

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 326**

51 Int. Cl.:

G01N 27/327 (2006.01)

C12Q 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.06.2014 PCT/EP2014/061881**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14195480**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2014 E 14732114 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 3004857**

54 Título: **Tira de prueba analítica basada en la electroquímica con un revestimiento soluble electroquímicamente activo opuesto a un electrodo**

30 Prioridad:

07.06.2013 GB 201310211

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

19.12.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**COOPER, ALEXANDER;
RODGERS, JAMES IAIN y
MACFIE, GAVIN**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 694 326 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tira de prueba analítica basada en la electroquímica con un revestimiento soluble electroquímicamente activo opuesto a un electrodo

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] De manera general, la presente invención está relacionada con los dispositivos médicos y, más particularmente, está relacionada con las tiras de prueba analíticas (o tiras reactivas analíticas) y otros métodos relacionados.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] En el campo de la medicina, es de especial interés la determinación (es decir, la detección y/o la medición de la concentración) de un analito que está presente en una muestra de fluidos (o que es característico de ella). Por ejemplo, puede ser necesario determinar las concentraciones de glucosa, cetona, colesterol, lipoproteínas, triglicéridos, acetaminofeno, hematocrito y/o HbA1c en una muestra de fluidos corporales como orina, sangre, plasma o líquido intersticial. Dichas determinaciones pueden realizarse usando tiras de prueba analíticas, que se basan, por ejemplo, en técnicas visuales, fotométricas o electroquímicas. Las tiras de prueba analíticas convencionales basadas en la electroquímica se describen, por ejemplo, en las Patentes de EE. UU. n^{os} 5,708,247 y 6,284,125, de manera que ambas se incorporan por completo en el presente documento mediante referencia. EP0225061A1 describe un método de análisis electroquímico potenciométrico que incluye depositar un líquido de muestra acuoso, que contiene posiblemente una cantidad de un analito que será el sujeto de la prueba, en cada uno de los dos compartimentos de una celda de análisis electroquímica, de manera que el líquido de cada uno de los compartimentos se pone en contacto electroquímico con uno de los dos electrodos que forman parte de la celda, de manera que los electrodos son insensibles al analito y de manera que los compartimentos están separados por una barrera electroactiva que es sensible al analito (o selectiva para el analito), de manera que esta barrera no está en contacto eléctrico con ninguno de los electrodos, excepto a través del medio del líquido de prueba, de manera que el mencionado método además incluye modificar la cantidad del material del analito de uno de los compartimentos por una cantidad estándar predeterminada y medir el potencial de la celda para extraer un resultado a partir del cual se pueda obtener una medida de la concentración de analito en la muestra mediante el cálculo o procesamiento de datos. EP1742045A1 describe un método para medir un componente en sangre mediante el cual se pueden medir, con gran precisión y fiabilidad, las cantidades de células sanguíneas y de sustancias interferentes y también se puede corregir con precisión la cantidad del componente basándose en las cantidades de células sanguíneas y de sustancias interferentes. En un sensor para medir un componente sanguíneo, un primer electrodo de trabajo 13 mide la corriente que fluye durante una reacción redox (o reacción redox) de un componente sanguíneo, un segundo electrodo de trabajo 17 mide la cantidad de células sanguíneas y un tercer electrodo de trabajo 12 mide la cantidad de una sustancia interferente. Después, basándose en los resultados de las mediciones, se corrige la cantidad del componente sanguíneo que se ha de medir.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0003] La invención se define o delimita en las reivindicaciones independientes. Se proporciona una tira de prueba analítica basada en la electroquímica para determinar un analito en una muestra de fluido corporal, de manera que la tira de prueba analítica basada en la electroquímica comprende: una capa base eléctricamente aislante, una capa estampada o impresa eléctricamente conductora que está dispuesta sobre la capa base eléctricamente aislante y que incluye diversos electrodos; una capa reactiva enzimática dispuesta sobre una parte de la capa conductora impresa a fin de definir o delimitar al menos un electrodo desnudo, y diversos electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos, respecto a los diversos electrodos; una capa separadora estampada o impresa; una capa superior que tiene una superficie oculta o inferior; y un revestimiento soluble electroquímicamente activo sobre la superficie inferior de la capa superior; de manera que al menos la capa separadora impresa y la capa superior definen o delimitan una cámara de recepción de muestras situada en la tira de prueba analítica basada en la electroquímica; y de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo está dispuesto sobre la superficie oculta o inferior de la capa superior y está situado al menos en una parte de la cámara de recepción de muestras y enfrente de los electrodos desnudos.

[0004] El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede comprender un agente redox (o agente redox).

[0005] El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede comprender un mediador enzimático.

[0006] El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede comprender ferrocianuro.

[0007] El revestimiento soluble electroquímicamente activo carece de enzimas.

[0008] El -al menos un- electrodo desnudo puede ser un electrodo desnudo.

- [0009]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede estar dispuesto frente al -al menos un- electrodo desnudo y separado de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático.
- 5 **[0010]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede estar separado de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático por una distancia que está en un rango de entre 150 micrómetros y 450 micrómetros.
- 10 **[0011]** El -al menos un- electrodo desnudo puede estar configurado para generar una respuesta de corriente tras la introducción de una muestra de fluido corporal en la cámara de recepción de muestras que puede medirse por medio de un medidor asociado.
- [0012]** La muestra de fluido corporal puede ser una muestra de sangre entera y la respuesta de corriente del -al menos un- electrodo puede depender del hematocrito de la muestra de sangre entera.
- 15 **[0013]** La respuesta electroquímica del electrodo desnudo puede ser independiente de la concentración de analitos de la muestra de fluido corporal.
- [0014]** La muestra de fluido corporal puede ser una muestra de sangre entera.
- 20 **[0015]** Al menos la capa superior y el revestimiento soluble electroquímicamente activo pueden estar integrados de manera que formen una cinta superior de diseño.
- [0016]** El analito puede ser glucosa y la muestra de fluido corporal puede ser una muestra de sangre entera.
- 25 **[0017]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo y el -al menos un- electrodo desnudo de la capa impresa eléctricamente conductora pueden estar separados por una distancia vertical en un rango de entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 150 micrómetros en la cámara de recepción de muestras.
- 30 **[0018]** En un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método para utilizar una tira de prueba (o tira reactiva) analítica, de manera que el método comprende: introducir una muestra de sangre en la cámara de recepción de muestras de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica, de manera que la tira de prueba analítica basada en la electroquímica incluye: una capa superior con una superficie oculta o inferior; al menos un electrodo desnudo en la cámara de recepción de muestras; y un revestimiento soluble electroquímicamente activo en la superficie inferior que está situado al menos en una parte de la cámara de recepción de muestras y enfrente del -al menos un- electrodo desnudo, de manera que se produce una introducción tal que el revestimiento soluble electroquímicamente activo se disuelve operativamente en la muestra de fluido corporal; detectar una respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica; y determinar un analito en la sangre basándose en parte en la respuesta electroquímica detectada del -al menos un- electrodo desnudo.
- 35 **[0019]** La tira de prueba analítica basada en la electroquímica comprende: una capa base eléctricamente aislante; una capa estampada o impresa eléctricamente conductora que está dispuesta sobre la capa base eléctricamente aislante y que incluye diversos electrodos; una capa reactiva enzimática dispuesta al menos sobre una parte de la capa conductora impresa para definir o delimitar al menos un electrodo desnudo, y diversos electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos, de los diversos electrodos; y una capa separadora estampada o impresa; de manera que al menos la capa separadora impresa y la capa superior definen o delimitan la cámara de recepción de muestras situada en la tira de prueba analítica basada en la electroquímica.
- 40 **[0020]** La detección de una respuesta electroquímica también puede incluir la detección de una respuesta electroquímica de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático.
- 45 **[0021]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede contener un mediador enzimático.
- [0022]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede contener un agente redox.
- 55 **[0023]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo carece de enzimas.
- [0024]** Los diversos electrodos desnudos pueden ser un electrodo desnudo.
- 60 **[0025]** El revestimiento soluble electroquímicamente activo puede estar separado de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático.
- [0026]** La respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo puede ser una respuesta de corriente.
- 65 **[0027]** La muestra de fluido corporal puede ser una muestra de sangre entera y la respuesta de corriente del -al menos un- electrodo desnudo puede depender del hematocrito de la muestra de sangre entera.

[0028] La respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo puede ser independiente de la concentración de analitos de la muestra de fluido corporal.

[0029] La muestra de sangre puede ser una muestra de sangre entera.

[0030] El analito puede ser glucosa y la muestra de sangre puede ser una muestra de sangre entera.

[0031] El revestimiento soluble electroquímicamente activo y el -al menos un- electrodo desnudo de la capa impresa eléctricamente conductora pueden estar separados por una distancia vertical en un rango de entre aproximadamente 50 micrómetros y aproximadamente 150 micrómetros en la cámara de recepción de muestras.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ILUSTRACIONES

[0032] Las ilustraciones adjuntas, que se incorporan en el presente documento y forman parte de la presente especificación, ilustran las realizaciones de la invención que se prefieren actualmente y, junto con la descripción general que se ha ofrecido anteriormente y la descripción detallada que se ofrece más adelante, sirven para explicar las características de la invención, de manera que:

La Figura 1 (FIG.1) es una vista simplificada en perspectiva despiezada de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con una realización de la presente invención;

La Figura 2 es una vista en perspectiva simplificada de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica de la Figura 1;

La Figura 3 es una vista lateral transversal simplificada de una parte de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica de la Figura 1 tomada a lo largo de la línea A-A de la Figura 2;

La Figura 4 es una representación gráfica de transitorios de corriente de la respuesta electroquímica a partir de un electrodo desnudo de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con la presente invención;

La Figura 5 es una representación gráfica de un sesgo de la medición de determinación de glucosa para una tira de prueba analítica convencional basada en la electroquímica y una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con la presente invención; y

La Figura 6 es un diagrama de flujo que representa las fases o etapas de un método para determinar un analito en una muestra de fluido corporal de acuerdo con una realización de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

[0033] La descripción detallada que se ofrece a continuación debe leerse tomando como referencia las ilustraciones, en las que los elementos o componentes similares de las diferentes ilustraciones tienen números idénticos. Dichas ilustraciones, que no están necesariamente a escala, representan algunas realizaciones ejemplares con un propósito meramente explicativo, y no se pretende que limiten el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo -y no de forma limitativa- los principios de la invención. Esta descripción permitirá de forma clara que una persona versada en la materia realice y utilice la invención, y describe diversas realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, incluyendo lo que actualmente se considera el mejor modo de llevar a cabo la invención.

[0034] Tal y como se utilizan en el presente texto, los términos 'alrededor de' o 'aproximadamente', en referencia a cualquier valor o intervalo numérico, indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que una parte o un conjunto de componentes funcione de acuerdo con sus objetivos deseados tal y como se describen en el presente documento.

[0035] De manera general, las tiras de pruebas analíticas basadas en la electroquímica que se utilizan para determinar un analito (como glucosa) en un fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre entera) de acuerdo con las realizaciones de la presente invención incluyen una capa base eléctricamente aislante; una capa estampada o impresa eléctricamente conductora que está dispuesta sobre la capa base eléctricamente aislante y que incluye diversos electrodos; una capa reactiva enzimática dispuesta al menos sobre una parte de la capa conductora impresa y que define o delimita al menos un electrodo desnudo; y diversos electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos, de entre los diversos electrodos. Las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con la presente invención también incluyen una capa separadora estampada o impresa; una capa superior que tiene una superficie oculta o inferior; y un revestimiento soluble electroquímicamente activo (por ejemplo, un revestimiento soluble que contiene un agente redox o un revestimiento soluble que contiene un mediador, como un revestimiento que contiene ferrocianuro) que está dispuesto sobre la superficie inferior de la capa superior. Asimismo, al menos la capa separadora impresa y la capa superior definen o delimitan una cámara de recepción de muestras situada en la tira de prueba analítica basada en la electroquímica. Además, el revestimiento soluble electroquímicamente activo está dispuesto sobre la superficie oculta o inferior de la capa superior y está situado al menos en una parte de la cámara de recepción de muestras y enfrente de los electrodos desnudos.

[0036] La determinación de un analito en una muestra de fluido corporal -como la determinación de glucosa en una

muestra de sangre entera- utilizando tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica puede ser susceptible de errores o imprecisiones de determinación que se deben a la variación de las características de la muestra de sangre entera. Por ejemplo, se sabe que el hematocrito de las muestras de sangre entera afecta a la precisión y exactitud de la determinación de glucosa en muestras de sangre entera.

5 [0037] Las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con las realizaciones de la presente invención son beneficiosas porque, por ejemplo, el revestimiento soluble electroquímicamente activo provoca una respuesta electroquímica (como una respuesta de corriente) en el electrodo desnudo que puede usarse para compensar (es decir, para corregir) las respuestas electroquímicas de los electrodos cubiertos de reactivo enzimático influidas por el hematocrito u otras muestras de fluidos corporales que afectan a la tasa o ritmo de difusión del componente soluble electroquímicamente activo del revestimiento, como la temperatura y la viscosidad. Se ha hipotetizado, sin que esto sea vinculante, que un componente electroquímicamente activo (como un mediador o un agente redox) del revestimiento soluble electroquímicamente activo se difunde por una muestra de fluido corporal a un ritmo que depende del hematocrito y que, por tanto, el momento (o 'timing') y/o la magnitud de la respuesta electroquímica en el electrodo desnudo es una medición indirecta del hematocrito y que, por tanto, puede utilizarse de manera beneficiosa para mejorar la precisión de la determinación de analitos.

10 [0038] Las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con la presente invención también son beneficiosas porque solo requieren un único electrodo, haciendo posible de este modo una cámara receptora de muestras que tiene un volumen ventajosamente pequeño. Sin embargo, si se desea obtener una mayor redundancia o aumentar la precisión, en las realizaciones de la presente invención pueden usarse diversos electrodos desnudos. Además, la respuesta electroquímica del electrodo desnudo puede ser, por ejemplo, un transitorio de corriente que se mide de manera simple y económica utilizando los circuitos de medición de corriente de un medidor convencional.

15 [0039] La Figura 1 (FIG.1) es una vista simplificada en perspectiva despiezada de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 de acuerdo con una realización de la presente invención. La Figura 2 es una vista en perspectiva simplificada de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100. La Figura 3 es una vista lateral transversal simplificada de una parte de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 tomada a lo largo de la línea A-A de la Figura 2.

20 [0040] En referencia a las Figuras 1-3, la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 para la determinación de un analito (como glucosa) en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre entera) comprende una capa base eléctricamente aislante 110, una capa estampada o impresa eléctricamente conductora 120, una capa aislante impresa opcional 130, capas reactivas enzimáticas 140a y 140b, una capa separadora estampada o impresa 150, un revestimiento soluble electroquímicamente activo 160, y una capa superior 170 que está compuesta de una subcapa hidrofílica impresa 172 y una cinta superior 174. Así, la subcapa hidrofílica impresa 172 de la capa superior 170 tiene una superficie oculta o inferior 176 (ver Figura 3 en particular).

25 [0041] La capa impresa eléctricamente conductora 120 está dispuesta sobre la capa base eléctricamente aislante 110 e incluye diversos electrodos (esto es, electrodos desnudos 122 y 124 y electrodos recubiertos de reactivo enzimático 126, 127 y 128, tal y como se describe con más detalle en el presente documento). Las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b están dispuestas sobre una parte de la capa impresa eléctricamente conductora 120 para definir o delimitar los electrodos desnudos 122 y 124 y los electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos 126, 127 y 128 (ver la Figura 3 en particular, donde, para simplificar, las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b se representan como una sola capa). El revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 está dispuesto sobre la superficie oculta o inferior 176 de la capa superior 170 y está situado al menos en una parte de la cámara de recepción de muestras 180 y enfrente de los electrodos desnudos 122 y 124 (ver la Figura 3 en particular).

30 [0042] En la realización de las Figuras 1-3, al menos la capa separadora impresa y la capa superior definen o delimitan una cámara de recepción de muestras 180 contenida en la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 (ver la Figura 3 en particular, donde se representa con una flecha la introducción de una muestra de fluido corporal -es decir, sangre- en la cámara de recepción de muestras 180).

35 [0043] La capa base eléctricamente aislante 110 puede ser cualquier capa base eléctricamente aislante adecuada que resulte conocida para una persona versada en la materia, incluyendo, por ejemplo, una capa base de nailon, una capa base de policarbonato, una capa base de poliimida, una capa base de polivinilcloruro (o policloruro de vinilo), una capa base de polietileno, una capa base de polipropileno, una capa base de poliéster glicolado (PETG) o una capa base de poliéster. La capa base eléctricamente aislante puede tener cualesquiera dimensiones adecuadas, incluyendo, por ejemplo, una anchura de alrededor de 5 mm, una longitud de alrededor de 27 mm y un grosor de alrededor de 0,5 mm.

40 [0044] La capa base eléctricamente aislante 110 proporciona una estructura a la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 para facilitar su manejo y también sirve como base para la aplicación (por ejemplo, impresión o colocación) de capas posteriores (por ejemplo, una capa impresa eléctricamente conductora).

45 [0045] Los electrodos recubiertos de reactivo enzimático 126, 127 y 128 pueden estar configurados, por ejemplo, de

manera que el electrodo reactivo enzimático 126 funcione como contraelectrodo/electrodo de referencia, el electrodo recubierto de reactivo enzimático 127 funcione como un primer electrodo de trabajo y el electrodo recubierto de reactivo enzimático 128 funcione como un segundo electrodo de trabajo, respectivamente. Si bien, por motivos explicativos, la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 se representa como si comprendiera un total de tres electrodos recubiertos de reactivo enzimático, las realizaciones de tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica, incluyendo las realizaciones de la presente invención, pueden incluir cualquier número adecuado de estos electrodos.

[0046] Los electrodos desnudos 122 y 124 y los electrodos recubiertos de reactivo enzimático 126, 127 y 128 de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 pueden estar hechos de cualquier material conductor adecuado, incluyendo, por ejemplo, oro, paladio, platino, indio, aleaciones de titanio-paladio y materiales eléctricamente conductores basados en el carbono, incluyendo tintas de carbono. Debe entenderse que las capas impresas eléctricamente conductoras que se emplean en las tiras de prueba analíticas de acuerdo con las realizaciones de la presente invención pueden adoptar cualquier forma adecuada y estar hechas de cualquier material adecuado, incluyendo, por ejemplo, materiales metálicos y materiales conductores de carbono.

[0047] Refiriéndonos de manera particular a las Figuras 1 y 3, la configuración y la disposición de los electrodos recubiertos de reactivo enzimático 126, 127 y 128 y las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b son tales que la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 está diseñada o configurada para la determinación electroquímica de un analito (como glucosa) en una muestra de fluido corporal (como, por ejemplo, una muestra de sangre entera con un contenido de hematocrito fisiológico) que se haya depositado en la cámara de recepción de muestras 180.

[0048] La capa reactiva enzimática 140 está dispuesta solo sobre una parte de la capa impresa eléctricamente conductora 120, de manera que se definen o delimitan los electrodos desnudos 122 y 124 (ver Figura 3). Sólo se requiere un único electrodo (es decir, uno) en las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con las realizaciones de la presente invención. Sin embargo, la realización de las Figuras 1-3 incluye dos electrodos desnudos por motivos de redundancia.

[0049] Las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b pueden incluir cualquier reactivo enzimático adecuado, de manera que la selección de los reactivos enzimáticos depende del analito que se ha de determinar. Por ejemplo, si se va a determinar la glucosa en una muestra de sangre, las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b pueden incluir una glucosa oxidasa o una glucosa deshidrogenasa junto con otros componentes necesarios para un funcionamiento funcional. Las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b pueden incluir, por ejemplo, glucosa oxidasa, citrato de trisodio, ácido cítrico, alcohol de polivinilo, hidroxil etil celulosa, ferricianuro de potasio, ferrocianuro de potasio, antiespuma, sílice pirógena (con o sin una modificación de la superficie hidrofóbica), PVPVA y agua. En las Patentes de EE. UU. n^{os} 6,241,862 y 6,733,655 se ofrecen más detalles en relación con las capas reactivas y las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica en general. Debe entenderse que la cantidad de material ácido empleado en los reactivos enzimáticos (como el ácido cítrico y el citrato de trisodio mencionados anteriormente) no es suficiente para reducir el pH de una muestra de fluido corporal hasta los niveles necesarios para proporcionar de manera beneficiosa unos efectos interferentes reducidos.

[0050] La capa separadora impresa 150 puede estar hecha, por ejemplo, a partir de un adhesivo serigrafiable (o imprimible por serigrafía) sensible a la presión que está disponible comercialmente de la mano de Apollo Adhesives, Tamworth, Staffordshire, Reino Unido. En la realización de las Figuras 1-3, la capa separadora impresa 150 delimita las paredes exteriores de la cámara de recepción de muestras 180. La capa separadora impresa 150 puede tener un grosor de, por ejemplo, aproximadamente 75 micras, ser eléctricamente no conductora y estar hecha de un material de poliéster con un adhesivo acrílico sensible a la presión en la parte superior e inferior.

[0051] El revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 está dispuesto en la superficie oculta 176 de la subcapa hidrofílica impresa 172 de la capa superior 170 en al menos una parte de la cámara de recepción de muestras 180, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 está situado sobre los electrodos desnudos 122 y 124. Además, el revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 se puede disolver operativamente en la muestra de fluido corporal de manera que, durante el uso de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100, un componente electroquímicamente activo (como un mediador o un agente redox) del revestimiento soluble electroquímicamente activo se dispersará desde las cercanías de la superficie oculta 176 a los electrodos desnudos 122 y 124 provocando una respuesta electroquímica en los electrodos desnudos 122 y 124. Puesto que la tasa o ritmo de difusión del componente electroquímicamente activo depende, por ejemplo, del hematocrito de la muestra de fluido corporal, el 'timing' y la magnitud de la respuesta electroquímica dependerán del hematocrito de la muestra de fluido corporal. La respuesta electroquímica puede usarse en un algoritmo adecuado a fin de determinar el hematocrito, y/o compensar el efecto del hematocrito sobre la determinación de la glucosa, basándose en la respuesta electroquímica de los electrodos recubiertos de reactivo enzimático 126, 127 y 128.

[0052] Debe entenderse que, en la realización de las Figuras 1-3, el revestimiento soluble electroquímicamente activo está relacionado con (es decir, enfrente de) los electrodos desnudos 122 y 124, pero no está enfrente de los electrodos recubiertos de agente enzimático 126, 127 y 128. Por lo tanto, el revestimiento soluble

electroquímicamente activo 160 no afecta de manera significativa a la respuesta electroquímica de los electrodos recubiertos de agente enzimático 126, 127 y 128. Además, el revestimiento soluble electroquímicamente activo carece de enzimas, de manera que se elimina cualquier efecto -dependiente de la concentración de analitos- que el reactivo enzimático pueda tener sobre la respuesta electroquímica de los electrodos desnudos.

[0053] El revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 puede contener cualquier componente electroquímicamente activo adecuado que pueda soportar o experimentar una reacción redox con el potencial de trabajo del (de los) electrodo(s) desnudo(s), incluyendo, por ejemplo, las formas reducidas u oxidadas de mediadores enzimáticos como ferricianuro de potasio, ferrocenos solubles en agua, sales de ferrocinio solubles en agua, complejos de osmio, quinonas (como hidroquinona, benzoquinona, fenantroquinonas y derivados de estas), derivados de fenotiazina y azul de Meldola. Además, el componente electroquímicamente activo puede ser un agente redox capaz de soportar al menos una oxidación de electrodos o una reducción de electrodos. Estos agentes redox incluyen, por ejemplo, yodina, sales de tiosulfato, sales metálicas oxidables y solubles como nitratos, cloruros, sulfatos y fosfatos de plata y cobre junto con otros metales de transición, complejos de manganeso (por ejemplo, permanganato de potasio) o cromo (por ejemplo, dicromato de potasio), sales de hipoclorito, amonio y sales de aminas orgánicas, y compuestos orgánicos insaturados como anhídrido maleico. Normalmente, el revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 carece de enzimas para evitar crear una respuesta dependiente de los analitos en los electrodos desnudos.

[0054] El revestimiento soluble electroquímicamente activo 160 y el -al menos un- electrodo de la capa impresa eléctricamente conductora están separados por una distancia vertical en un rango de, por ejemplo, entre aproximadamente 50 micras y aproximadamente 150 micras en la cámara de recepción de muestras. Si se desea evitar compensar la respuesta de fondo, el revestimiento soluble electroquímicamente activo puede estar separado respecto a los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático por una distancia en un rango de entre, por ejemplo, 150 micras y 450 micras.

[0055] La capa superior 170 puede ser, por ejemplo, una película transparente con propiedades hidrofílicas que estimula el humedecimiento y el llenado de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 con una muestra de fluido (por ejemplo, una muestra de sangre entera). Estas películas transparentes están disponibles comercialmente, por ejemplo, de la mano de 3M de Mineápolis, Minnesota, Estados Unidos, y Coveme (San Lazzaro di Savena, Italia). Por ejemplo, la capa superior 170 puede ser una película de poliéster recubierta con un surfactante que proporciona un ángulo de contacto hidrofílico de <10 grados. La capa superior 170 también puede ser una película de polipropileno recubierta con un surfactante u otro tratamiento superficial. En este caso, el revestimiento de surfactante sirve de subcapa hidrofílica impresa 172. Además, si así se desea, el revestimiento soluble de material ácido puede prepararse como un revestimiento hidrofílico y servir también como subcapa hidrofílica impresa. Por ejemplo, la capa superior 170 puede tener un grosor de aproximadamente 100 µm.

[0056] La tira de prueba analítica basada en la electroquímica 100 puede fabricarse, por ejemplo, mediante la formación secuencial alineada de la capa eléctricamente conductora 120, la capa aislante impresa 130, las capas reactivas enzimáticas 140a y 140b, la capa separadora impresa 150, la capa que contiene un mediador 160 y la subcapa impresa hidrofílica 172 en la capa base eléctricamente aislante 110. Pueden usarse cualesquiera técnicas adecuadas -que resulten conocidas para una persona versada en la materia- para obtener esta formación secuencial alineada, incluyendo, por ejemplo, la serigrafía, la fotolitografía, el fotograbado, la colocación química de vapor y las técnicas de laminación de cinta.

[0057] La Figura 4 es una representación gráfica de los transitorios de corriente de una respuesta electroquímica de un electrodo desnudo de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con la presente invención. La Figura 4 representa los transitorios de corriente de una respuesta electroquímica en relación con una muestra de sangre entera con tres concentraciones diferentes de hematocrito. La Figura 5 es una representación gráfica del sesgo -o margen de error- de medición de una determinación de glucosa para una tira de prueba analítica basada en la electroquímica y una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con la presente invención. En la Figura 5, el sesgo o margen de error para la tira de prueba analítica convencional basada en la electroquímica se marca como 'uncorrected' ('sin corregir') y el sesgo o margen de error para la tira de prueba analítica basada en la electroquímica de acuerdo con la presente invención se marca como 'corrected' ('corregido'). La etiqueta 'corrected' hace referencia a la corrección de la determinación de glucosa basándose en la respuesta electroquímica del electrodo desnudo tras la introducción de una muestra de sangre entera en la cámara de recepción de muestras, tal y como se describe en el presente documento.

[0058] Las versiones prototípicas de las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con una realización de la presente invención, y tal y como se representa en las Figuras 1-3, se crearon de la siguiente manera. Se añadió ferrocianuro (obtenido comercialmente de la mano de Sigma-Aldrich) a un 'buffer' o amortiguador de fosfato de 0,1 M (que incluía fosfato de potasio dibásico y monobásico obtenidos comercialmente de la mano de Sigma-Aldrich) para crear una solución de ferrocianuro de 250 mM con un pH neutro. Después se añadió hidroxietilcelulosa (HEC, disponible comercialmente de la mano de Ashlnd UK Ltd., Reino Unido), un agente espesante o aglutinante, en una medida de 0,1 g por cada 10 ml de solución para aumentar la viscosidad de la solución de ferrocianuro. Posteriormente, la solución de ferrocianuro se aplicó a una capa superior (la capa 170 de

las Figuras 1-3) de manera que quedara enfrente de los electrodos desnudos 122 y 124 solamente y se dejó secar. El revestimiento con ferrocianuro preparado de este modo tenía aproximadamente 2 micras de grosor. Después, la capa superior con el revestimiento que contenía ferrocianuro se usó para fabricar tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con la presente invención, usando para ello técnicas de fabricación estándares para tejidos.

[0059] Se usaron prototipos para recoger las respuestas electroquímicas de los electrodos desnudos y los electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos tras la introducción de muestras de sangre entera en los prototipos y la aplicación de una corrección de 400 mV a los prototipos. Las muestras de sangre entera mostraron unos niveles de hematocrito de un 20%, un 42% y un 60%, lo cual es típico de niveles de hematocrito fisiológicos. La Figura 4 representa los transitorios de respuesta electroquímica para los electrodos desnudos.

[0060] Los datos de la Figura 4 demuestran una clara diferencia en la respuesta de corriente electroquímica entre los tres niveles de Hct (hematocrito) con un tiempo de medición de 5 segundos, de manera que la muestra con el Hct más bajo provocó la respuesta de corriente más grande y la muestra con el Hct más alto provocó la respuesta de corriente más pequeña. Esto indica que la difusión de ferrocianuro desde el revestimiento que contiene ferrocianuro (esto es, el revestimiento soluble electroquímicamente activo) hasta la superficie del electrodo desnudo puede usarse como medida de Hct. Además, la respuesta de glucosa (esto es, la respuesta electroquímica de los electrodos recubiertos de reactivo enzimático; no se muestra en la Figura 4) no se vio afectada por el revestimiento que contenía ferrocianuro.

[0061] Los datos de la respuesta electroquímica de los electrodos desnudos y de la glucosa de los electrodos recubiertos de reactivo enzimático se usaron para calcular un valor de corriente corregido que, a su vez, se usó para eliminar el efecto del Hct de una determinación de glucosa del siguiente modo. Primero, se calculó un factor de corrección utilizando el siguiente algoritmo:

$$I_{corr} = I_{WE} - C_1(I_{hct} - C_2)$$

donde:

I_{corr} = la corriente corregida utilizada para calcular la glucosa medida;

I_{WE} = la corriente sumada medida en los dos electrodos de trabajo recubiertos de reactivo enzimático en cinco segundos (que depende tanto del Hct como de la glucosa)

I_{hct} = la corriente medida en un electrodo desnudo en cinco segundos (que depende del Hct, pero no depende del analito -glucosa-)

$C_1 = 0,45$, un coeficiente determinado de manera experimental; y

$C_2 = 1,5$, otro coeficiente determinado de manera experimental.

[0062] Los coeficientes C_1 y C_2 se determinaron en la zona o región de respuesta electroquímica con mayor sensibilidad al hematocrito. En la práctica, si así se desea, el algoritmo también podría incluir umbrales basados en I_{WE} , de manera que, cuando I_{WE} está por debajo de un valor crítico predeterminado, no se aplicaría una corrección. Cuando I_{WE} está por encima de un valor umbral predeterminado, se podría aplicar una corrección menos agresiva que utilice valores alternativos de C_1 y C_2 .

[0063] Después, la concentración de glucosa determinada (medida) se calculó a partir de la corriente corregida utilizando la pendiente y el intercepto de una relación de I_{WE} vs concentración de glucosa que se obtuvieron analizando sangre con glucosa añadida, con un Hct nominal, del siguiente modo:

$$\text{Glucosa medida} = (I_{corr} - \text{intercepto de glucosa}) / (\text{pendiente de glucosa})$$

[0064] Después, el valor corregido de la glucosa se comparó con una medición de glucosa determinada mediante un instrumento de laboratorio YSI y se calculó el sesgo o margen de error entre los dos valores. Este sesgo se representa en la Figura 5 tanto para las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con la presente invención como para las tiras de prueba analíticas convencionales basadas en la electroquímica. Los datos de la Figura 5 indican que el uso de tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con la presente invención y de los algoritmos descritos más arriba proporciona una ventajosa pendiente plana del sesgo vs el Hct (es decir, el impacto del Hct se ha compensado), mientras que las tiras de prueba analíticas convencionales basadas en la electroquímica, en ausencia de cualquier algoritmo corrector, muestran una pendiente significativa.

[0065] La Figura 6 es un diagrama de flujo que representa las fases de un método 200 para determinar un analito (como glucosa) en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre entera que contiene un nivel fisiológico de hematocrito) de acuerdo con una realización de la presente invención. En el paso 210, el método 200 incluye introducir una muestra de fluido corporal en la cámara de recepción de muestras de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica, de manera que la tira de prueba analítica basada en la electroquímica

comprende una capa superior con una superficie oculta o inferior, al menos un electrodo desnudo situado en la cámara de recepción de muestras, y un revestimiento soluble electroquímicamente activo dispuesto sobre la superficie oculta. Al menos una parte del revestimiento soluble electroquímicamente activo está situado en la cámara de recepción de muestras y dispuesto enfrente del -al menos un- electrodo desnudo. Asimismo, la introducción de la muestra de fluido corporal se produce de tal manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo se disuelve operativamente en la muestra de fluido corporal.

[0066] En el paso 220 del método 200, se detecta una respuesta electroquímica (como una respuesta de corriente transitoria) del -al menos un- electrodo desnudo de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica utilizando un medidor asociado. Después, se determina un analito en la muestra de fluido corporal basándose en parte en la respuesta electroquímica detectada del -al menos un- electrodo desnudo (ver paso 230 de la Figura 6).

[0067] Después de informarse acerca de la presente invención, una persona versada en la materia se percatará de que el método 200 puede modificarse fácilmente para incorporar cualquiera de las técnicas, beneficios, propiedades y características de las tiras de prueba analíticas basadas en la electroquímica de acuerdo con las realizaciones de la presente invención y que se han descrito en el presente documento.

[0068] Si bien las realizaciones preferidas de la presente invención se han descrito y demostrado en el presente documento, para las personas versadas en la materia resultará evidente que dichas realizaciones se proporcionan únicamente a modo de ejemplo. A aquellas personas versadas en este campo se les ocurrirán numerosas variaciones, sustituciones y cambios sin apartarse por ello de la invención. Debe entenderse que, al poner en práctica la invención, pueden emplearse diversas alternativas a las realizaciones de la invención descritas en el presente documento. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan o delimiten el alcance de la invención y que, asimismo, abarquen los dispositivos y los métodos que se encuentran dentro del alcance de dichas reivindicaciones y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1. Una tira de prueba analítica basada en la electroquímica para determinar un analito en una muestra de sangre, de manera que la tira de prueba analítica basada en la electroquímica comprende:
- 5 una capa base eléctricamente aislante (110);
una capa estampada o impresa eléctricamente conductora (120) que está dispuesta sobre la capa base eléctricamente aislante y que incluye diversos electrodos; una capa reactiva enzimática (140a, 140b) dispuesta sobre una parte de la capa conductora impresa a fin de definir o delimitar al menos un electrodo desnudo (o electrodo descubierto) (122, 124) y diversos electrodos recubiertos de reactivos enzimáticos (126, 127, 128) de los diversos electrodos;
- 10 una capa separadora estampada o impresa (150);
una capa superior (170) que tiene una superficie oculta o inferior (176); y
un revestimiento soluble electroquímicamente activo (160) sobre la superficie oculta de la capa superior;
- 15 de manera que al menos la capa separadora impresa y la capa superior definen o delimitan una cámara de recepción de muestras (180) situada en la tira de prueba analítica basada en la electroquímica;
de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo está dispuesto sobre la superficie oculta o inferior de la capa superior y está situado al menos en una parte de la cámara de recepción de muestras y enfrente del (de los) -al menos un- electrodo(s) desnudo(s) y no está enfrente de los diversos electrodos recubiertos de reactivo; y
de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo carece de enzimas.
2. La tira de prueba analítica basada en la electroquímica de la reivindicación 1, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo está dispuesto enfrente del -al menos un- electrodo desnudo y está separado de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático, preferiblemente por una distancia que está en un rango de entre 150 micrómetros y 450 micrómetros.
- 25 3. La tira de prueba analítica basada en la electroquímica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, de manera que el -al menos un- electrodo desnudo está configurado para generar una respuesta de corriente tras la introducción de una muestra de sangre en la cámara de recepción de muestras que puede medirse mediante un medidor asociado.
- 30 4. La tira de prueba analítica basada en la electroquímica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, de manera que al menos la capa superior y el revestimiento soluble electroquímicamente activo están integrados de manera que forman una cinta superior de diseño.
- 35 5. La tira de prueba de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo contiene al menos un mediador enzimático y/o un agente redox (o agente rédox).
- 40 6. La tira de prueba de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo y el -al menos un- electrodo desnudo de la capa impresa eléctricamente conductora están separados por una distancia vertical, que está en un rango de entre 50 micrómetros y 150 micrómetros, en la cámara de recepción de muestras.
- 45 7. Un método para utilizar una tira de prueba analítica, de manera que el método comprende:
- introducir una muestra de sangre en la cámara de recepción de muestras de una tira de prueba analítica basada en la electroquímica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6;
- 50 de manera que la introducción es tal que el revestimiento soluble electroquímicamente activo se disuelve operativamente en la muestra de sangre; detectar una respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo de la tira de prueba analítica basada en la electroquímica; y
determinar un analito en la sangre basándose en parte en la respuesta electroquímica detectada del -al menos un- electrodo desnudo.
- 55 8. El método de la reivindicación 7, de manera que la detección de una respuesta electroquímica también incluye la detección de una respuesta electroquímica de los diversos electrodos recubiertos de reactivo enzimático.
9. El método de la reivindicación 7 o la reivindicación 8, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo contiene al menos un mediador enzimático y/o un agente redox.
- 60 10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, de manera que la respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo es una respuesta de corriente.
- 65 11. El método de la reivindicación 10, de manera que la muestra de sangre es una muestra de sangre entera y la respuesta de corriente del -al menos un- electrodo desnudo depende del hematocrito de la muestra de sangre entera.

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, de manera que la respuesta electroquímica del -al menos un- electrodo desnudo es independiente de la concentración de analito(s) de la muestra de sangre.

5 13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, de manera que la muestra de sangre es una muestra de sangre entera y/o de manera que el analito es glucosa.

10 14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13, de manera que el revestimiento soluble electroquímicamente activo y el -al menos un- electrodo desnudo de la capa impresa eléctricamente conductora están separados por una distancia vertical, que está en un rango de entre 50 micrómetros y 150 micrómetros, en la cámara de recepción de muestras.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

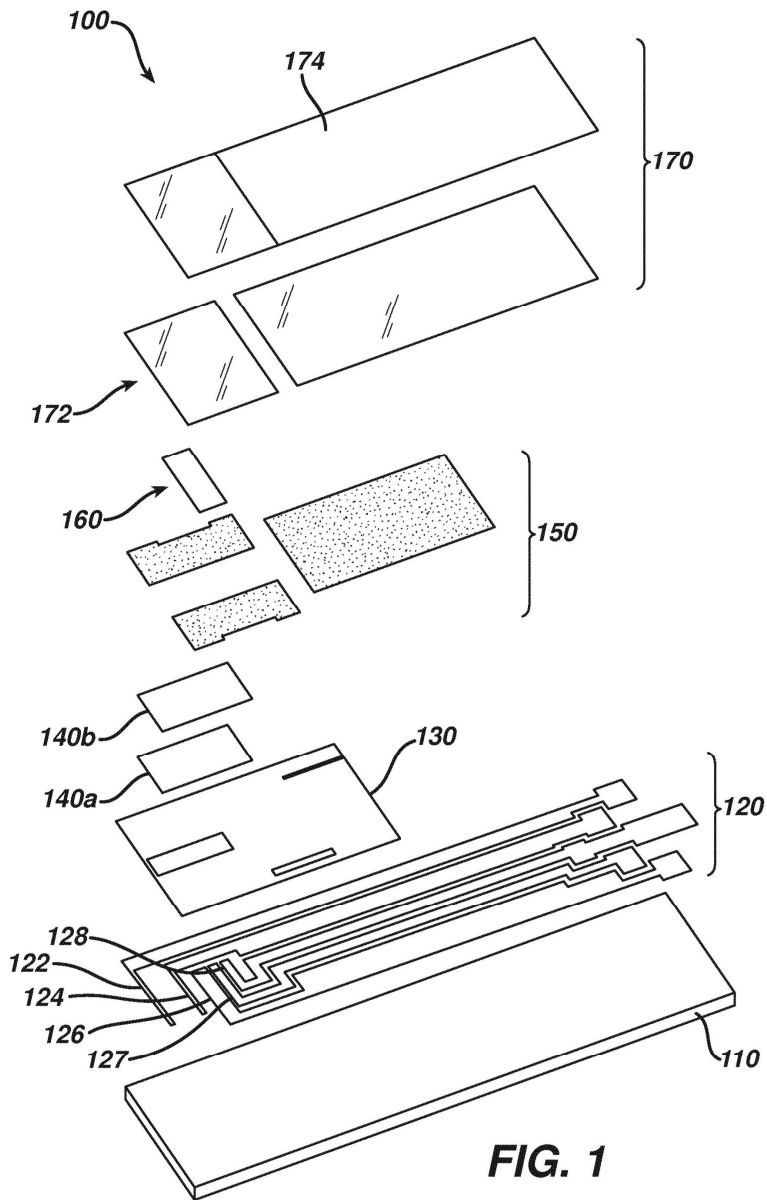


FIG. 1

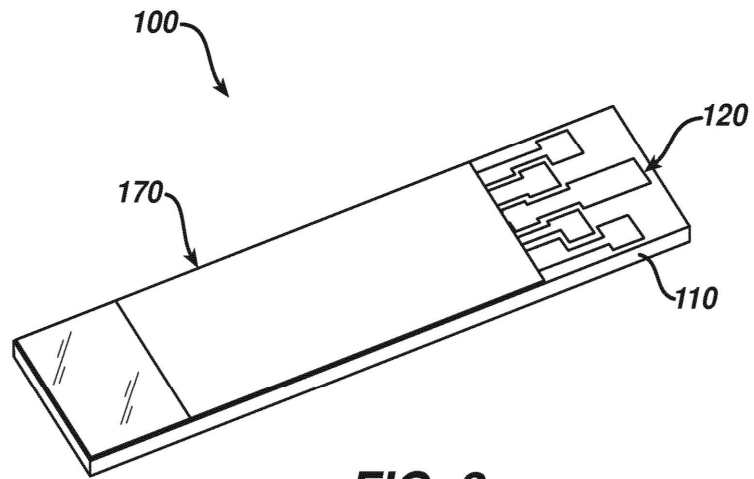


FIG. 2

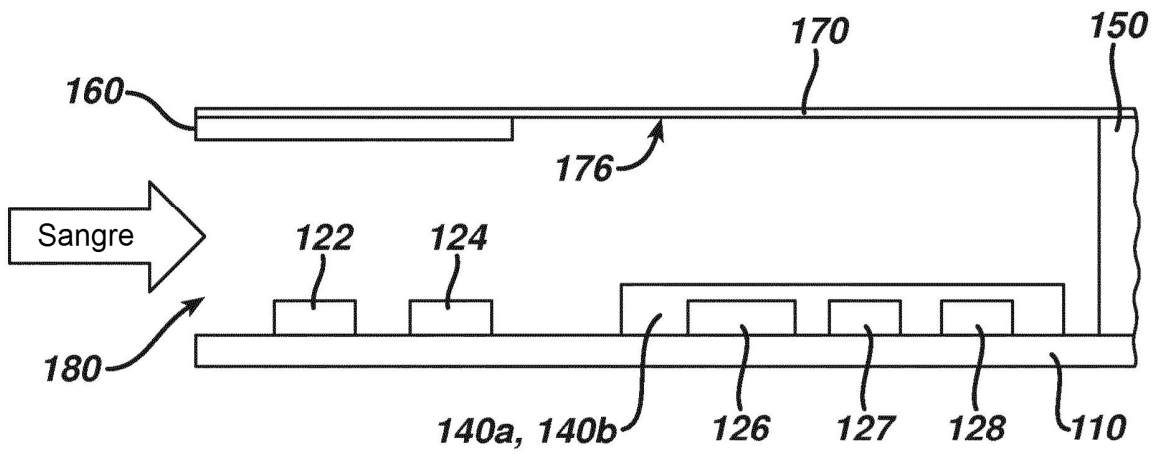


FIG. 3

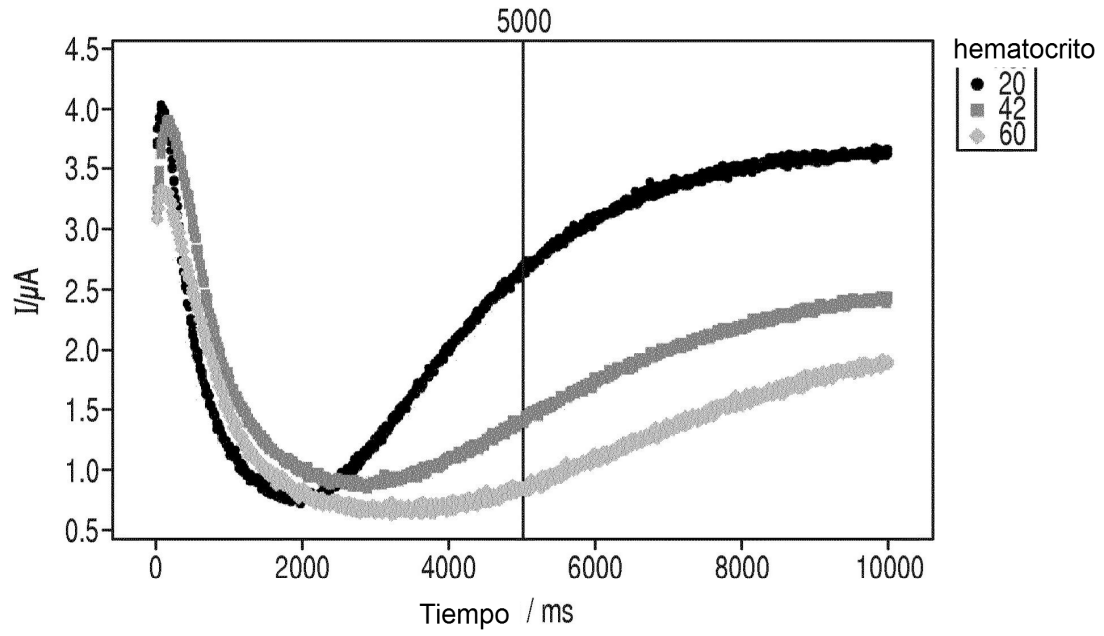


FIG. 4

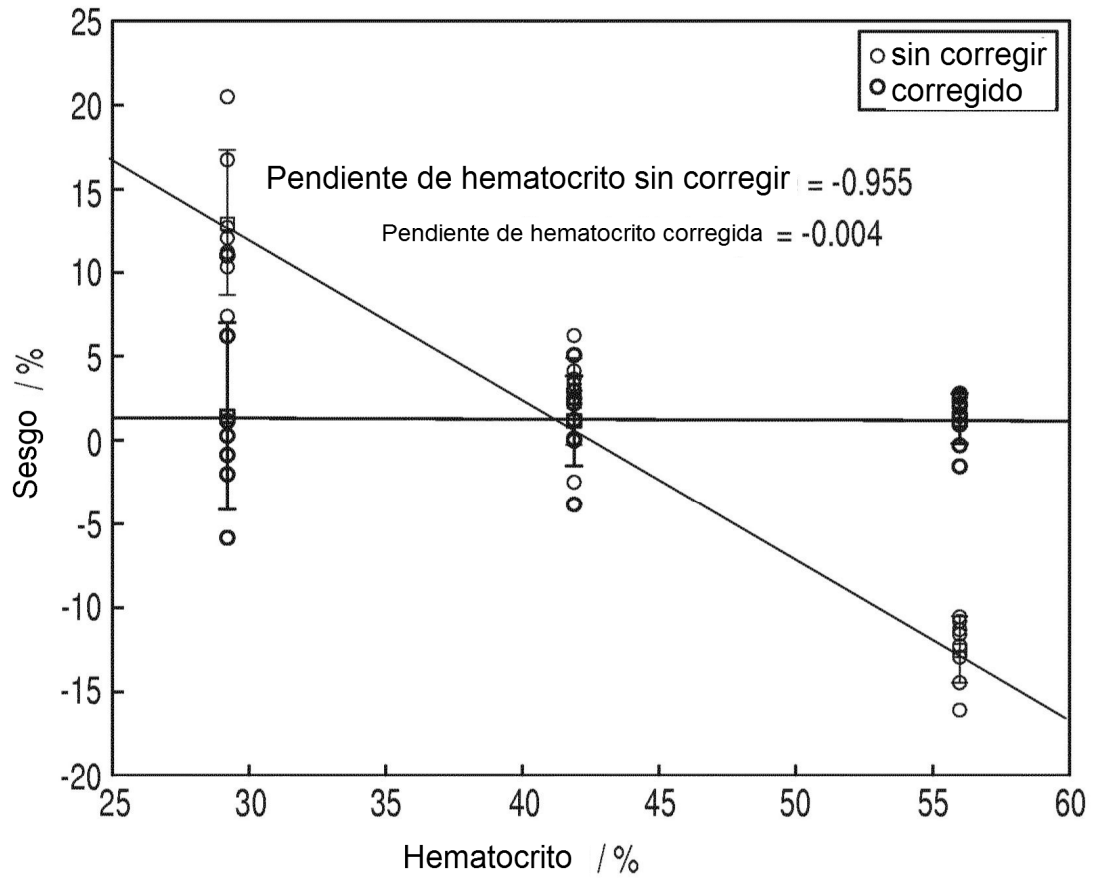


FIG. 5

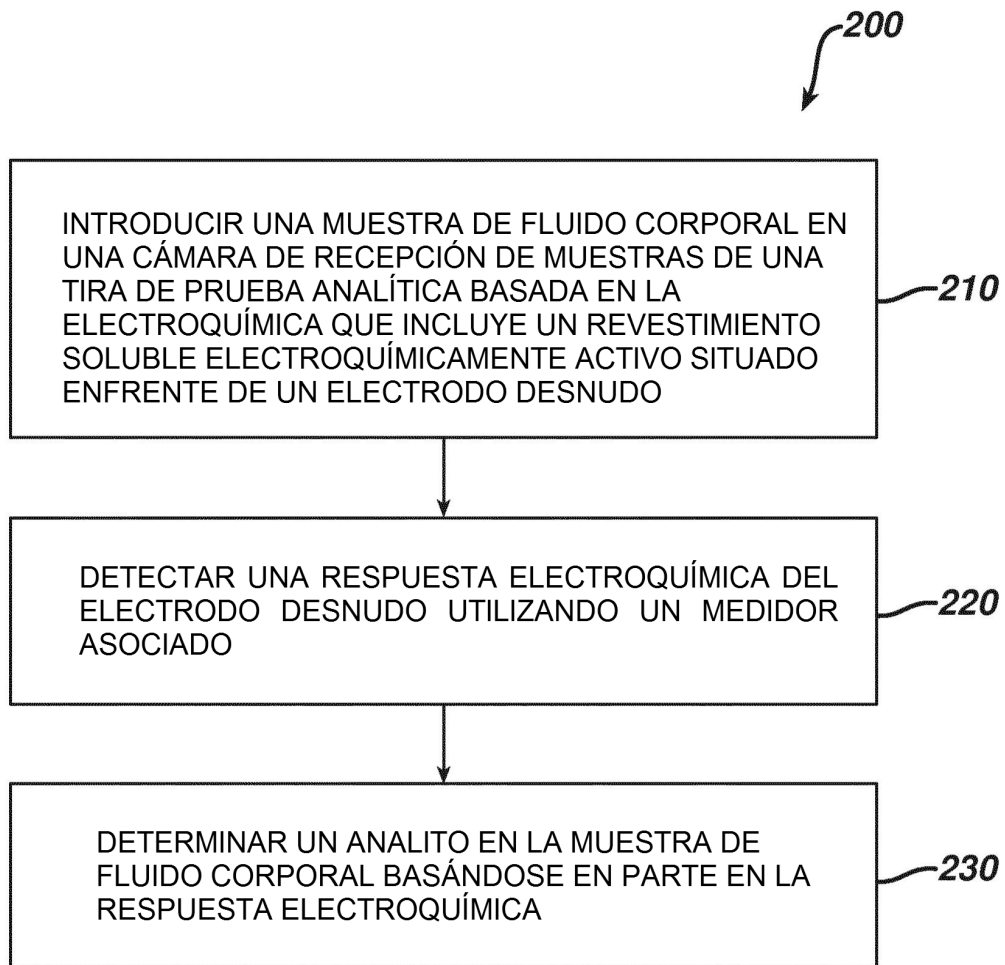


FIG. 6