
42	5
43	4,98
44	4,96
45	4,96
46	4,94
47	4,92
48	4,92
49	4,9
50	4,9
51	4,9
52	4,88
53	4,88
54	4,88
55	4,86

65 **[0102]** Hay que señalar que el paso de aplicación de la primera señal y la conducción de la segunda señal es en  
 orden secuencial en que el orden puede ser la primera señal, estando entonces superpuestas la segunda señal o  
 ambas señales en secuencia; alternativamente, la segunda señal primero, luego la primera o ambas señales

solapadas en secuencia. Alternativamente, la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden tener lugar simultáneamente.

**[0103]** Se observa que en las realizaciones preferidas, la medición de una salida de corriente para la concentración de glucosa se lleva a cabo antes de la estimación de la característica física. Alternativamente, el nivel de la característica física puede estimarse, medirse u obtenerse antes de la medición de la concentración de glucosa.

**[0104]** Con referencia a la Figura 6B, se discute un refinamiento del método de la Figura 6A. Los pasos 900-910 son los mismos que los discutidos con referencia a la Figura 6A y, por lo tanto, no se repiten por brevedad. En la etapa 912', se define un tiempo de muestreo específico T en la primera duración del tiempo de muestreo en función de la característica física de la muestra. Se define un segundo tiempo de duración de muestreo en función del tiempo de muestreo específico T en el paso 914'. Una segunda señal transitoria (1002a' en la Figura 7D) que se obtiene eliminando magnitudes de la primera señal transitoria 1002a (Figura 7C) que están fuera del intervalo de tiempo específico T1-T2 en la Figura 7D. Mediante este proceso, se obtiene una segunda señal transitoria (1002a' en la Figura 7D) a partir de la primera señal transitoria (1002a en la Figura 7C). Como se muestra en la Figura 7D, el intervalo de tiempo específico T1 a T2 incluye el tiempo de muestreo específico T. En particular, T1 es aproximadamente igual a la diferencia entre el tiempo de muestreo específico T y un tiempo predeterminado A y T2 es aproximadamente igual al tiempo de muestreo específico T. En otra realización, T1 es aproximadamente igual a un valor absoluto de la diferencia del tiempo de muestreo específico T y A, y donde T2 es aproximadamente igual a T. En las realizaciones preferidas, A es aproximadamente 4,2 segundos. Con referencia al paso 920 en las Figuras 6A o 6B, la concentración del analito puede determinarse en el paso 920 mediante la aplicación de ciertas magnitudes seleccionadas de la segunda señal transitoria (por ejemplo, 1002a') en diversos algoritmos matemáticos derivados por el solicitante en base a una gran cantidad de concentraciones de analito conocidas, tal como se miden realmente, en comparación con las concentraciones de analito referencial de laboratorio a las que se hace referencia en la presente memoria como valores referenciales o de referencia para determinar la precisión de la concentración de analito conocida. En particular, un primer algoritmo utiliza cinco magnitudes diferentes del segundo transitorio para llegar a la concentración de analito (G). Las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA, por lo que la intersección se cita en nA, y la pendiente se expresa en nA/(mg/dL), dando la concentración de analito en mg/dL. El primer algoritmo de concentración de analito se representa aquí como Ecuación 5:

$$G = \frac{\left(\frac{|I_3|}{|I_4|}\right)^{x_1} \times \left(\frac{|I_2| + x_4 |I_5| - x_5 |I_1|}{|I_2| + x_4 |I_5|} |I_5|\right) - x_2}{x_3}$$

Ec. 5

donde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 17 (aproximadamente 3,3 segundos desde T1);

$I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 13 (aproximadamente 2,5 segundos desde el momento de inicio T1);

$I_3$  = magnitud de la señal en el intervalo 5 (aproximadamente 0,9 segundos desde el momento de inicio T1);

$I_4$  = magnitud de la señal en el intervalo 3 (aproximadamente 0,5 segundos desde el tiempo de inicio T1);

$I_5$  = magnitud de la señal en el intervalo 22 (aproximadamente 4,3 segundos desde el momento de inicio T1);

$x_1 = 0,7503$ ,  $x_2 = 337,27$ ,  $x_3 = (-) 16,811$ ,  $x_4 = 1,4128$ ,  $x_5 = 2,6707$ ,

donde, como se indicó anteriormente, las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_2$  se cita en nA, y  $x_3$  se cita en nA/(mg/dL).

**[0105]** En una segunda variación del algoritmo, sólo dos magnitudes de la segunda señal transitoria extraída se utilizan para determinar la concentración de analito (G), que en este caso es la glucosa. El segundo algoritmo está representado por Ec. 6:

$$G = \frac{x_1 (|I_1|) \left(x_2 - \frac{x_3}{|I_2|}\right) - x_4}{x_5}$$

Ec. 6

donde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 11 (aproximadamente 2,1 segundos desde el tiempo de inicio T1);  
 $I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 7 (aproximadamente 1,3 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $x_1 = 0,5865$ ,  $x_2 = 2,5099$ ,  $x_3 = (-) 12,738$ ,  $x_4 = (-) 188,31$ ,  $x_5 = 9,1996$ ,

donde, como se indicó anteriormente, las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_4$  se cita en nA, y  $x_5$  se cita en nA/(mg/dL).

**[0106]** En una tercera variación del algoritmo, solo se usan tres magnitudes de la segunda señal transitoria para determinar la concentración de analito (G), que en este caso es glucosa. El tercer algoritmo está representado por Ec. 7:

$$G = \frac{x_1 \ln\left(x_2 \frac{|I_1|}{|I_2|}\right)^{x_3} |I_3|^{x_4} - x_5}{x_6}$$

Ec. 7

dónde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 20 (aproximadamente 3,9 segundos desde el tiempo de inicio T1);  
 $I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 22 (aproximadamente 4,3 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_3$  = magnitud de la señal en el intervalo 19 (aproximadamente 3,7 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $x_1 = 20,154$ ,  $x_2 = 1,0446$ ,  $x_3 = 0,9546$ ,  $x_4 = 1,3894$ ,  $x_5 = (-) 0,7141$ ,  $x_6 = 0,1163$ ,

en donde, como se indicó anteriormente, las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_5$  se cita en nA, y  $x_6$  se cita en nA/(mg/dL).

**[0107]** En una cuarta variación del algoritmo, se usan cinco magnitudes de la segunda señal transitoria para determinar la concentración de analito (G), que en este caso es glucosa. El cuarto algoritmo está representado por Ec. 8:

$$G = \frac{x_3 \left| \frac{I_1}{I_2} \right| \left( x_1 - x_2 \left| \frac{I_3}{I_4} \right| \right) \times |I_5| - x_5}{x_4}$$

Ec. 8

donde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 5 (aproximadamente 0,9 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 1 (aproximadamente 0,1 segundos del tiempo de inicio T1);

$I_3$  = magnitud de la señal en el intervalo 2 (aproximadamente 0,3 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_4$  = magnitud de la señal en el intervalo 10 (aproximadamente 1,9 segundos desde el tiempo de inicio T1);  
 $I_5$  = magnitud de la señal en el intervalo 22 (aproximadamente 4,3 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $x_1 = 0,7060$ ,  $x_2 = 0,4864$ ,  $x_3 = 28,5946$ ,  $x_4 = 0,6979$ ,  $x_5 = 15,5099$ ,

en donde, como se indicó anteriormente, las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_5$  se cita en nA, y  $x_4$  se cita en nA/(mg/dL).

**[0108]** En una quinta variación del algoritmo, se usan cuatro magnitudes de la segunda señal transitoria para determinar la concentración de analito (G), que en este caso es glucosa. El quinto algoritmo está representado por Ec. 9:

$$G = \frac{\left(\frac{|I_1|}{|I_2|}\right)^{x_1} \times \frac{x_2 |I_3|^2 + x_3 |I_3| + x_4}{x_5 |I_4| + x_6}}{x_8} - x_7$$

Ec. 9

en donde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 19 (aproximadamente 3,7 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 16 (aproximadamente 3,1 segundos de la hora de inicio T1);  
 $I_3$  = magnitud de la señal en el intervalo 11 (aproximadamente 2,1 segundos desde el tiempo de inicio T1);  
 $I_4$  = magnitud de la señal en el intervalo 5 (aproximadamente 0,9 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $x_1 = (-) 1,6842$ ,  $x_2 = 0,9527$ ,  $x_3 = (-) 4,9724$ ,  $x_4 = 6,2936$ ,  $x_5 = 3,0770$ ,  $x_6 = (-) 5,8427$ ,  $x_7 = (-) 0,4714$ ,  $x_8 = 0,0079$ ,  
 en donde, como se indicó anteriormente, las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_7$  se cita en nA, y  $x_8$  se cita en nA/(mg/dL).

**[0109]** En una sexta variación del algoritmo, cuatro magnitudes de la segunda señal transitoria se utilizan para determinar la concentración de analito (G), que en este caso es la glucosa. El sexto algoritmo está representado por Ec. 10:

$$G = \frac{\left(\frac{|I_1|}{|I_2|}\right)^{x_1} \times \frac{x_2 |I_3|^3 + x_3 |I_3|^2 + x_4 |I_3| + x_5}{x_6 |I_4|^2 + x_7 |I_4| + x_8}}{x_{10}} - x_9$$

Ec. 10

donde:

$I_1$  = magnitud de la señal en el intervalo 16 (aproximadamente 3,1 segundos de la hora de inicio T1);  
 $I_2$  = magnitud de la señal en el intervalo 5 (aproximadamente 0,9 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_3$  = magnitud de la señal en el intervalo 12 (aproximadamente 2,3 segundos desde el momento de inicio T1);  
 $I_4$  = magnitud de la señal en el intervalo 14 (aproximadamente 2,7 segundos desde el tiempo de inicio T1);  
 $x_1 = 1,1842$ ,  $x_2 = 0,9740$ ,  $x_3 = (-) 11,316$ ,  $x_4 = 38,763$ ,  $x_5 = (-) 39,319$ ,  $x_6 = 0,0928$ ,  
 $x_7 = (-) 0,8503$ ,  $x_8 = 1,7545$ ,  $x_9 = (-) 9,3804$ ,  $x_{10} = 0,2465$ ,  
 en donde, como se señaló anteriormente, las magnitudes de segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_9$  es citado en nA, y  $x_{10}$  es citado en nA/(mg/dL).

**[0110]** Se observa que cada una de las salidas de corriente (por ejemplo,  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$ ,  $I_4$ ,  $I_5$ ) en las Ecuaciones 5-10 que se mide puede ser una corriente de salida de un electrodo de trabajo en un biosensor que tiene un electrodo de trabajo o donde hay más de un electrodo de trabajo, una suma de salidas de corriente de la pluralidad de electrodos de trabajo en un biosensor con varios electrodos de trabajo. En los ejemplos de realización, cada una de las salidas de corriente en los puntos de tiempo de muestreo especificado (por ejemplo,  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$ ,  $I_4$ ,  $I_5$ ) es un total de o una suma de las salidas de corriente de los electrodos 12 de trabajo y 14 del ejemplo de biosensor 100. Por ejemplo, en la Ecuación 10, si la salida de corriente para el primer electrodo de trabajo en el decimosexto intervalo (a ~ 3,1 s) es de 120 nanoamperios y la salida de corriente en el segundo electrodo de trabajo es de 150 nanoamperios en el mismo intervalo (~ 3,1 s), la magnitud de  $I_1$  es la suma de ambos valores y, por lo tanto, 270 nanoamperios. De manera similar, la salida de corriente de  $I_2$  es la suma de la salida de corriente del primer electrodo de trabajo 12 en el quinto intervalo (~ 0,9 s) y la salida de corriente desde el segundo electrodo de trabajo 14 en el quinto intervalo. El resto de las corrientes se obtienen de la misma manera para la Ecuación 10.

**[0111]** En lugar de una corriente total sumada de cada electrodo de trabajo para cada tiempo de muestreo, se puede usar un promedio de la corriente de cada electrodo de trabajo en cada tiempo de muestreo en las Ecuaciones 5-10 descritas en este documento, y por supuesto, con la modificación apropiada de los coeficientes operativos (como saben los expertos en la técnica) para dar cuenta de una corriente medida menor en cada tiempo de muestreo que en comparación con una realización donde las corrientes medidas en cada punto de tiempo de muestreo se suman. Alternativamente, el promedio de las corrientes medidas en cada tiempo de muestreo requerido por las Ecuaciones

5-10 puede multiplicarse por dos y usarse sin la necesidad de derivar los coeficientes operativos como en el ejemplo anterior.

5 **[0112]** Por lo tanto, como otro beneficio de la enseñanza proporcionada en este documento, un aumento de la exactitud de una medición de prueba de analitos se consigue hasta ahora, en comparación con la técnica conocida que prevé un sesgo superior o error de  $\pm 20\%$  para hematocritos de 30%, 42% y 55%, mostrado aquí en la Figura 8A en las tiras de prueba conocidas. Específicamente, se proporciona un método en el que se proporciona un lote de tiras reactivas, típicamente en un lote de aproximadamente 845 muestras (y en algunos casos hasta 1 millón de muestras (o tiras reactivas) por lote), introduciendo una muestra referencial que contiene una concentración referencial de un analito en cada tira de prueba del lote para iniciar una secuencia de prueba. El método implica hacer reaccionar el analito para provocar una transformación física del analito con el reactivo entre los dos electrodos, determinando una característica física de la muestra referencial, seleccionando puntos de tiempo de muestreo múltiples específicos que generalmente no se ven afectados por la característica física y determinando una concentración de analito basada en múltiples puntos de tiempo de muestreo específicos tales que al menos el 15 95% de los valores de concentración de analito del lote de tiras de prueba están dentro del  $\pm 15\%$  de la concentración de analito referencial para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55% de hematocrito (por ejemplo, alrededor del 42% de hematocrito), que se muestra aquí en las Figuras 8B, 8C, 8D, 8E, 8F y 8G.

20 **[0113]** En cada una de las Figuras 8A-8G, los experimentos se realizaron con un lote de tiras (en este caso aproximadamente 845 muestras de tira) para cuantificar la mejora en las mediciones de glucosa a partir de los métodos descritos en el presente documento. La cuantificación de la mejora se puede demostrar por el "sesgo" a diferentes niveles de hematocrito. La polarización, que es una estimación del error relativo en la medición de glucosa, se calculó para cada concentración de glucosa determinada con los métodos descritos en este documento. El sesgo para cada concentración de glucosa se determinó con ecuaciones de la forma:

$$\text{Sesgo}_{\%} = \frac{G_{\text{calculado}} - G_{\text{referencia}}}{G_{\text{referencia}}}$$

30  $\text{Sesgo}_{\text{abs}} \approx G_{\text{calculado}} - G_{\text{referencia}}$  para  $G_{\text{referencia}}$  inferior a 100 mg/dL de glucosa y  $G_{\text{referencia}}$  mayor o igual a 100 mg/dL glucosa donde **Sesgo<sub>abs</sub>** es sesgo absoluto, **Sesgo<sub>%</sub>** es sesgo porcentual, **G<sub>calculado</sub>** es la concentración de glucosa determinada por el método de esta memoria y **G<sub>referencia</sub>** es la concentración de glucosa de referencia.

35 **[0114]** En la Figura 8A, cuando se representan gráficamente los resultados para el error o sesgo en las tiras de ensayo conocidas, las concentraciones de glucosa en hematocritos bajos (30%) muestran un sesgo sustancial de mayor que 20% para la concentración de glucosa a 100 mg/dL o mayores concentraciones. En el otro rango de hematocrito (55%), el sesgo nuevamente es sustancialmente alto para concentraciones de glucosa de 100 mg/dL o mayores.

40 **[0115]** En agudo contraste, cuando se aplican las técnicas de la presente invención, se puede observar en las Figuras 8B, 8C, 8D, 8E, 8F, y 8G que las concentraciones de glucosa en los extremos de hematocritos (30% o 55%) son ahora dentro del sesgo de +15% y -15%, independientemente de si la concentración de glucosa es de 100 mg/dL o más.

45 **[0116]** Trazando los centroides de los datos de glucosa contra los hematocritos, se puede ver que los centroides de los datos definen una línea 1100 que se extiende entre los centroides para concentraciones de glucosa a 30%, 42% y 55% de hematocrito. La línea 1100 muestra una pendiente negativa que indica las variaciones en el sesgo de los resultados a bajo hematocrito (30%) a alto hematocrito (55%). Sorprendentemente, para las realizaciones proporcionadas en este documento, puede verse en estas Figuras 8B, 8C, 8D, 8E, 8F y 8G que los centroides de los datos de concentración de glucosa son generalmente planos con sesgo cero independientemente de los parámetros de hematocrito del 30%, 42% o 55%. Específicamente, con respecto a la Figura 8B, que usa la Ecuación 5 como parte de la primera técnica nueva del inventor, la línea 1102 que conecta los centroides de datos de glucosa para hematocritos bajos, medios y altos es virtualmente horizontal o plana. Con respecto a la Figura 8C, que usa la Ecuación 6 como parte de la segunda técnica del inventor, la línea 1104 que conecta los centroides de los datos en los tres parámetros del hematocrito no es tan plana como la línea 1102. Sin embargo, la pendiente de la línea 1104 es casi insignificante cuando se compara con la línea 1100 de la técnica conocida en la Figura 8A. Con respecto a la Figura 8D, que usa la ecuación 7 como parte de la tercera técnica del inventor para determinar las concentraciones de glucosa, la línea 1106 que conecta los centroides de los datos tampoco es tan plana como la línea 1102 de la Figura 8B. Sin embargo, la pendiente de la línea 1106 (Fig. 8D) es casi insignificante cuando se compara con la línea 1100 de la técnica conocida (Fig. 8A). Con respecto a la Figura 8E, que usa la ecuación 8 como parte de la cuarta técnica del inventor para determinar las concentraciones de glucosa, la línea 1108 que conecta los centroides de los datos es prácticamente plana, lo que indica que las variaciones en el sesgo entre los extremos del hematocrito son prácticamente insignificantes. Con respecto a las Figuras 8F y 8G, que usan las respectivas ecuaciones 9 y 10 como parte de las técnicas nuevas quinta y sexta del inventor, la línea (1110 o 1112) que conecta los centroides de los datos de concentración de glucosa (para cada una de las Figuras 8F y 8G) también es prácticamente plana para cada una de estas figuras.

[0117] El solicitante observa que las ecuaciones presentadas anteriormente, que resultará en la generación de los resultados de glucosa  $G_1-G_6$  (en respectivas FIGs. 8B - 8G) se generaron utilizando la tira de prueba 100 (como se muestra generalmente en las Figuras 3A (1), 3A (5) y 3A (6)). Si se utiliza una tira de prueba con diferentes tamaños de los distintos electrodos (incluidos los electrodos de trabajo), el parámetro de división (por ejemplo,  $X_{10}$  en la ecuación 10) debe ajustarse midiendo las salidas de corriente específicas para los tamaños respectivos de las tiras y realizando el análisis de regresión de las salidas de corriente para el ajuste de los parámetros de división.

[0118] El solicitante señala además que si bien las seis ecuaciones son equivalentes en términos de devolver un resultado de concentración de glucosa precisa, tienen puntos fuertes y débiles. Una combinación de estas ecuaciones se puede usar para cubrir el rendimiento óptimo en diferentes rangos. Por ejemplo, la Ecuación 10 se puede usar para una concentración de glucosa baja y la Ecuación 5 para una concentración de glucosa alta. Alternativamente, algunas o todas las ecuaciones se pueden utilizar juntas en varias permutaciones para permitir una derivación de una concentración de glucosa que tenga en cuenta las grandes variaciones en los valores de glucosa dependiendo de los parámetros operativos.

[0119] Aunque las técnicas descritas en el presente documento se han dirigido a la determinación de la glucosa, las técnicas pueden también aplicarse a otros analitos (con modificaciones apropiadas por los expertos en la técnica) que están afectados por característica física de la muestra de fluido en las cuales el (los) analito(s) se elimina(n) en la muestra de fluido. Por ejemplo, la característica física de una muestra de sangre podría tenerse en cuenta en la determinación de cetona o colesterol en la muestra de sangre. También se pueden utilizar otras configuraciones de biosensores. Por ejemplo, los biosensores mostrados y descritos en las siguientes patentes de EE.UU. Se pueden utilizar con las diversas realizaciones descritas en la presente memoria: patentes de Estados Unidos N<sup>os</sup> 6179979; 6193873; 6284125; 6413410; 6475372; 6716577; 6749887; 6863801; 6890421; 7045046; 7291256; 7498132.

[0120] Como es sabido, la detección de la característica física no tiene que hacerse mediante señales alternas, sino que puede realizarse con otras técnicas. Por ejemplo, se puede utilizar un sensor adecuado (por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N<sup>o</sup> 20100005865 o EP1804048 B1) para determinar la viscosidad u otras características físicas. Alternativamente, la viscosidad puede determinarse y usarse para derivar para hematocritos basados en la relación conocida entre hematocritos y viscosidad como se describe en "Blood Rheology and Hemodynamics" por Oguz K. Baskurt, MD, Ph.D., 1 y Herbert J. Meiselman., Sc.D., Seminars in Thrombosis and Hemostasis, volumen 29, número 5, 2003.

[0121] Como se describió anteriormente, el microcontrolador o un microprocesador equivalente (y los componentes asociados que permiten que el microcontrolador funcione para el fin previsto en el entorno pretendido tal como, por ejemplo, el procesador 300 en la Figura 2B) puede utilizarse con códigos informáticos o instrucciones de software para llevar a cabo los métodos y técnicas descritas en este documento. El solicitante observa que el microcontrolador ejemplar 300 (junto con componentes adecuados para el funcionamiento funcional del procesador 300) en la Figura 2B está embebido con firmware o cargado con un software informático representativo de los diagramas lógicos en las Figuras 6A o 6B y el microcontrolador 300, junto con el conector asociado 220 e interfaz 306 y equivalentes de los mismos, son los medios para: (a) determinar un tiempo de muestreo específico basado en una característica física detectada o estimada de una muestra depositada en una pluralidad de electrodos de la tira reactiva, el tiempo de muestreo especificado está en al menos un punto de tiempo o intervalo referenciado desde el inicio de una secuencia de prueba tras la deposición de una muestra en la tira de prueba; (b) aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos para medir una primera señal de salida transitoria desde la pluralidad de electrodos debido a la aplicación de la segunda señal a la pluralidad de electrodos; (c) extraer una segunda señal de salida transitoria desde la primera señal de salida; (d) determinar una magnitud de la segunda señal de salida transitoria sobre una pluralidad de intervalos de tiempo discretos; y (e) calcular la concentración de analito a partir de las magnitudes de la segunda señal de salida transitoria a intervalos seleccionados de la pluralidad de intervalos de tiempo discretos.

[0122] Los medios para calcular pueden incluir un microprocesador programado para calcular la concentración de analito con una cualquiera de las Ecuaciones 5-10, junto con sus respectivos parámetros, como se describió anteriormente.

## ASPECTOS ADICIONALES DE LA DIVULGACIÓN

### Sección "F"

[0123] Los siguientes aspectos, que fueron presentados originalmente en la solicitud de patente de Estados Unidos N<sup>o</sup> de Serie 13/250.525 (N<sup>o</sup> de expediente DDI5209USNP) y en el documento PCT/GB2012/052421 (N<sup>o</sup> de expediente DDI5209WOPCT), forman parte de la presente descripción:

1. Un medidor de prueba manual para su uso con una tira de prueba analítica en la determinación de un analito en una muestra de fluido corporal, comprendiendo el medidor de prueba manual:

una carcasa;



un bloque de microcontroladores dispuesto en la carcasa; y  
 un bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase que incluye:

- 5 un subbloque de generación de señal;  
 un sub-bloque de filtro de paso bajo;  
 un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica;  
 un subbloque de amplificador de transimpedancia; y  
 un subbloque detector de fase,

10 en donde el bloque de medida del hematocrito basado en el desplazamiento de fase y el bloque del microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil, y en donde el bloque del microcontrolador está configurado para calcular el hematocrito del fluido corporal en función del cambio de fase medido.

15 2. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en donde el bloque de medición del hematocrito basado en el desplazamiento de fase y el bloque del microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase usando una señal de una primera frecuencia y una segunda señal de una segunda frecuencia.

20 3. El medidor de prueba manual del aspecto F2 en donde la muestra de fluido corporal es una muestra de sangre entera y en donde la primera frecuencia está en el rango de 10 kHz a 25 kHz y la segunda frecuencia en el rango de 250 kHz a 500 kHz.

4. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de flanco ascendente.

25 5. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de doble borde.

6. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase XOR.

7. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de modulación síncrona.

30 8. El medidor de prueba portátil del aspecto F1 que incluye además un subbloque de carga de calibración configurado en paralelo con el subbloque de la interfaz de célula de muestra de la tira reactiva analítica.

9. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque de generación de señal está configurado para generar al menos una primera señal eléctrica de una primera frecuencia y una segunda señal eléctrica de una segunda frecuencia.

35 10. El medidor de prueba portátil del aspecto F1 en el que el bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil forzando una señal de frecuencia conocida a través de la muestra de fluido corporal y midiendo el desplazamiento de fase de la señal.

40 11. El medidor de prueba manual del aspecto F9 donde la primera frecuencia está en el rango de 10kHz a 25kHz y la segunda frecuencia está en el rango de 250kHz a 500kHz, y en donde el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque del microcontrolador están configurados de manera que la señal de la primera frecuencia se emplea como una señal de referencia durante la medición del desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal.

45 12. El medidor de prueba manual del aspecto F9 en el que el bloque de generación de señal está integrado con el bloque de microcontrolador.

13. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el bloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica está configurado para interactuar operativamente con la célula de muestra de la tira de prueba analítica a través de un primer electrodo y como segundo electrodo de la tira de prueba analítica dispuesta en la célula de muestra.

50 14. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que la tira de prueba analítica es una tira de prueba analítica basada en electroquímica configurada para la determinación de glucosa en una muestra de sangre completa.

15. El medidor de prueba manual del aspecto F1 en el que el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase Quadratur DEMUX.

55 16. Un método para emplear un medidor de prueba manual y una tira de prueba analítica, comprendiendo el método:

introducir una muestra de sangre completa en una célula de muestra de una tira de prueba analítica;  
 medir un desplazamiento de fase de la muestra de fluido corporal en la célula de muestra usando un bloque de medición basado en el cambio de fase y un bloque de microcontrolador de un medidor de prueba portátil; y  
 60 calcular el hematocrito de la muestra de sangre entera en función del desplazamiento de fase medido utilizando el bloque del microcontrolador.

17. El método del aspecto F16 que además incluye:  
 determinar un analito en la muestra de fluido corporal introducida usando la tira de prueba analítica, el medidor de prueba portátil y el hematocrito computado.

65 18. El método del aspecto F17 en el que la tira de prueba analítica es una tira de prueba analítica basada en

electroquímica y el analito es glucosa

19. El método del aspecto F16 en el que la etapa de medición incluye medir el desplazamiento de fase con un bloque de circuito de medición basado en el desplazamiento de fase que incluye:

- 5 un subbloque de generación de señal;  
 un sub-bloque de filtro de paso bajo;  
 un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica;  
 un subbloque de amplificador de transimpedancia; y  
 un sub-bloque de detector de fase.

- 10 20. El método del aspecto F19 en el que el subbloque detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de flanco ascendente.  
 21. El método del aspecto F19 en el que el subbloque detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de doble flanco.  
 15 22. El método del aspecto F19 en el que el subbloque detector de fase está configurado como un detector de fase XOR.  
 23. El método del aspecto F19 en el que el subbloque detector de fase está configurado como un detector de fase de modulación síncrona.  
 20 24. El método del aspecto F19 en el que el subbloque detector de fase está configurado como un detector de fase Quadratur DEMUX.  
 25 25. El método del aspecto F16 en el que el bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase usando una señal de una primera frecuencia y una segunda señal de una segunda frecuencia.  
 26. El método del aspecto F25 en el que la muestra de fluido corporal es una muestra de sangre entera y en el que la primera frecuencia está en el intervalo de 10 kHz a 25 kHz y la segunda frecuencia está en el intervalo de 250 kHz a 500 kHz.

## APÉNDICE

- 30 **[0124]** El siguiente apéndice, que fue presentado originalmente en la solicitud de patente de Estados Unidos N° de Serie 13/250.525 (N° de expediente DDI5209USNP) y PCT/GB2012/052421 (N° de expediente DDI5209WOPCT), junto con aspectos "F" por encima y como parte de cada una de las Solicitudes de Patente Provisional de Estados Unidos presentadas anteriormente N°s de Serie 61/581.087 (N° de expediente DDI5220USPSP); 61/581,089 (N° de expediente DDI5220USPSP1); 61/581,099 (N° de expediente DDI5220USPSP2); y 61/581,100 (N° de expediente DDI5221USPSP), y 61/654.013 (N° de expediente DDI5228USPSP), forma parte de la presente divulgación:  
 35 La descripción a continuación se refiere, en general, a dispositivos médicos y, en particular, a medidores de prueba y métodos relacionados.

- 40 **[0125]** La determinación (por ejemplo, medición de detección y/o concentración) de un analito en una muestra de fluido es de particular interés en el campo médico. Por ejemplo, puede ser deseable determinar concentraciones de glucosa, cuerpos cetónicos, colesterol, lipoproteínas, triglicéridos, paracetamol y/o HbA1c en una muestra de un fluido corporal tal como orina, sangre, plasma o fluido intersticial. Dichas determinaciones se pueden lograr usando un medidor de prueba manual en combinación con tiras reactivas analíticas (por ejemplo, tiras analíticas basadas en análisis electroquímicos).

- 45 **[0126]** Las características de la divulgación se exponen con particularidad en aspectos F. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente divulgación se obtendrá por referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que los principios de la descripción se utilizan, y los dibujos adjuntos, en los cuales los mismos números indican elementos similares, de los cuales:

- 50 FIG. 9 es una representación simplificada de un medidor de prueba portátil de acuerdo con una realización de la presente descripción;  
 FIG. 10 es un diagrama de bloques simplificado de varios bloques del medidor de prueba portátil de la FIG. 9;  
 FIG. 11 es un diagrama de bloques simplificado de un bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase que se puede emplear en realizaciones de acuerdo con la presente descripción;  
 55 FIG. 12 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de filtro de paso bajo dual que se puede emplear en realizaciones de la presente descripción;  
 FIG. 13 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de amplificador de transimpedancia (TIA) como se puede emplear en realizaciones de la presente descripción;  
 60 FIG. 14 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado que representa un subbloque de filtro de paso bajo dual, un subbloque de carga de calibración, un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica, un subbloque de amplificador de transimpedancia, un subbloque de medición de desplazamiento de fase XOR y un subbloque de medición de desplazamiento de fase Quadratur DEMUX como se puede emplear en un bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase de realizaciones de la presente descripción; y  
 65 FIG. 15 es un diagrama de flujo que representa las etapas en un método para emplear un medidor de prueba

manual de acuerdo con una realización de la presente descripción.

5 **[0127]** La siguiente descripción detallada debe leerse con referencia a los dibujos, en los que los elementos similares en diferentes dibujos están numerados de forma idéntica. Los dibujos, que no están necesariamente a escala, representan ejemplos de realizaciones con el único fin de explicar y no pretenden limitar el alcance de la divulgación. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, no a modo de limitación, los principios de la divulgación. Esta descripción permitirá claramente a un experto en la materia hacer y usar la divulgación, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la divulgación, que incluye lo que actualmente se cree que es el mejor modo de llevar a cabo la divulgación.

10 **[0128]** Tal como se usa en el presente documento, los términos "aproximadamente" o "alrededor de" para cualquier valor numérico o rango indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que la parte o colección de componentes funcione para su fin previsto como se describe aquí.

15 **[0129]** En general, los metros de mano de prueba para su uso con una tira de ensayo analítico para la determinación de un analito (tal como glucosa) en una muestra de fluido corporal (es decir, una muestra de sangre entera) de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación incluyen una carcasa, un bloque de microcontroladores dispuesto en la carcasa y un bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase (también denominado circuito de hematocrito basado en el desplazamiento de fase). En tales medidores de prueba portátiles, el bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase incluye un subbloque de generación de señal, un subbloque de filtro de paso bajo, un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica, un subbloque de amplificador de transimpedancia y un subbloque detector de fase. Además, el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque del microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil y el bloque de microcontrolador también configurado para calcular el hematocrito de la muestra de fluido corporal en función del cambio de fase medido.

20 **[0130]** Los medidores de prueba portátiles de acuerdo con las realizaciones de la presente divulgación son beneficiosos porque proporcionan una precisión mejorada en la determinación del analito (como la determinación de la glucosa) en muestras de sangre entera midiendo el hematocrito de la muestra de sangre total y luego empleando el hematocrito medido durante la determinación del analito.

25 **[0131]** Una vez que un experto en la técnica es informado de la presente descripción, reconocerá que un ejemplo de un medidor de prueba manual que puede ser modificado fácilmente como un medidor de prueba manual de acuerdo con la presente descripción es el medidor de glucosa OneTouch® Ultra® 2 comercialmente disponible de LifeScan Inc. (Milpitas, California). Ejemplos adicionales de medidores de prueba manuales que también pueden modificarse se encuentran en las Publicaciones de Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° 2007/0084734 (publicada el 19 de abril de 2007) y 2007/0087397 (publicada el 19 de abril de 2007) y en el número de publicación internacional WO2010/049669 (publicado el 6 de mayo de 2010).

30 **[0132]** La FIG. 9 es una representación simplificada de un medidor de prueba manual 100 de acuerdo con una realización de la presente descripción. FIG. 10 es un diagrama de bloques simplificado de varios bloques de medidor de prueba manual 100. La FIG. 11 es un diagrama de bloques combinados simplificado de un bloque de medición de hematocrito basado en el desplazamiento de fase del medidor de prueba manual 100. La FIG. 12 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de filtro de paso bajo dual del medidor de prueba manual 100. La FIG. 13 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de amplificador de transimpedancia del medidor de prueba manual 100. La FIG. 14 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado de partes de un bloque de medida de hematocrito basado en el desplazamiento de fase del medidor 100 de prueba de mano.

35 **[0133]** Con referencia a las FIGs. 9 a 14, el medidor de prueba portátil 100 incluye una pantalla 102, una pluralidad de botones de interfaz de usuario 104, un conector de puerto de tira 106, una interfaz USB 108 y una carcasa 110 (véase la Figura 9). Con referencia a la FIG. 10 en particular, el medidor de prueba portátil 100 también incluye un bloque de microcontrolador 112, un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114, un bloque de control de visualización 116, un bloque de memoria 118 y otros componentes electrónicos (no mostrados) para aplicar un voltaje de prueba a la tira de prueba analítica (etiquetada TS en la Figura 9), y también para medir una respuesta electroquímica (por ejemplo, una pluralidad de valores de corriente de prueba) y determinar un analito basado en la respuesta electroquímica. Para simplificar las descripciones actuales, las Figuras no representan todos esos circuitos electrónicos.

40 **[0134]** La pantalla 102 puede ser, por ejemplo, una pantalla de cristal líquido o una pantalla biestable configurada para mostrar una imagen de pantalla. Un ejemplo de una imagen de pantalla puede incluir una concentración de glucosa, una fecha y hora, un mensaje de error y una interfaz de usuario para instruir a un usuario final sobre cómo realizar una prueba.

45 **[0135]** El conector del puerto de banda 106 está configurado para interactuar operativamente con una tira de prueba analítica TS, tal como una tira de prueba analítica basada en electroquímica configurada para la determinación de

glucosa en una muestra de sangre completa. Por lo tanto, la tira de prueba analítica está configurada para inserción operativa en el conector de puerto de tira 106 y para interactuar operativamente con el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114 mediante, por ejemplo, contactos eléctricos adecuados.

5 **[0136]** La interfaz USB 108 puede ser cualquier interfaz adecuada conocida por un experto en la técnica. La interfaz USB 108 es esencialmente un componente pasivo que está configurado para poder y proporcionar una línea de datos al medidor de prueba manual 100.

10 **[0137]** Una vez que una tira de ensayo analítica se interconecta con medidor portátil de prueba 100, o antes del mismo, una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre completa) se introduce en una cámara de muestra de la tira de prueba analítica. La tira de prueba analítica puede incluir reactivos enzimáticos que transforman selectiva y cuantitativamente un analito en otra forma química predeterminada. Por ejemplo, la tira de prueba analítica puede incluir un reactivo enzimático con ferricianuro y oxidasa de glucosa para que la glucosa pueda transformarse físicamente en una forma oxidada.

15 **[0138]** El bloque de memoria 118 del medidor de prueba manual 100 incluye un algoritmo adecuado y se puede configurar, junto con el bloque de microcontrolador 112 para determinar un analito basado en la respuesta electroquímica de la tira de prueba analítica y el hematocrito de la muestra introducida. Por ejemplo, en la determinación de la glucosa en sangre del analito, el hematocrito puede usarse para compensar el efecto del hematocrito sobre las concentraciones de glucosa en sangre determinadas electroquímicamente.

20 **[0139]** El bloque de microcontrolador 112 está dispuesto dentro de la carcasa 110 y puede incluir cualquier microcontrolador y/o microprocesador adecuado conocido por los expertos en la técnica. Uno de tales microcontroladores adecuados es un microcontrolador comercialmente disponible de Texas Instruments, Dallas, TX EE.UU. y número de parte MSP430F5138. Este microcontrolador puede generar una onda cuadrada de 25 a 250 kHz y una onda de 90 grados con cambio de fase de la misma frecuencia y, por lo tanto, funcionar como un bloque de generación de señal descrito más adelante. El MSP430F5138 también tiene capacidades de procesamiento analógico a digital (A/D) adecuadas para medir voltajes generados por bloques de medición de hematocrito basados en desplazamiento de fase empleados en realizaciones de la presente descripción.

25 **[0140]** Haciendo referencia en particular a la FIG. 11, el bloque 114 de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase incluye un subbloque 120 de generación de señal, un subbloque 122 de filtro de paso bajo, un subbloque 124 de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica, un bloque 126 de carga de calibración opcional (dentro de las líneas discontinuas de la Figura 11), un subbloque amplificador de transimpedancia 128, y un subbloque detector de fase 130.

30 **[0141]** Como se describe adicionalmente más adelante, el bloque de medición del hematocrito basado en desplazamiento de fase 114 y el bloque microcontrolador 112 están configurados para medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira reactiva analítica insertada en el medidor de prueba manual mediante, por ejemplo, la medición del desplazamiento de fase de una o más señales eléctricas de alta frecuencia impulsadas a través de la muestra de fluido corporal. Además, el bloque 112 de microcontrolador está configurado para calcular el hematocrito del fluido corporal en base al desplazamiento de fase medido. El microcontrolador 112 puede calcular el hematocrito, por ejemplo, empleando un convertidor A/D para medir los voltajes recibidos de un subbloque detector de fase, convertir los voltajes en un desplazamiento de fase y luego emplear un algoritmo adecuado o tabla de consulta para convertir el desplazamiento de fase en un valor de hematocrito. Una vez informado de la presente descripción, un experto en la materia reconocerá que dicho algoritmo y/o tabla de consulta se configurarán para tener en cuenta diversos factores tales como la geometría de la tira (incluyendo el área del electrodo y el volumen de la cámara de muestra) y la frecuencia de la señal..

35 **[0142]** Se ha determinado que existe una relación entre la reactancia de una muestra de sangre entera y el hematocrito de la muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (es decir, una muestra de sangre entera) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando se fuerza una señal de corriente alterna (CA) a través de la muestra de fluido corporal, el cambio de fase de la señal de CA dependerá tanto de la frecuencia de la tensión alterna como del hematocrito de la muestra. Además, el modelado indica que el hematocrito tiene un efecto relativamente menor en el desplazamiento de fase cuando la frecuencia de la señal está en el rango de aproximadamente 10 kHz a 25 kHz y un efecto máximo en el desplazamiento de fase cuando la frecuencia de la señal está en el rango de aproximadamente 250 kHz a 500 KHz. Por lo tanto, el hematocrito de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, impulsando señales de CA de frecuencia conocida a través de la muestra de fluido corporal y detectando su desplazamiento de fase. Por ejemplo, el desplazamiento de fase de una señal con una frecuencia en el rango de 10 kHz a 25 kHz se puede utilizar como lectura de referencia en dicha medición de hematocrito mientras que el desplazamiento de fase de una señal con una frecuencia en el rango de 250 kHz a 500 kHz se puede usar como la medida primaria.

40 **[0143]** Con referencia a las FIGs. 11 a 14 en particular, el subbloque 120 de generación de señal puede ser cualquier bloque de generación de señal adecuado y está configurado para generar una onda cuadrada (0V a Vref) de una frecuencia deseada. Tal generación de señales de sub-bloque puede, si se desea, integrarse en bloque de

microcontrolador 112.

5 **[0144]** La señal generada por la generación de señal de sub-bloque 120 se comunica a doble filtro de paso bajo de sub-bloque 122, que está configurado para convertir la señal de onda cuadrada a una señal de onda sinusoidal de una frecuencia predeterminada. El LPF dual de la FIG. 12 está configurado para proporcionar una señal de una primera frecuencia (como una frecuencia en el rango de 10 kHz a 25 kHz) y una señal de una segunda frecuencia (como una frecuencia en el rango de 250 kHz a 500 kHz) al subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica y una cámara de muestra de tiras de prueba analítica (también denominada célula de medición de HCT). La selección de la primera y la segunda frecuencia se lleva a cabo usando el interruptor IC7 de la FIG. 12. El LPF dual de la FIG. 12 incluye dos amplificadores operacionales adecuados (IC4 e IC5) como el amplificador operacional disponible de Texas Instruments, Dallas, Texas, EE.UU. Como amplificador operacional de alta velocidad, retroalimentación de voltaje, número de parte del amplificador operacional CMOS OPA354.

15 **[0145]** Con referencia a la FIG. 12, F-DRV representa una entrada de onda cuadrada de baja o alta frecuencia (por ejemplo, 25 kHz o 250 kHz) y está conectada tanto a IC4 como a IC5. La señal Fi-ALTA/BAJA (del microcontrolador) selecciona la salida del subbloque doble del filtro de paso bajo 122 a través del interruptor IC7. C5 en la FIG. 12 está configurado para bloquear la tensión de funcionamiento del subbloque doble de filtro de paso bajo 122 de la célula de medición HCT.

20 **[0146]** Aunque se representa un LPF doble específico en la FIG. 12, el subbloque de filtro de paso bajo dual 122 puede ser cualquier subbloque de filtro de paso bajo adecuado conocido por un experto en la técnica que incluye, por ejemplo, cualquier filtro de paso bajo de realimentación múltiple adecuado o un filtro de paso bajo de Sallen y Key.

25 **[0147]** La onda sinusoidal producida por el sub-bloque de filtro de paso bajo 122 se comunica al sub-bloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica 124 donde es conducido a través de la célula de muestra de la tira de ensayo analítica (también denominada como una célula de medición HCT). El bloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica 124 puede ser cualquier bloque de interfaz de célula de muestra adecuado que incluye, por ejemplo, un bloque de interfaz configurado para interactuar operativamente con la célula de muestra de la tira de prueba analítica a través del primer electrodo y los segundos electrodos de la tira de prueba analítica dispuesta en la célula de muestra. En tal configuración, la señal puede ser conducida a la célula de muestra (desde el subbloque del filtro de paso bajo) a través del primer electrodo y recogida desde la célula de muestra (por el subbloque del amplificador de transimpedancia) a través del segundo electrodo como representado en la FIG. 14.

35 **[0148]** La corriente producida conduciendo la señal a través de la célula de muestra es captada por el subbloque 128 del amplificador de transimpedancia y convertida en una señal de voltaje para la comunicación al subbloque 130 del detector de fase.

40 **[0149]** El subbloque de transimpedancia 128 puede ser cualquier subbloque de transimpedancia adecuado conocido por un experto en la técnica. FIG. 13 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado de uno de dichos subbloques de amplificador de transimpedancia (basado en dos amplificadores operacionales OPA354, IC3 e IC9). La primera etapa del subbloque TIA 128 funciona a, por ejemplo, 400 mV, lo que limita la amplitud de CA a +/-400 mV. La segunda etapa del subbloque TIA 128 funciona en  $V_{ref}/2$ , una configuración que permite la generación de una salida del tramo completo de las entradas A/D del microcontrolador. C9 del subbloque TIA 128 sirve como un componente de bloqueo que solo permite que pase una señal de onda sinusoidal de CA.

50 **[0150]** El sub-bloque de detector de fase 130 puede ser cualquier detector de sub-bloque de fase adecuado que produce o bien una frecuencia digital que puede ser leído de nuevo por el bloque microcontrolador 112 usando una función de captura, o un voltaje analógico que se puede leer de nuevo por el bloque microcontrolador 112 usando un convertidor de analógico a digital. FIG. 14 representa un esquema que incluye dos de tales subbloques de detector de fase, concretamente un detector de fase XOR (en la mitad superior de la Figura 14 y que incluye IC22 e IC23) y un detector de fase Quadrature DEMUX (en la mitad inferior de la Figura 14 y incluyendo IC12 e IC13).

55 **[0151]** FIG. 14 también representa un sub-bloque 126 de carga de calibración que incluye un conmutador (IC16) y una carga ficticia R7 y C6. El subbloque 126 de carga de calibración está configurado para la medición dinámica de un desplazamiento de fase para el desplazamiento de fase conocido de cero grados producido por la resistencia R7, proporcionando así un desplazamiento de fase para uso en la calibración. C6 está configurado para forzar un ligero desplazamiento de fase predeterminado, por ejemplo, para compensar los retardos de fase causados por las capacidades parásitas en los rastros de señal a la célula de muestra, o para los retardos de fase en los circuitos eléctricos (LPF y TIA).

65 **[0152]** El circuito detector de fase Quadrature DEMUX de la FIG. 14 incluye dos partes, una parte para una parte resistiva de la señal de CA entrante y una parte para la parte reactiva de la señal de CA entrante. El uso de estas dos partes permite la medición simultánea de la parte resistiva y reactiva de la señal de CA y un rango de medición que cubre de 0 grados a 360 grados. El circuito DEMUX en cuadratura de la FIG. 14 genera dos voltajes de salida separados. Uno de estos voltajes de salida representa la "medición en fase" y es proporcional a la parte "resistiva"

de la señal de CA, el otro voltaje de salida representa la "Medida en cuadratura" y es proporcional a la "parte reactiva de la señal. El desplazamiento de fase se calcula como:

$$\phi = \tan^{-1}(V_{\text{QUAD-FASE}} / V_{\text{IN-FASE}})$$

5 **[0153]** Tal circuito detector de fase Quadrature DEMUX también se puede emplear para medir la impedancia de una muestra de fluido corporal en la célula de muestra. Se hipotetiza, sin estar ligado, que la impedancia podría emplearse junto con el desplazamiento de fase, o independientemente de eso, para determinar el hematocrito de la muestra corporal. La amplitud de una señal forzada a través de la célula de muestra se puede calcular utilizando las dos salidas de voltaje del circuito Quadrature DEMUX de la siguiente manera:

$$\text{Amplitud} = \text{SQR} ((V_{\text{QUAD-FASE}})^2 + / V_{\text{IN-FASE}})^2)$$

15 **[0154]** Esta amplitud puede entonces compararse con una amplitud medida para la resistencia conocida del bloque de carga de calibración 126 para determinar la impedancia.

20 **[0155]** La porción del detector de fase XOR tiene un rango de medición de 0° a 180° o, alternativamente, un rango de medición de -90° a +90°, dependiendo de si la "entrada de onda cuadrada de  $\mu\text{C}$ " está en fase a la onda de seno o se establece en un cambio de fase de 90°. El detector de fase XOR produce una frecuencia de salida que siempre es el doble de la frecuencia de entrada, sin embargo, el ciclo de trabajo varía. Si ambas entradas están perfectamente en fase, la salida es BAJA, si ambas entradas están desplazadas a 180°, la salida siempre es ALTA. Al integrar la señal de salida (por ejemplo, a través de un elemento RC simple) se puede generar una tensión que es directamente proporcional al desplazamiento de fase entre ambas entradas.

25 **[0156]** Una vez informado de la presente descripción, un experto en la técnica reconocerá que sub-bloques de detector de fase empleados en realizaciones de la presente divulgación pueden adoptar cualquier forma adecuada e incluyen, por ejemplo, las formas que emplean el aumento de las técnicas de captura de borde, técnicas de captura de bordes duales, técnicas XOR y técnicas de demodulación síncrona.

30 **[0157]** Ya que el filtro de sub-bloque de paso bajo 122, el sub-bloque de amplificador de transimpedancia 128 y el detector de fase de sub-bloque 130 puede introducir un desplazamiento de fase residual en el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114, el bloque de carga de calibración 126 puede incluirse opcionalmente en el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase. El bloque de carga de calibración 126 está configurado para ser esencialmente de naturaleza resistiva (por ejemplo, una carga de 33k-ohmios) y, por lo tanto, no induce ningún desplazamiento de fase entre el voltaje de excitación y la corriente generada. El bloque de carga de calibración 126 está configurado para conectarse a través del circuito para dar una lectura de calibración "cero". Una vez calibrado, el medidor de prueba portátil puede medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal, restar la lectura "cero" para calcular un cambio de fase corregido y posteriormente calcular el hematocrito de la muestra corporal en función del cambio de fase corregido.

40 **[0158]** La FIG. 15 es un diagrama de flujo que representa etapas en un método 200 para emplear un medidor de prueba manual y una tira de prueba analítica (por ejemplo, una tira de prueba analítica basada en electroquímica). El método 200, en la etapa 210, incluye la introducción de una muestra de sangre completa en una célula de muestra de la tira de prueba analítica.

45 **[0159]** En el paso 220, un desplazamiento de fase de la muestra de sangre en la célula de muestra se mide usando un bloque de medición basado en cambio de fase y un bloque de microcontrolador de un medidor de prueba manual. El método 200 incluye además el cálculo del hematocrito de la muestra de sangre entera en base al desplazamiento de fase medido usando el bloque del microcontrolador (véase el paso 230 de la Figura 15).

50 **[0160]** Una vez informado de la presente descripción, un experto en la técnica reconocerá que los métodos de acuerdo con realizaciones de la presente descripción, incluyendo el método 200, se pueden modificar fácilmente para incorporar cualquiera de las técnicas, beneficios y características de medidores de prueba manuales según las realizaciones de la presente descripción y descritos en este documento. Por ejemplo, si se desea, un analito en la muestra de fluido corporal introducido usando la tira de prueba analítica, el medidor de prueba portátil y el hematocrito computado.

60

65

**Reivindicaciones**

1. Un método para determinar una concentración de analito a partir de una muestra fisiológica con un biosensor que tiene al menos dos electrodos y un reactivo dispuesto en al menos un electrodo de los electrodos, comprendiendo el método:

- (a) depositar una muestra fisiológica en cualquiera de los al menos dos electrodos para iniciar una secuencia de prueba de analito;
- (b) aplicar una primera señal a la muestra para derivar una característica física de la muestra;
- (c) dirigir una segunda señal a la muestra para una primera duración de tiempo de muestreo que se solapa con la secuencia de prueba para obtener una primera salida de señal transitoria de la muestra, la primera señal transitoria correlacionada con tiempo y magnitud durante la primera duración de tiempo de muestreo;
- (d) extraer un tiempo de muestreo específico durante la secuencia de prueba en la primera duración del tiempo de muestreo en función de la característica física de la muestra;
- (e) obtener de la primera señal transitoria una segunda señal transitoria en una segunda duración de tiempo de muestreo,  $T_1$ - $T_2$ , que incluye el tiempo de muestreo específico y en donde  $T_1$  se determina tomando una diferencia de tiempo de muestreo específica y un tiempo predeterminado de 4,2 segundos y  $T_2$  se establece para que sea igual al tiempo de muestreo específico;
- (f) derivar magnitudes respectivas de la segunda señal transitoria a intervalos de tiempo seleccionados en la segunda duración del tiempo de muestreo; y
- (g) determinar una concentración de analito basada en las magnitudes respectivas de la segunda señal transitoria en los intervalos de tiempo seleccionados,

y que comprende adicionalmente

- (h) definir la segunda duración del tiempo de muestreo en función del tiempo de muestreo específico de manera que la segunda duración del tiempo de muestreo se superponga con la duración del primer tiempo de muestreo; y
- (i) dividir la segunda señal transitoria en intervalos de tiempo discretos con respecto a la segunda duración del tiempo de muestreo, y en la que se hace referencia a la segunda señal transitoria con respecto a la segunda duración del tiempo de muestreo, en donde la división comprende dividir la segunda señal transitoria en 22 intervalos iguales en secuencia a partir de un intervalo en el  $T_1$  al intervalo veintidós en  $T_2$ , en el que la etapa de extraer el tiempo de muestreo específico comprende calcular un tiempo de muestreo específico definido en la primera duración de tiempo de muestreo basada en la característica física de la muestra, en donde el paso de cálculo para el tiempo de muestreo específico definido comprende la utilización de una ecuación de la forma:

$$\text{Tiempo de muestreo específico} = x_1 H^{x_2} + x_3$$

dónde

"Tiempo de muestreo específico" se designa como un punto de tiempo (en segundos) desde el inicio de la secuencia de prueba en el que muestrear la señal de salida del biosensor,  $H$  representa la característica física de la muestra;  
 $x_1$  es 4.3e5 (s);  
 $x_2$  es -3,9; y  
 $x_3$  es 4,8 (s),

en el que la característica física comprende hematocrito y el analito es glucosa, y en el que la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:

$$G = \frac{\left(\frac{|I_3|}{|I_4|}\right)^{x_1} \times \left(\frac{|I_2| + x_4 |I_5| - x_5 |I_1|}{|I_2| + x_4 |I_5|} |I_5|\right)^{-x_2}}{x_3}$$

dónde:

$G$  es representativo de la concentración de analito;  
 $I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 17;  
 $I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 13;  
 $I_3 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 5;  
 $I_4 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 3;

$I_5 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 22;  
 $x_1 \approx 0,75$ ;  
 $x_2 \approx 337,27$ ;  
 $x_3 \approx -16,81$ ;  
 $x_4 \approx 1,41$ ; y  
 $x_5 \approx 2,67$ ,

en donde las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_2$  se cita en nA, y  $x_3$  se cita en nA/(mg/dL),  
 o  
 en donde la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:

$$G = \frac{x_1 (|I_1|) \left( x_2 - \frac{x_3}{|I_2|} \right) - x_4}{x_5}$$

dónde:

$G$  es representativo de la concentración de analito;  
 $I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 11;  
 $I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 7;  
 $x_1 \approx 0,59$ ;  
 $x_2 \approx 2,51$ ;  
 $x_3 \approx -12,74$ ;  
 $x_4 \approx -188,31$ ; y  
 $x_5 \approx 9,2$ ,

en donde las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_4$  se cita en nA, y  $x_5$  se cita en nA/(mg/dL),  
 o  
 en donde la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:

$$G = \frac{x_1 \ln \left( x_2 \frac{|I_1|}{|I_2|} \right)^{x_3} |I_3|^{x_4} - x_5}{x_6}$$

dónde

$G$  es representativo de la concentración de analito;

$I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 20;  
 $I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 22;  
 $I_3 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 19;  
 $x_1 \approx 20,15$ ;  
 $x_2 \approx 1,0446$ ;  
 $x_3 \approx 0,95$ ;  
 $x_4 \approx 1,39$ ;  
 $x_5 \approx -0,71$ ; y  
 $x_6 \approx 0,11$ ,

en donde las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_5$  se cita en nA, y  $x_6$  se cita en nA/(mg/dL),  
 o  
 en donde la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:



$$G = \frac{x_3 \left| \frac{I_1}{I_2} \right|^{x_1 - x_2 \left| \frac{I_3}{I_4} \right|} \times |I_5| - x_5}{x_4}$$

dónde:

G es representativo de la concentración de analito;  
 $I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 5;  
 $I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 1;  
 $I_3 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 2;  
 $I_4 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 10;  
 $I_5 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 22;  $x_1 \approx 0,70$ ;  
 $x_2 \approx 0,49$ ;  
 $x_3 \approx 28,59$ ;  
 $x_4 \approx 0,7$ ; y  
 $x_5 \approx 15,51$ ,

en donde las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_5$  se cita en nA, y  $x_4$  se cita en nA/(mg/dL),

o en donde la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:

$$G = \frac{\left( \left| \frac{I_1}{I_2} \right|^{x_1} \times \frac{x_2 |I_3|^2 + x_3 |I_3| + x_4}{x_5 |I_4| + x_6} \right) - x_7}{x_8}$$

dónde:

G es representativo de la concentración de analito;  
 $I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 19;  
 $I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 16;  
 $I_3 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 11;  
 $I_4 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 5;  
 $x_1 \approx -1,68$ ;  
 $x_2 \approx 0,95$ ;  
 $x_3 \approx -4,97$ ;  
 $x_4 \approx 6,29$ ;  
 $x_5 \approx 3,08$ ;  
 $x_6 \approx -5,84$ ;  
 $x_7 \approx -0,47$ ; y  
 $x_8 \approx 0,01$ ,

en donde las magnitudes de la segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_7$  se cita en nA, y  $x_8$  se cita en nA/(mg/dL),

o en donde la determinación de la concentración de analito se obtiene utilizando una ecuación de la forma:

$$G = \frac{\left( \left| \frac{I_1}{I_2} \right|^{x_1} \times \frac{x_2 |I_3|^3 + x_3 |I_3|^2 + x_4 |I_3| + x_5}{x_6 |I_4|^2 + x_7 |I_4| + x_8} \right) - x_9}{x_{10}}$$

donde:

G es representativo de la concentración de analito;  
 $I_1 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 16;

$I_2 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 5;  
 $I_3 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 12;  
 $I_4 \approx$  magnitud de la segunda señal transitoria en el intervalo 14;  
 $x_1 \approx 1,18$ ;  
 $x_2 \approx 0,97$ ;  
 $x_3 \approx -11,32$ ;  
 $x_4 \approx 38,76$ ;  
 $x_5 \approx -39,32$ ;  
 $x_6 \approx 0,0928$ ;  
 $x_7 \approx -0,85$ ;  
 $x_8 \approx -1,75$ ;  
 $x_9 \approx -9,38$ ; y  
 $x_{10} \approx 0,25$ ,

5  
10  
15 en donde las magnitudes de segunda señal transitoria se citan en nA,  $x_9$  es citado en nA, y  $x_{10}$  es citado en nA/(mg/dL).

20 **2.** El método de la reivindicación 1, en el que la segunda duración del tiempo de muestreo incluye las magnitudes de la segunda señal transitoria medida antes del tiempo de muestreo específico.

25 **3.** El método según la reivindicación 1, en el que el paso de definir la segunda duración del tiempo de muestreo comprende obtener un valor absoluto de una diferencia entre el tiempo de muestreo específico definido y un punto de tiempo predeterminado para definir un tiempo de inicio (T1) y un tiempo de finalización (T2) aproximadamente igual al punto de tiempo de muestreo específico, y la duración del primer tiempo de muestreo comprende 10 segundos o menos desde el paso de depositar la muestra y, opcionalmente,  
 en el que el paso de obtener la segunda señal transitoria comprende extraer de la primera señal transitoria una porción de la primera señal transitoria que se designa como una segunda señal transitoria que está dentro de la segunda duración de tiempo de muestreo y, opcionalmente,  
 en donde la obtención de magnitudes respectivas de la segunda señal transitoria a intervalos de tiempo  
 30 seleccionados discretos comprende calcular una magnitud de la segunda señal transitoria durante cada intervalo de tiempo seleccionado.

35 **4.** El método de la reivindicación 1, en el que el paso de obtención comprende además definir una segunda duración del tiempo de muestreo que solapa la primera duración del tiempo de muestreo e incluye una porción de la primera señal transitoria y sus magnitudes con respecto al tiempo de la segunda duración del tiempo de muestreo, en donde la porción se designa como una segunda señal transitoria.

40 **5.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3-4, en el que la magnitud de la segunda señal transitoria en cada uno de la pluralidad de intervalos discretos comprende una magnitud promedio de magnitudes medidas en cada intervalo discreto.

45 **6.** El método de cualquier reivindicación precedente, en el que la aplicación de la primera señal comprende dirigir una señal alternativa a la muestra de modo que se determina una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna.

50 **7.** El método según la reivindicación 6, en el que la dirección comprende conducir señales alternas primera y segunda a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia comprende una frecuencia inferior a la segunda frecuencia y, opcionalmente,  
 en donde la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud inferior que la segunda frecuencia y/o, opcionalmente, en la que la primera frecuencia comprende cualquier frecuencia en el rango de 10 kHz a 250 kHz.

**8.** El método de la reivindicación 1, en el que la obtención comprende extraer de la primera señal transitoria una segunda señal transitoria referenciada con respecto a la segunda duración del tiempo de muestreo.

55 **9.** El método de la reivindicación 1, en el que la obtención comprende eliminar señales de las primeras señales transitorias que están fuera de la segunda duración del tiempo de muestreo para dejar la segunda señal transitoria dentro de la segunda duración del tiempo de muestreo.

60 **10.** Un medidor de analitos que incluye:  
 una carcasa;  
 un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodo de una tira de prueba; y medios configurados para realizar los pasos (b) a (i) del método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

65 **11.** Un sistema de medición de analitos que comprende:

una tira de prueba que incluye:

un sustrato;

5 una pluralidad de electrodos dispuestos sobre el sustrato y conectados a respectivos conectores de electrodo; y el medidor de analito de acuerdo con la reivindicación 10.

10

15

20

25

30

35

40

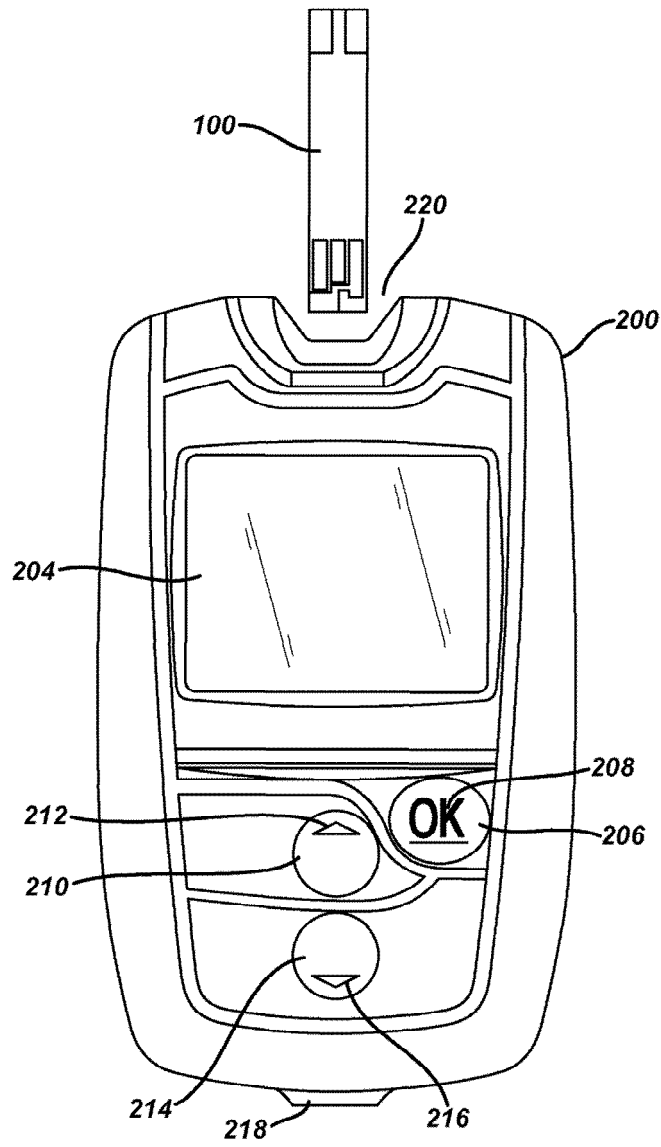
45

50

55

60

65



**FIG. 1**

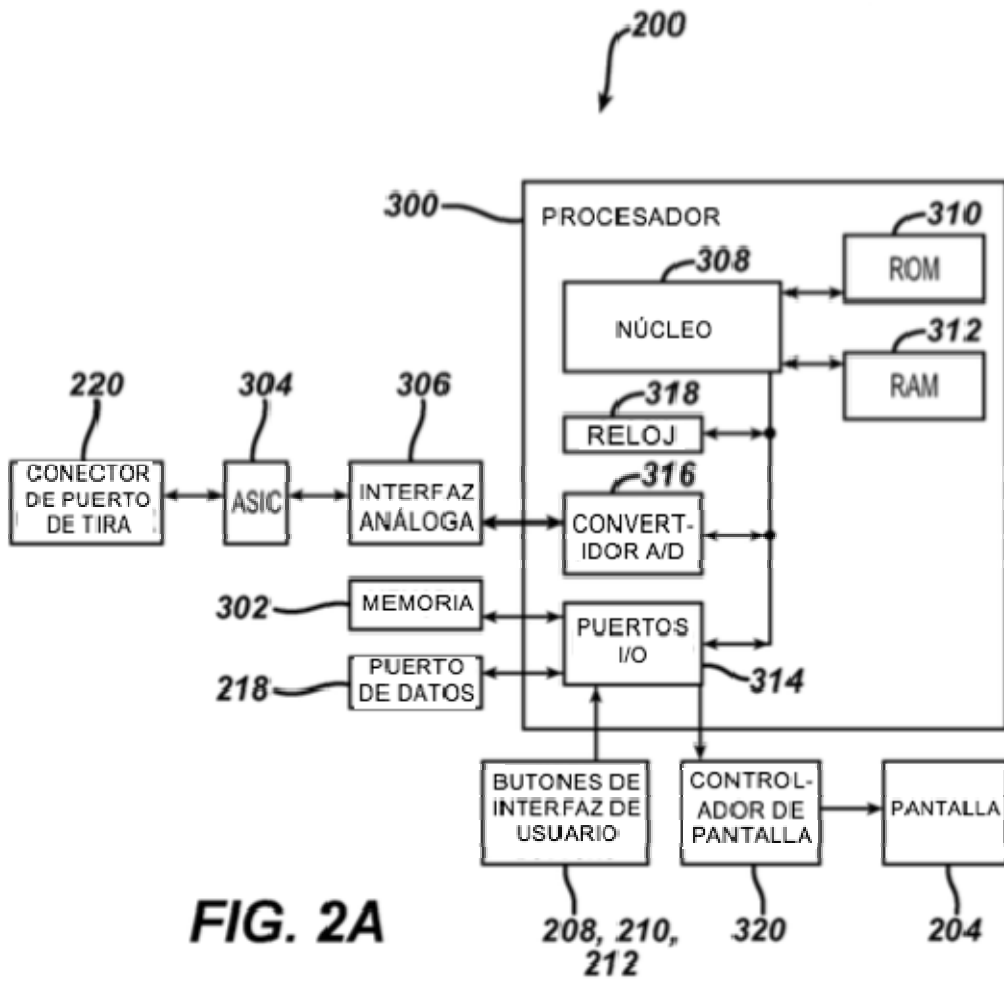


FIG. 2A

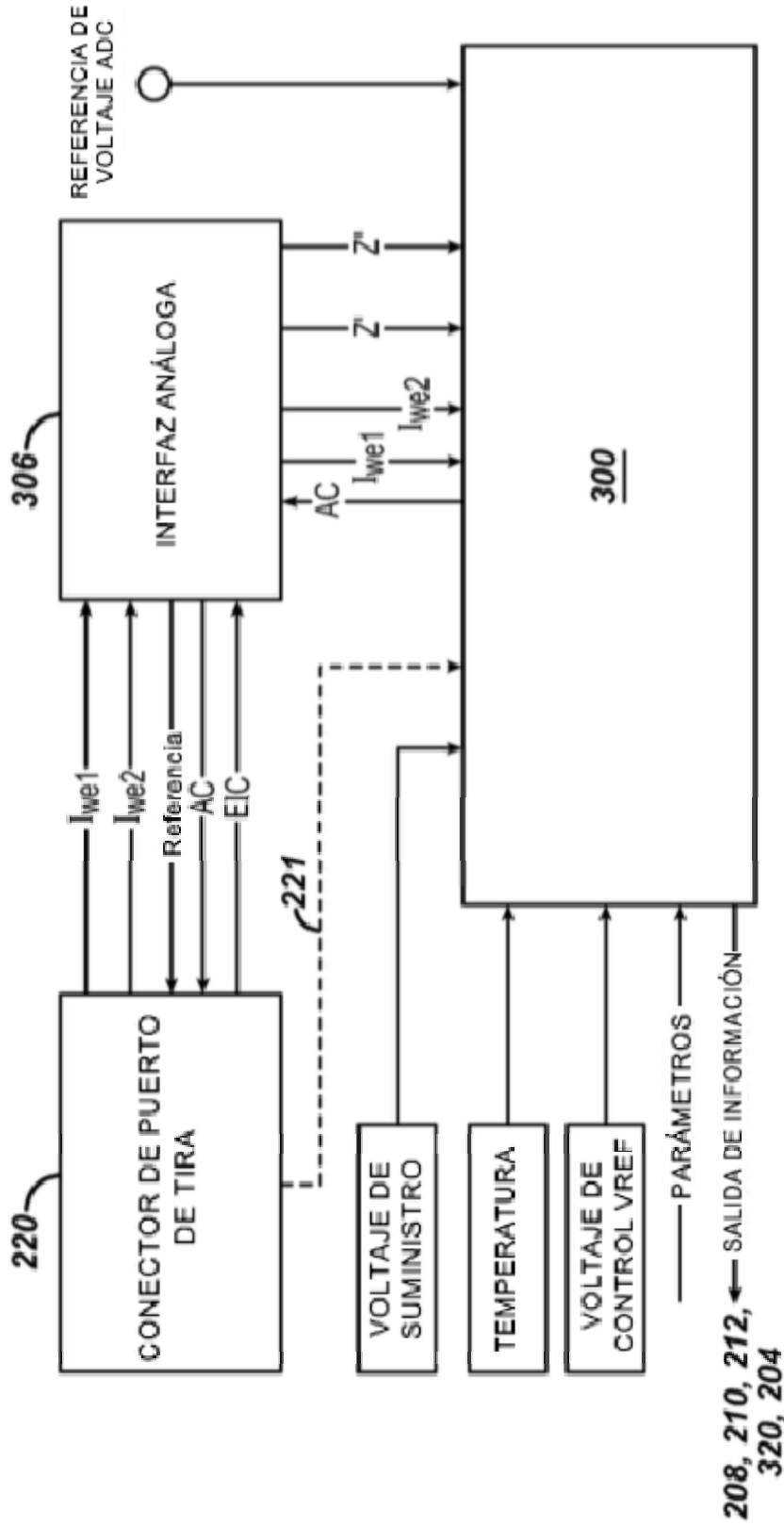
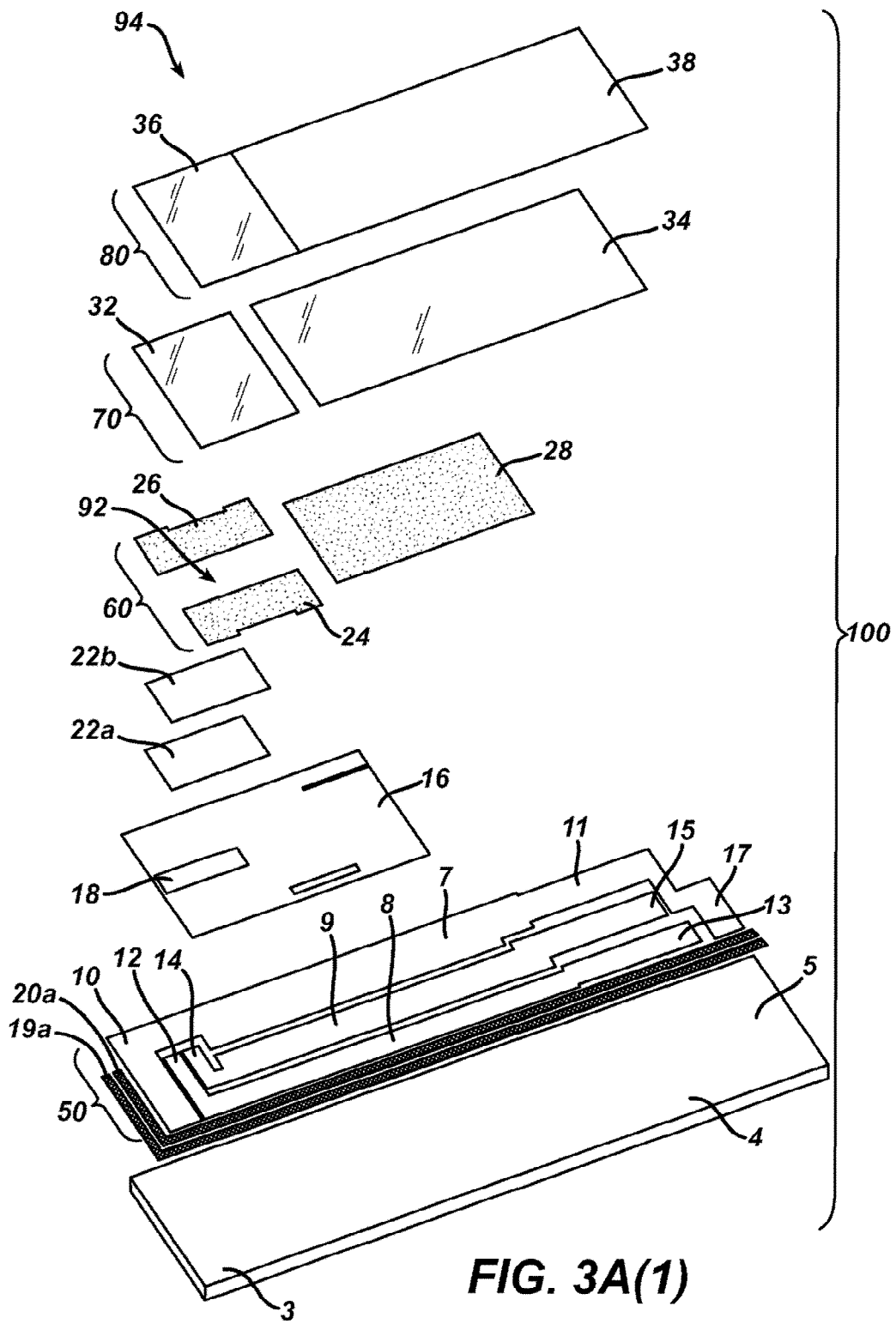
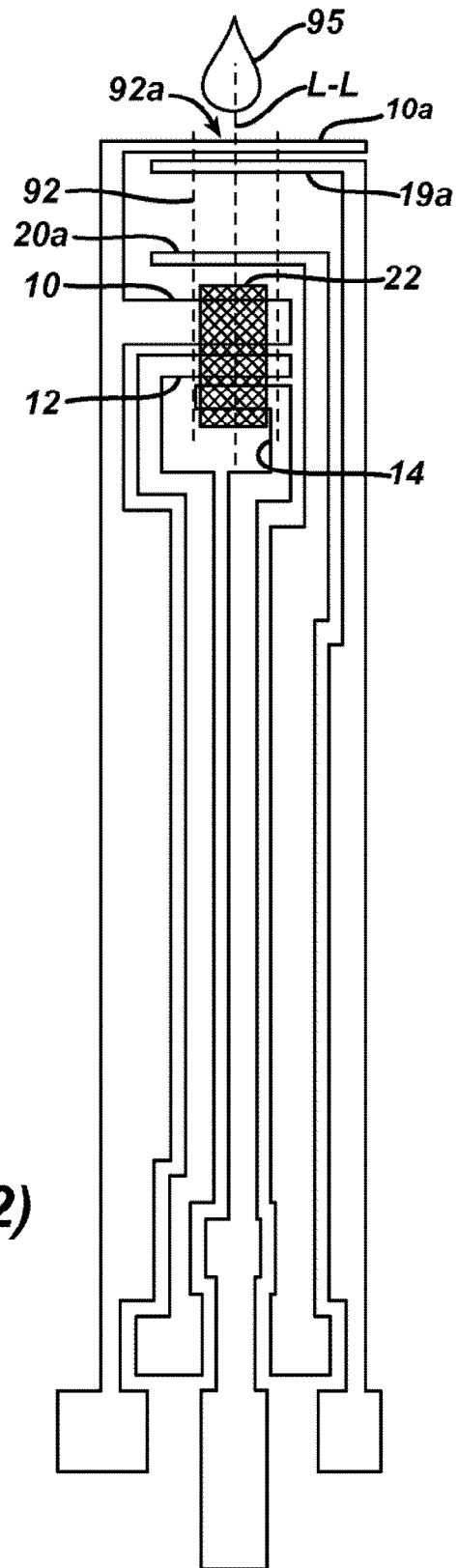


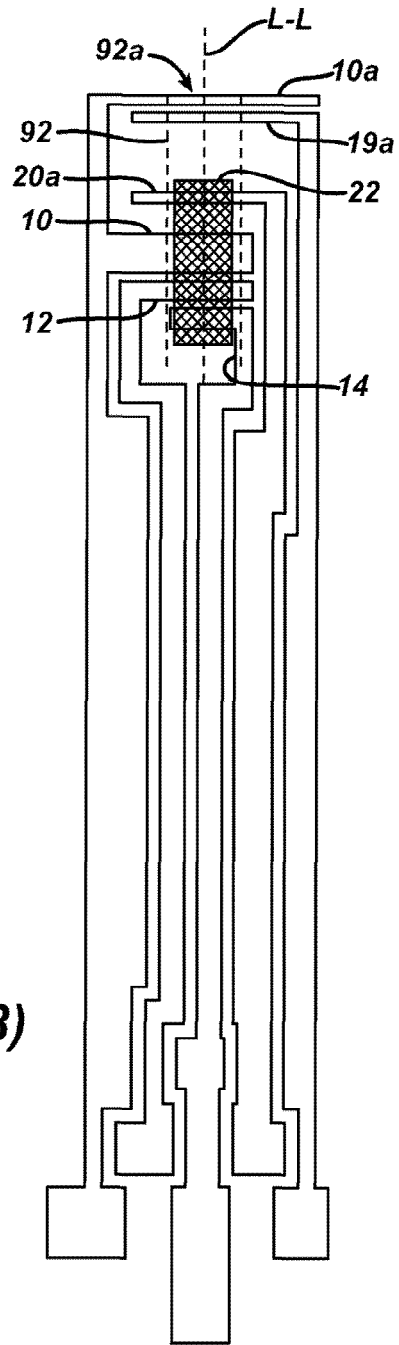
FIG. 2B



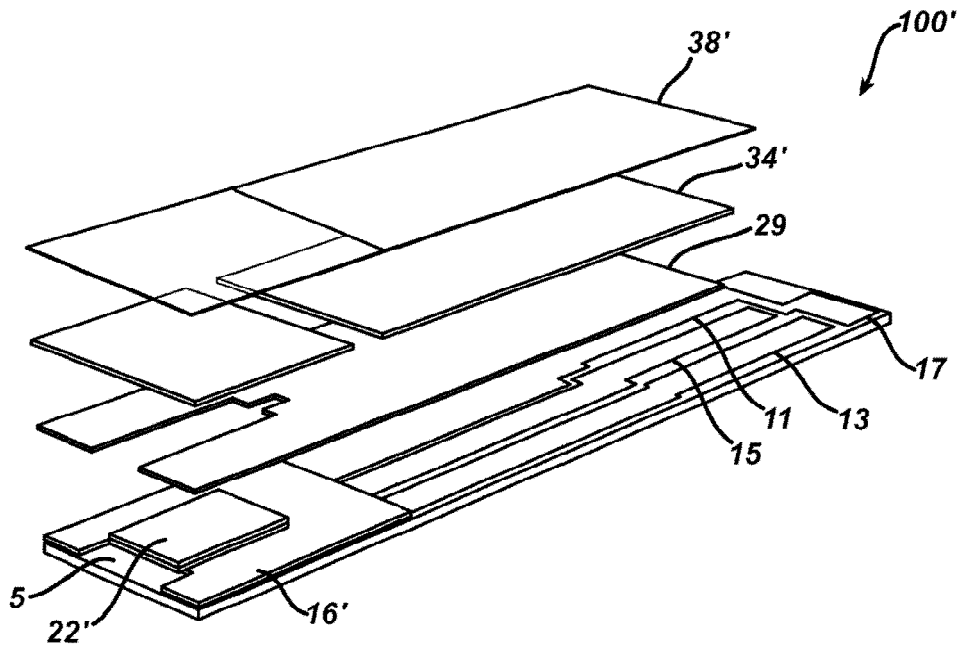


**FIG. 3A(2)**

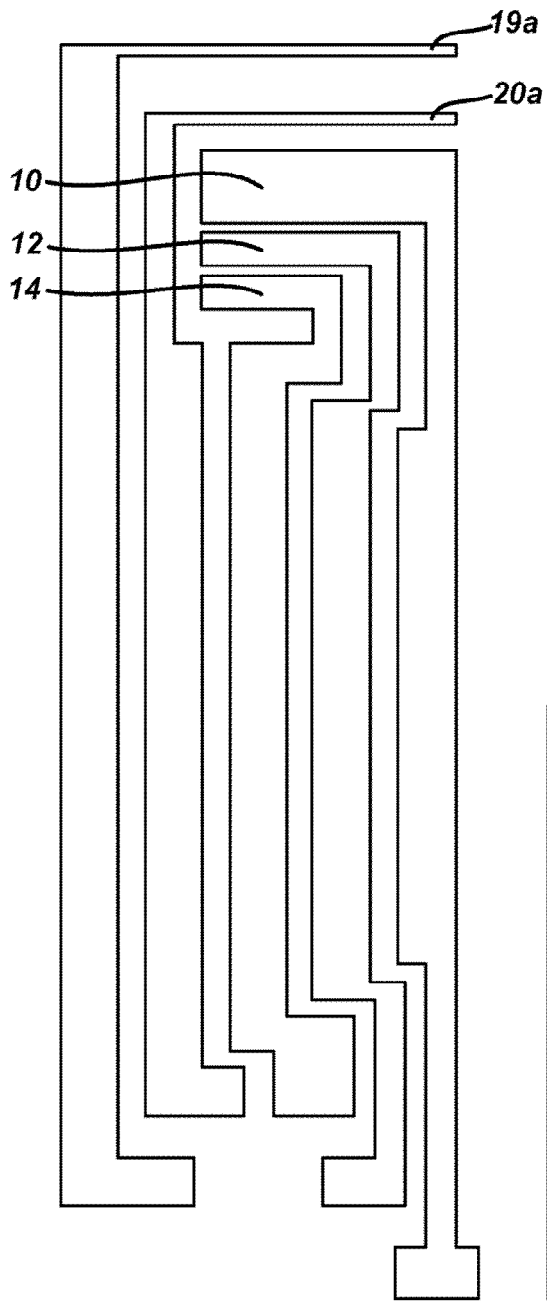




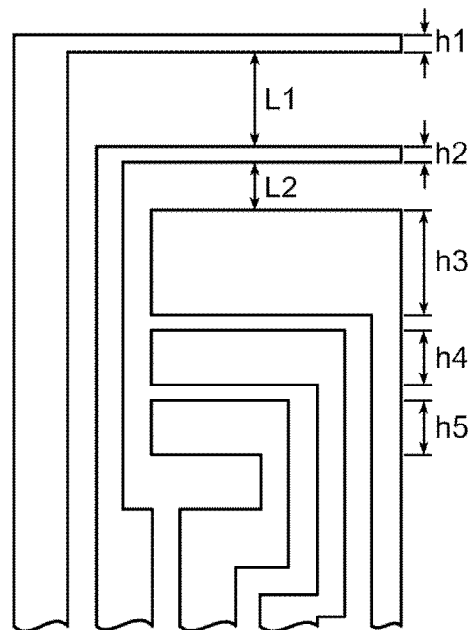
**FIG. 3A(3)**



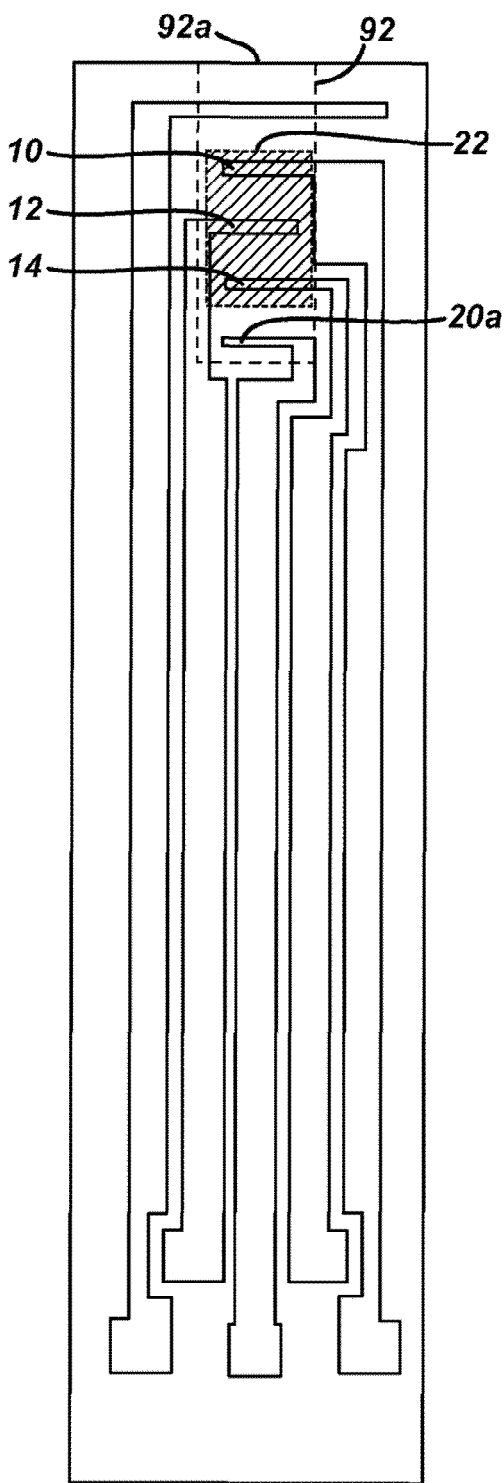
**FIG. 3A(4)**



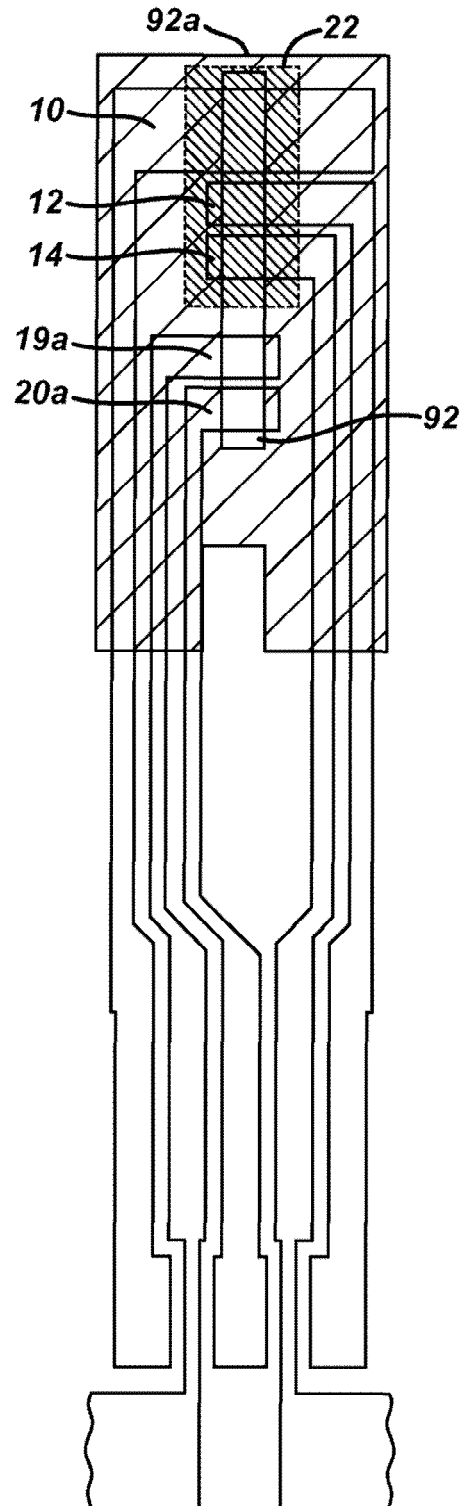
**FIG. 3A(5)**



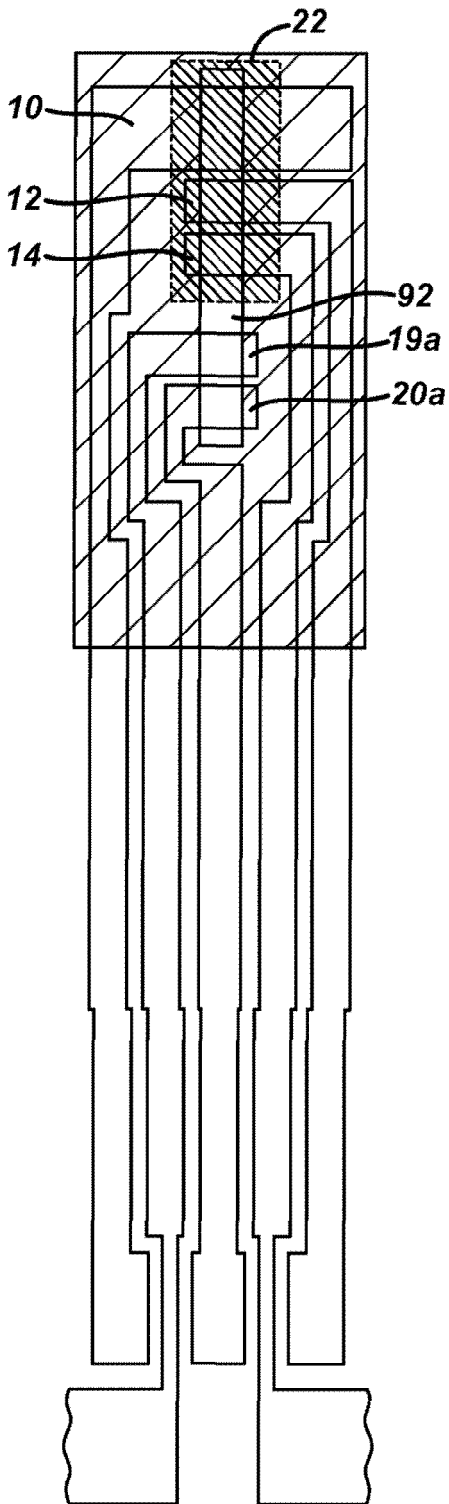
**FIG. 3A(6)**



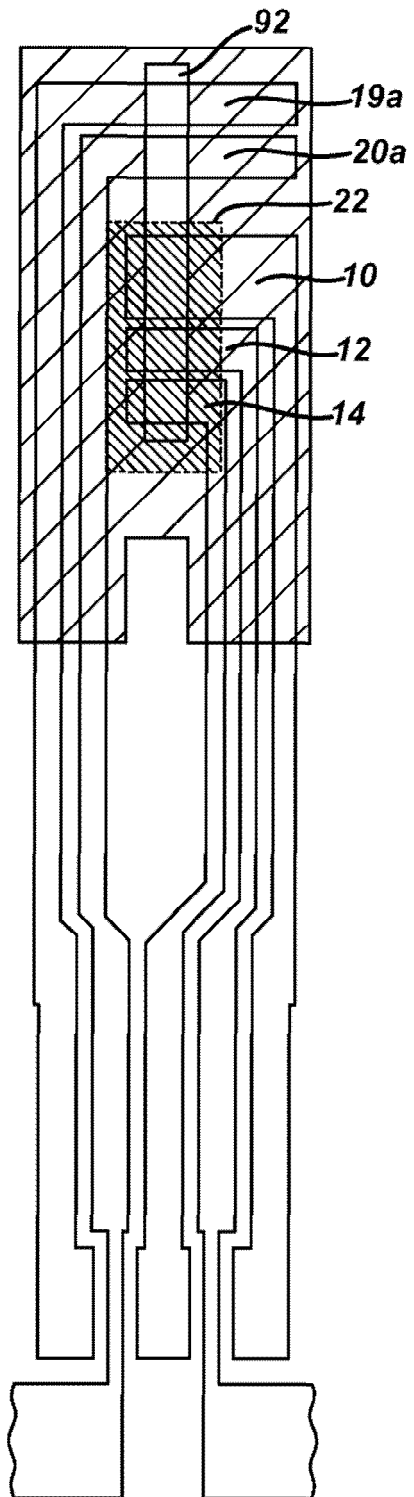
**FIG. 3B**



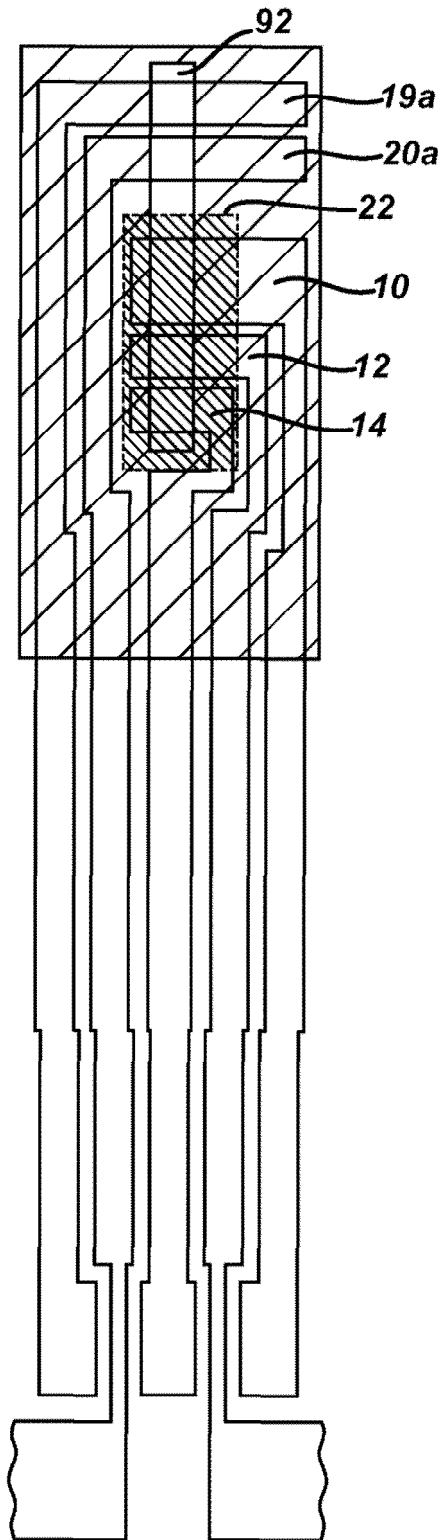
**FIG. 3C**



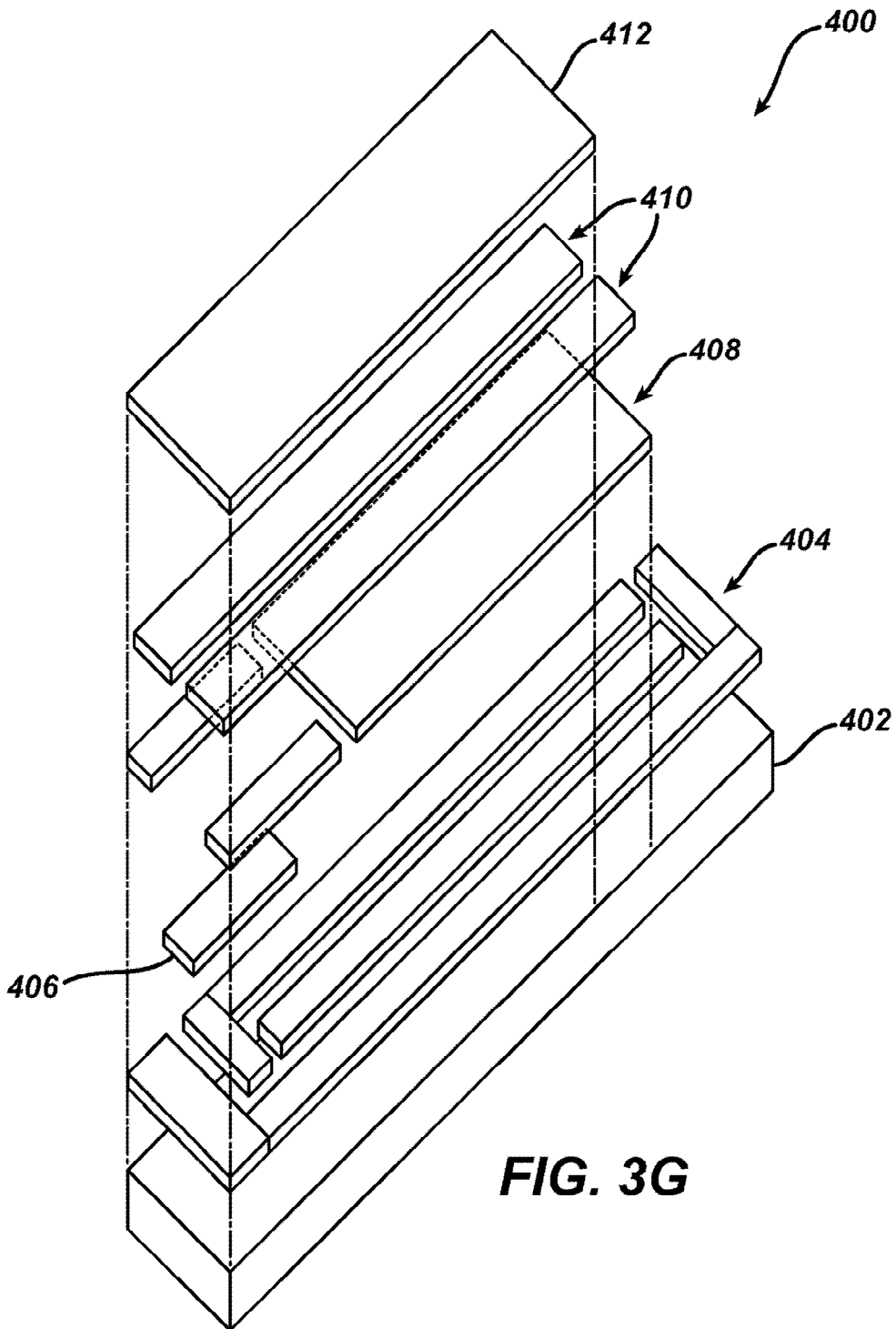
**FIG. 3D**



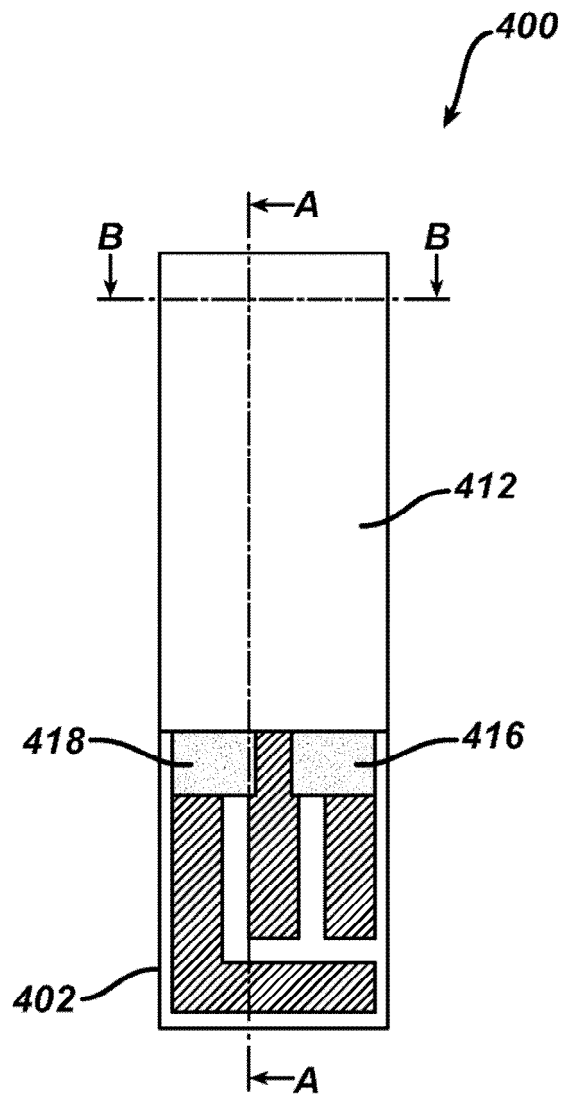
**FIG. 3E**



**FIG. 3F**

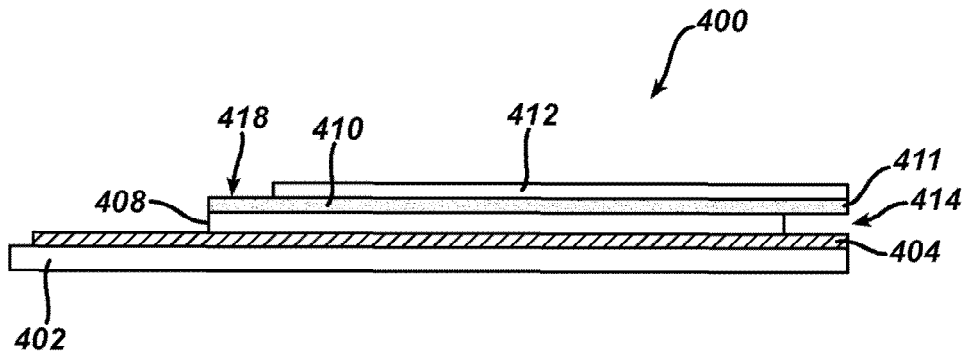


**FIG. 3G**

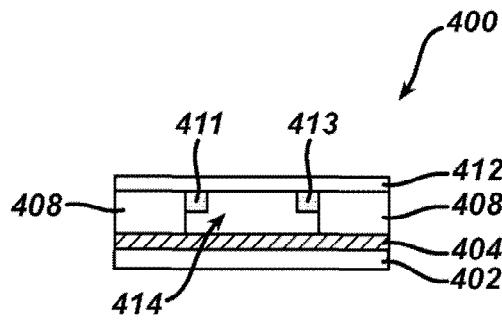


**FIG. 3H**

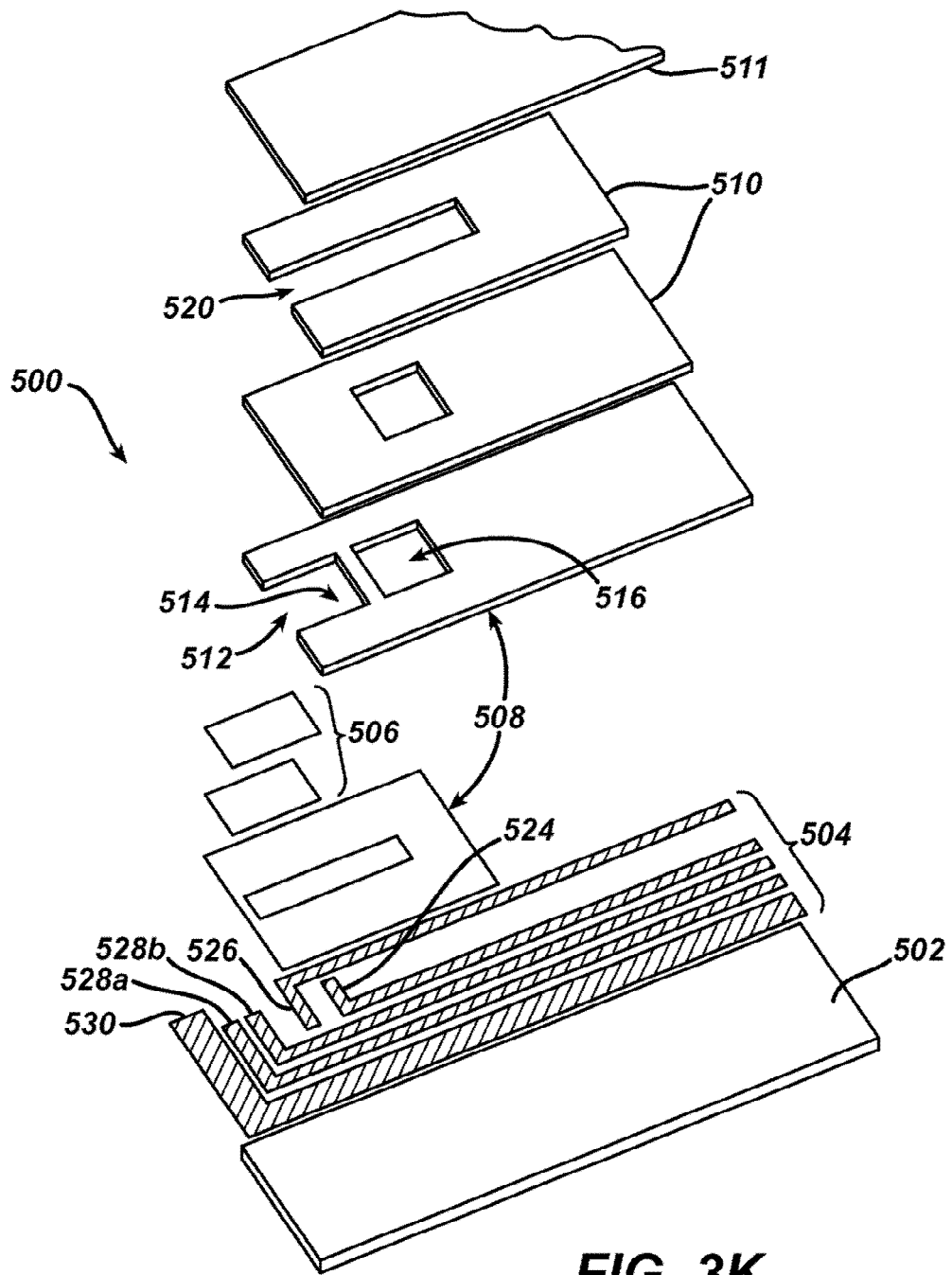




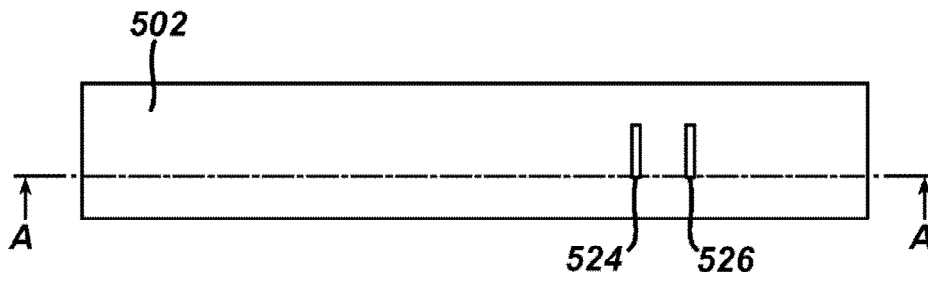
**FIG. 3I**



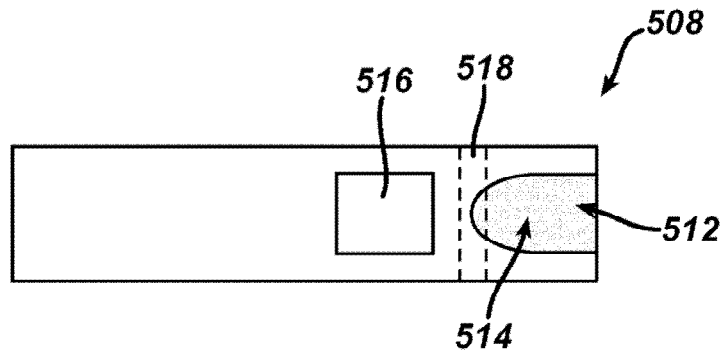
**FIG. 3J**



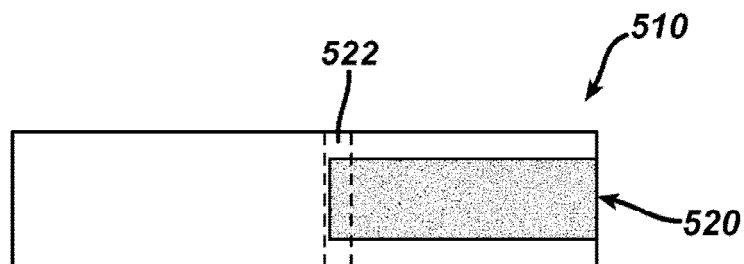
**FIG. 3K**



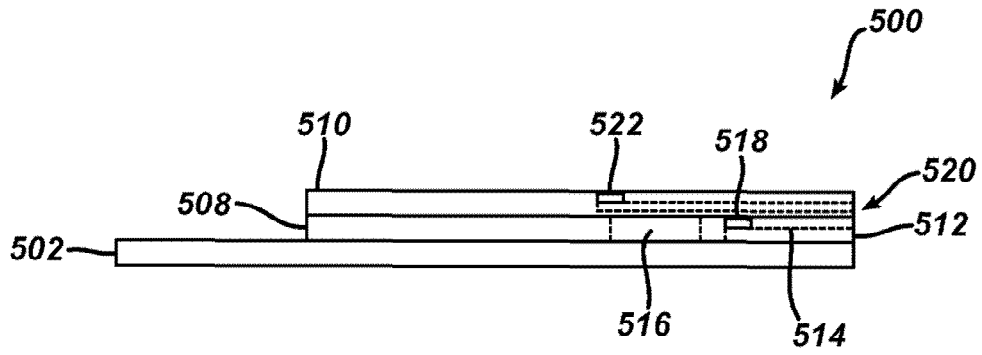
**FIG. 3L**



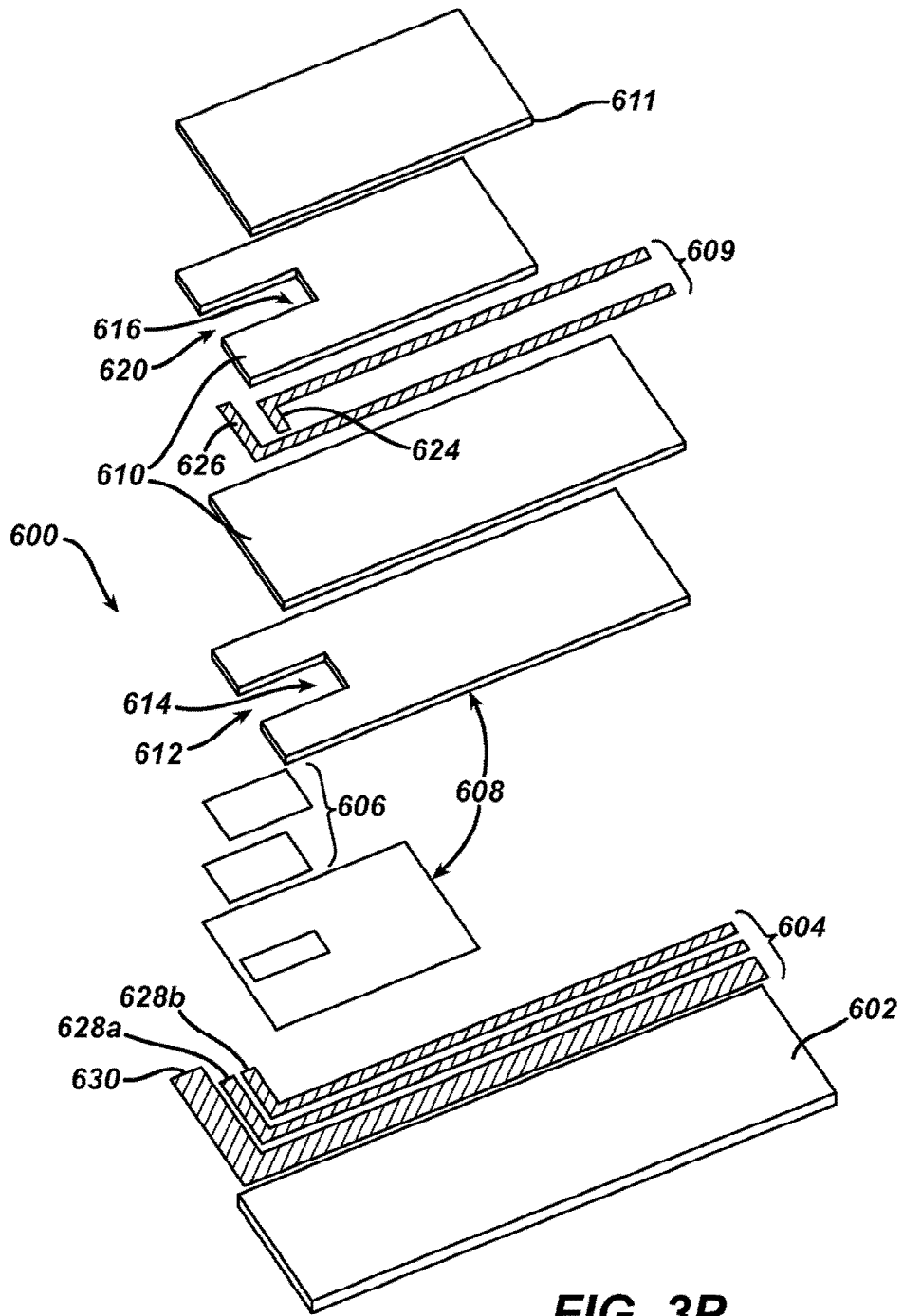
**FIG. 3M**

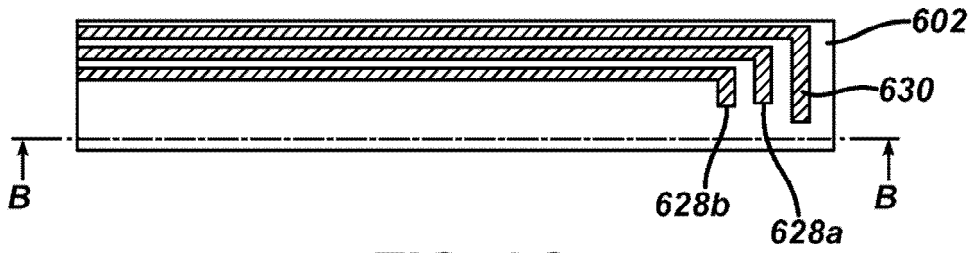


**FIG. 3N**

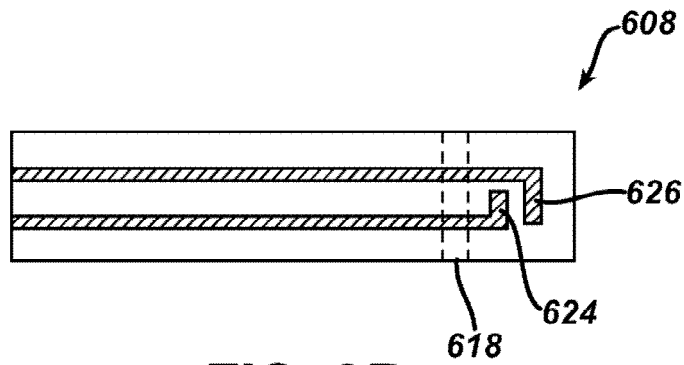


**FIG. 30**

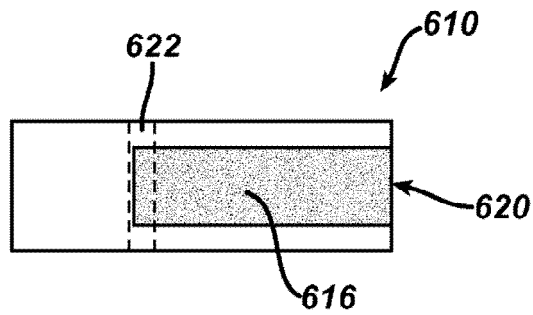




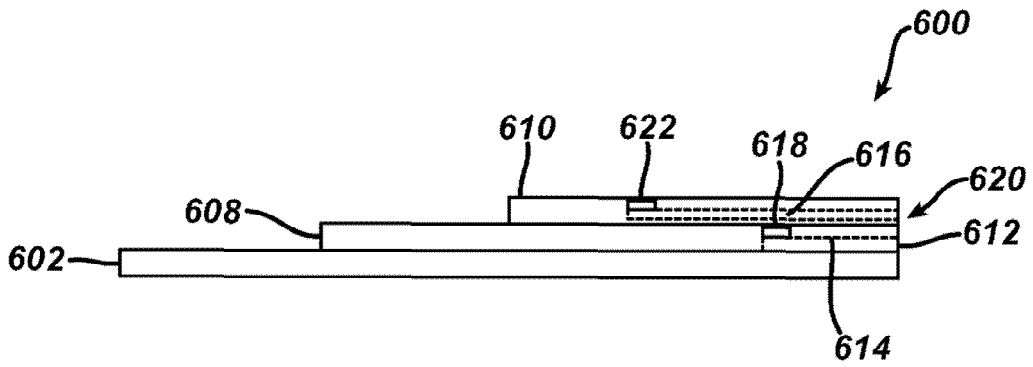
**FIG. 3Q**



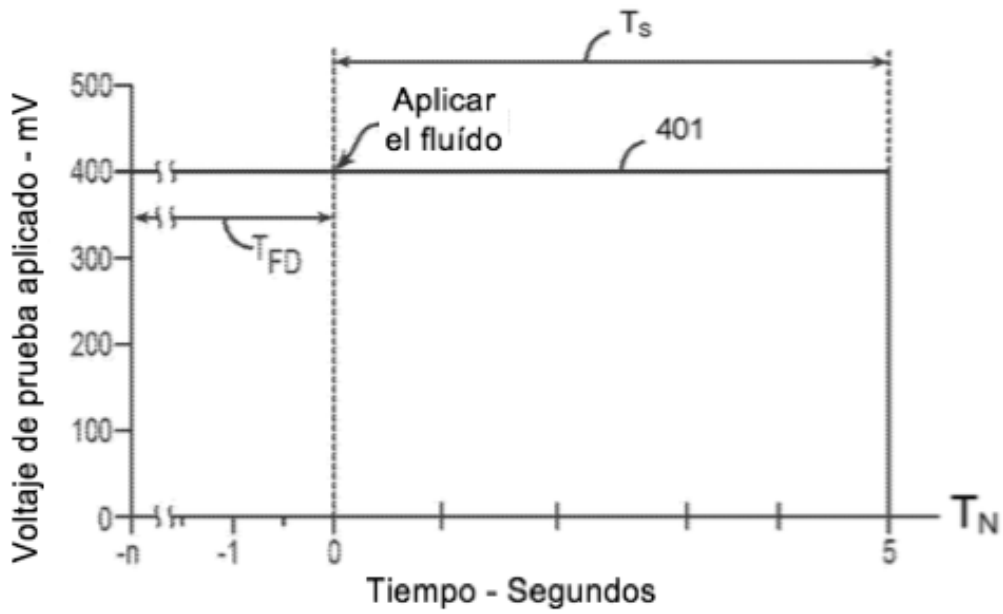
**FIG. 3R**



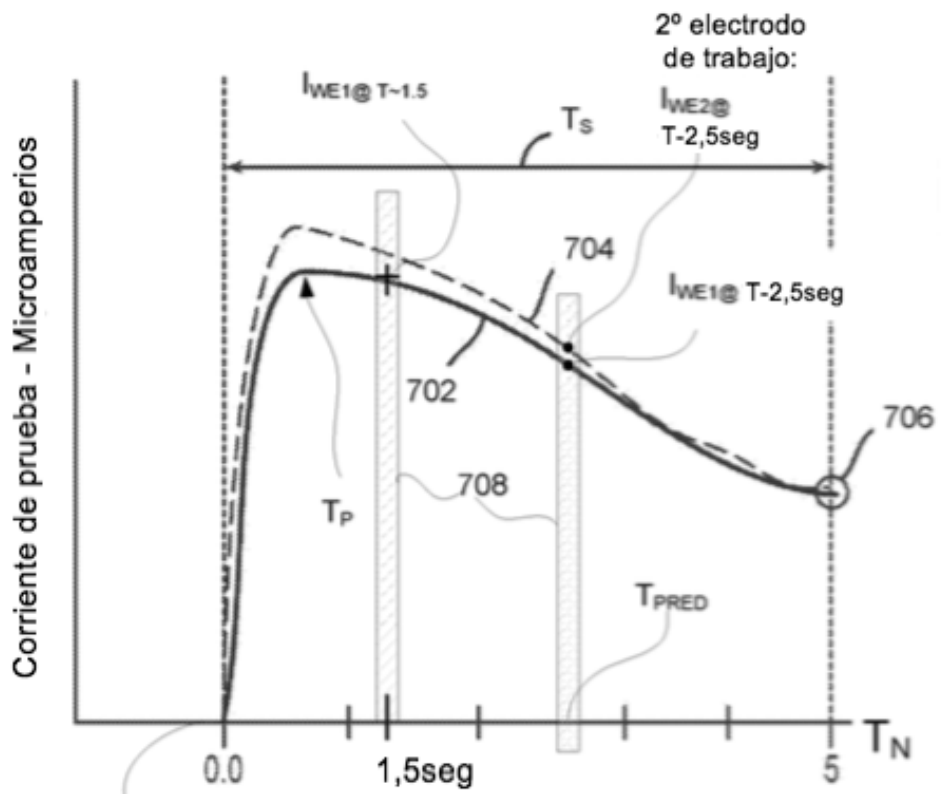
**FIG. 3S**



**FIG. 3T**

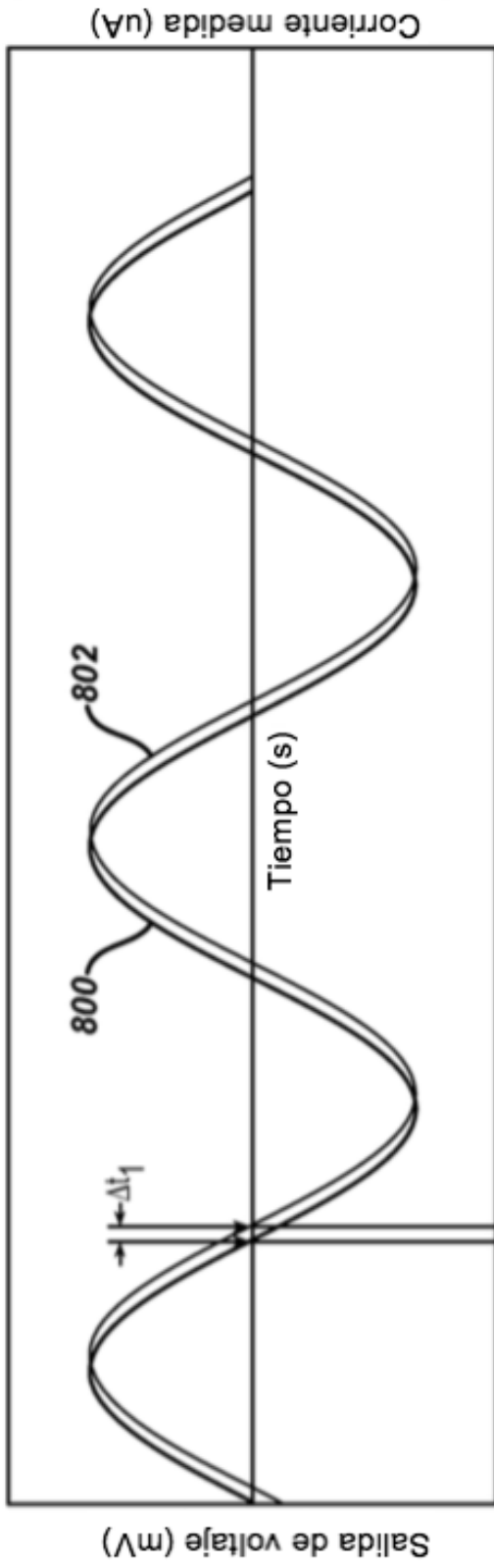


**FIG. 4A**

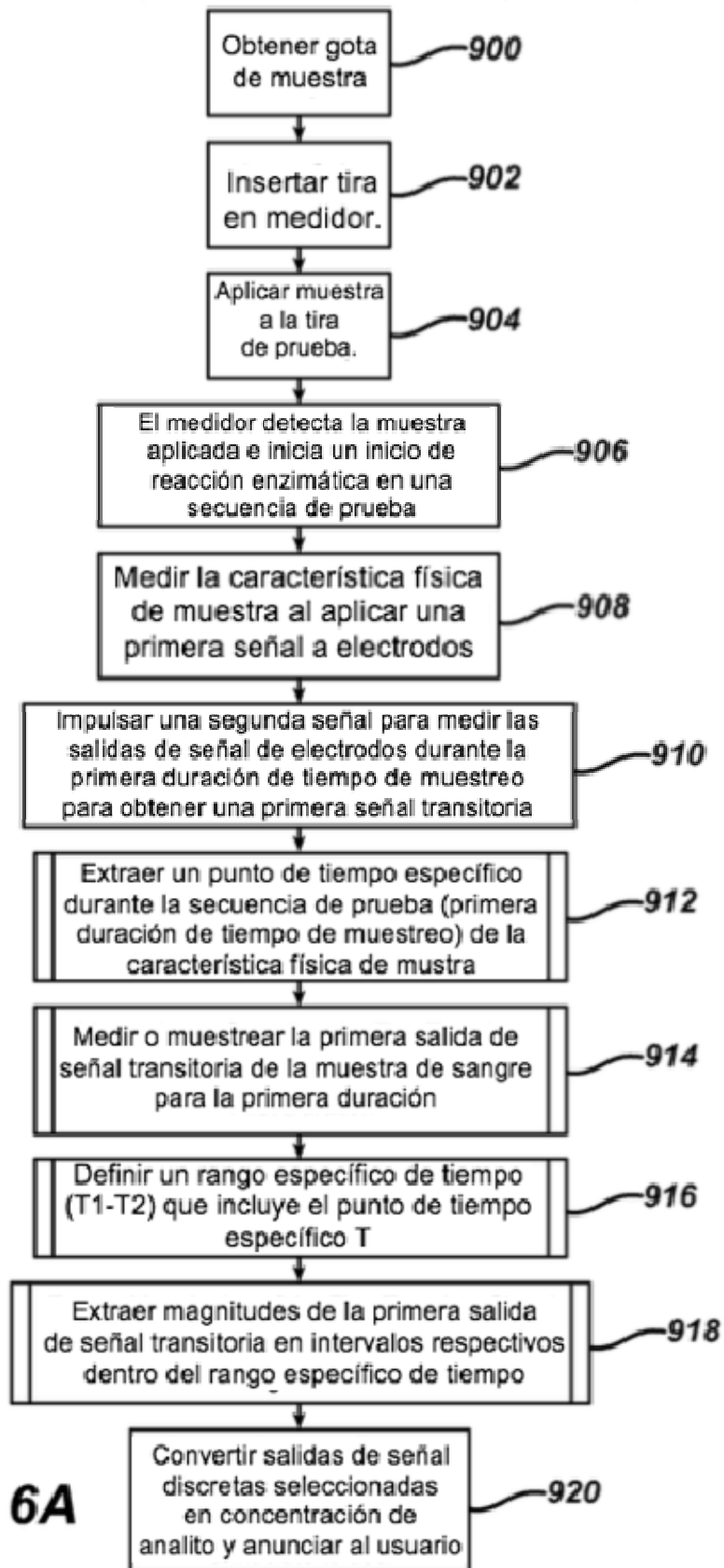


**FIG. 4B**

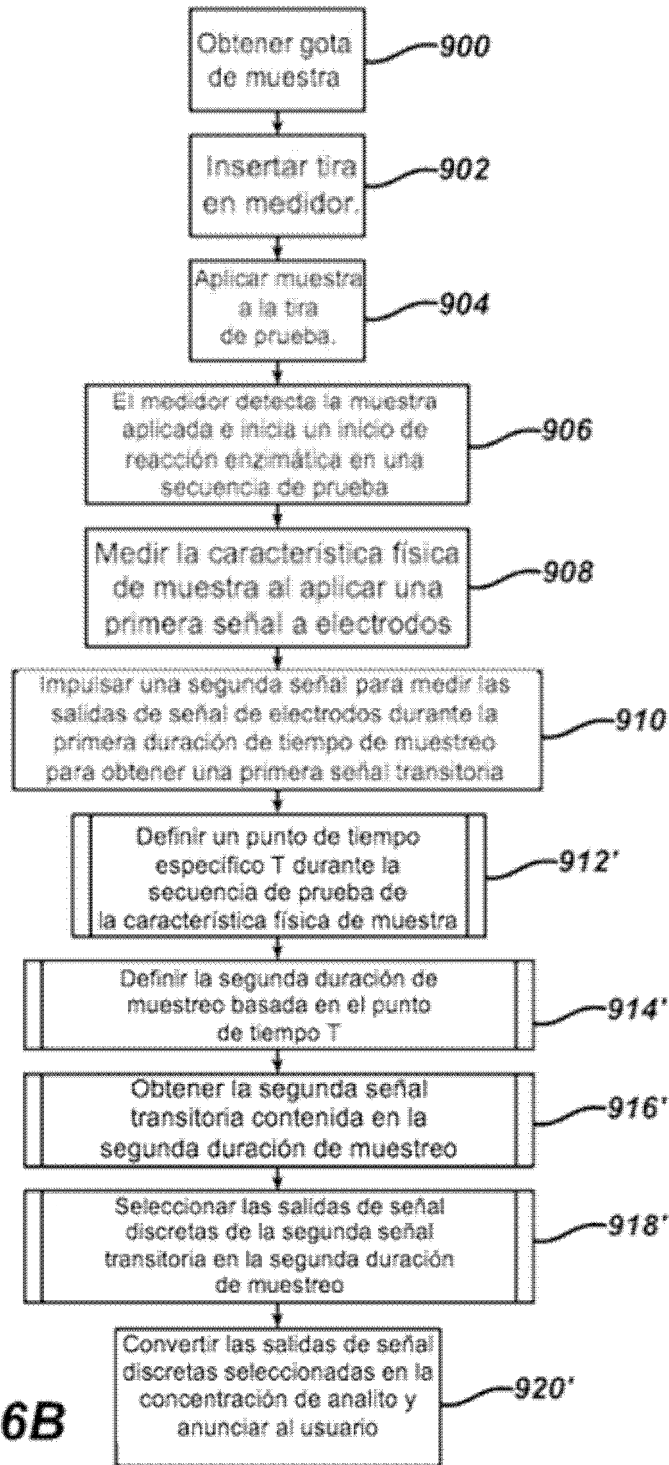




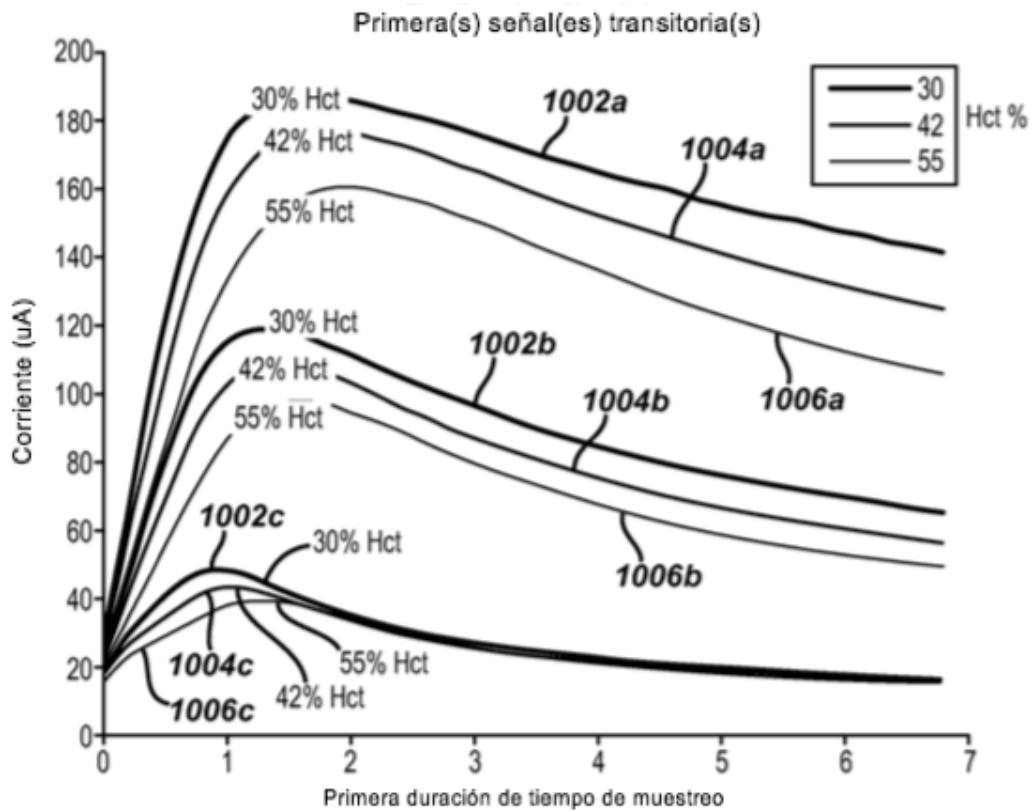
**FIG. 5**



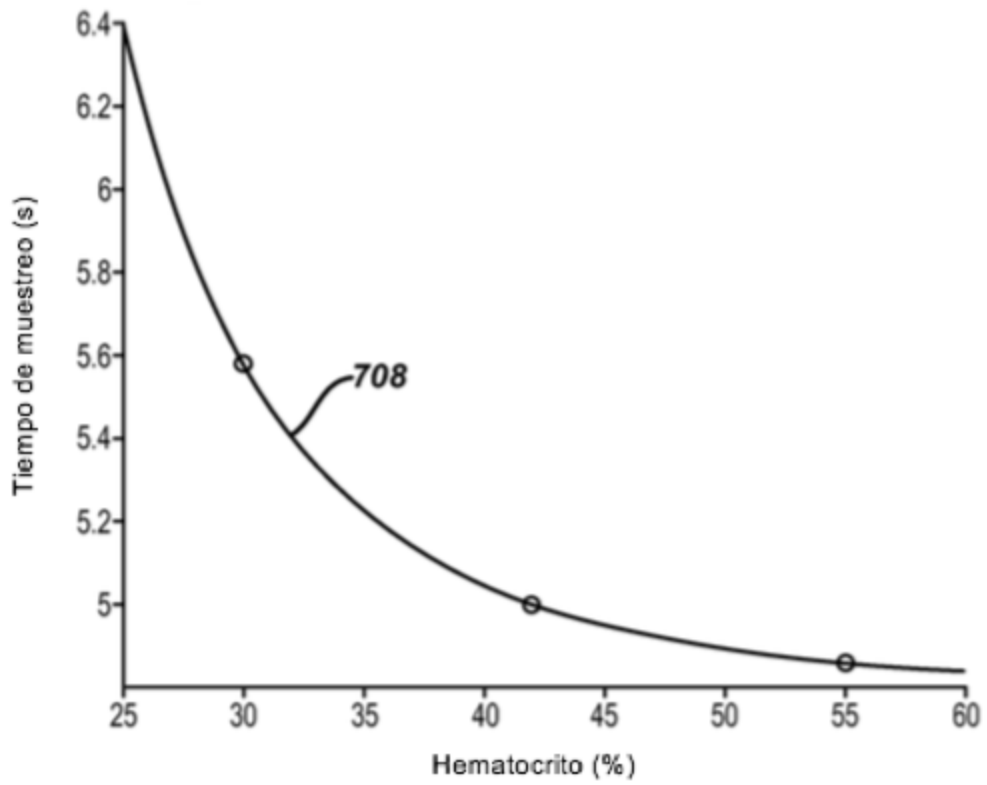
**FIG. 6A**



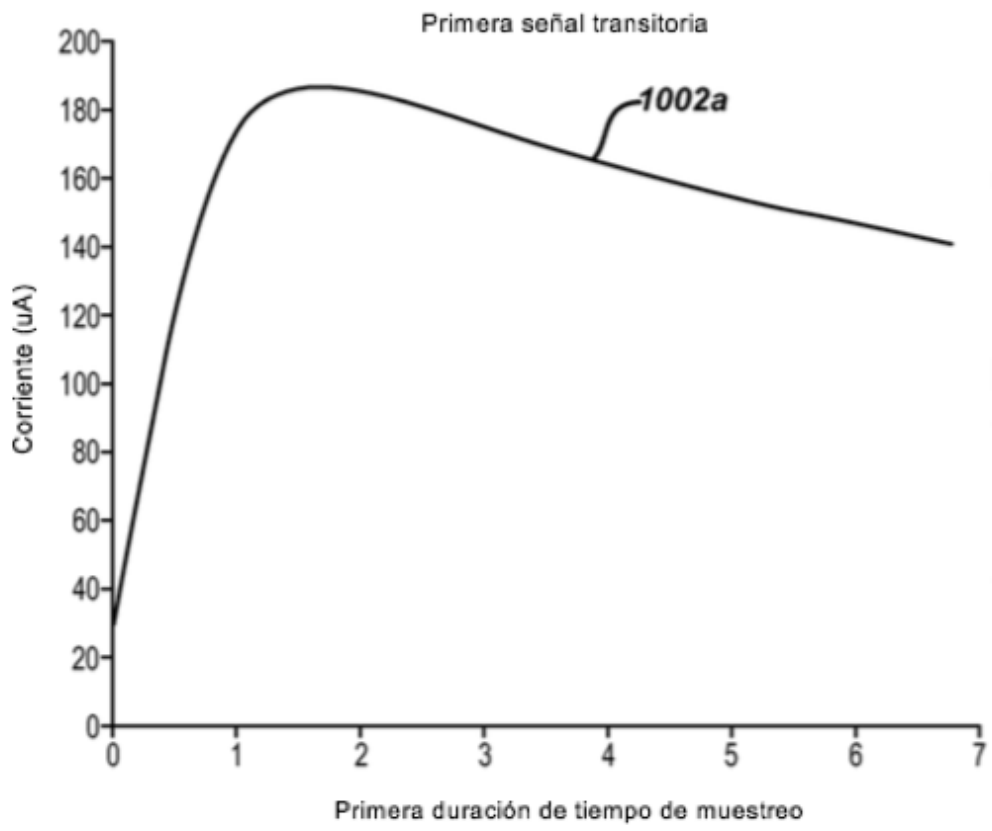
**FIG. 6B**



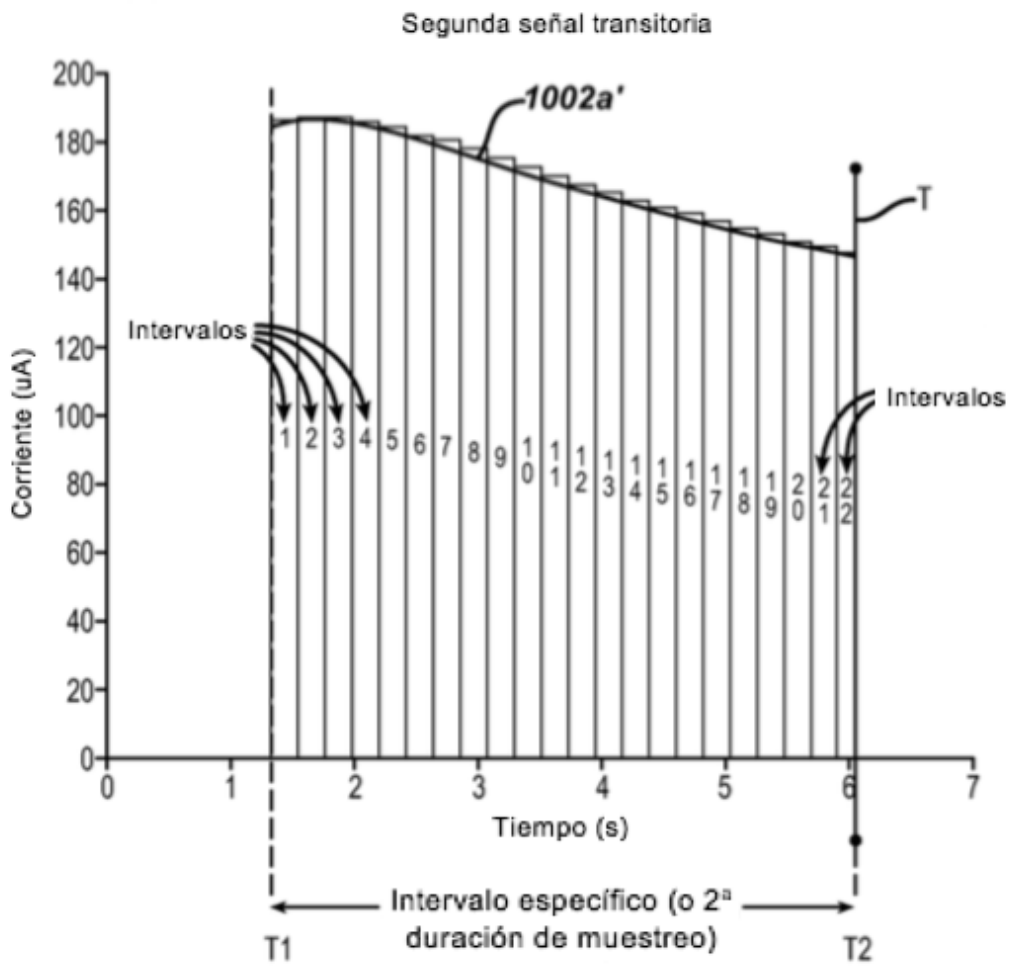
**FIG. 7A**



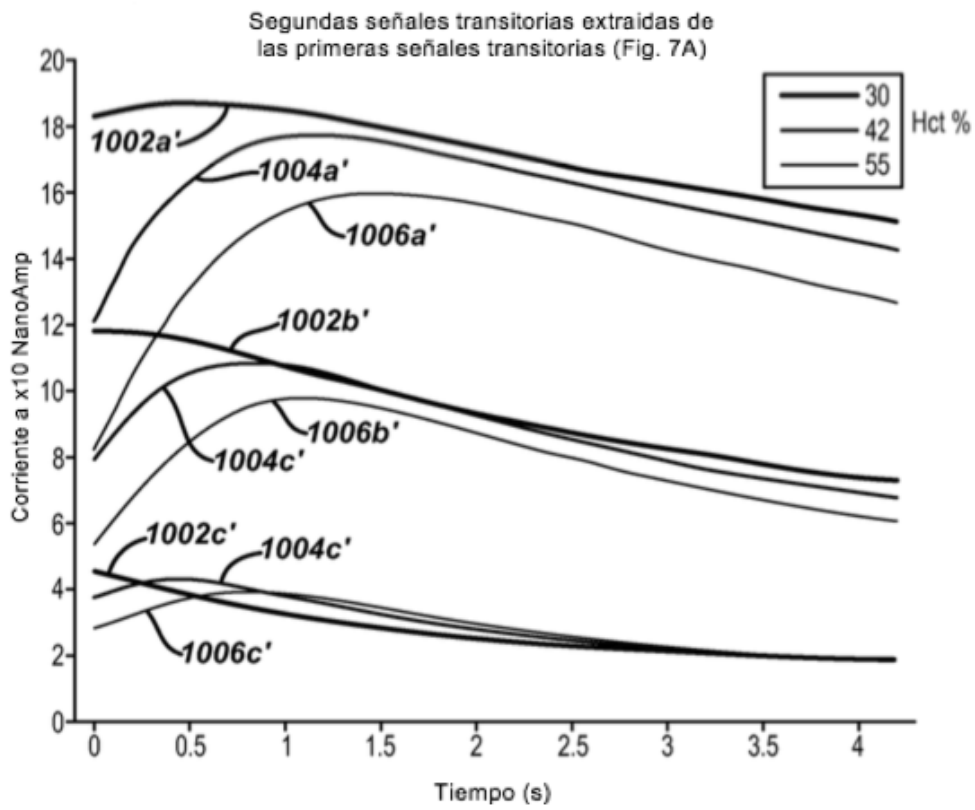
**FIG. 7B**



**FIG. 7C**

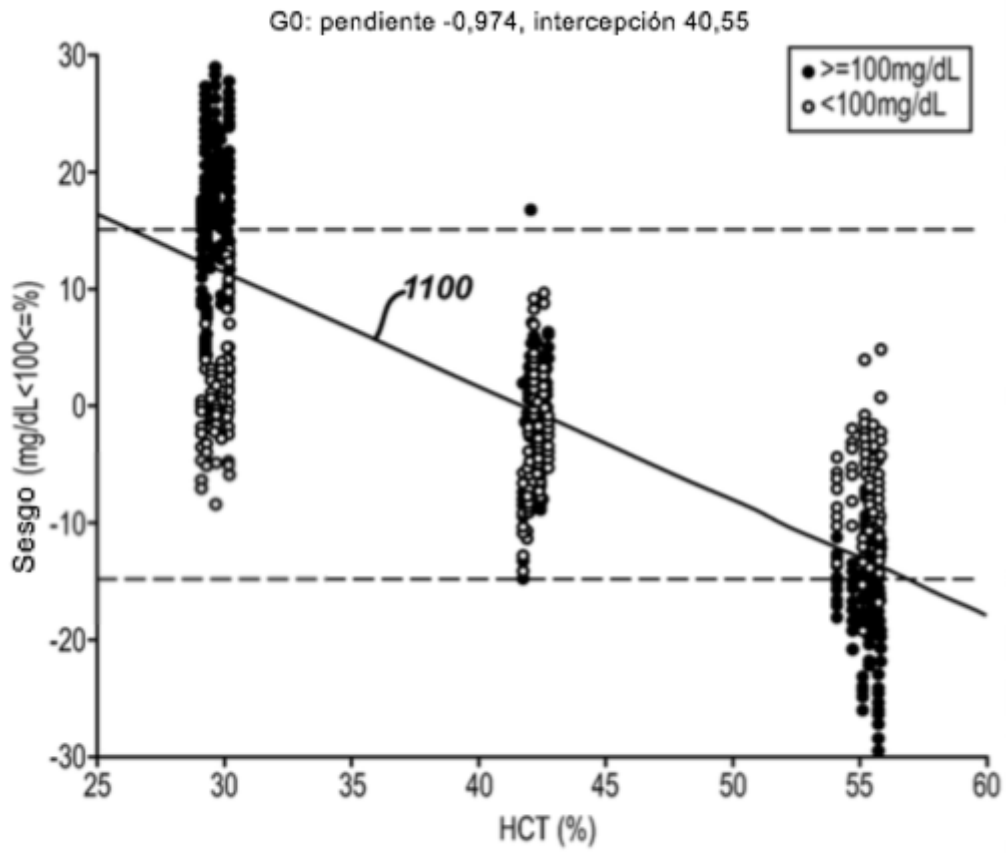


**FIG. 7D**

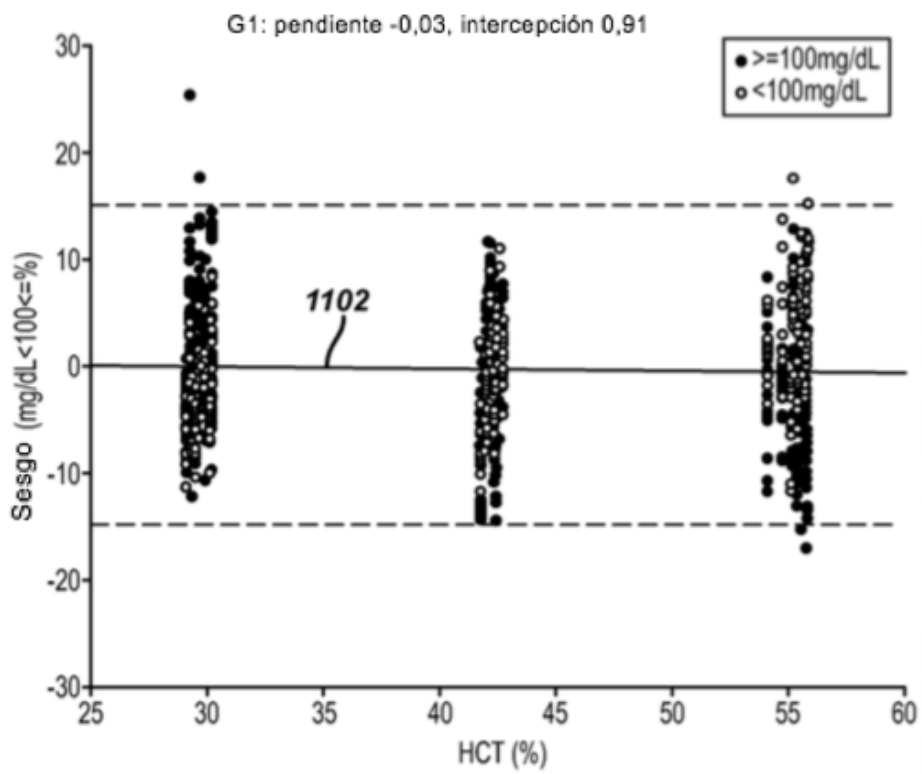


**FIG. 7E**

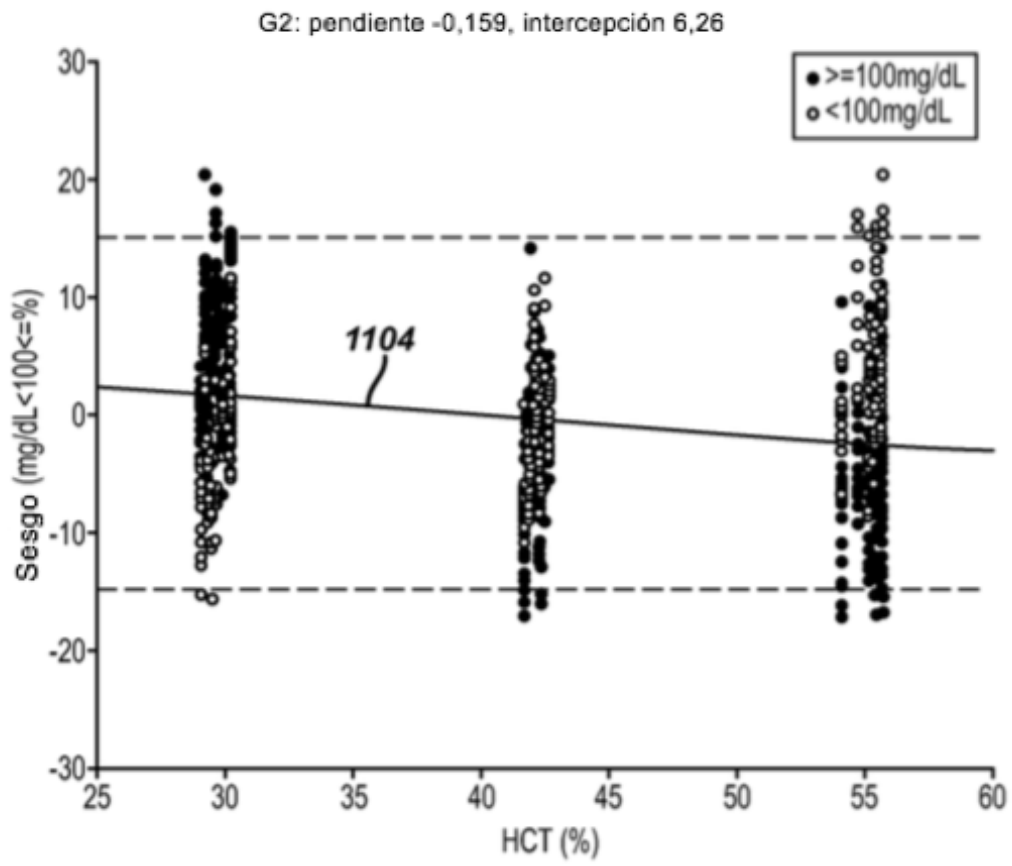




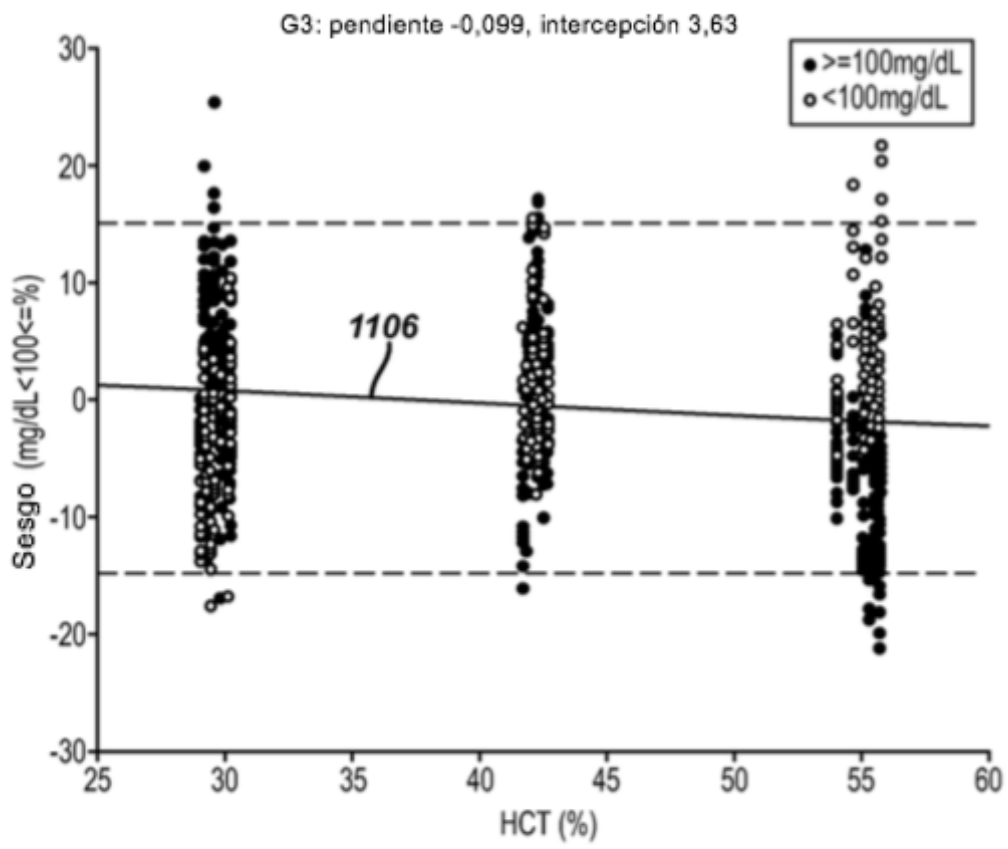
**FIG. 8A** ESTADO DE LA TÉCNICA



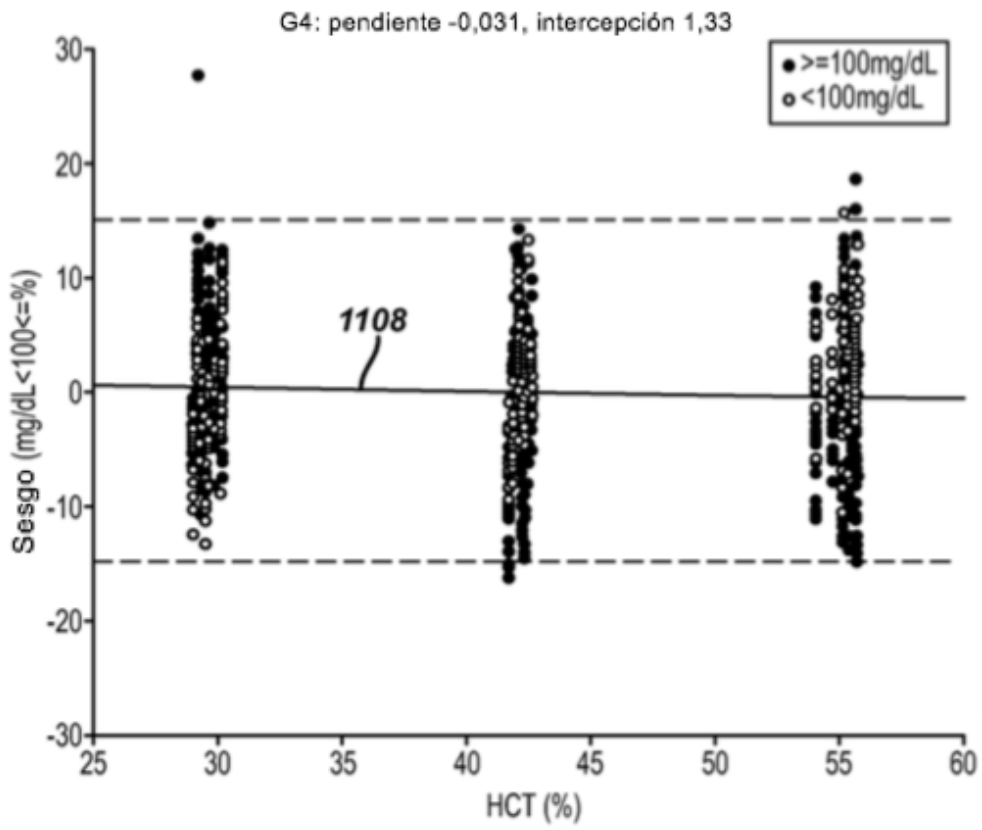
**FIG. 8B**



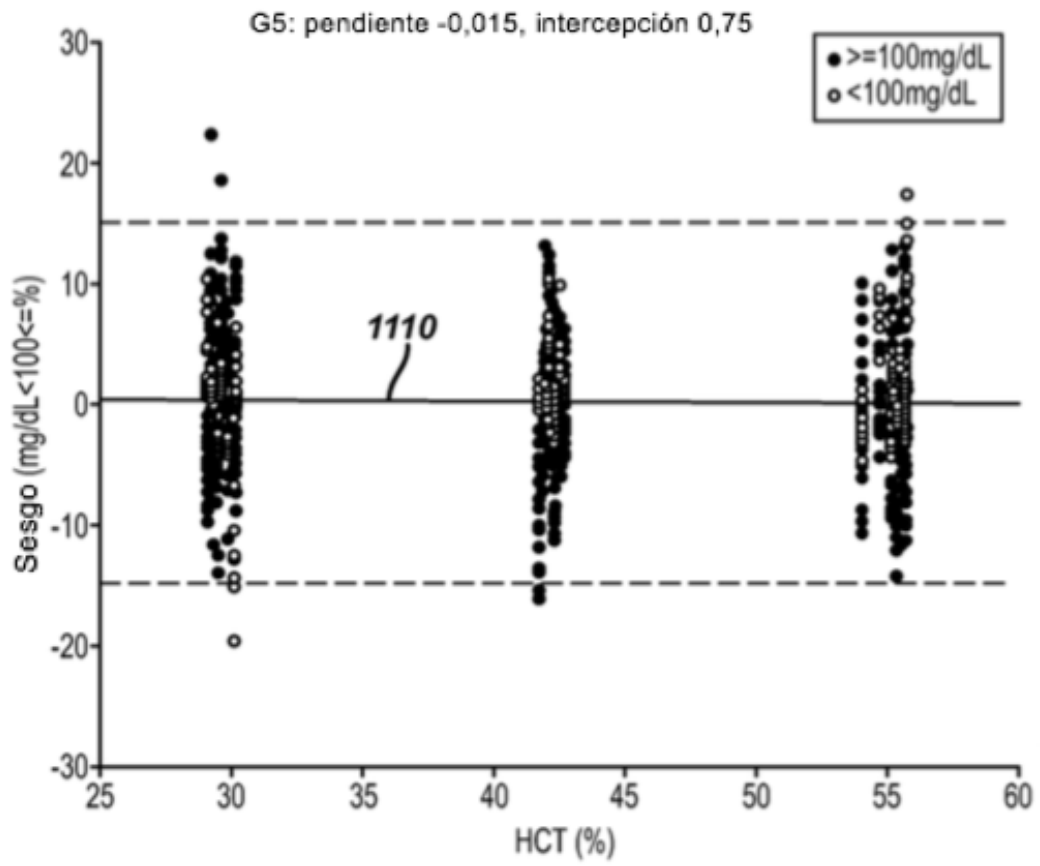
**FIG. 8C**



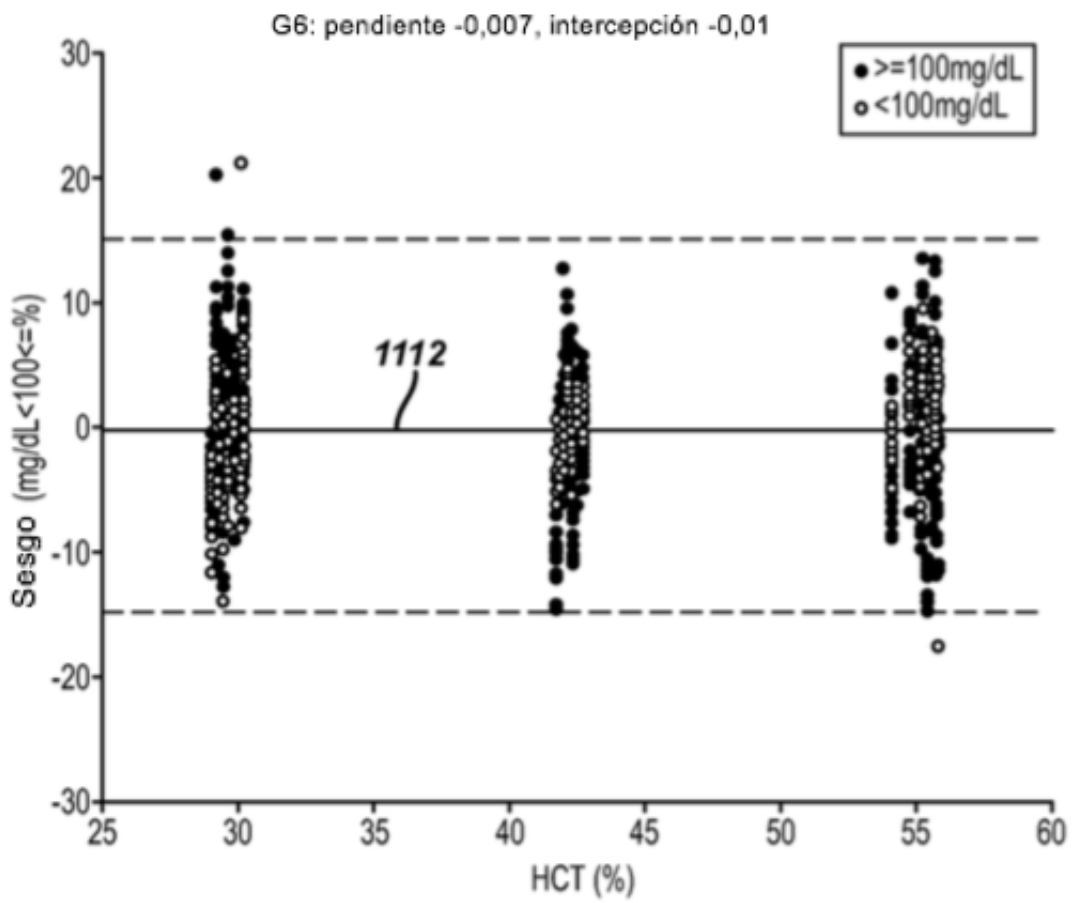
**FIG. 8D**



**FIG. 8E**



**FIG. 8F**

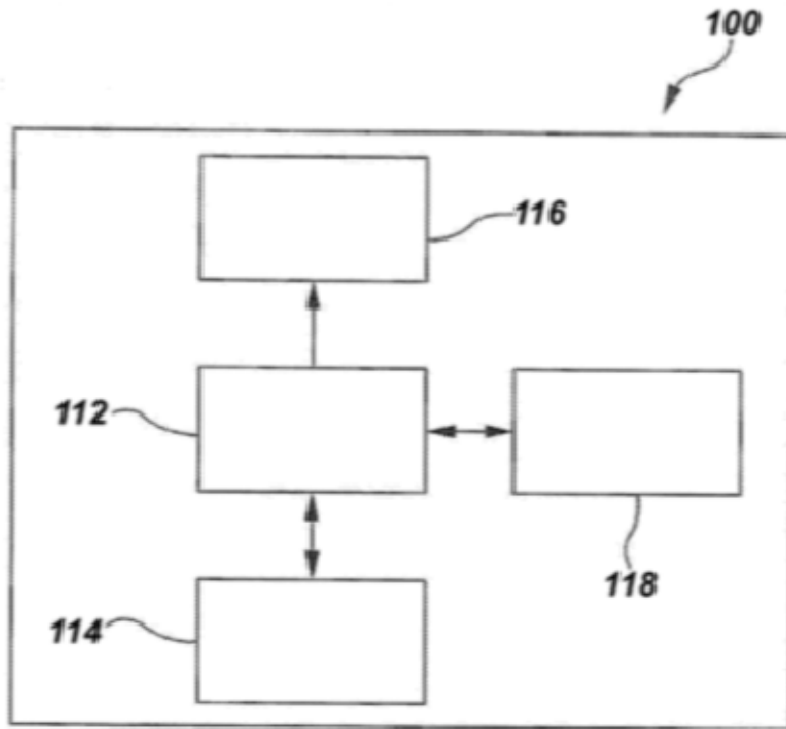


**FIG. 8G**

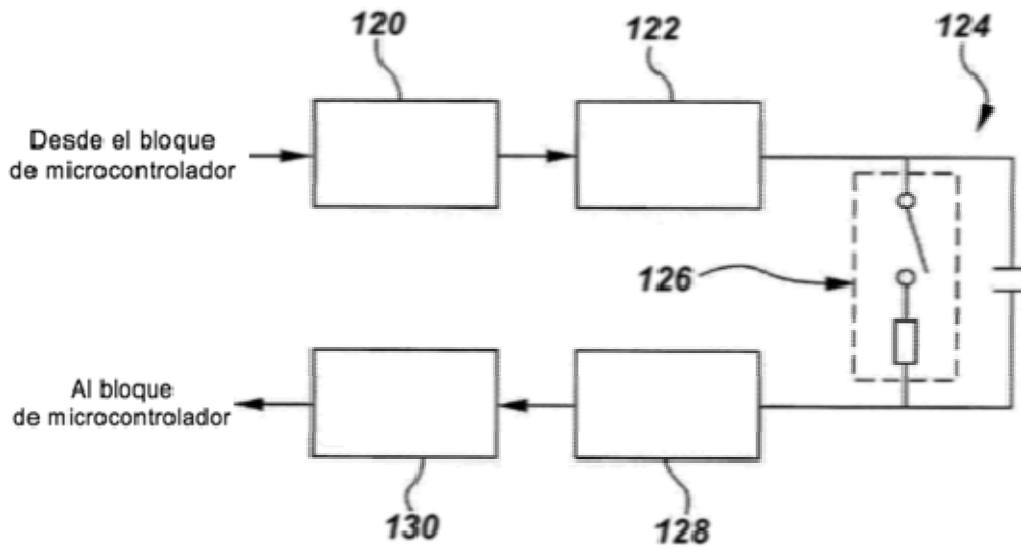


**FIG. 9**

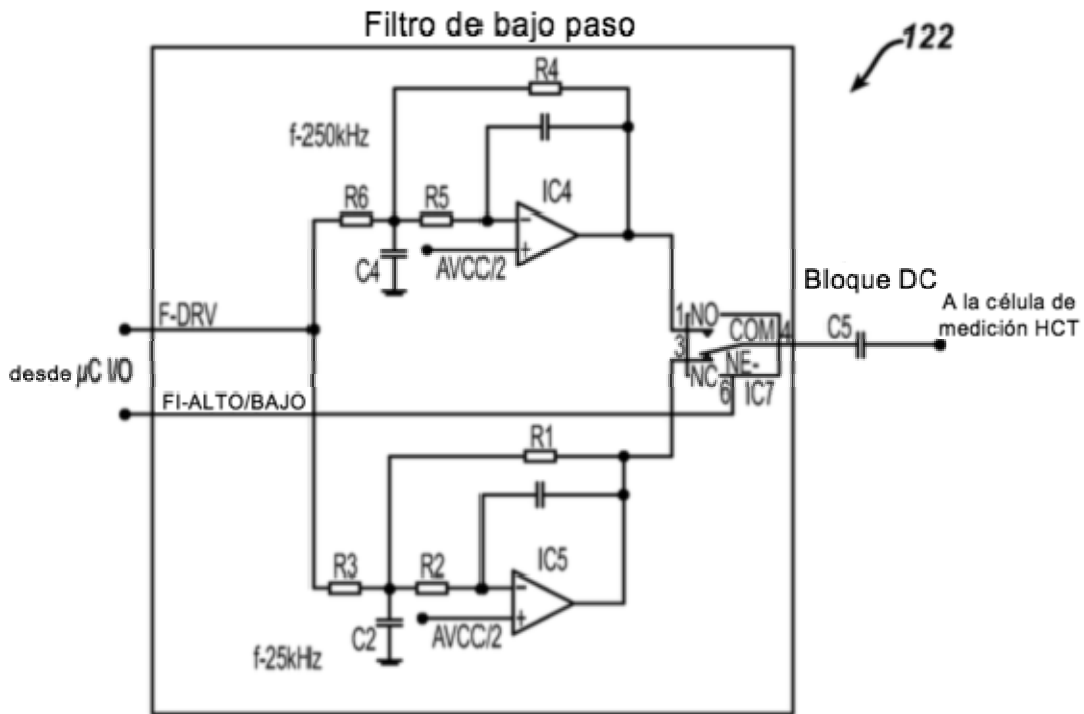




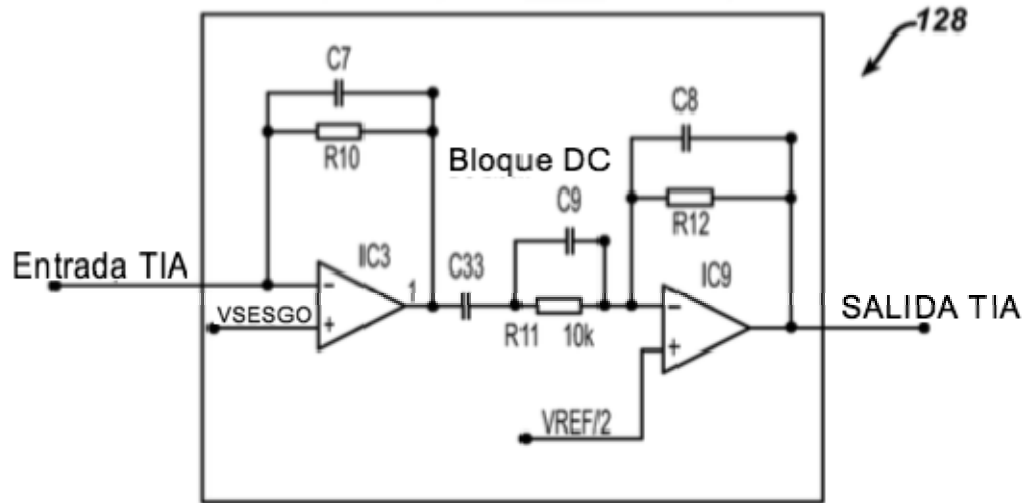
**FIG. 10**



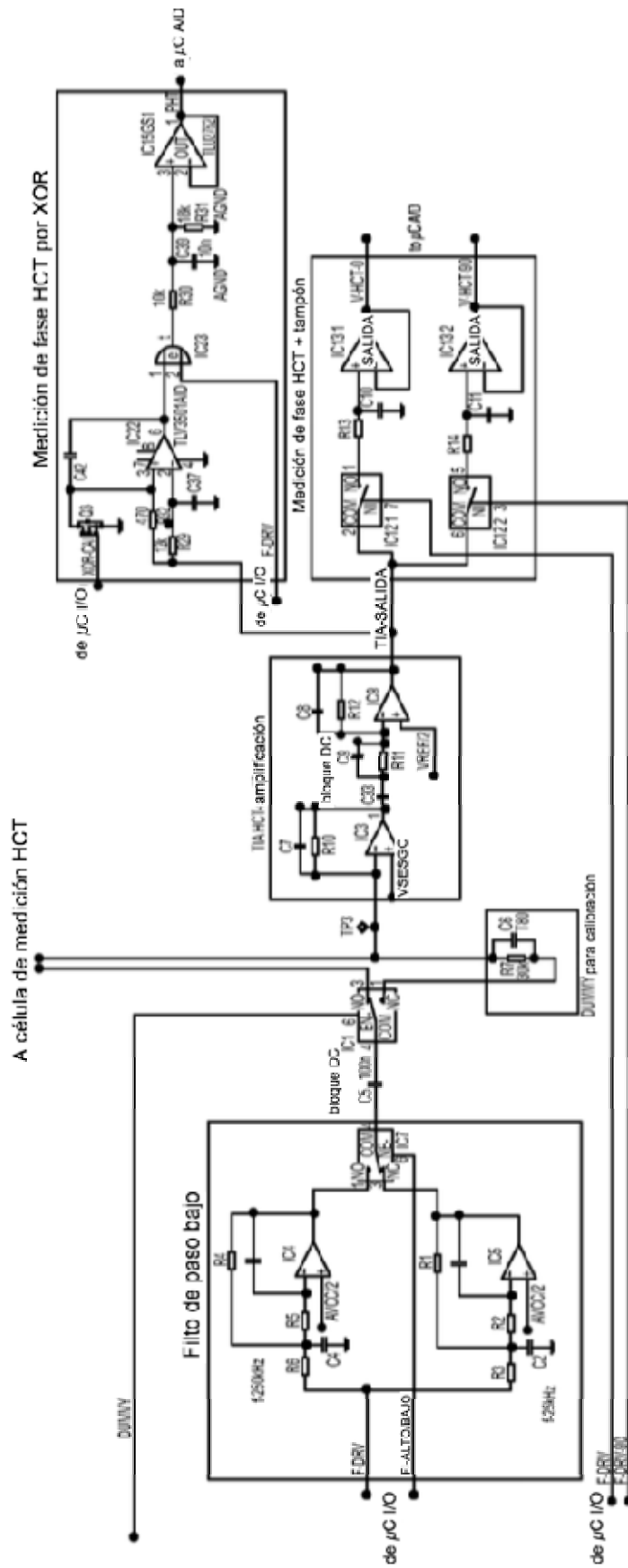
**FIG. 11**



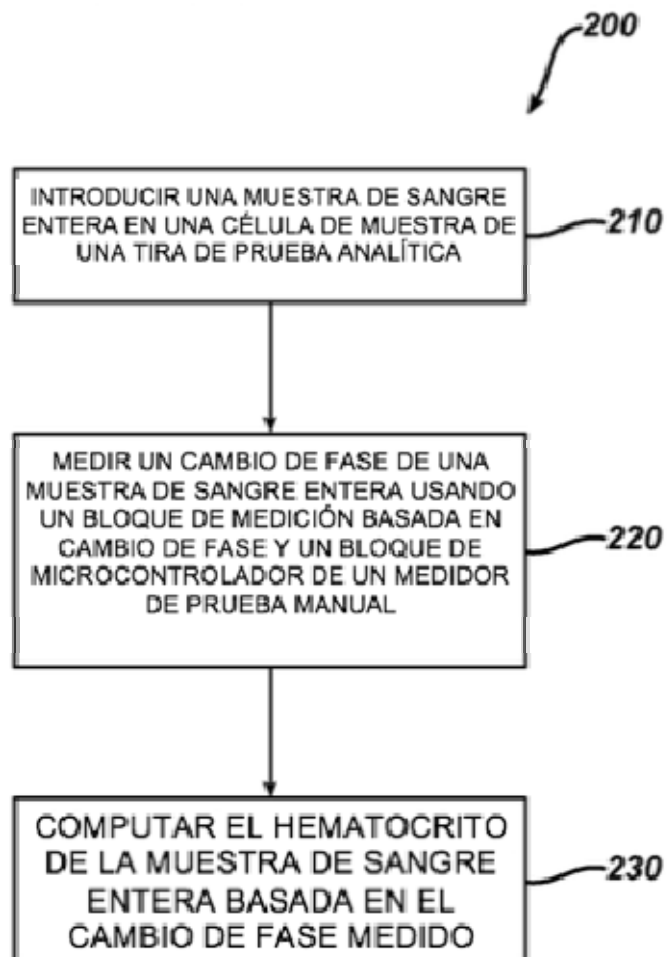
**FIG. 12**



**FIG. 13**



**FIG. 14**



**FIG. 15**