

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 701**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 33/50** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2015 PCT/US2015/066350**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2016 WO16100648**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2015 E 15871058 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019 EP 3234569**

54 Título: **Procedimientos y sistemas para mejorar la precisión de las mediciones para volúmenes de muestra reducidos**

30 Prioridad:

**19.12.2014 US 201462094604 P**

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

**01.04.2020**

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.  
(100.0%)  
511 Benedict Avenue  
Tarrytown, NY 10591 , US**

72 Inventor/es:

**CHAN, ANDY**

74 Agente/Representante:

**LOZANO GANDIA, José**

ES 2 751 701 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**

5 Procedimientos y sistemas para mejorar la precisión de las mediciones para volúmenes de muestra reducidos

**CAMPO DE LA INVENCION**

10 La invención se refiere al campo de las pruebas de diagnóstico y, más en particular, a procedimientos y sistemas para mejorar la precisión en la medición de uno o más analitos objetivo en una muestra líquida con un volumen de muestra reducido.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 El análisis de diagnóstico inmediato se refiere, en general, a pruebas médicas realizadas en o cerca del sitio de atención al paciente, tal como en una sala de urgencias. Un resultado deseado del análisis de diagnóstico inmediato es obtener resultados de laboratorio rápidos y exactos para determinar las siguientes medidas a adoptar en la atención al paciente. Los instrumentos tales como los analizadores de gases en sangre y los analizadores de cuidados intensivos proporcionan resultados analíticos para varios analitos diferentes en un período de tiempo  
20 relativamente corto, por ejemplo, en 2 minutos o menos. Estos instrumentos pueden emplear un conjunto de sensores desechable que tiene una pluralidad de sensores diferentes dispuestos sobre el mismo, cada uno para detectar un analito objetivo en una muestra, por ejemplo, una muestra de sangre, que fluye por el mismo o de este modo. Los sensores pueden ser adecuados para la detección y/o cuantificación de diversos analitos objetivo para la muestra tomada del paciente. Los analitos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, pH, presión parcial de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), presión parcial de oxígeno ( $pO_2$ ), sodio ( $Na^+$ ), potasio ( $K^+$ ), calcio ( $Ca^{2+}$ ), cloruro ( $Cl^-$ ), hematocrito (Hct), hemoglobina (Hb), glucosa, lactato, bilirrubina, fracciones de cooximetría ( $fO_2Hb$ ,  $fCO_2Hb$ ,  $fMetHb$ ,  $fHHb$ ) y similares. El documento WO 2009/048977 A1 divulga sistemas y procedimientos para determinar la concentración de un analito en una muestra tal como un líquido corporal. Los sistemas y procedimientos comprenden la reducción del volumen de muestra extraída de la fuente de líquido biológico. Los sistemas de bajo  
30 volumen de extracción se pueden implementar usando, por ejemplo, tubos de diámetro interno pequeño, válvulas y uno o más sensores. Además, el documento US 8 886 273 B2 divulga sistemas y procedimientos de uso para la medición continua de analitos del sistema vascular de un huésped. Este documento divulga un sistema de medición continua de glucosa que incluye un dispositivo de acceso vascular, un sensor y electrónica del sensor. El sistema está configurado para inserción en comunicación con el aparato circulatorio de un huésped.

35 Actualmente, existe una demanda creciente de instrumentos que proporcionen resultados de diagnóstico precisos y exactos con volúmenes de muestra reducidos (por ejemplo, 100  $\mu$ l o menos). Los volúmenes de muestra reducidos son ventajosos cuando se dispone de una muestra limitada de un paciente y, en el sentido de que pueden dejar muestra adicional para otras pruebas y/o pueden extender la vida útil de los instrumentos, componentes y accesorios de los instrumentos que usan los mismos. No obstante, aún se necesita un trabajo significativo ya que la precisión, la exactitud y la consistencia siguen siendo problemas importantes del uso de volúmenes de muestra reducidos en el análisis diagnóstico.

**BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

45 La invención se explica en la siguiente descripción a la vista de los dibujos que se muestran:

La FIG. 1 ilustra un sistema para mejorar la precisión de un ensayo de diagnóstico de acuerdo con un aspecto de la presente invención.

50 La FIG. 2 ilustra un sensor que define una zona analítica de acuerdo con un aspecto de la presente invención.

La FIG. 3 ilustra un modo de realización de un fluido de lavado para mejorar la precisión de acuerdo con un aspecto de la presente invención.

55 La FIG. 4 ilustra la recuperación de glucosa en sangre y la precisión en la detección de glucosa (desviación estándar) frente a la concentración de lavado de glucosa para volúmenes de muestra reducidos (65  $\mu$ l) de sangre con una concentración de glucosa de 50 mg/dl.

60 La FIG. 5 ilustra la recuperación de glucosa en sangre y la precisión en la detección de glucosa (desviación estándar) frente a la concentración de lavado de glucosa para volúmenes normales (200  $\mu$ l) de sangre con una concentración de glucosa de 50 mg/dl.

65 La FIG. 6 ilustra la recuperación de glucosa en sangre y la precisión en la detección de glucosa (desviación estándar) frente a la concentración de lavado de glucosa para volúmenes de muestra reducidos (65  $\mu$ l) de sangre con una concentración de glucosa de 200 mg/dl.

La FIG. 7 ilustra la recuperación de glucosa en sangre y la precisión en la detección de glucosa (desviación estándar) frente a la concentración de lavado de glucosa para volúmenes normales (200 µl) de sangre con una concentración de glucosa de 200 mg/dl.

La FIG. 8 ilustra la estabilidad de la recuperación del sensor de glucosa a lo largo del tiempo, incluso con el uso repetido de un lavado de glucosa de acuerdo con un aspecto de la presente invención.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Sin quedar vinculado a ninguna teoría, el autor de la presente invención descubrió que cuando se analizan tamaños de muestra de volumen reducido, la precisión, la exactitud y la consistencia se ven afectadas por uno o ambos del remanente de reactivo y la pequeña cantidad de componentes acuosos dentro del volumen de muestra total. En primer lugar, el remanente de reactivo sigue siendo un problema importante cuando se utilizan volúmenes de muestra reducidos en determinados sistemas de pruebas de diagnóstico, ya que el volumen de muestra reducido a menudo puede ser insuficiente para desplazar completamente el fluido preexistente en el sistema, por ejemplo, el fluido en "una zona analítica" para un biosensor dado. El resultado del desplazamiento insuficiente de un fluido preexistente (por ejemplo, un fluido de lavado) por la muestra puede ser el mezclado involuntario de la muestra con fluido preexistente en el sistema. Esto puede dar como resultado una precisión inaceptable, en particular en niveles de decisión médica específicos para ciertos analitos objetivo.

Además, se cree que la naturaleza de una muestra de sangre completa contribuye a una falta de precisión cuando se trata de volúmenes de muestra reducidos. En particular, el componente acuoso de una muestra de sangre completa (por ejemplo, plasma) es en realidad menos del 100 % del volumen total de la muestra debido al volumen de las células de sangre completa (por ejemplo, el volumen de glóbulos rojos, el de glóbulos blancos, etc.). Por tanto, un volumen de muestra ya reducido (por ejemplo, 75 µl) de sangre completa puede tener en realidad un volumen de componentes acuosos menor que el volumen total de sangre de 75 µl. Por lo tanto, determinados sensores en un conjunto de sensores dado pueden tener un volumen de los componentes acuosos de la muestra de sangre completa que sea insuficiente para someter a prueba con exactitud los analitos objetivo. Como resultado, la introducción de una muestra de sangre completa de volumen reducido puede ser insuficiente para desplazar el fluido preexistente dentro de la zona analítica para un sensor dado.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el autor de la presente invención propone introducir un fluido que comprenda una cantidad eficaz del propio analito objetivo en una zona analítica de un conjunto de sensores (que comprenda al menos un biosensor configurado para detectar el mismo analito objetivo) dentro un sistema de diagnóstico, en el que el biosensor entrará en contacto al menos con la muestra sospechosa de tener el analito objetivo. La zona analítica es el volumen de una muestra que está dentro del alcance detectable del biosensor. El suministro del fluido que comprende el analito objetivo a la zona analítica se produce antes del suministro de una muestra sospechosa de tener el analito objetivo. Al entrar en contacto con la muestra, el fluido potencia la precisión del ensayo, en particular en ensayos con volúmenes de muestra reducidos, en relación con un fluido sin el analito objetivo. En un modo de realización, el analito objetivo se proporciona en un fluido de lavado que se introduce en el sistema para eliminar cualquier muestra o reactivo introducido previamente en el sistema que esté expuesto a un biosensor asociado. De forma alternativa, el fluido que comprende el analito objetivo se puede incorporar dentro de un cartucho preenvasado para su envío.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para mejorar la precisión en una prueba de diagnóstico de acuerdo con la reivindicación 6. En el procedimiento, una muestra sospechosa de tener un analito objetivo en la misma entra en contacto con una cantidad de fluido que comprende una cantidad del analito objetivo antes del análisis de la muestra para el analito objetivo por un biosensor. El contacto entre los fluidos es eficaz para incrementar el grado de precisión del análisis del analito objetivo en relación con un fluido sin el analito objetivo. El procedimiento es especialmente útil con muestras de volumen reducido, ya que la presencia del analito objetivo en el fluido es eficaz para mejorar la exactitud, la precisión y la reproducibilidad de la detección del analito objetivo en dichas muestras de volumen reducido.

Lo que se divulga en el presente documento es un procedimiento para mejorar la precisión en una prueba de diagnóstico. El procedimiento comprende el suministro de una primera muestra a una zona analítica de un biosensor para la determinación de una cantidad de un analito objetivo en la primera muestra. El procedimiento comprende, además, la introducción en la zona analítica de un fluido que comprende una cantidad eficaz del analito objetivo. Aún más, el procedimiento comprende, después de la introducción de la primera muestra, el suministro de una segunda muestra a una zona analítica del sensor para la determinación de una cantidad de un analito objetivo en la segunda muestra. Por tanto, el fluido actúa como fluido de lavado para el enjuague de cualquier fluido preexistente en la zona analítica del biosensor. Además, el analito objetivo en el fluido de lavado ayuda a mejorar la exactitud y precisión de los resultados del análisis de la segunda muestra al reducir o eliminar los efectos negativos de cualquier remanente del fluido en la segunda muestra.

El autor de la presente invención ha descubierto que las soluciones propuestas descritas en el presente documento son particularmente adecuadas con el uso de biosensores. Los biosensores detectan al menos un analito en una muestra usando al menos un material de detección biológico tal como una enzima, un receptor y/o un anticuerpo. Por tanto, uno o más de los sensores descritos en el presente documento pueden comprender un biosensor que incluya una cantidad eficaz de una o más enzimas para el analito objetivo de interés. La(s) enzima(s) reaccionará(n) con el analito objetivo (o con el producto de descomposición del mismo) para formar directa o indirectamente un analito medible. A modo de ejemplo, el biosensor puede ser uno adecuado para el análisis de glucosa, lactato o creatinina en una muestra. En un modo de realización particular, el sensor comprende un biosensor de glucosa como se conoce en la técnica. A modo de ejemplo, los biosensores de glucosa utilizan la enzima glucosa oxidasa para descomponer la glucosa y formar un subproducto de peróxido de hidrógeno. Después de esto, el peróxido de hidrógeno se oxida por el electrodo y la corriente resultante es una medida de la concentración de glucosa. El uso de un fluido como se describe en el presente documento con un biosensor es contrario al pensamiento convencional en la técnica de que el uso continuo de la enzima daría lugar a una vida útil deficiente. Sin embargo, se demostró que esto no es cierto, como se describe a continuación y se muestra en la figura 8 del presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "zona analítica" se refiere al volumen considerado y/o requerido para que un sensor dado detecte un analito predeterminado.

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor que es  $\pm 10\%$  del valor establecido.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" significa una cantidad necesaria para lograr un resultado deseado.

Como se usa en el presente documento, el término "precisión" significa el grado en que un conjunto dado de mediciones ( $> 2$ ) de la misma muestra concuerda con su media.

Como se usa en el presente documento, el término "analito objetivo" significa un compuesto específico o combinación de compuestos en un fluido o fluido de muestra destinado a ser detectado.

Como se usa en el presente documento, el término "sensor" significa un dispositivo que puede detectar al menos un analito en una muestra.

Como se usa en el presente documento, el término "conjunto de sensores" se refiere a un sustrato que comprende uno o más sensores dispuestos a través del sustrato.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a cualquier mamífero humano o no humano.

En referencia a las figuras, la FIG. 1 ilustra un dispositivo 10 para analizar una o más muestras 12 para uno o más analitos objetivo. En determinados modos de realización, el dispositivo 10 comprende un analizador de diagnóstico inmediato o un analizador de gases en sangre como se conoce en la técnica. Los analizadores de diagnóstico inmediato ejemplares están disponibles en Siemens Healthcare Diagnostics, Inc. y actualmente se venden bajo las marcas registradas: Sistemas RAPIDLab 1200, RapidLab 348EX, RAPIDPoint 500, RAPIDLab 248/348, RAPIDPoint 400/405 y RAPIDPoint 340/350. Otros instrumentos de diagnóstico inmediato disponibles comercialmente están disponibles en Roche Molecular Systems Inc., Medica Corp., Radiometer Medical (Dinamarca) y Nova Biomedical Corp.

Para el análisis de una o más muestras 12 (a continuación en el presente documento "muestra 12"), el dispositivo 10 incluye un conjunto de sensores 13 que comprende uno o más biosensores 14 (a continuación en el presente documento "biosensor 14") para detectar uno o más analitos objetivo 30 (a continuación en el presente documento "analito objetivo 30") sospechosos de estar en la muestra 12. El conjunto de sensores 13 puede estar integrado en el dispositivo 10 o, de otro modo, puede ser extraíble / desechable. En el modo de realización mostrado, el dispositivo 10 incluye además una fuente de muestra 16, un primer mecanismo de suministro 18 para suministrar la muestra 12 desde la fuente de muestra hasta una vía de flujo 17 que fluye sobre y/o por el biosensor 14, una fuente de fluido 20 y un segundo mecanismo de suministro 22 para suministrar un fluido 24 que comprende el analito objetivo 30 (correspondiente al(los) mismo(s) analito(s) objetivo sospechoso(s) de estar en la muestra 12) desde la fuente de fluido 20 hasta la vía de flujo 17. En un modo de realización alternativo, la muestra 12 se puede introducir en el conjunto de sensores 13 antes de la inserción del conjunto de sensores 13 en el dispositivo 10. El conjunto de sensores 13 o el biosensor 14 pueden estar en comunicación directa o indirecta con una unidad computacional 26 que puede recopilar, almacenar y analizar los resultados de las pruebas analíticas de los sensores 14 de acuerdo con procedimientos conocidos. En referencia al modo de realización de la FIG. 1, después del suministro de una primera muestra 12 al sensor 14, el dispositivo 10 puede introducir el fluido 24 en la vía de flujo 17 desde la fuente de fluido 20 para eliminar la muestra 12 del conjunto de sensores 13 (o una parte del mismo) y preparar el dispositivo 10 para la introducción de una muestra posterior, típicamente del mismo tipo que la primera muestra 12.

La muestra 12 que se introducirá en el dispositivo 10 puede comprender cualquier material biológico tomado de un sujeto, por ejemplo, tal como un líquido corporal, infección o absceso recogido del sujeto mediante procedimientos y dispositivos adecuados conocidos en la técnica. Los líquidos corporales incluyen, pero no se limitan a, orina, sangre completa, suero sanguíneo, plasma sanguíneo, saliva, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido de dializado, hisopos nasofaríngeos, hisopos vaginales, lágrimas, tejidos y similares. La muestra puede incluir, además, cualquier tampón, diluyente o similar adecuado según sea necesario o deseado para el tipo particular de muestra. En modos de realización particulares, la muestra 12 comprende una muestra de sangre, que puede ser: una muestra de sangre completa que comprende plasma y células de sangre completa; una muestra de plasma; o una muestra de suero. En un modo de realización particular, la muestra comprende una muestra de sangre completa. La muestra de sangre completa puede comprender glóbulos rojos, plaquetas y similares. En otros modos de realización, la muestra de sangre comprende una muestra de plasma. Para obtener la muestra de plasma, la muestra puede ser una que se haya tratado para eliminar una pluralidad de las células de sangre completa usando procedimientos y componentes conocidos, tales como centrifugación o membranas porosas disponibles comercialmente.

La cantidad de muestra 12 introducida en el dispositivo 10 puede ser cualquier volumen adecuado. La muestra se puede introducir por medio de un mecanismo de suministro (por ejemplo, el primer mecanismo de suministro 18) que puede comprender cualquier sistema de suministro de fluido manual o automatizado adecuado como se conoce en la técnica, tal como por medio de un sistema de pipeteo automatizado o una jeringa. En modos de realización particulares, el volumen de la muestra 12 es un volumen de muestra reducido. El volumen de muestra reducido puede ser de aproximadamente 100 µl o menos, tal como de 30 µl a 40 µl, de 45 µl a 55 µl, de 60 µl a 90 µl o de 75µl a 85 µl.

El biosensor 14 puede ser uno que sea adecuado para la determinación cualitativa, semicuantitativa o cuantitativa de la presencia de un analito objetivo 30 en una muestra. Como se ha mencionado anteriormente, el biosensor 14 se puede utilizar para determinar al menos un analito en una muestra usando al menos un material de detección biológico (una enzima). Cuando hay más de un sensor presente, los sensores que incluyen al menos un biosensor están dispuestos en una orientación predeterminada de modo que, a medida que una muestra dada 12 se desplaza a lo largo de la vía de flujo 17, la muestra 12 se "encuentra" con un sensor después de otro en una "zona analítica" para cada sensor, que se describirá con más detalle a continuación. Se puede entender que la zona analítica se refiere al volumen que utiliza un biosensor 14 para detectar la presencia de un analito objetivo 30 para el que está destinado. En un modo de realización, los sensores pueden estar dispuestos en un cartucho de medición desechable y sellado como se conoce en la técnica, que también puede comprender los materiales de calibración necesarios para el sensor. Dichos cartuchos están disponibles comercialmente en Siemens Healthcare Diagnostics, Inc. y se pueden insertar típicamente de forma extraíble en el dispositivo 10. En determinados modos de realización, los materiales de calibración también se enriquecen con el analito objetivo 30.

El biosensor 14 puede ser cualquier sensor adecuado conocido en la técnica configurado para proporcionar un parámetro indicativo de una cantidad de uno o más de un analito objetivo 30 tales como glucosa, lactato y creatinina en la muestra 12. A su vez, el fluido 24 puede comprender una cantidad del analito objetivo 30 detectable por el biosensor 14 tal como glucosa, lactato y creatinina. La cantidad del analito objetivo 30 en una muestra se puede determinar cualitativa, semicuantitativa o cuantitativamente a partir de los datos proporcionados por el sensor 14 a través del uso de estándares y controles conocidos como bien entenderían los expertos en la técnica. Por ejemplo, los resultados se pueden comparar con los valores de una curva de calibración creada a partir de una pluralidad de muestras de estándares que tienen concentraciones predeterminadas como bien se conoce en la técnica. En determinados modos de realización, el biosensor 14 se puede utilizar para determinar si la presencia de un analito objetivo 30 en la muestra 12 está por encima o por debajo de un valor umbral predeterminado.

En referencia a la FIG. 2, se muestra una parte de una vía de flujo 17 que se desplaza por los sensores 14. Como se muestra, la parte de la vía de flujo 17 que se expone al sensor se puede denominar la "zona analítica 28". En este modo de realización se muestra que la zona analítica 28 tiene una conformación sustancialmente rectangular; sin embargo, se entiende que la presente invención no está tan limitada. Independientemente, lo que se describe en el presente documento es un mecanismo de suministro 18 (FIG. 1) que puede suministrar una primera muestra 12a a la vía de flujo 17 que fluye por los sensores. Después de esto, un mecanismo de suministro 22 suministra un fluido 24 a la vía de flujo 17 para eliminar cualquier remanente de la primera muestra 12a antes de la introducción de una muestra posterior (mostrada como 12b) a la vía de flujo 17. Como se puede apreciar, si el volumen de la segunda muestra 12b es insuficiente para desplazar la cantidad de fluido 24 presente en la zona analítica 28, entonces el fluido 24 se mezclará con la segunda muestra 12b y puede alterar los resultados analíticos por medio del mezclado involuntario. Por ejemplo, la segunda muestra 12b se podría diluir, proporcionando de este modo un resultado para un analito objetivo que no es representativo del valor real para el analito objetivo. El uso típico de los biosensores de la técnica anterior únicamente introduce un fluido de lavado libre del analito objetivo.

Sin embargo, de acuerdo con un aspecto de la presente invención y en contraste con los sistemas y procedimientos de la técnica anterior, el fluido 24 descrito en el presente documento comprende en realidad una cantidad de un analito objetivo 30 para cuya determinación de presencia se configura el biosensor 14. El fluido 24 fluye a través

de la vía de flujo 17 y la zona analítica 28 antes de la introducción de una muestra 12 en la vía de flujo 17 y la zona analítica 28. De esta manera, el fluido 24 estará en contacto fluido con una muestra 12 posteriormente suministrada en la vía de flujo 17 y la zona analítica 28.

5 La solución propuesta de incorporar una cantidad del analito objetivo 30 en un fluido y suministrarla a la zona analítica 28 de un sensor dado 14 antes de la introducción de una muestra 12 al mismo es particularmente contradictoria. El pensamiento convencional en la técnica es o habría sido que el uso del analito objetivo en sí mismo en un fluido de lavado inmediatamente antes de la introducción de una muestra produciría resultados analíticos inexactos y disminuiría además rápidamente la vida útil del biosensor asociado 14, ya que el dispositivo  
10 agregaría una exposición significativa del sensor 14 al analito objetivo, dando como resultado de este modo una vida útil reducida. Sin embargo, el autor de la presente invención ha descubierto y demostrado (ver también los ejemplos a continuación) sorprendentemente que el suministro de un fluido 24 que comprende un analito objetivo 30 a la zona analítica 28 de un biosensor respectivo 14 inmediatamente antes de la introducción de una muestra 12 sospechosa de tener el analito objetivo 30 a la misma zona analítica 28 puede mejorar  
15 significativamente la precisión del ensayo para el analito objetivo 30, aún sin dar como resultado la reducción significativa de la vida útil del sensor asociado. El fluido 24 (por ejemplo, un fluido de lavado) que comprende el analito objetivo 30 puede eliminar la desviación de los resultados analíticos típicamente vista con el mezclado involuntario del fluido 24 con una muestra 12 (por ejemplo, muestra de sangre completa de volumen reducido).

20 En un modo de realización, la cantidad del analito objetivo 30 en el fluido 24 es suficiente para proporcionar al menos un grado de mejora en la precisión en un ensayo asociado para el analito objetivo. El ensayo asociado es aquel para el que se pretende mejorar la detección del analito objetivo 30 del fluido 24. No obstante, la cantidad del analito objetivo 30 en el fluido 24 preferentemente no es tan alta como para que el ensayo para el analito objetivo 30 recupere una cantidad excesiva del mismo de una muestra 12 introducida después de esto como  
25 resultado del remanente que queda en el fluido 24. Si se utiliza una concentración demasiado alta del analito objetivo en el fluido 24, esto produciría probablemente un resultado superior al real para el analito objetivo tras el análisis de la muestra posterior.

30 En un aspecto, la concentración del analito objetivo 30 se puede incluir en el fluido 24 como un porcentaje de un valor umbral mínimo predeterminado o un valor umbral máximo predeterminado frente al cual se comparará una concentración medida del analito objetivo en la muestra. En un modo de realización particular, la concentración del analito objetivo 30 puede ser del 100-300 % de la concentración del valor umbral mínimo predeterminado y del 25-75 % del valor umbral máximo predeterminado para el analito objetivo.

35 En otro aspecto, el valor umbral predeterminado puede comprender un valor de decisión médica y una cantidad del analito objetivo 30 en el fluido 24 es mayor que un valor de decisión médica inferior y es menor que un valor de decisión médica superior para el analito objetivo 30. En determinados modos de realización, la concentración del analito objetivo 30 en el fluido 24 se puede encontrar dentro de un intervalo para el analito objetivo 30 en la muestra 12 tal como entre los valores de decisión médica, por ejemplo, del 25 % al 75 % de los valores de decisión  
40 médica.

El fluido 24 que comprende una cantidad del analito objetivo 30 se puede suministrar a la zona analítica 28 desde la fuente de fluido 20 por el mecanismo de suministro 22, que puede ser un sistema de pipeteo o dispensación automatizado como se conoce en la técnica. En los analizadores de cuidados intensivos o similares, como se  
45 conocen en la técnica, es común que los reactivos de lavado, por ejemplo, se alojen en un recipiente adecuado, tal como un estuche o bolsa formado a partir de un material inerte junto con otros recipientes semejantes para el almacenamiento de reactivos adecuados necesarios para los ensayos que se va a realizar. En un modo de realización, la fuente de fluido 20 puede comprender uno o más de estos recipientes, que a continuación se alojan en un cartucho. En determinados modos de realización se puede proporcionar un cartucho separado para el fluido  
50 de lavado y los reactivos.

El fluido 24 se puede introducir en la zona analítica 28 antes de la introducción de una muestra en la zona 28 o se puede introducir en la zona analítica 28 entre muestras analizadas posteriormente. Se entiende que es simplemente crítico que una cantidad de un analito objetivo predeterminado 30 se introduzca intencionalmente en  
55 la zona analítica 28 en el fluido 24 antes del contacto de una muestra sospechosa de tener el analito objetivo predeterminado 30. En un modo de realización, el fluido 24 puede estar presente en la zona analítica 28 en un cartucho preenvasado que comprende un conjunto de sensores 13 y el fluido 24.

60 El fluido 24 puede comprender un medio acuoso que comprende el analito objetivo. Aún más, el fluido puede incluir tampones, estabilizadores, tensioactivos y similares adecuados como se conocen en la técnica para su uso en fluidos de lavado. En determinados modos de realización, el fluido 24 se mezcla con el analito objetivo antes de su uso en el dispositivo 10.

65 En otro modo de realización, como se muestra en la FIG. 3, se muestra una primera parte 32 que es un fluido libre del analito objetivo y una cápsula 34 que comprende el analito objetivo. En este modo de realización, antes del suministro de una muestra 12 a la zona analítica, un reactivo de lavado 32 sin analito objetivo, como es típico en

la técnica, fluye a través de la vía de flujo 17 en el sentido de la flecha 36. Justo antes de la introducción de una muestra 12, la cápsula 34 que comprende el analito objetivo 30 se puede suministrar a la zona analítica 28 a partir de una fuente adecuada y un mecanismo de suministro como se describe en el presente documento con respecto a otros fluidos. En determinados modos de realización, la cápsula 34 puede tener un volumen menor que el volumen de la zona analítica 28. Además, la cápsula 34 puede tener una concentración similar del analito objetivo como se ha descrito para un fluido de lavado mixto, pero puede tener un volumen menor. Dado que lo importante es la parte del fluido que interactúa con la muestra suministrada posteriormente, la cápsula 34 es suficiente para lograr los efectos deseados de mejorar la precisión del ensayo de la muestra posterior para un analito objetivo.

Se entiende que el analito objetivo 30 que se utilizará en el fluido 24 no tiene limitación. Sin embargo, se entiende que se proporciona típicamente un sensor 14 para la detección del analito objetivo 30. Además, se entiende que el fluido 24 puede comprender más de un analito objetivo 30, ya que el conjunto de sensores 13 puede comprender una pluralidad de sensores 14 para la detección de más de un analito objetivo.

En otro aspecto, el fluido 24 que comprende una cantidad del analito objetivo 30, como se describe en el presente documento, se puede precargar dentro de un cartucho desechable de un solo uso para su uso en un dispositivo 10 tal como un analizador de diagnóstico inmediato. El cartucho desechable puede comprender el fluido 24 junto con, al menos, un biosensor 14 o un conjunto de sensores 13 como se describe en el presente documento. La muestra 12 sospechosa de tener el analito objetivo se puede agregar al cartucho del dispositivo 10 interna o externamente. El fluido 24 en el cartucho que comprende una cantidad del analito objetivo 30 se puede agregar a la muestra 12 en un volumen y una concentración que sean eficaces para mejorar la precisión del análisis para el analito objetivo 30. El cartucho desechable que comprende un conjunto de sensores 13 o un biosensor 14 se puede preparar para su envío en un envase adecuado, tal como un estuche sellado herméticamente formado a partir de un material inerte como se conoce en la técnica.

En un modo de realización particular, el analito objetivo 30 descrito en el presente documento puede ser glucosa. En determinados modos de realización, los valores típicos de decisión médica inferior y superior para glucosa son de 50 mg/dl y de 200 mg/dl, respectivamente. Solo a modo de ejemplo, el autor de la presente invención descubrió que una solución de lavado que comprende 75 mg/dl de glucosa cumplía las especificaciones de precisión deseadas en ambos niveles de decisión médica (50 mg/dl y 200 mg/dl) en volúmenes de muestra reducidos (muestra de 65  $\mu$ l) cuando se usaba en un procedimiento como el que se describe en el presente documento.

En referencia de nuevo a la FIG. 1, la unidad computacional 26 comprende uno o más módulos configurados para recibir datos de uno o más sensores 14 y determinar un resultado a partir de los datos. El resultado puede ser una cantidad cualitativa, semicuantitativa o cuantitativa de uno o más analitos objetivo 30. La unidad computacional 26 puede estar integrada dentro del dispositivo 10 o puede ser independiente del mismo y estar comunicada por cable o de forma inalámbrica con el mismo. Además, la unidad computacional 26 puede comprender, por ejemplo, un ordenador con un propósito especial que comprenda un microprocesador, un microordenador, un controlador industrial, un controlador lógico programable, un circuito lógico discreto u otro dispositivo de control adecuado. En un modo de realización, la unidad computacional 26 puede comprender además uno o más canales de entrada, una memoria y canal(es) de salida. La memoria puede incluir un medio legible por ordenador o un dispositivo de almacenamiento, por ejemplo, un disquete, un disco compacto de memoria de solo lectura (CD-ROM) o similares. En un modo de realización, la unidad computacional 26 puede comprender instrucciones legibles por ordenador para realizar cualquier aspecto de los procedimientos o para controlar cualquier aspecto de los componentes descrito en el presente documento.

A continuación en el presente documento se proporcionan ejemplos. Sin embargo, se entiende que la descripción en el presente documento no se limita en su aplicación a la experimentación, resultados y procedimientos de laboratorio específicos. Más bien, los ejemplos se proporcionan simplemente como uno de diversos modos de realización y pretenden ser ejemplares, no exhaustivos.

## EJEMPLOS NO LIMITANTES

### Ejemplo 1

Las bolsas de reactivos de lavado se prepararon con 75 mg/dl, 125 mg/dl y 200 mg/dl de glucosa. Estas se incorporaron en cartuchos de lavado/residuo y se instalaron en sistemas de volumen de muestra reducido (RSV). Para cada concentración de lavado de glucosa se ejecutaron dos ciclos de sangre de nivel 1 (con 50 mg/dl de glucosa) por triplicado en modo de jeringa normal (200  $\mu$ l) y en modo de microcápsulas (65  $\mu$ l). Adicionalmente, se ejecutaron dos ciclos de sangre de nivel 4 (con 200 mg/dl de glucosa) por triplicado en modo de jeringa normal (200  $\mu$ l) y en modo de microcápsulas (65  $\mu$ l).

Los datos se procesaron posteriormente para cada muestra usando señales de dos puntos de calibración. El primer punto de calibración se determinó a partir de un reactivo acuoso que contenía 200 mg/dl de glucosa. El segundo punto de calibración se determinó usando una concentración de glucosa cero para el desplazamiento cero electrónico del instrumento. No se aplicaron otros algoritmos a los datos sin procesar. La precisión en sangre

completa se determinó como la desviación estándar (DE) de la concentración de glucosa procesada posteriormente por nivel y por modo de muestra (es decir, modo de jeringa normal o modo de microcápsulas). Los resultados para la sangre de nivel 1 (con 50 mg/dl de glucosa) se muestran en las FIGS. 4-5 para los modos de microcápsulas y jeringas normales. Los puntos en forma de diamante corresponden a la recuperación de glucosa (mg/dl) y se asocian con el eje vertical del lateral izquierdo. Los puntos de forma cuadrada corresponden a la precisión de la DE de glucosa y se asocian con el eje vertical del lateral derecho.

Para los resultados mostrados en las FIGS. 4-5, se puede observar que a medida que la concentración de lavado de glucosa se aleja y supera la concentración sanguínea objetivo de 50 mg/dl, la glucosa recuperada de la muestra de sangre aumenta como resultado del remanente de glucosa en el lavado. Adicionalmente, la precisión en sangre empeora a medida que la concentración de lavado de glucosa se aleja y supera la concentración sanguínea objetivo. Este es el resultado de un impacto mayor del remanente de lavado inconsistente a concentraciones de lavado más alejadas de la concentración sanguínea objetivo. Estos efectos se observan en los modos de microcápsulas y de jeringa normal; sin embargo, ambos efectos parecen más pronunciados en los volúmenes de muestra reducidos menores que en los volúmenes de jeringa normal mayores.

De forma similar, los resultados para la sangre de nivel 4 (con 200 mg/dl de glucosa) se representan para los modos de microcápsula y de jeringa normal en las FIGS. 6-7. Para las FIGS. 6-7, se puede observar fácilmente que a medida que la concentración de lavado de glucosa se aleja y está por debajo de la concentración sanguínea objetivo de 200 mg/dl, la glucosa recuperada de la muestra de sangre disminuye como resultado de la dilución del reactivo de lavado. Adicionalmente, la precisión en sangre empeora a medida que la concentración de lavado de glucosa se aleja y está por debajo de la concentración sanguínea objetivo. Este es el resultado de un impacto mayor del remanente de lavado inconsistente a concentraciones de lavado más alejadas de la concentración sanguínea objetivo. Estos efectos se observan en los modos de microcápsula y jeringa normal; sin embargo, ambos efectos parecen ligeramente más pronunciados en el volumen de muestra reducido inferior, como se esperaría con el mecanismo propuesto.

Las figuras que muestran el modo de microcápsula (Figuras 4 y 6) ilustran que la concentración de lavado de 75 mg/dl es un buen compromiso y proporciona buenos resultados de precisión en sangre completa a ambos niveles de decisión médica.

En conclusión, se descubrió que el reactivo de lavado con 200 mg/dl de glucosa proporcionaba una precisión en sangre de nivel 4 excelente; sin embargo, daba como resultado una precisión en sangre de nivel 1 deficiente.

Por el contrario, una concentración menor de lavado de glucosa (por ejemplo, cero mg/dl) proporcionaba una mejor precisión en sangre de nivel 1 a expensas de una precisión más deficiente en sangre de nivel 4. Se descubrió que una concentración de lavado de glucosa de 75 mg/dl proporciona un buen compromiso tanto para sangre de nivel 1 como de nivel 4. Con una concentración de lavado de glucosa de 75 mg/dl, la precisión en los niveles de sangre de 50 mg/dl y 200 mg/dl estuvo dentro de los límites aceptables usando un volumen de muestra reducido de 65 µl.

Los resultados de este experimento muestran que la concentración de lavado de glucosa es un factor significativo para la precisión en sangre completa y para la recuperación en sangre completa para los modos de microcápsula y jeringa normal. Esto es consecuente con el mecanismo propuesto de remanente de reactivo de lavado inconsistente para la muestra de sangre.

## Ejemplo 2

En este experimento, como se muestra en la FIG. 8, se demostró que la exposición repetida del sensor a un reactivo de lavado que comprende una cantidad del analito objetivo tal como glucosa no degradó el rendimiento del sensor ni su vida útil durante un período de 2 semanas. El reactivo de lavado se preparó con una alta concentración (200 mg/dl) de glucosa. Este reactivo de lavado se expuso continuamente al sensor de glucosa durante todo el estudio. En intervalos de 8 horas, se evaluó el rendimiento del sensor de glucosa midiendo la recuperación de soluciones acuosas que contenían 50 mg/dl, 100 mg/dl y 200 mg/dl de glucosa.

Si bien se han demostrado y descrito diversos modos de realización de la presente invención en el presente documento, será obvio que dichos modos de realización se proporcionen solo a modo de ejemplo. Se pueden hacer numerosas variaciones, cambios y sustituciones sin apartarse de la invención del presente documento. En consecuencia, se pretende que la invención se limite solo por el espíritu y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

- 5           1. Un procedimiento para mejorar la precisión en una prueba de diagnóstico utilizando un biosensor enzimático que comprende:
- la puesta en contacto de una muestra sospechosa de tener un analito objetivo en la misma con una cantidad de fluido que comprende una cantidad del analito objetivo antes del análisis de la muestra para el analito objetivo;
- 10           en el que la puesta en contacto se realiza dentro de una zona analítica definida por el biosensor, el biosensor configurado para la detección de la presencia del analito objetivo; y
- en el que la puesta en contacto es eficaz para incrementar el grado de precisión del análisis del analito objetivo, y
- 15           en el que el fluido comprende un fluido de lavado que se suministra a la zona analítica antes del suministro de la muestra a la zona analítica,
- en el que el fluido comprende una cantidad del analito objetivo mayor que un valor de decisión médica inferior y menor que un valor de decisión médica superior para el analito objetivo.
- 20           2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el fluido comprende una cápsula que comprende el analito objetivo, en el que la cápsula se suministra a la zona analítica después del suministro de un fluido de lavado sin el analito objetivo a través de la zona analítica y antes de la introducción de la muestra a través de la zona analítica.
- 25           3. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además el análisis de la muestra para detectar la presencia del analito objetivo.
- 30           4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que el análisis de la muestra para detectar la presencia del analito objetivo comprende determinar si una cantidad del analito objetivo es al menos mayor que un valor de decisión médica inferior o menor que un valor de decisión médica superior para el analito objetivo.
- 35           5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el sensor está dispuesto sobre un sustrato que comprende una pluralidad de sensores adicionales.
6. Un sistema para mejorar la precisión en una prueba de diagnóstico que comprende:
- una enzima que define una zona analítica y que está configurada para la detección de un analito objetivo;
- 40           una fuente de fluido de lavado que comprende un fluido, en el que el fluido de lavado comprende una cantidad del analito objetivo;
- un primer mecanismo de suministro en comunicación con la fuente de fluido de lavado para introducir el fluido de lavado en la zona analítica;
- 45           un segundo mecanismo de suministro en comunicación con una muestra sospechosa de comprender el analito objetivo para introducir la muestra en la zona analítica después de la introducción del fluido de lavado en la zona analítica;
- 50           en el que, tras el suministro del fluido de lavado a la zona analítica y el suministro de la muestra, la cantidad del analito objetivo en el fluido de lavado es eficaz para incrementar el grado de precisión del análisis del analito objetivo en la muestra,
- en el que el fluido comprende una cantidad del analito objetivo mayor que un valor de decisión médica inferior y menor que un valor de decisión médica superior para el analito objetivo.
- 55           7. El sistema de la reivindicación 6, en el que el biosensor está configurado para la detección de un analito objetivo seleccionado del grupo que consiste en glucosa, lactato y creatinina.
- 60           8. El sistema de la reivindicación 6, en el que el fluido de lavado comprende una cantidad del analito objetivo mayor que un valor de decisión médica inferior y menor que un valor de decisión médica superior para el analito objetivo.
- 65           9. El sistema de la reivindicación 6, en el que el analito objetivo comprende glucosa.

FIG 1

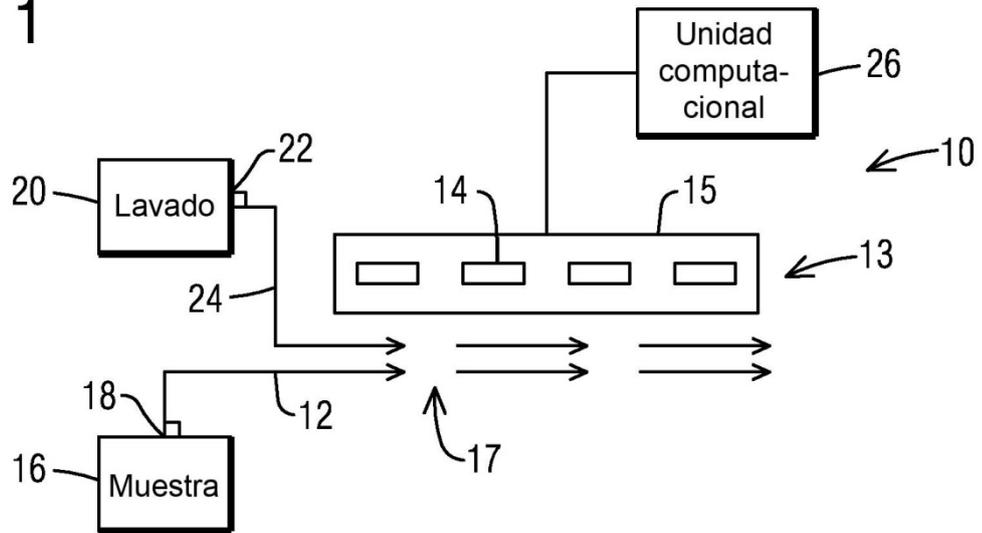


FIG 2

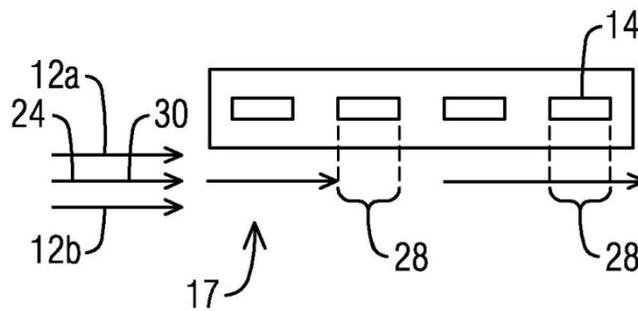
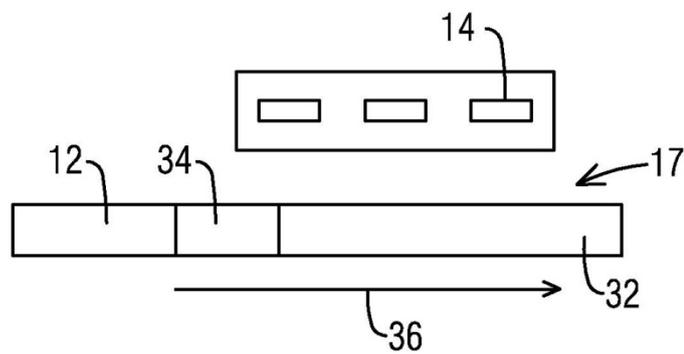


FIG 3



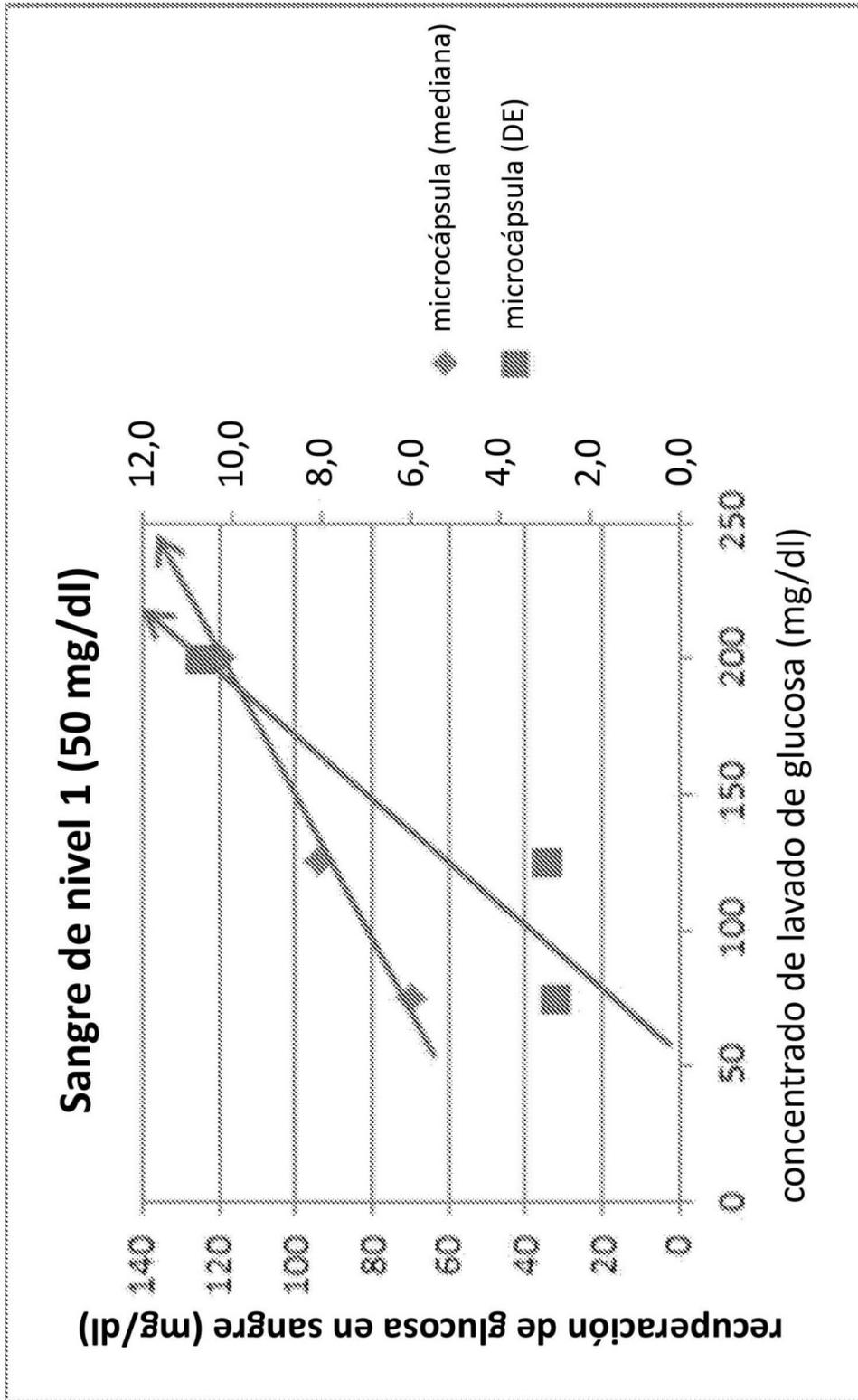


FIG. 4

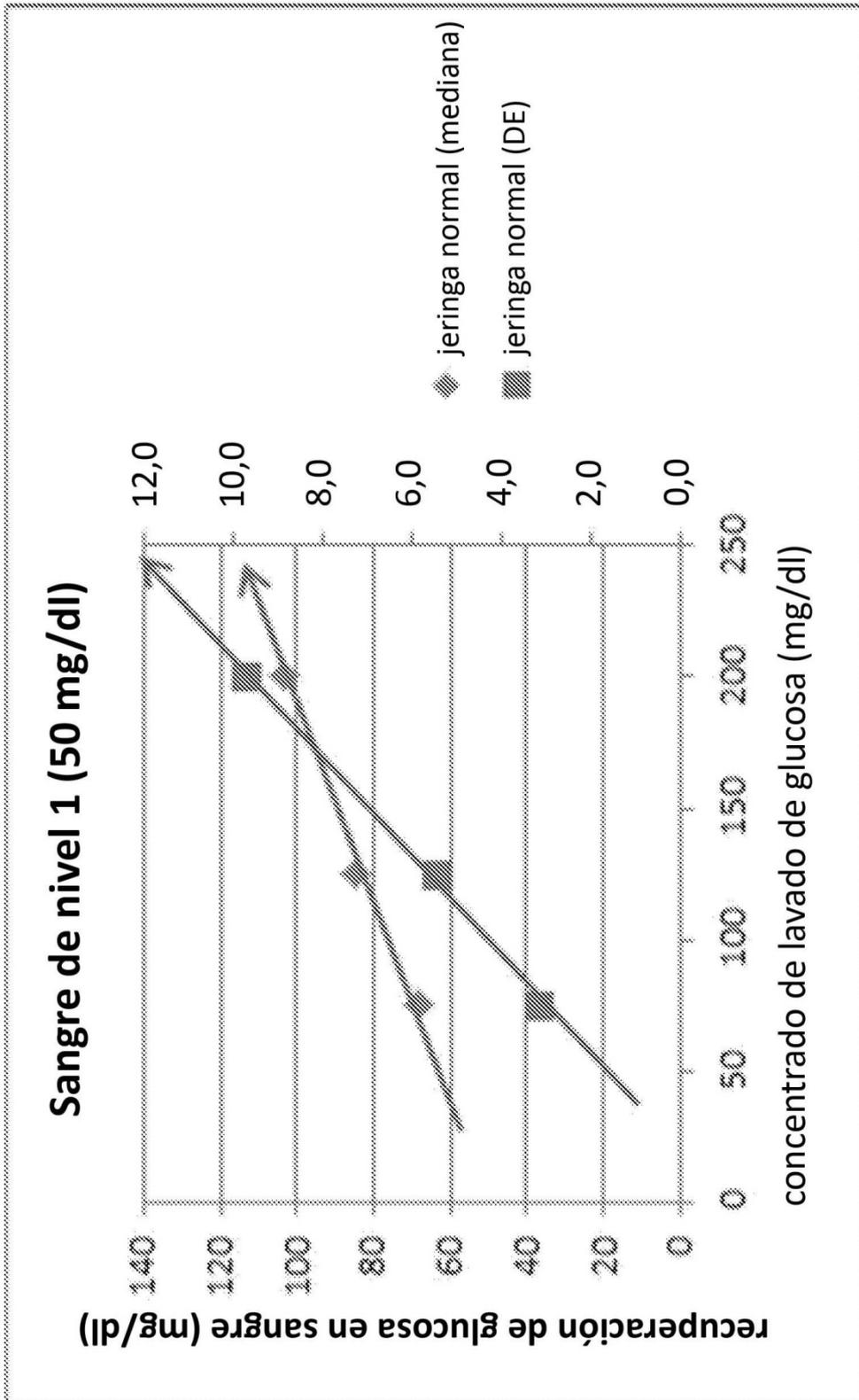


FIG. 5

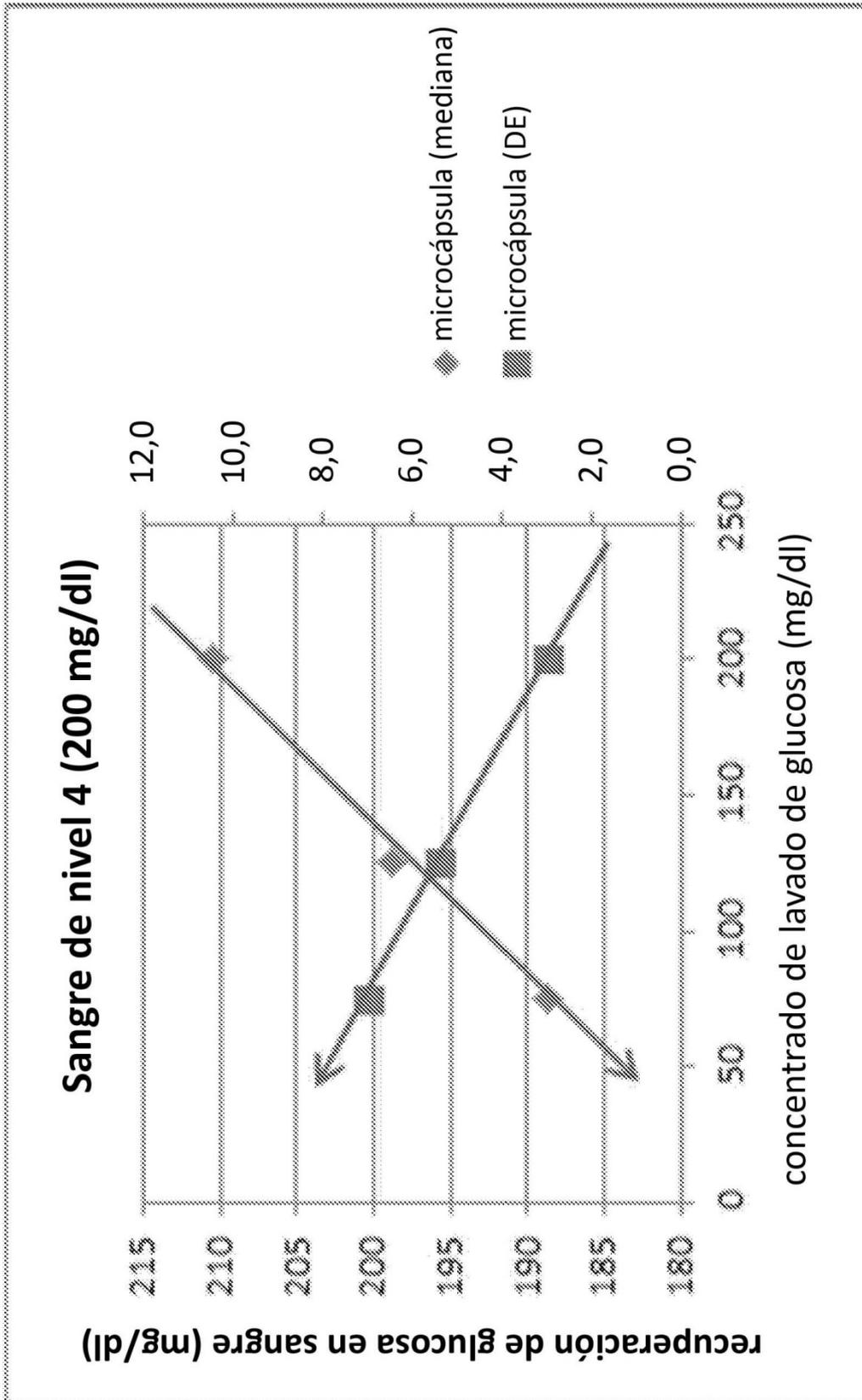


FIG. 6

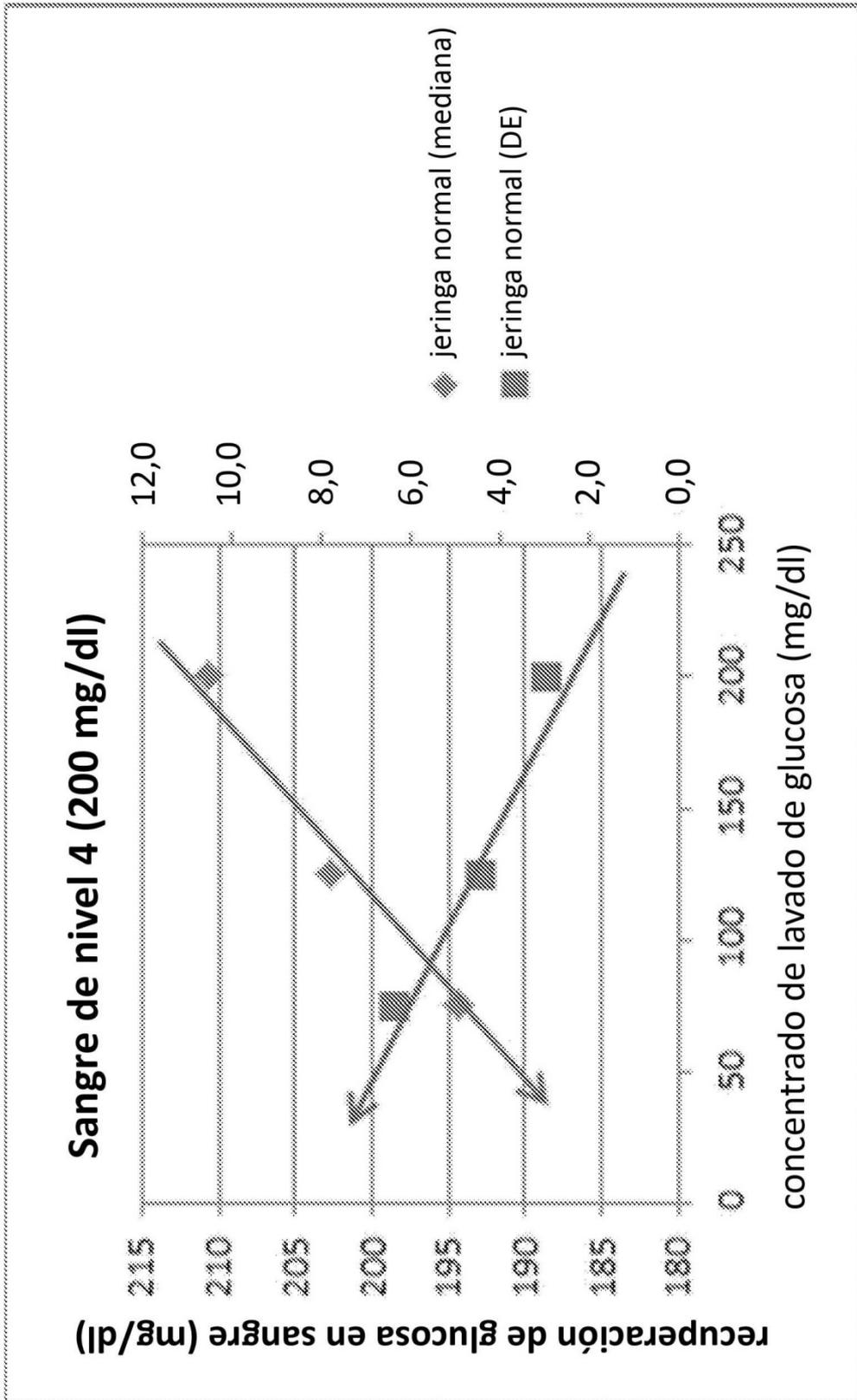


FIG. 7

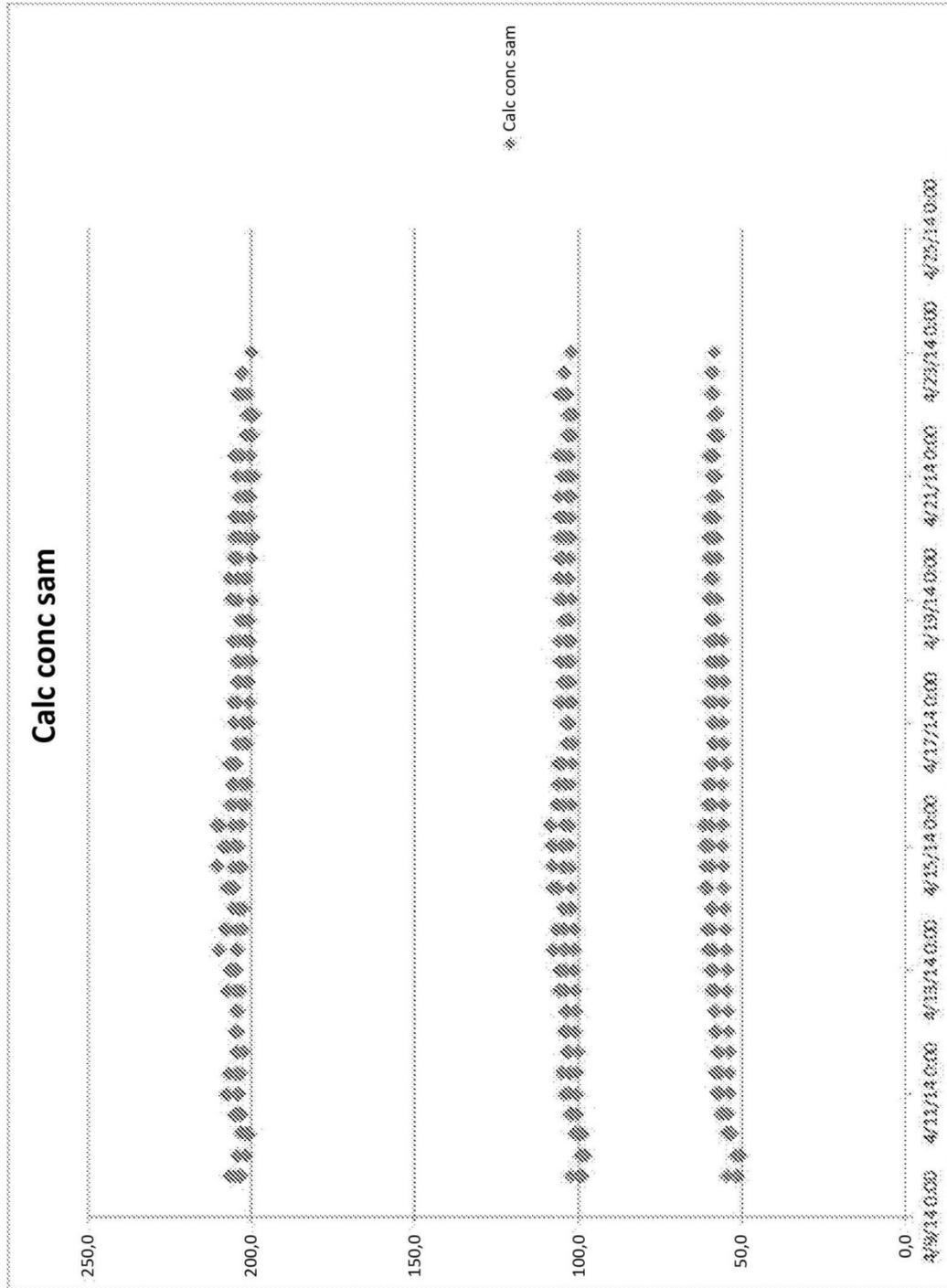


FIG. 8