

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 186**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.08.2012 PCT/EP2012/067028**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.03.2013 WO13030375**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2012 E 12766918 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2751554**

54 Título: **Medidas de glucosa corregidas de hematocrito para la tira de prueba electroquímica utilizando el diferencial de tiempo de señales**

30 Prioridad:

**02.09.2011 US 201161530795 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.04.2019**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MCCOLL, DAVID;  
SMITH, ANTONY y  
FARMAHAN, MANDIP**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 710 186 T3

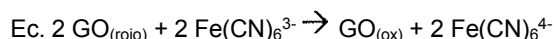
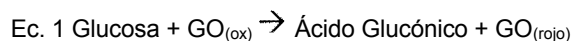
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

Medidas de glucosa corregidas de hematocrito para la tira de prueba electroquímica utilizando el diferencial de tiempo de señales

## ANTECEDENTES

[0001] Las tiras de prueba de glucosa electroquímica, como las que se usan en el kit de prueba de sangre completa OneTouch® Ultra®, que está disponible en LifeScan, Inc., están diseñadas para medir la concentración de glucosa en una muestra de sangre de pacientes con diabetes. La medición de la glucosa puede basarse en la oxidación selectiva de la glucosa por la enzima glucosa oxidasa (GO). Las reacciones que pueden ocurrir en una tira reactiva 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 glucosa oxidasa ( $\text{GO}_{(\text{ox})}$ ). Cabe señalar 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  $\text{GO}_{(\text{rojo})}$  de vuelta 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 las reacciones expuestas anteriormente se llevan a cabo con una tensión de prueba aplicada entre dos electrodos, se puede crear una corriente de prueba mediante la reoxidación 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 glucosa oxidasa 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, como resultado 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 la glucosa puede, por lo tanto, referirse como una corriente de glucosa.

[0004] Los biosensores electroquímicos pueden verse afectados negativamente por la presencia de ciertos componentes sanguíneos que pueden afectar de forma no deseada a la medición y dar lugar a imprecisiones en la señal detectada. Esta inexactitud puede dar como resultado una lectura incorrecta de la glucosa, por ejemplo, dejando al paciente inconsciente de un nivel de azúcar en la sangre potencialmente peligroso. Como ejemplo, el nivel de hematocrito en la sangre (es decir, el porcentaje de la cantidad de sangre que está ocupada por los glóbulos rojos) puede afectar erróneamente una medición de la concentración de analito resultante.

[0005] Las variaciones en un volumen de glóbulos rojos dentro de la sangre pueden causar variaciones en las lecturas de glucosa medidas con tiras reactivas electroquímicas. Típicamente, se observa un sesgo negativo (es decir, una concentración de analito calculada más baja) con un hematocrito alto, mientras que un sesgo positivo (es decir, una concentración de analito calculada más alta) se observa con un 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 difusión lenta del mediador. Estos factores pueden resultar en una lectura de glucosa inferior a la esperada ya que se produce menos corriente durante el proceso electroquímico. Por el contrario, con un hematocrito bajo, menos glóbulos rojos pueden afectar la reacción electroquímica de lo esperado, y puede dar lugar a una mayor corriente medida. Además, la resistencia de la muestra de sangre también depende del hematocrito, lo que puede afectar el voltaje y/o las mediciones de corriente.

[0006] Se han usado varias estrategias para reducir o evitar las variaciones basadas en el hematocrito en la glucosa en sangre. Por ejemplo, las tiras reactivas se han diseñado para incorporar mallas para eliminar los glóbulos rojos de las muestras, o han incluido varios compuestos o formulaciones diseñados para aumentar la viscosidad de los glóbulos rojos y atenuar el efecto del bajo hematocrito en las determinaciones de concentración. Otras tiras reactivas han incluido agentes de lisis y sistemas configurados para determinar la concentración de hemoglobina en un intento por corregir el hematocrito. Además, los biosensores se han configurado para medir el hematocrito midiendo las variaciones ópticas después de irradiar la muestra de sangre con luz, o midiendo el hematógeno en función de la función del tiempo de llenado de la cámara de muestra. Estos sensores tienen ciertas desventajas.

[0007] El documento US 2011/0139634 describe un método para detectar la concentración de analito en una muestra con corrección de hematocrito, utilizando una tira reactiva electroquímica.

## RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

[0008] Los solicitantes han descubierto varias realizaciones de una técnica para permitir una medición mejorada de la glucosa usando un diferencial de tiempo de las señales de entrada y salida a una cámara de biosensores electroquímicos.

[0009] En un aspecto, se proporciona un método para determinar una concentración de glucosa en una muestra de sangre. El método se puede lograr: depositando una muestra de sangre en una cámara de prueba de una tira reactiva que tenga al menos electrodos primero y segundo en contacto con un reactivo y electrodos tercero y cuarto que no estén en contacto con el reactivo; dirigir una señal no oscilante a los al menos electrodos primero y segundo para provocar una reacción con la glucosa en la muestra de sangre y el reactivo; medir una salida de corriente de la reacción para establecer una concentración preliminar de glucosa; aplicar una primera señal de entrada oscilante en una primera frecuencia a los electrodos tercero y cuarto; detectar una primera señal de salida oscilante de los electrodos tercero y cuarto; medir un primer diferencial de tiempo entre la primera entrada y la salida de las señales oscilantes; aplicar una segunda señal de entrada oscilante a una segunda frecuencia a los electrodos tercero y cuarto; detectar una segunda señal de salida oscilante de los electrodos tercero y cuarto; medir un segundo diferencial de tiempo entre la primera entrada y la salida de las señales oscilantes; estimación de un hematocrito de la muestra de sangre basada en los diferenciales de primera y segunda vez; y derivar una concentración de glucosa final basada en la concentración de glucosa preliminar y el hematocrito de la etapa de estimación. En una variación de este método, una primera frecuencia puede ser de aproximadamente 25.000 Hertz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 100kiloHertz a 1MegaHertz, y preferiblemente de aproximadamente 250 kiloHertz y

la estimación puede incluir la aplicación de una ecuación de la forma:

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

en donde cada uno de  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  puede incluir un constante operativo para la tira de prueba, y se basan en los parámetros de fabricación en función del diseño de la tira.

[0010] En otra variación, la medición de una salida de corriente para la concentración de glucosa preliminar se realiza antes de la estimación del hematocrito. En una variación adicional, una derivación puede incluir el cálculo de

la concentración de glucosa final  $G_F$  desde:  
una

$$G_F = \frac{\left( \frac{I_E}{1 - k(HCT_{EST} - h_0)} \right) - c_3}{m_3}$$

en donde  $I_E$  puede incluir

magnitud de la corriente de extremo medida;  $HCT_{EST}$  puede incluir el hematocrito;  $h_0$  puede incluir hematocrito nominal, y  $k$ ,  $m_3$  y  $c_3$  comprenden parámetros a partir de datos de regresiones.

[0011] 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 las realizaciones ejemplares de la invención en conjunción con los dibujos adjuntos que se describen brevemente a continuación.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0012] Los dibujos adjuntos, que se incorporan aquí y constituyen parte de esta especificación, ilustran realizaciones actualmente preferidas de la invención y, junto con la descripción general dada anteriormente y la descripción detallada dada a continuación, sirven para explicar las características de la invención (en donde los números iguales representan elementos similares), en los cuales:

La Fig. 1 ilustra un sistema de medición de analitos.

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

La Fig. 3A ilustra la tira de prueba 100 del sistema de la Fig. 1 en la que hay dos electrodos de corrección corriente arriba de los electrodos de medición.

La Fig. 3B ilustra una variación de la tira reactiva de la Fig. 3A en la que un electrodo de medición está dispuesto cerca de la entrada y el otro electrodo de medición está en el extremo terminal de la célula de prueba con los electrodos de medición dispuestos entre el par de electrodos de corrección.

Las Figs. 3C y 3D ilustran las variaciones de la Fig. 3A en las cuales los electrodos de corrección 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 de corrección.

Las Figs. 3E y 3F ilustran una disposición de electrodos de corrección similar a la de la Fig. 3A en la que el par de electrodos de corrección están próximos a la entrada de la cámara de prueba.

La Fig. 4A ilustra un gráfico del tiempo sobre el potencial aplicado a la tira de prueba de la Fig. 1.

La Fig. 4B ilustra un gráfico del tiempo sobre la corriente de salida de la tira de prueba de la Fig. 1.

La Fig. 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 retardo de tiempo entre las formas de onda.

La Fig. 6A ilustra las mediciones de glucosa que no se corrigen para demostrar el sesgo (eje vertical) contra el nivel de hematocrito (eje horizontal) de esas mediciones.

La Fig. 6B ilustra las mediciones de glucosa que se han corregido para demostrar la mejora en el sesgo (eje vertical) con respecto al nivel de hematocrito (eje horizontal).

## **MODOS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION.**

**[0013]** La siguiente descripción detallada debe leerse con referencia a los dibujos, en los cuales los elementos similares en los diferentes dibujos están numerados de manera 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 que un experto en la técnica realice y use la invención, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, incluyendo lo que se cree actualmente que es el mejor modo de llevar a cabo la invención.

**[0014]** Como se usa en este documento, los términos "aproximadamente" o "alrededor de" para cualquier valor o rango numérico indican una tolerancia dimensional adecuada que permite que la parte o colección de componentes funcione para su propósito previsto como se describe en el presente documento. 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 para uso humano, aunque el uso de sujeto de la invención en un paciente humano representa una realización preferida. Como se usa en este documento, "señal oscilante" incluye señales de voltaje o señales de corriente que, respectivamente, cambian la polaridad o la dirección alternativa de la corriente o son multidireccionales.

**[0015]** La Fig. 1 ilustra un medidor de prueba 200, para ensayar los niveles de glucosa en la sangre de un individuo con una tira de prueba producida por 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 ser en forma de botones, para el ingreso 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 realización de chequeos de salud, la condición de salud general y los niveles de ejercicio de un individuo. El medidor de prueba 200 también puede incluir una pantalla 204 que puede usarse para informar los niveles de glucosa medidos y para facilitar el ingreso de información relacionada con el estilo de vida.

**[0016]** 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 que se muestra 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 las entradas de la interfaz de usuario con los caracteres en la pantalla 204.

**[0017]** El medidor de prueba 200 se puede encender insertando una tira de prueba 100 en un conector de puerto de tira 220, presionando y sosteniendo 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 apagar quitando la tira reactiva 100, presionando y sosteniendo brevemente la primera entrada de la interfaz de usuario 206, navegando y seleccionando una opción de apagado del medidor desde la pantalla del menú principal, o no presionando ningún botón durante un tiempo predeterminado. La pantalla 104 puede incluir opcionalmente una luz de fondo.

**[0018]** En una realización, el medidor de prueba 200 puede configurarse 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 ejemplar, el medidor está configurado para no recibir una entrada de calibración de fuentes externas, como una interfaz de usuario (como las entradas 206, 210, 214), una tira de prueba insertada, una clave de código separada o una tira de códigos, puerto de datos 218. Esta entrada de calibración no es necesaria cuando todos los lotes de tiras reactivas tienen una característica de calibración sustancialmente uniforme. La entrada de calibración puede ser un conjunto de valores asignados a un lote de tiras reactivas en particular. Por ejemplo, la entrada de calibración puede incluir una pendiente de lote y un valor de intercepción de lote para un lote de tiras reactivas en particular. La entrada de calibraciones, como la pendiente del lote y los valores de intercepción, se pueden preestablecer dentro del medidor como se describe a continuación.

**[0019]** Con referencia a la Fig. 2, se muestra una disposición interna ejemplar del medidor de prueba 200. El medidor de prueba 200 puede incluir un procesador 300, que en algunas realizaciones descritas e ilustradas aquí es un microcontrolador RISC de 32 bits. En las realizaciones preferidas descritas e ilustradas aquí, el procesador 300 se selecciona preferiblemente de la familia MSP 430 de microcontroladores de potencia ultra baja fabricados por Texas Instruments de Dallas, Texas. El procesador puede conectarse bidireccionalmente a través de los puertos de E/S 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 de E/S 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 se puede conectar al procesador 300, lo que permite la transferencia de datos entre 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 la pendiente del lote y los valores de intercepción del lote, durante la producción del medidor de prueba 200. El procesador 300 puede acceder y utilizar esta información de calibración precargada al recibir una señal adecuada (como la corriente) desde la tira a través del conector 220 del puerto de la tira para calcular el nivel de analito correspondiente (como la concentración de glucosa en la sangre) usando la señal y la información de calibración sin recibir la entrada de calibración de ninguna fuente externa.

**[0020]** En las realizaciones descritas e ilustradas en el presente documento, el medidor de prueba 200 puede incluir un Circuito Integrado Específico de la Aplicación (ASIC) 304, para proporcionar un circuito electrónico utilizado en las mediciones del nivel de glucosa en sangre que se ha aplicado a una tira de prueba 100 insertada en conector 220 del puerto de la tira. Las tensiones analógicas pueden pasar hacia y desde el ASIC 304 a través 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 el código de la computadora), una RAM 312 y un reloj 318. En una realización, el procesador 300 está configurado (o programado) para deshabilitar todas las entradas de la interfaz de usuario, excepto una entrada en la pantalla de un analito valor 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 entrada única en una pantalla de un valor de analito por la unidad de pantalla. Las descripciones detalladas y las ilustraciones del medidor 200 se muestran y describen en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO2006070200, que se incorpora aquí como referencia en esta solicitud como si estuviera completamente expuesta en el presente documento, con una copia adjunta al apéndice.

**[0021]** La Fig. 3A es una vista en perspectiva despiezada a modo de ejemplo de una tira de prueba 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 denominarse capa de electrodo 50), una capa de aislamiento 16, dos capas de reactivo superpuestas 22a y 22b, una capa adhesiva 60 que incluye porciones adhesivas 24, 26 y 28, una capa hidrófila 70 y una capa superior 80. La tira de prueba 100 puede fabricarse en una serie de pasos donde la capa conductora 50, la capa aislante 16, las capas reactivas 22 y la capa adhesiva 60 se depositan secuencialmente sobre el sustrato 5 utilizando, por ejemplo, un proceso de serigrafía. Tenga en cuenta que los electrodos 10, 12 y 14 están dispuestos para entrar en contacto con la capa de reactivo 22a y 22b, mientras que los electrodos de corrección 19a y 20a están separados y no en contacto con la capa de reactivo 22. La capa hidrófila 70 y la capa superior 80 pueden eliminarse de un rollo de material y laminarse sobre el sustrato 5 como un laminado integrado o como capas separadas. La tira de prueba 100 tiene una porción distal 3 y una porción proximal 4 como se muestra en la Fig. 3A.

**[0022]** La tira de prueba 100 puede incluir una cámara de recepción de muestra 92 a través de la cual se puede extraer una muestra de sangre. La cámara de recepción de muestra 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 Fig. 3A. Se puede aplicar una muestra de sangre 94 a la entrada para llenar una cámara de recepción de muestras 92 de manera que se pueda medir la glucosa. Los bordes laterales de una primera almohadilla adhesiva 24 y una segunda almohadilla adhesiva 26 situadas adyacentes a la capa de reactivo 22 definen cada una una pared de la cámara de recepción de muestra 92, como se ilustra en la Fig. 3A. Una parte inferior o "piso" de la cámara de recepción de muestras 92 puede incluir una parte del sustrato 5, la capa conductora 50 y la capa de aislamiento 16, como se ilustra en la Fig. 3A. Una porción superior o "techo" de la cámara de recepción de muestras 92 puede incluir una porción hidrofílica distal 32, como se ilustra en la Fig. 3A. Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la Fig. 3A, el sustrato 5 se puede usar como base para ayudar a soportar las capas aplicadas posteriormente. El sustrato 5 puede estar en forma de una lámina de poliéster tal como un material de tetraftalato de polietileno (PET) (Hostaphan PET suministrado por Mitsubishi). El sustrato 5 puede estar en formato de rollo, nominalmente 350 micras de espesor por 370 milímetros de ancho y aproximadamente 60 metros de longitud.

**[0023]** Se requiere una capa conductora para formar electrodos que se pueden usar para la medición electroquímica de glucosa. La primera capa conductora 50 se puede hacer a partir de una tinta de carbón que se imprime en el sustrato 5. En un proceso de impresión de pantalla, la tinta de carbón se carga en una pantalla y luego se transfiere a través de la pantalla con una escobilla de goma. La tinta de carbón impresa se puede secar con aire caliente a aproximadamente 140°C. La tinta de carbón puede incluir resina VAGH, negro de carbón, grafito (KS15) y uno o

más solventes para la mezcla de resina, carbono y grafito. Más particularmente, la tinta de carbón puede incorporar una proporción de negro de carbón: resina VAGH de aproximadamente 2.90:1 y una proporción de grafito: negro de carbono de aproximadamente 2.62:1 en la tinta de carbono.

5 **[0024]** Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la Fig. 3A, 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 de corrección tercero y cuarto 19a y 19b, una primera almohadilla de contacto 13, una segunda almohadilla de contacto 15, una almohadilla de contacto de referencia 11, una primera banda de electrodo de trabajo 8, una segunda banda de electrodo de trabajo 9, una banda de electrodo de referencia 7 y una barra de detección de tira 17. Los electrodos de corrección 19a y 20a están provistos de bandas de electrodos respectivas 19b y 20b. La capa conductora se puede formar 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 banda de electrodo de trabajo 8 proporciona una vía eléctricamente continua desde el primer electrodo de trabajo 12 hasta la primera almohadilla de contacto 13. De manera similar, la segunda banda de electrodo de trabajo 9 proporciona una vía eléctricamente continua desde el segundo electrodo de trabajo 14 hasta la segunda almohadilla de contacto 15. De manera similar, la banda de electrodo de referencia 7 proporciona una ruta eléctricamente continua desde el electrodo de referencia 10 hasta 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 bandas 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 Fig. 3A.

15 **[0025]** Las variaciones de la tira de prueba 100 (Figura 3A) se muestran en las Figs. 3B, 3C, 3D, 3E y 3F. En la realización de la Fig. 3B, los electrodos de medición de analito 10, 12 y 14 están dispuestos generalmente en la misma configuración que en la Fig. 3A. Sin embargo, los electrodos 19a y 20a para detectar el nivel de hematocrito están dispuestos en una configuración espaciada en la que un electrodo 19a está cerca de una entrada 92a a la cámara de prueba 92 y otro electrodo 20a está en el extremo opuesto de la cámara de prueba 92. Electrodos 10, 12 y 14 están dispuestos para estar en contacto con una capa de reactivo 22. En las Figs. 3C, 3D y 3E, los electrodos de detección de hematocrito 19a y 20a están dispuestos uno junto al otro y se pueden colocar en el extremo opuesto 92b de la entrada 92a a la cámara de prueba 92 (Fig. 3C y 3D) o adyacente a la entrada 92a (Figs. 3E y 3F). En todas estas realizaciones, los electrodos de corrección están separados de la capa de reactivo 22, de modo que estos electrodos de corrección no se ven afectados por la reacción electroquímica del reactivo en presencia de una muestra de fluido (p. ej., sangre o fluido intersticial) que contiene glucosa.

25 **[0026]** En las diversas realizaciones de la tira de prueba, se realizan dos mediciones a una muestra de sangre depositada en la tira de prueba. Una medida es la de la glucosa en la muestra de sangre mientras que la otra es la del hematocrito en la misma muestra. La medición del hematocrito se utiliza para modificar o corregir la medición de glucosa para eliminar o reducir el efecto de los glóbulos rojos en las mediciones de glucosa. Ambas mediciones (glucosa y hematocrito) pueden realizarse en secuencia, simultáneamente o superpuestas en duración. Por ejemplo, la medición de la glucosa se puede realizar primero y luego el hematocrito; primero la medición del hematocrito y luego la medición de la glucosa; ambas mediciones al mismo tiempo; o la duración de una medición puede superponerse con la duración de la otra medición. Cada medición se discute en detalle a continuación con respecto a las Figs. 4 y 5.

35 **[0027]** La Fig. 4A es un gráfico ejemplar de un voltaje de prueba aplicado a la tira de prueba 100 y sus variaciones mostradas aquí en las Figs. 3A-3F. Antes de aplicar una muestra de fluido a la tira de prueba 100, el medidor de prueba 200 se encuentra en un modo de detección de fluido en el que se aplica una primera tensión de prueba de aproximadamente 400 milivoltios entre el segundo electrodo de trabajo 14 y el electrodo de referencia 10. Una segunda tensión de prueba de aproximadamente 400 milivoltios preferiblemente se aplica simultáneamente entre el primer electrodo de trabajo 12 y el electrodo de referencia 10. Alternativamente, la segunda tensión de prueba también se puede aplicar simultáneamente de manera que un intervalo de tiempo de la aplicación de la primera tensión de prueba se superponga con un intervalo de tiempo en la aplicación de la segunda prueba voltaje. El medidor de prueba puede estar en un modo de detección de fluido durante el intervalo de tiempo de detección de fluido tFD 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, de manera que el fluido moja 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 ha aplicado debido a, por ejemplo, un aumento suficiente en la corriente de prueba medida en el segundo electrodo de trabajo 14, el medidor de prueba 200 asigna un marcador de cero segundos en el tiempo cero "0" e inicia el intervalo de tiempo de prueba T1. Una vez completado el intervalo de tiempo de prueba T1, se elimina la tensión de prueba. Para simplificar, la Fig. 4A solo muestra el primer voltaje de prueba aplicado a la tira de prueba 100.

45 **[0028]** En lo sucesivo, una descripción de cómo se determina la concentración de glucosa a partir de los transitorios de corriente conocidos (es decir, la respuesta de la corriente eléctrica medida en nanoamperios en función del tiempo) que se miden cuando se aplican los voltajes de prueba de la Fig. 4A a la tira de prueba conocida 100.

[0029] En la Fig. 4A, los voltajes de prueba primero y segundo aplicados a la tira de prueba 100 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 es ferricianuro, el voltaje de prueba es de aproximadamente +400 milivoltios. Otras combinaciones de mediador y material de electrodo requerirán diferentes voltajes de prueba. La duración de los voltajes de prueba es generalmente de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 segundos después de un período de reacción y típicamente es de aproximadamente 3 segundos después de un período de reacción. Normalmente, el tiempo  $T_r$  se mide en relación con el tiempo  $t_0$ . Cuando la tensión 400 se mantiene en la Fig. 4A durante la duración de T1, la corriente transitoria 402 para el primer electrodo de trabajo se genera a partir del tiempo cero y, asimismo, la corriente transitoria 404 para el segundo electrodo de trabajo también se genera con respecto al tiempo cero. Los transitorios de corriente se acumulan hasta un pico de tiempo  $T_p$  próximo al pico, momento en el cual, la corriente cae lentamente hasta aproximadamente 5 segundos después del tiempo cero. En el punto 406, se mide y se suma el valor actual para cada uno de los electrodos de trabajo. A partir del conocimiento del desplazamiento del código de calibración y la pendiente para la tira de prueba particular 100, se puede calcular la concentración de glucosa. "Interceptar" y "pendiente" son los valores obtenidos al medir los datos de calibración de un lote de tiras de prueba. Normalmente, alrededor de 1.500 tiras se seleccionan al azar del lote o lote. El líquido corporal de los donantes se dispara a varios niveles de analito, típicamente seis concentraciones de glucosa diferentes. Típicamente, la sangre de 12 donantes diferentes se dispara a cada uno de los seis niveles. Ocho tiras reciben sangre de donantes y niveles idénticos, por lo que se realizan un total de  $12 \times 6 \times 8 = 576$  pruebas para ese lote. Estos se comparan con el nivel de analito real (p. ej., la concentración de glucosa en la sangre) midiéndolos con un analizador de laboratorio estándar como el Yellow Springs Instrument (YSI). Un gráfico de la concentración de glucosa medida se grafica contra la concentración real de glucosa (o la corriente medida frente a la corriente YSI), un gráfico de la concentración de glucosa medida se grafica contra la concentración real de glucosa (o la corriente medida frente a la corriente YSI), y una fórmula  $y = mx+c$  mínimos cuadrados ajustados en el gráfico para dar un valor para la pendiente del lote  $m$  y la intersección del lote  $c$  para las tiras restantes del lote o lote.

[0030] Como ejemplo de un cálculo de analito (p. ej., glucosa) para la tira 100 (Fig. 3A), en la Fig. 4B se supone que el valor de corriente muestreado en 406 para el primer electrodo de trabajo es de 1.600 nanoamperios mientras que el valor actual a 406 para el segundo electrodo de trabajo es de 1.300 nanoamperios y para el código de calibración de la tira de prueba el Intercept es de 500 nanoamperios y la pendiente es de 18 nanoamperios/mg/dL. La concentración de glucosa  $G_0$  se puede determinar a partir de la Ecuación 3 de la siguiente manera:

$$G_0 = [(I_E) - \text{interceptar}] / \text{pendiente} \quad \text{Ec. 3}$$

en donde

$I_E$  es una concentración preliminar de glucosa determinada a partir de la suma de las corrientes finales medidas en ambos electrodos

o  $I_{we1} + I_{we2}$

$I_{we1}$  es la corriente medida para el primer electrodo de trabajo al final de T1;

$I_{we2}$  es la corriente medida para el segundo electrodo de trabajo al final de T1;

Pendiente es el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las que proviene esta tira en particular;

Intercepción es el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las que proviene esta tira en particular.

[0031] A partir de la ec. 3  $G_0 = [(1600 + 1300) - 500] / 18$  y, por lo tanto,  $G_0 = 133,33$  nanoamperios  $\sim 133$  mg/dL.

[0032] Se observa que aquí la concentración de glucosa no se corrige por ningún valor de hematocrito y que ciertas compensaciones pueden proporcionarse al valor actual  $I_{we1}$  e  $I_{we2}$  para tener en cuenta los errores o el tiempo de demora en el circuito eléctrico del medidor 200. También se puede utilizar la compensación de temperatura para garantizar que los resultados se calibran a una temperatura de referencia como, por ejemplo, la temperatura ambiente de unos 20 grados centígrados.

[0033] Ahora que se puede determinar una concentración preliminar de glucosa ( $I_E$ ) a partir de las corrientes finales, se proporciona una descripción de la técnica del solicitante para determinar el hematocrito de la muestra de sangre en relación con la Fig. 5. En la Fig. 5, el sistema 200 (Fig. 2) aplica una primera señal de entrada oscilante 500 a una primera frecuencia (de aproximadamente 25.000 Hertz) a un par de electrodos. El sistema también está configurado para medir o detectar una primera señal de salida oscilante 502 de los electrodos tercero y cuarto, lo que en particular implica medir un diferencial de tiempo  $\Delta t_1$  entre las señales oscilantes de primera entrada y salida. Al mismo tiempo o durante períodos de tiempo superpuestos, el sistema también puede aplicar una segunda señal de entrada oscilante (no se muestra por brevedad) a una segunda frecuencia (aproximadamente 100 kiloHertz a 1 MegaHertz, y preferiblemente a aproximadamente 250 kilo Hertz) a un par de electrodos y luego medir o detectar una segunda señal de salida oscilante de los electrodos tercero y cuarto, lo que puede implicar la medición de un segundo diferencial de tiempo  $\Delta t_2$  (no mostrado) entre las señales de oscilación de la primera entrada y salida. A partir de estas señales, el sistema estima un hematocrito de la muestra de sangre en función de los diferenciales primero y segundo  $\Delta t_1$  y  $\Delta t_2$ . A partir de entonces, el sistema puede derivar una concentración final de glucosa

basada en la concentración preliminar de glucosa y la estimación del hematocrito. La estimación se puede hacer aplicando una ecuación de la forma.

$$HCT_{EST} = \frac{(C_1 \Delta t_1 - C_2 \Delta t_2 - C_3)}{m_1} \quad \text{Ec. 4}$$

Donde cada uno de  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  es una constante operacional para la tira de prueba.

**[0034]** Y la derivación incluye el cálculo de la concentración final de glucosa  $G_F$  a partir de la Ecuación 5 de la forma:

$$G_F = \frac{\left( \frac{I_E}{1 - k(HCT_{EST} - h_0)} \right) - c_4}{m_3} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde  $I_E$  representa una concentración de glucosa preliminar,  
 $HCT_{EST}$  representa el hematocrito,  
 $h_0$  representa hematocrito nominal,  
 y  $k, m_3$  y  $c_4$  representan parámetros a partir de datos de regresiones.

**[0035]** Se observa que en las realizaciones preferidas, la medida de una salida de corriente para la concentración de glucosa preliminar se realiza antes de la estimación del hematocrito. Alternativamente, el nivel de hematocrito puede estimarse antes de la medición de la concentración preliminar de glucosa. En cualquier caso, la medición preliminar de glucosa  $I_E$  se obtiene mediante la Ecuación 3 y la estimación del hematocrito se obtiene mediante la Ecuación 4 y la medición de glucosa corregida o final  $G_F$  se obtiene mediante el uso del hematocrito estimado y la concentración preliminar de glucosa en forma de Ecuación 5. Detalles de la técnica para corregir una estimación de glucosa con corrección de hematocrito se proporciona en la Solicitud Internacional Publicada WO 2008/040998 publicada el 10 de abril de 2008, titulada "Systems and Methods for Determining a Substantially Hematocrit Independent Analyte Concentration", cuya aplicación se incorpora como referencia y se adjunta al apéndice.

**[0036]** Para esta técnica, se realizaron experimentos para cuantificar la mejora en las mediciones de glucosa que se han corregido en comparación con las mediciones de glucosa que no se han corregido. La cuantificación de la mejora se puede mostrar mediante el "sesgo" en diferentes niveles de hematocrito. El sesgo, que es una estimación del error relativo en la medición de la glucosa, se calculó para cada concentración de glucosa determinada con el método descrito en este ejemplo. El sesgo para cada concentración de glucosa se determinó con las ecuaciones de la forma:

$$Sesgo_{abs} = G_{calculado} - G_{referencia} \quad \text{para } G_{referencia} \text{ menos de } 80 \text{ mg/dL de glucosa y}$$

$$Sesgo_{\%} = \frac{G_{calculado} - G_{referencia}}{G_{referencia}} \quad \text{para } G_{referencia} \text{ mayor que o igual a } 80 \text{ mg/dL de glucosa}$$

donde **Sesgo<sub>abs</sub>** es sesgo absoluto,  
**Sesgo<sub>%</sub>** es sesgo porcentual  
 $G_{calculado}$  es la concentración de glucosa determinada por el método de este documento y  
 $G_{referencia}$  es la concentración de glucosa de referencia.

**[0037]** En este ejemplo, (el número de muestras de tiras 226) de las mediciones se realizaron a concentraciones de glucosa inferiores a 80 mg/dL y a concentraciones superiores a 80 mg/dL. Los niveles de hematocrito de estas muestras se analizaron en tres intervalos principales al 30%, 42% y 55% de hematocrito. Como puede verse en la Fig. 6A, las mediciones de glucosa 600 y 604 tuvieron mayor sesgo absoluto (de 8-25%) en el hematocrito bajo (~ 30%) y en el hematocrito alto (~ 55%) en comparación con las medidas de glucosa 602 en el nivel medio (~ 42%) de hematocrito donde el sesgo está dentro del intervalo de -5% a + 12%. En contraste, como se puede ver en la Fig. 6B, el sesgo de las mediciones de glucosa 600', 602' y 604' está ahora dentro del intervalo de  $\pm 12\%$  en los niveles de hematocrito correspondientes (30%, 42% y 55%) como en las medidas no corregidas de la Fig. 6A.



REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar una concentración de glucosa en una muestra de sangre (94), que comprende:

5 depositar una muestra de sangre (94) en una cámara de prueba (92) de una tira reactiva (100) que tiene al menos electrodos primero y segundo (10, 12, 14) en contacto con un reactivo (22) y electrodos tercero y cuarto (19a, 20a) no en contacto con el reactivo;  
 10 dirigir una señal no oscilante a al menos electrodos primero y segundo (10, 12, 14) para provocar una reacción con la glucosa en la muestra de sangre (94) y el reactivo (22);  
 15 medir una salida de corriente de la reacción para establecer una concentración preliminar de glucosa;  
 20 aplicar una primera señal de entrada oscilante (500) en una primera frecuencia a los electrodos tercero y cuarto (19a, 20a); detectar una primera señal de salida oscilante (502) de los electrodos tercero y cuarto (19a, 20a); medir un primer diferencial de tiempo ( $\Delta t_1$ ) entre la primera entrada y las señales oscilantes de salida (500, 502); aplicar una segunda señal de entrada oscilante en una segunda frecuencia a los electrodos tercero y cuarto (19a, 20a); detectar una segunda señal de salida de oscilación de los electrodos tercero y cuarto (19a, 20a); midiendo un segundo diferencial de tiempo ( $\Delta t_2$ ) entre la primera entrada y la salida de las señales oscilantes; estimación de un hematocrito de la muestra de sangre (94) en base a los diferenciales de primera y segunda vez ( $\Delta t_1$ ,  $\Delta t_2$ ); y derivar una concentración de glucosa final basada en la concentración de glucosa preliminar y el hematocrito de la etapa de estimación.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la primera frecuencia comprende aproximadamente 25.000 Hertz y la segunda frecuencia comprende aproximadamente 250.000 Hertz.

3. El método de la reivindicación 2, en el que la estimación comprende aplicar una ecuación de la forma

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

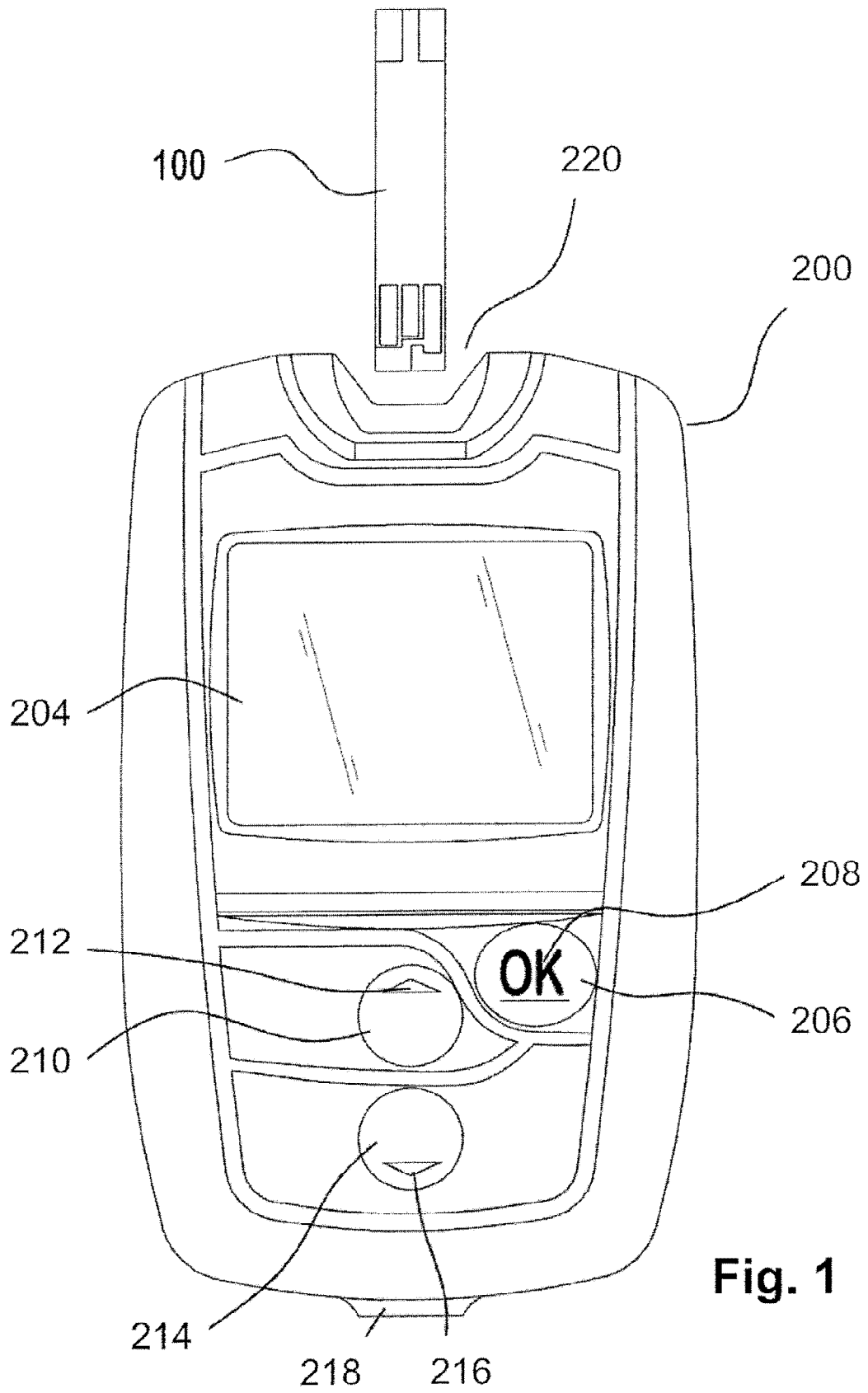
donde cada uno de  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  comprende una constante operacional para la tira reactiva.

4. El método de la reivindicación 3, en el que la medición de una salida de corriente para la concentración de glucosa preliminar es realizada antes de la estimación del hematocrito.

5. El método de la reivindicación 3, en el que la derivación comprende calcular la concentración final de glucosa  $G_F$  a partir de:

$$G_F = \frac{\left( \frac{I_E}{1 - k(HCT_{EST} - h_0)} \right) - c_3}{m_3}$$

donde  $I_E$  comprende una magnitud de la corriente final medida  
 $HCT_{EST}$  comprende el hematocrito,  
 $h_0$  comprende hematocrito nominal,  
 y  $k, m_3$  y  $c_3$  comprenden parámetros de datos de regresión



**Fig. 1**

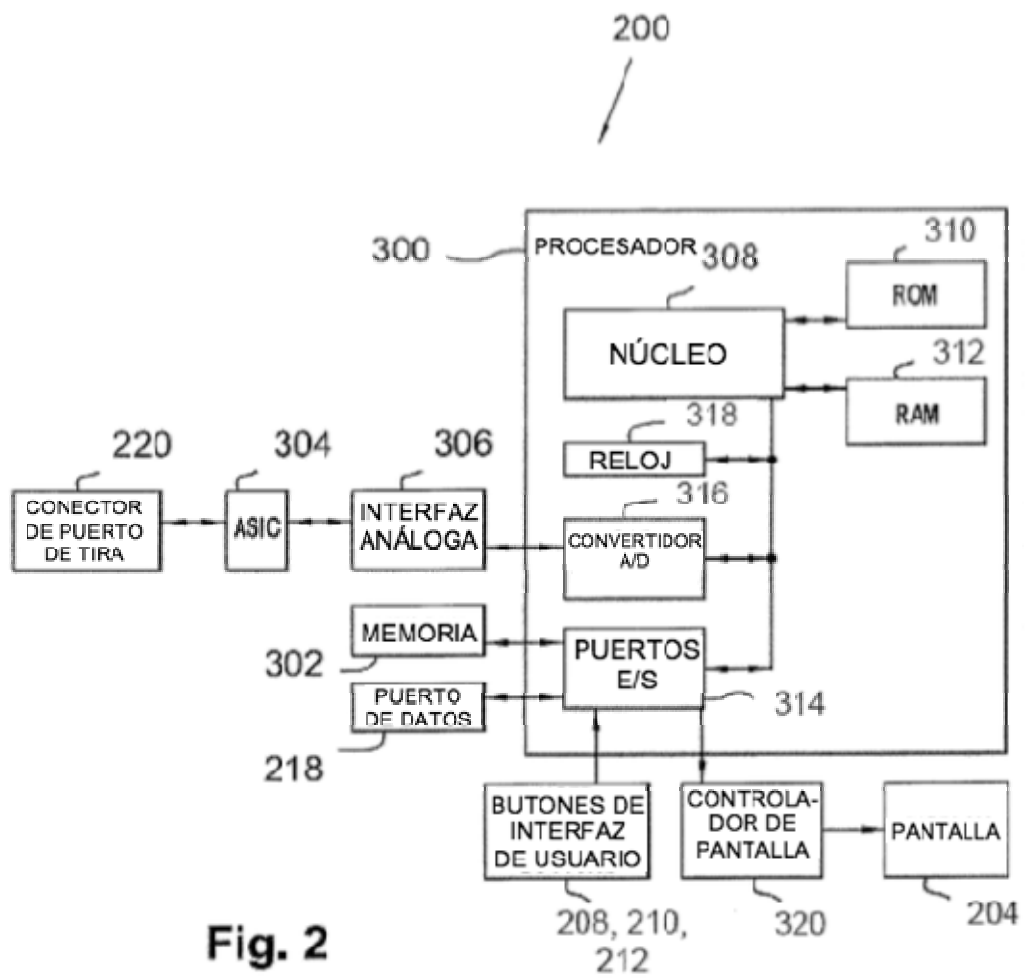
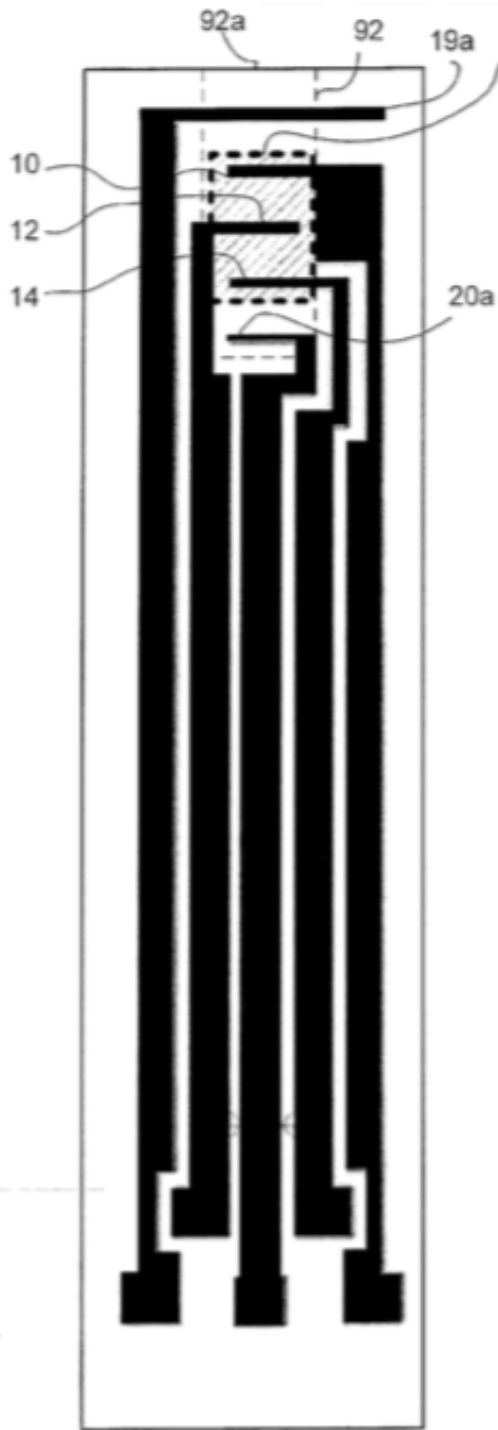
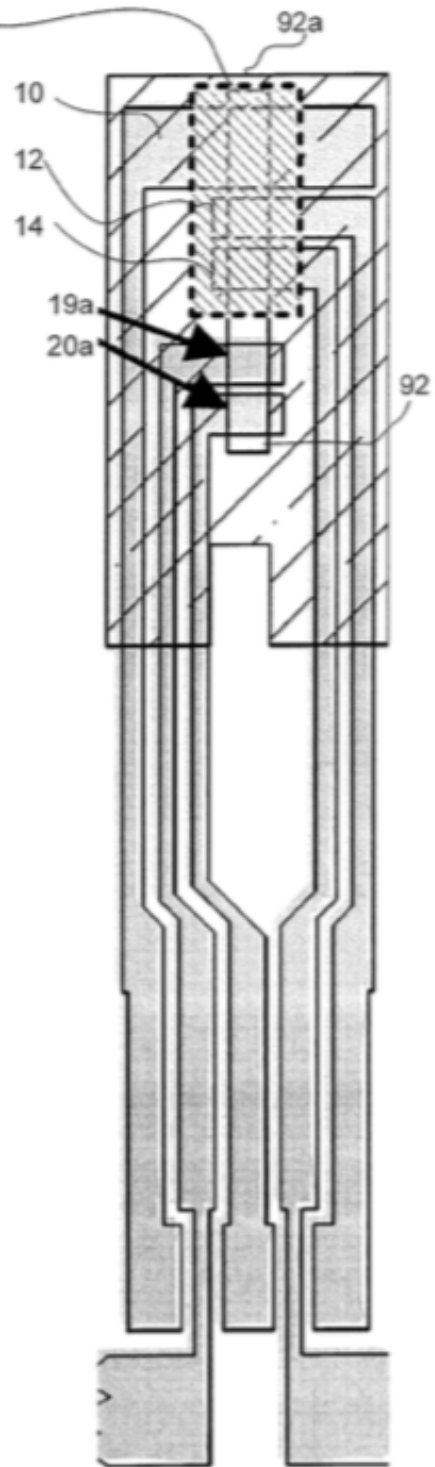


Fig. 2

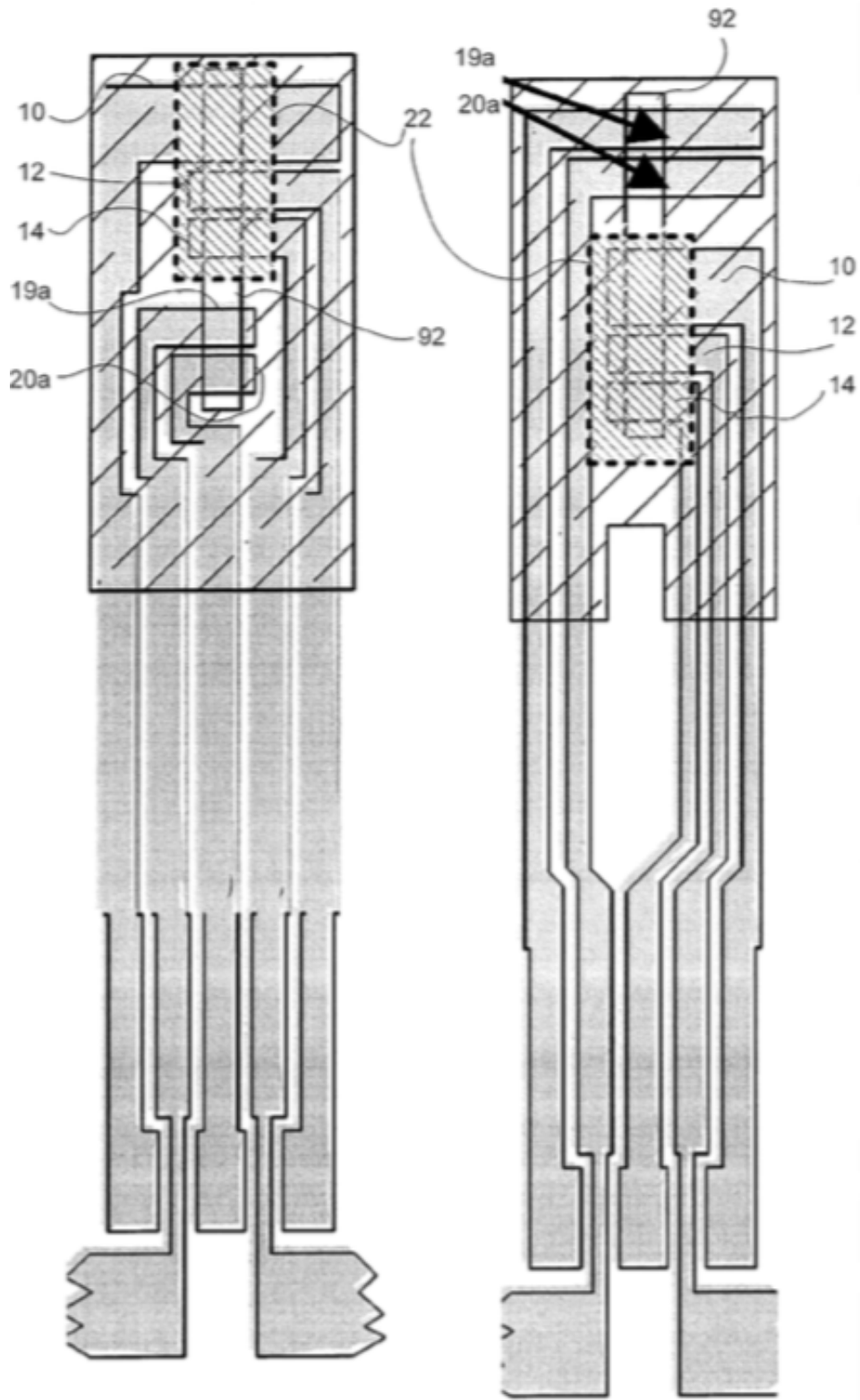




**Figura 3B**

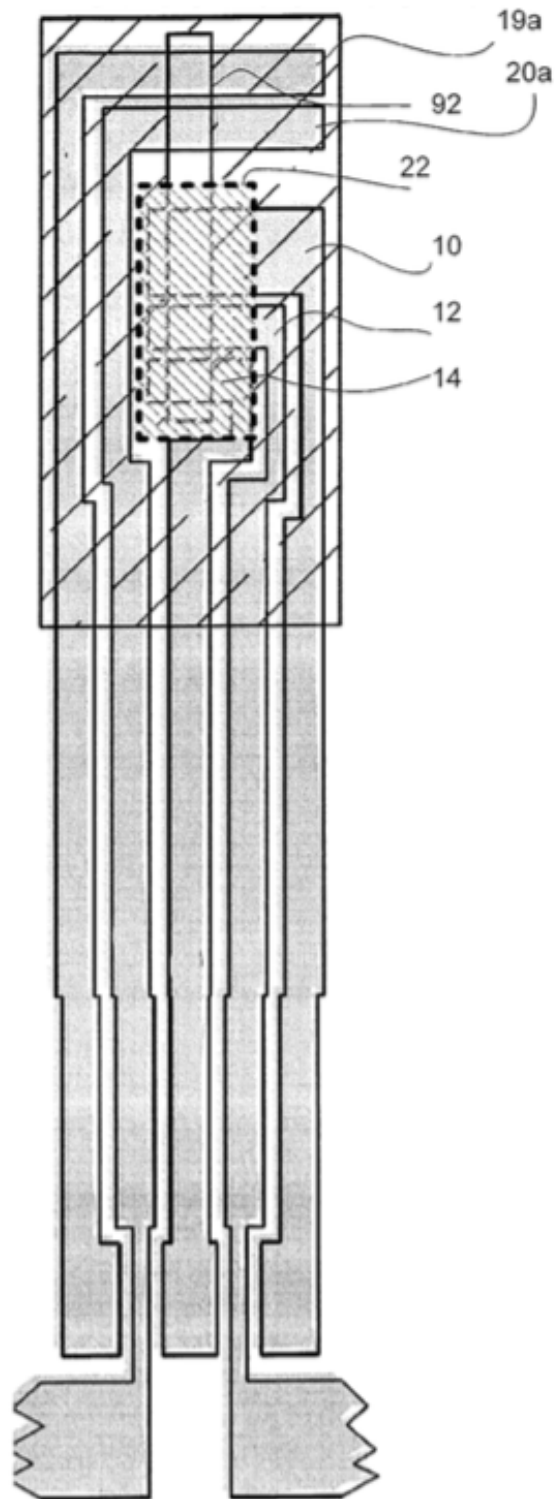


**Figura 3C**



**Figura 3D**

**Figura 3E**



**Figura 3F**

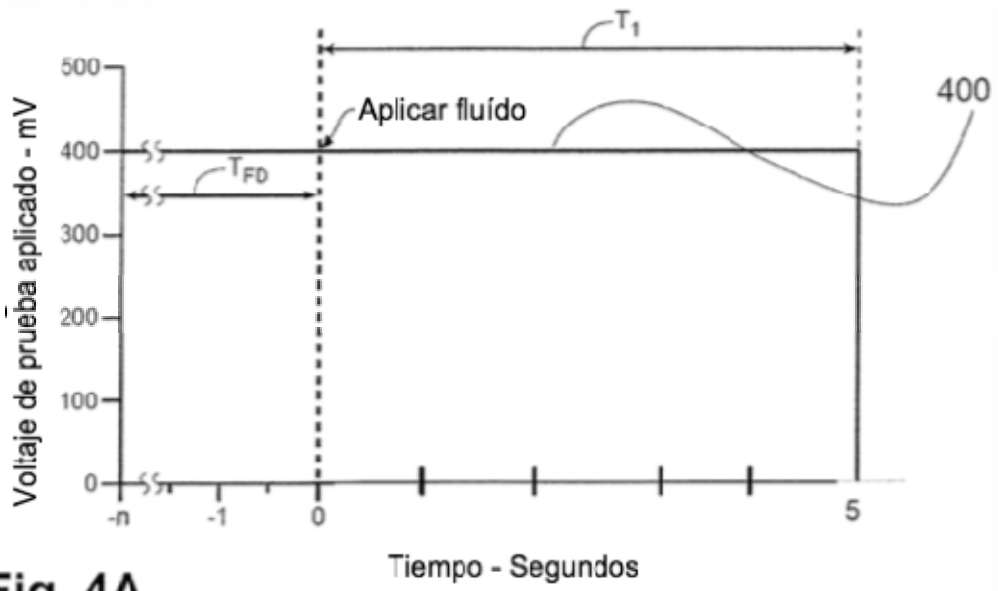


Fig. 4A

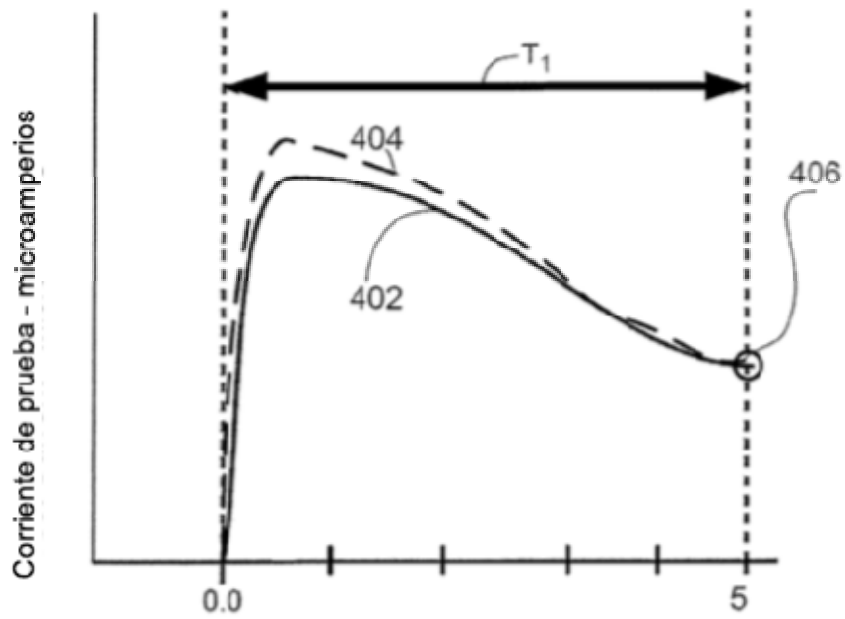


Fig. 4B



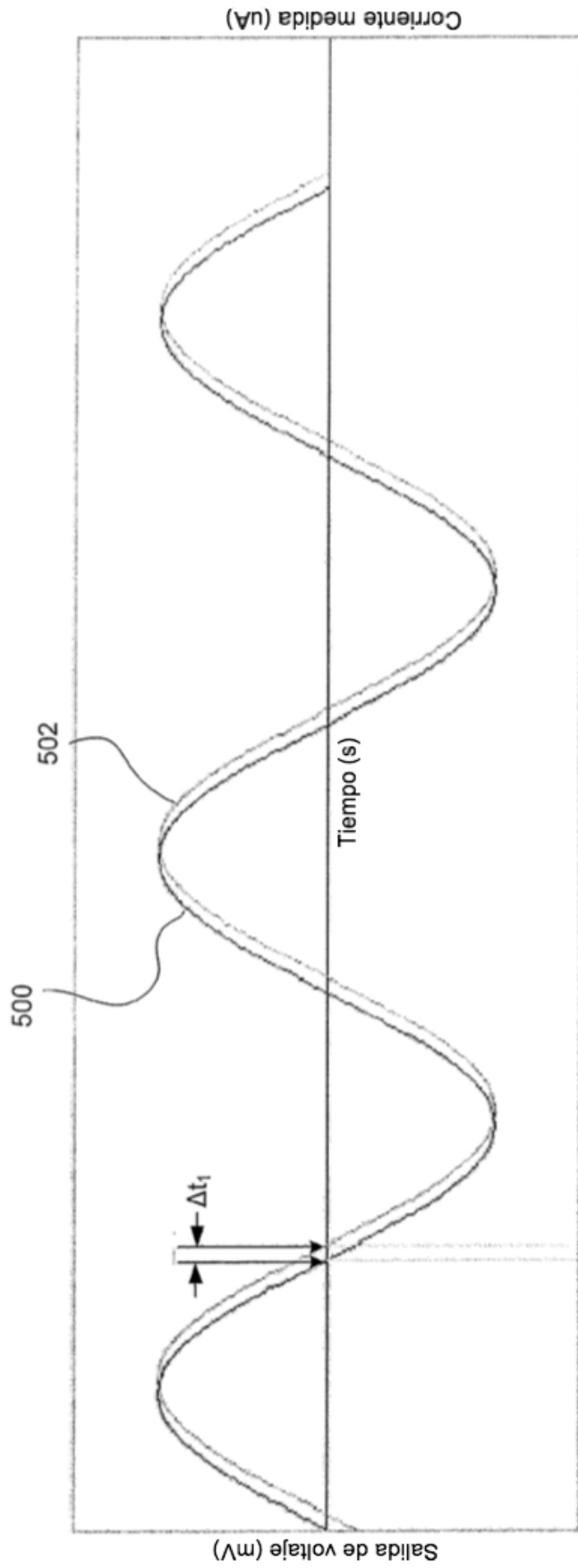


Figura 5

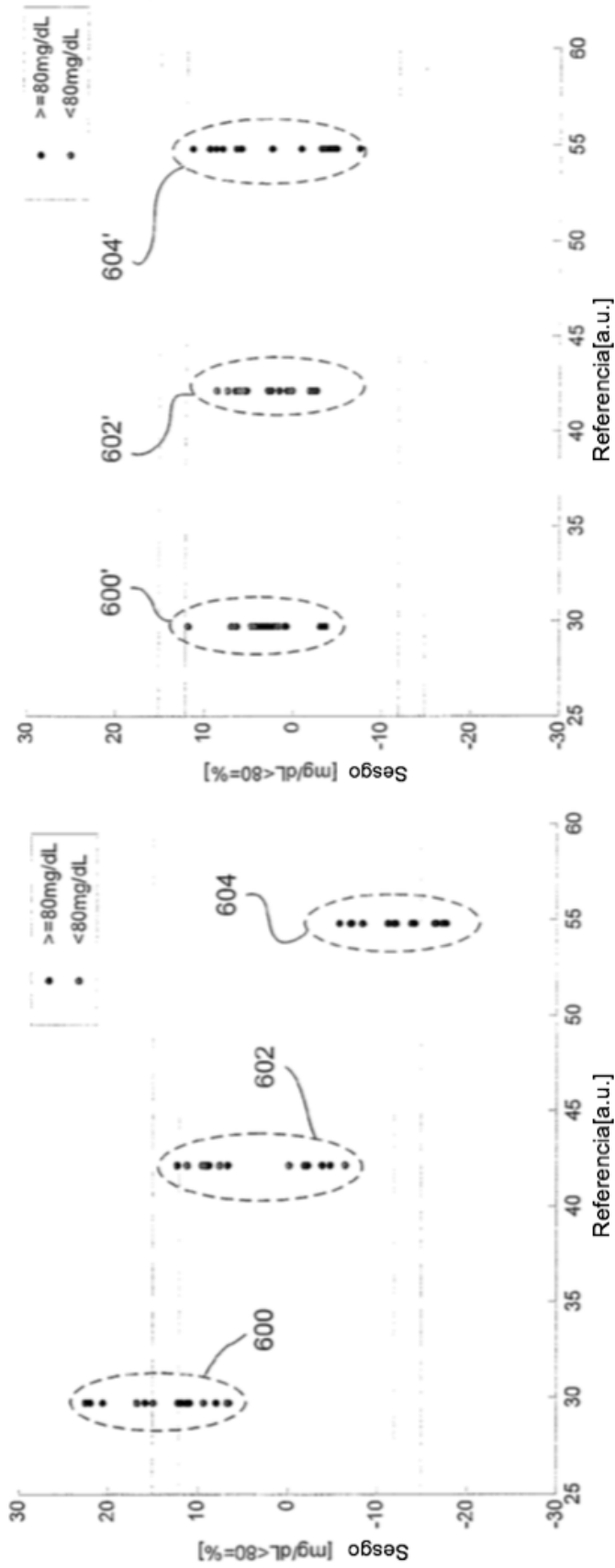


Figura 6B

Figura 6A