

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 444**

51 Int. Cl.:

G01N 27/327 (2006.01)

G16B 40/00 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2012 E 16189622 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3168609**

54 Título: **Medida de glucosa en sangre utilizando una tira de prueba electroquímica en base al hematocrito detectado**

30 Prioridad:

29.12.2011 US 201161581087 P

29.12.2011 US 201161581089 P

29.12.2011 US 201161581099 P

29.12.2011 US 201161581100 P

31.05.2012 US 201261654013 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.07.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MALECHA, MICHAEL;
SMITH, ANTONY y
MCCOLL, DAVID**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 774 444 T3

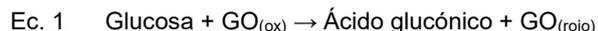
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

Medida de glucosa en sangre utilizando una tira de prueba electroquímica en base al hematocrito detectado

5 ANTECEDENTES

10 [0001] Tiras de prueba de glucosa electroquímicas, tales como las utilizadas en el kit de toda la prueba de sangre OneTouch® Ultra®, que está disponible en LifeScan, Inc., están diseñadas para medir la concentración de glucosa en una muestra de fluido fisiológico de los pacientes con diabetes. La medición de glucosa puede basarse en la oxidación selectiva de glucosa por la enzima glucosa oxidasa (GO). Las reacciones que pueden ocurrir en una tira de prueba de glucosa se resumen a continuación en las ecuaciones 1 y 2.



20 [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 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).

25 [0003] Cuando las reacciones expuestas anteriormente se llevan a cabo con una señal de prueba aplicada entre dos electrodos, una prueba de corriente puede ser creada por la re-oxidación electroquímica del mediador reducido en la superficie del electrodo. Por lo tanto, dado que, en un entorno ideal, la cantidad de ferrocianuro creada durante la reacción química descrita anteriormente es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra colocada entre los electrodos, la corriente de prueba generada sería proporcional al contenido de glucosa de la muestra. Un mediador, como el ferrocianuro, 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, resultante de la reoxidación del mediador reducido, y la concentración de glucosa. En particular, la transferencia de electrones a través de la interfaz eléctrica da como resultado el flujo de una corriente de prueba (2moles de electrones por cada mol de glucosa que se oxida). La corriente de prueba resultante de la introducción de glucosa puede, por lo tanto, denominarse señal de glucosa.

35 [0004] Los biosensores electroquímicos pueden verse afectados negativamente por la presencia de ciertos componentes sanguíneos que pueden afectar indeseablemente la medición y conducir a imprecisiones en la señal detectada. Esta inexactitud puede resultar en una lectura de glucosa inexacta, dejando al paciente inconsciente de un nivel de azúcar en sangre potencialmente peligroso, por ejemplo. Como un 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 concentración de analito resultante.

45 [0005] Las variaciones en un volumen de células rojas de la sangre dentro de la sangre pueden causar variaciones en las lecturas de glucosa medidas con tiras de prueba electroquímicos desechables. Típicamente, se observa un sesgo negativo (es decir, una concentración de analito calculada más baja) a un hematocrito alto, mientras que se observa un sesgo positivo (es decir, una concentración de analito calculada más alta) a un hematocrito bajo. En hematocrito alto, por ejemplo, los glóbulos rojos pueden impedir la reacción de enzimas y mediadores electroquímicos, reducir la velocidad de disolución química ya que hay menos volumen de plasma para solvatar los reactivos químicos y ralentizar la difusión del mediador. Estos factores pueden dar como resultado una lectura de glucosa inferior a la esperada ya que se produce menos señal durante el proceso electroquímico. Por el contrario, con un hematocrito bajo, menos glóbulos rojos pueden afectar la reacción electroquímica de lo esperado, y puede producirse una señal medida más alta. Además, la resistencia fisiológica de la muestra de fluido también depende del hematocrito, lo que puede afectar las mediciones de voltaje y/o corriente.

55 [0006] Varias estrategias se han utilizado para reducir o evitar variaciones del hematocrito sobre la base de la glucosa en sangre. Por ejemplo, las tiras reactivas han sido diseñadas para incorporar mallas para eliminar los glóbulos rojos de las muestras, o han incluido diversos compuestos o formulaciones diseñadas para aumentar la viscosidad de los glóbulos rojos y atenuar el efecto del hematocrito bajo 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 de corregir el hematocrito. Además, los biosensores se han configurado para medir el hematocrito midiendo una respuesta eléctrica de la muestra de fluido a través de señales de corriente alterna o cambio en las variaciones ópticas después de irradiar la muestra de fluido fisiológico con luz, o midiendo el hematocrito en función del tiempo de llenado de la cámara de muestra. Estos sensores tienen ciertas desventajas. Una técnica común de las estrategias que implican la detección de hematocrito es usar el valor de hematocrito medido para corregir o cambiar la concentración de analito medida, técnica que generalmente se muestra y describe en las siguientes publicaciones de solicitud de

patente de los Estados Unidos N^{os} 2010/0283488; 2010/0206749; 2009/0236237; 2010/0276303; 2010/0206749; 2009/0223834; 2008/0083618; 2004/0079652; 2010/0283488; 2010/0206749; 2009/0194432; o las patentes de los Estados Unidos N^{os} 7,972,861 y 7,258,769.

5 **[0007]** El documento US 2009/177406 A1 describe un sistema biosensor que determina la concentración de analito a partir de una señal de salida generada a partir de una especie identificable por luz o una reacción redox del analito. El sistema biosensor ajusta una correlación para determinar las concentraciones de analito de las señales de salida con una o más funciones de índice extraídas de las señales de salida. Las funciones de índice determinan al menos un valor de desviación de pendiente, ΔS o desviación de pendiente normalizada de uno o más parámetros de error. La correlación ajustada a la pendiente entre las concentraciones de analito y las señales de salida se puede usar para determinar las concentraciones de analito que tienen una precisión y/o precisión mejoradas de las señales de salida, incluidos los componentes atribuibles a la polarización.

SUMARIO DE LA DESCRIPCIÓN

15 **[0008]** Los solicitantes han proporcionado varias realizaciones de una técnica para permitir una mejor medición de la glucosa usando una relación entre la pendiente de lote y característica física para derivar una nueva pendiente por lotes que se puede usar para determinar la concentración del analito en base a esta pendiente derivada de lote de una tira de prueba electroquímica. Ventajosamente, esta nueva técnica no se basa en correcciones o modificaciones para realizar una medición de analito, lo que reduce el tiempo de prueba y al mismo tiempo mejora la precisión. Además, como se usa a lo largo de esta descripción, la "característica física" comprende hematocrito y el "analito" es glucosa. En un aspecto de la divulgación de los solicitantes, se proporciona un método para determinar una concentración de analito a partir de una muestra de fluido (que es una muestra fisiológica) con un biosensor (que es una tira de prueba) como se define en la reivindicación 1.

25 **[0009]** Para el aspecto de la divulgación de los solicitantes, las siguientes características también pueden utilizarse en varias combinaciones: la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden ser en orden secuencial; la aplicación de la primera señal puede superponerse con la activación de la segunda señal; la aplicación de la primera señal puede incluir dirigir una señal alterna a la muestra de manera que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna; la aplicación de la primera señal puede incluir dirigir una señal óptica a la muestra de modo que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal óptica; la dirección puede incluir conducir señales alternas primera y segunda a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia; la primera frecuencia puede ser al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia; y/o la primera frecuencia puede incluir cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10kHz a aproximadamente 250kHz, o aproximadamente 10kHz a aproximadamente 90kHz.

35 **[0010]** Además, en el aspecto de la divulgación de los solicitantes, el cálculo de la concentración de analito puede ser calculado con una ecuación de la forma:

$$40 \quad G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{\text{Pendiente}} \right]$$

45 donde

G_0 representa, o es, una concentración de analito (glucosa)

50 I_E representa, o es, una señal (proporcional a la concentración de glucosa) medida en el *tiempo de muestreo especificado*, que puede ser la señal total medida en *tiempo de muestreo especificado*;

la pendiente representa, o es, el valor obtenido de la prueba de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular; e

55 Interceptar representa, o es, el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular.

60 **[0011]** En un aspecto de la divulgación de los solicitantes como se define en la reivindicación 15, se proporciona un sistema de medición de analito que incluye una tira de prueba y un medidor de prueba. La tira de prueba incluye un sustrato y al menos dos electrodos conectados a los conectores de electrodos respectivos. El medidor de analito incluye una carcasa, un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodo de la tira de prueba y un medio configurado para realizar los pasos b) a g) del método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en particular, un microprocesador. El microprocesador está en comunicación eléctrica con el conector del puerto de la tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas de la pluralidad de electrodos durante una secuencia de prueba.

65 **[0012]** Además, en los aspectos indicados anteriormente, la pendiente derivada se puede determinar a partir de una ecuación de la forma:

$$\text{Nueva pendiente} = aH^2 + bH + c$$

donde

5

H es una característica física medida o estimada (hematocrito);
 a es igual a $1,4e-6 \pm 10\%$;
 b es igual a $-3,8e-4 \pm 10\%$;
 c es igual a $3,6e-2 \pm 10\%$.

10

[0013] Además, el cálculo de la concentración de analito se calcula con una ecuación de la forma:

15

$$G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{\text{Nueva pendiente}} \right]$$

donde

20

G_0 representa, o es, una concentración de analito (glucosa)
 I_E representa, o es, una señal (proporcional a la concentración de glucosa) medida en *tiempo de muestreo especificado*, que puede ser la señal total medida en *tiempo de muestreo especificado*;
Nueva pendiente representa, o es, el valor derivado de la característica física medida o estimada; e
 Interceptar representa, o es, el valor obtenido de la prueba de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular.

25

[0014] En los aspectos mencionados anteriormente de la divulgación, los pasos de determinar, estimar, calcular, computar, derivar y/o utilizar (posiblemente en conjunción con una ecuación) se pueden realizar mediante un circuito electrónico o un procesador. Estos pasos también pueden implementarse como instrucciones ejecutables almacenadas en un medio legible por computadora; las instrucciones, cuando son ejecutadas por una computadora, pueden realizar los pasos del método antes mencionado.

30

[0015] En aspectos adicionales de la descripción, hay dispositivos, tales como medidores de prueba o dispositivos de prueba de analitos, comprendiendo cada dispositivo o medidor un circuito electrónico o procesador configurado para realizar las etapas de cualquiera de los métodos anteriormente mencionados. En particular, en un aspecto adicional de la descripción se proporciona un medidor de glucosa como se define en la reivindicación 13. Además, en un aspecto adicional de la descripción, se proporciona un sistema de medición de analito como se define en la reivindicación 15.

35

[0016] Estas y otras realizaciones, características y ventajas serán evidentes para los expertos en la técnica cuando se toma con referencia a la siguiente descripción más detallada de las formas de realización ejemplares de la invención en conjunción con los dibujos adjuntos que se describen primero brevemente.

40

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

45

[0017] Los dibujos adjuntos, que se incorporan en el presente documento y constituyen parte de esta memoria descriptiva, junto con la descripción general dada anteriormente y la descripción detallada dada a continuación, sirven para explicar las características de la invención (en las que números iguales representan elementos), en los cuales:

50

La figura 1 ilustra un sistema de medición de analitos.

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

La figura 2B ilustra en forma esquemática simplificada una implementación preferida de una variación del medidor 200.

La figura 3A(1) ilustra la tira de prueba 100 del sistema de la figura 1 en la cual son dos electrodos sensores característicos físicos aguas arriba de los electrodos de medición.

55

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

La figura 3A(3) ilustra una variación de la tira de prueba de la figura 3A(2) en donde se ha extendido un área de reactivo aguas arriba para cubrir al menos uno de los electrodos sensores físicos característicos;

60

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

La figura 3B ilustra una variación de la tira reactiva de la figura 3A(1), 3A(2) o 3A(3) en donde un electrodo sensor de características físicas está dispuesto cerca de la entrada y el otro electrodo sensor de características físicas está en el extremo terminal de la célula de prueba con los electrodos de medición dispuestos entre el par de electrodos sensores característicos físicos.

Las figuras 3C y 3D ilustran variaciones de la figura 3A(1), 3A(2) o 3A(3) en donde los electrodos sensores de características físicas están dispuestos uno al lado del otro en el extremo terminal de la cámara de prueba con los electrodos de medición aguas arriba de las características físicas de los electrodos sensores.

Las figuras 3E y 3F ilustran una disposición de electrodos de detección de características físicas similar a la de la figura 3A(1), 3A(2) o 3A(3) en donde el par de electrodos de detección de características físicas están próximos a la entrada de la cámara de prueba.

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

La figura 3H es una vista superior simplificada de la tira de prueba analítica de la figura 3G;

La figura 3I es una vista lateral en sección transversal simplificada de la tira de prueba analítica de la figura 3H tomada a lo largo de la línea A-A de la figura 3H;

La figura 3J es una vista de extremo transversal simplificada de la tira de prueba analítica de la figura 3H tomada a lo largo de la línea B-B de la figura 3H; y

La figura 3K es una vista despiezada en perspectiva simplificada de una tira de prueba analítica de acuerdo con una realización de la presente divulgación;

La figura 3L es una vista superior simplificada del sustrato eléctricamente aislante y una porción de una primera capa conductora con diseño de una tira de prueba analítica de la figura 3K;

La figura 3M es una vista superior simplificada de la primera capa espaciadora de la tira de prueba analítica de la figura 3K;

La figura 3N es una vista superior simplificada de la segunda capa espaciadora de la tira de prueba analítica de la figura 3K;

La figura 3O es una vista lateral en sección transversal simplificada de la tira de prueba analítica de la figura 3K tomada a lo largo de la línea A-A de las Figuras 2A;

La figura 3P es una vista despiezada en perspectiva simplificada de una tira de prueba analítica de acuerdo con otra realización de la presente descripción;

La figura 3Q es una vista superior simplificada del sustrato eléctricamente aislante y la primera capa conductora con diseño de la tira de prueba analítica de la figura 3P;

La figura 3R es una vista superior simplificada de una porción de una segunda capa espaciadora con diseño y una segunda capa conductora con diseño de la tira de prueba analítica de la figura 3P;

La figura 3S es una vista superior simplificada de una tercera capa espaciadora de la tira de prueba analítica de la figura 3P;

La figura 3T es una vista lateral en sección transversal simplificada de la tira de prueba analítica de la figura 3P tomada a lo largo de la línea B-B de las Figuras 3Q.

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

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

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

La figura 6A1 ilustra un diagrama lógico de un método ejemplar para lograr una determinación de analito más precisa.

La figura 6A2 ilustra una relación entre la pendiente del lote y la característica física.

La figura 6A3 ilustra los datos de las mediciones de prueba realizadas con la técnica ejemplar de la presente, de modo que los datos muestran el sesgo de menos del $\pm 15\%$ para el rango de hematocrito de aproximadamente el 30% a aproximadamente el 55%.

La figura 6B1 ilustra un diagrama lógico de un método ejemplar para lograr una determinación de analito más precisa.

La figura 6B2 ilustra una relación entre el punto de tiempo de muestreo y los hematocritos.

La figura 6B3 ilustra los datos de las mediciones de prueba realizadas con la técnica ejemplar de la presente, de modo que los datos muestran el sesgo de menos del $\pm 25\%$ para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%.

La figura 6C1 ilustra un diagrama lógico de un método ejemplar para lograr una determinación de analito más precisa.

La figura 6C2 ilustra una relación entre el punto de tiempo de muestreo y los hematocritos.

La figura 6C3 ilustra una relación entre la pendiente y los hematocritos.

La figura 6C4 ilustra los datos de las mediciones de prueba realizadas con la técnica ejemplar de la presente, de modo que los datos muestran el sesgo de menos del $\pm 25\%$ para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%.

La figura 6D1 ilustra un diagrama lógico de un método ejemplar para lograr una determinación de analito más precisa.

La figura 6D2 ilustra una salida de señal transitoria del biosensor y el rango del punto de tiempo utilizado para la determinación del analito, así como la estimación de la concentración de analito.

La figura 6D3 ilustra los datos de las mediciones de prueba realizadas con la técnica ejemplar de la presente, de modo que los datos muestran el sesgo de menos de aproximadamente $\pm 10\%$ para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%.

La figura 7 ilustra una salida de señal transitoria del biosensor y el rango de punto de tiempo utilizado para la determinación del analito, así como la estimación de la concentración de analito.

MODOS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

[0018] La siguiente descripción detallada debe leerse con referencia a los dibujos, en los que elementos similares en diferentes dibujos están numerados de forma idéntica. Los dibujos, que no están necesariamente a escala, representan realizaciones seleccionadas y no pretenden limitar el alcance de la invención. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, no a modo de limitación, los principios de la invención. Esta descripción claramente permitirá a un experto en la materia hacer y usar la invención, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la invención, incluido lo que actualmente se cree que es el mejor modo de llevar a cabo la invención.

[0019] Como se usa en este documento, los términos "alrededor de" o "aproximadamente" para cualquiera de los valores o intervalos numéricos indican una adecuada tolerancia dimensional que permite que la parte o colección de componentes para funcionar para su propósito previsto como se describe en este documento. Más específicamente, "aproximadamente" o "alrededor de" puede referirse al rango de valores $\pm 10\%$ del valor recitado, por ejemplo, "aproximadamente 90%" puede referirse al rango de valores del 81% al 99%. Además, como se usa en el presente documento, los términos "paciente", "huésped", "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 la presente invención en un paciente humano representa una realización preferida. Como se usa en el presente documento, "señal oscilante" incluye señal(es) de voltaje o señal(es) de corriente que, respectivamente, cambian la polaridad o alternan la dirección de la corriente o son multidireccionales. También se usa en el presente documento, la frase "señal eléctrica" o "señal" pretende incluir una señal de corriente continua, una señal alterna o cualquier señal dentro del espectro electromagnético. Los términos "procesador"; "microprocesador"; o "microcontrolador" están destinados a tener el mismo significado y están destinados a ser utilizados indistintamente.

[0020] La figura 1 ilustra un medidor de prueba 200, para probar los niveles de analito en la sangre de un individuo con una tira de prueba producida por los métodos y técnicas ilustradas y descritas aquí. El medidor de prueba 200 puede incluir entradas de interfaz de usuario (206, 210, 214), que pueden ser en forma de botones, para la entrada de datos, navegación de menús y ejecución de comandos. Los datos pueden incluir valores representativos de la concentración de analito y/o información relacionada con el estilo de vida cotidiano de un individuo. La información, que está relacionada con el estilo de vida cotidiano, puede incluir la ingesta de alimentos, el uso de medicamentos, la aparición de controles de salud, el estado general de salud y los niveles de ejercicio de un individuo. El medidor de prueba 200 también puede incluir una pantalla 204 que puede usarse para informar niveles medidos de glucosa y para facilitar la entrada de información relacionada con el estilo de vida.

[0021] El medidor de prueba 200 puede incluir una primera entrada de interfaz de usuario 206, una entrada de interfaz de usuario 210 segundos, y una entrada de interfaz de tercer usuario 214. Las entradas de la interfaz de usuario 206, 210, y 214 facilitan la entrada y el análisis de los datos almacenados en el dispositivo de prueba, que permite al usuario navegar a través de la interfaz de usuario que se muestra en la pantalla 204. Las entradas de la 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.

[0022] El medidor de prueba 200 se puede activar mediante la inserción de una tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500, o 600) en un conector de puerto de tira 220, pulsando y sosteniendo brevemente la primera entrada de interfaz de usuario 206, o mediante la detección del tráfico de datos a través de un puerto de datos 218. El medidor de prueba 200 se puede apagar quitando la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600), presionando y manteniendo brevemente la primera entrada de la interfaz de usuario 206, navegando y seleccionando una opción de la pantalla del menú principal, o al no presionar ningún botón durante un tiempo predeterminado. La pantalla 104 puede incluir opcionalmente una luz de fondo.

[0023] En una realización, el medidor de prueba 200 se puede configurar 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 código, puerto de datos 218. Tal 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 atribuidos a un lote particular de tiras reactivas. 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, pueden preestablecerse dentro del medidor como se describirá a continuación.

[0024] Con referencia a la figura 2A, se muestra un diseño interno ejemplar del medidor de prueba 200. El medidor de prueba 200 puede incluir un procesador 300, que en algunas realizaciones descritas e ilustradas 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 ultra baja potencia fabricados por Texas Instruments de Dallas, Texas. El procesador se puede conectar 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 se conecta

al procesador 300 a través de los puertos de E/S 214 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, permitiendo así 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 cargarse previamente con información de calibración, como los valores de pendiente de lote e intercepción de 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 corriente) desde la tira a través del conector del puerto de la tira 220 para calcular el nivel de analito correspondiente utilizando la señal y la información de calibración sin recibir entrada de calibración de ninguna fuente externa.

[0025] En las realizaciones descritas e ilustradas en el presente documento, el medidor de prueba 200 puede incluir un circuito integrado específico a la aplicación (ASIC) 304, a fin de proporcionar circuitería electrónica utilizada en las mediciones de nivel de glucosa en sangre que ha sido aplicado a una tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) insertadas en el conector de puerto de banda 220. Los voltajes analógicos pueden pasar a y desde ASIC 304 a través de una interfaz analógica 306. Las señales analógicas de la interfaz analógica 306 pueden convertirse en señales digitales mediante un A/D convertidor 316. El procesador 300 incluye además un núcleo 308, una ROM 310 (que contiene código de computadora), una RAM 312 y un reloj 318. En una realización, el procesador 300 está configurado (o programado) para deshabilitar todas las entradas de la interfaz de usuario excepto por una sola entrada en la pantalla de un valor de analito por la unidad de visualización, como, por ejemplo, durante un período de tiempo después de una medición de analito. En una realización alternativa, el procesador 300 está configurado (o programado) para ignorar cualquier entrada de todas las entradas de la interfaz de usuario, excepto una sola entrada en la pantalla de un valor de analito por la unidad de visualización. Se muestran descripciones detalladas e ilustraciones del medidor 200 y El documento descrito en la publicación de solicitud de patente internacional número WO2006070200.

[0026] La figura 3A(1) 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 ser denominada capa de electrodo 50), una capa de aislamiento 16, dos capas de reactivos superpuestas 22a y 22b, una capa adhesiva 60 que incluye las porciones adhesivas 24, 26 y 28, una capa hidrófila 70 y una capa superior 80 que forma una cubierta 94 para la tira de prueba 100. La tira de prueba 100 puede fabricarse en una serie de etapas en las que la capa conductora 50, la capa de aislamiento 16, las capas de reactivo 22 y la capa adhesiva 60 se depositan secuencialmente sobre el sustrato 5 usando, por ejemplo, una pantalla. proceso de impresión. Tenga en cuenta que los electrodos 10, 12 y 14) están dispuestos para el contacto con la capa de reactivo 22a y 22b, mientras que los electrodos de detección de características físicas 19a y 20a están separados y no están en contacto con la capa de reactivo 22. Capa hidrofílica 70 y capa superior 80 puede eliminarse de un material en rollo 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 figura 3A(1).

[0027] La tira de prueba 100 puede incluir una cámara receptora de muestra 92 a través de la cual se puede extraer o depositar una muestra de fluido fisiológico 95 (Fig. 3A(2)). La muestra de fluido fisiológico discutida aquí puede ser sangre. La cámara de recepción de muestras 92 puede incluir una entrada en un extremo proximal y una salida en los bordes laterales de la tira de prueba 100, como se ilustra en la figura 3A(1). Se puede aplicar una muestra de fluido 95 a la entrada a lo largo del eje L-L (figura 3A(2)) para llenar una cámara receptora de muestra 92 para poder medir la glucosa. Los bordes laterales de una primera almohadilla adhesiva 24 y una segunda almohadilla adhesiva 26 ubicada adyacente a la capa de reactivo 22 definen cada uno una pared de la cámara receptora de muestras 92, como se ilustra en la figura 3A(1). Una parte inferior o "fondo" 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 figura 3A(1). Una porción superior o "techo" de la cámara receptora de muestras 92 puede incluir la porción hidrofílica distal 32, como se ilustra en la figura 3A(1). Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la figura 3A(1), el sustrato 5 se puede usar como base para ayudar a soportar las capas aplicadas posteriormente. El sustrato 5 puede tener la forma de una lámina de poliéster como un material de tetráftalato 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.

[0028] Se requiere una capa conductora para la formación de electrodos que pueden ser utilizados para la medición electroquímica de glucosa. La primera capa conductora 50 puede estar hecha de una tinta de carbono que es serigrafiada sobre el sustrato 5. En un proceso de serigrafía, 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 carbono puede incorporar una proporción de negro de carbón: resina VAGH de aproximadamente 2,90:1 y una relación de grafito: negro de carbón de aproximadamente 2,62:1 en la tinta de carbono.

[0029] Para la tira de prueba 100, como se ilustra en la figura 3A(1), la primera capa conductora 50 puede incluir un electrodo de referencia 10, un primer electrodo de trabajo 12, un segundo electrodo de trabajo 14, tercer y cuarto

electrodos de detección física característicos 19a y 19b, una primera almohadilla de contacto 13, una segunda almohadilla de contacto 15, una almohadilla de contacto de referencia 11, una primera pista de electrodo de trabajo 8, una segunda pista de electrodo de trabajo 9, una pista de electrodo de referencia 7 y una barra de detección de tiras 17. Los electrodos de detección característicos físicos 19a y 20a están provistos de pistas de electrodo respectivas 19b y 20b. La capa conductora puede estar formada de tinta de carbón. La primera almohadilla de contacto 13, la segunda almohadilla de contacto 15 y la almohadilla de contacto de referencia 11 pueden adaptarse para conectarse eléctricamente a un medidor de prueba. La primera pista de electrodo de trabajo 8 proporciona una ruta eléctricamente continua desde el primer electrodo de trabajo 12 hasta la primera almohadilla de contacto 13. De manera similar, la segunda pista de electrodo de trabajo 9 proporciona una ruta eléctricamente continua desde el segundo electrodo de trabajo 14 hasta la segunda almohadilla de contacto 15. De manera similar, la pista de electrodo de referencia 7 proporciona una vía eléctricamente continua desde el electrodo de referencia 10 a la almohadilla de contacto de referencia 11. La barra de detección de la tira 17 está conectada eléctricamente a la almohadilla de contacto de referencia 11. Las pistas de electrodos tercero y cuarto 19b y 20b se conectan a los electrodos respectivos 19a y 20a. Un medidor de prueba puede detectar que la tira de prueba 100 se ha insertado correctamente midiendo una continuidad entre la almohadilla de contacto de referencia 11 y la barra de detección de tira 17, como se ilustra en la figura 3A(1).

[0030] Las variaciones de la tira de prueba 100 (Figura 3A(1), 3A(2), 3A(3), o 3A(4)) se muestran en las figuras 3B-3T. Brevemente, con respecto a las variaciones de la tira de prueba 100 (ilustrada a modo de ejemplo en las Figuras 3A(2), 3A(2) y 3B a 3T), estas tiras de prueba incluyen una capa de reactivo enzimático dispuesta en el electrodo de trabajo, una capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa conductora estampada y configurada para definir una cámara de muestra dentro de la tira de prueba analítica, y una segunda capa conductora estampada dispuesta por encima de la primera capa conductora estampada. La segunda capa conductora con diseño incluye un primer electrodo de medición de desplazamiento de fase y un segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase. Además, los electrodos de medición de cambio de fase primero y segundo están dispuestos en la cámara de muestra y están configurados para medir, junto con el medidor de prueba portátil, un cambio de fase de una señal eléctrica forzada a través de una muestra de fluido corporal introducida en la cámara de muestra durante el uso de la tira de prueba analítica. Tales electrodos de medición de cambio de fase también son denominados aquí como electrodos de medición de cambio de fase de fluido corporal. Se cree que las tiras de prueba analíticas de diversas realizaciones descritas en el presente documento son ventajosas porque, por ejemplo, los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están dispuestos por encima de los electrodos de trabajo y de referencia, permitiendo así una cámara de muestra de volumen ventajosamente bajo. Esto contrasta con una configuración en donde los electrodos de medición de desplazamiento de fase primero y segundo están dispuestos en una relación coplanares con los electrodos de trabajo y de referencia, lo que requiere un volumen de muestra de fluido corporal más grande y cámara de muestra para permitir que la muestra de fluido corporal cubra los electrodos de medición de cambio de fase primera y segunda, así como los electrodos de trabajo y de referencia.

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

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

[0033] En la realización de la figura 3B, los electrodos de medición de analito 10, 12, y 14 están dispuestos en general en la misma configuración que en la Fig. 3A(1), 3A(2), o 3A(3). Sin embargo, los electrodos 19a y 20a para detectar el nivel característico físico están dispuestos en una configuración separada en donde un electrodo 19a está próximo a una entrada 92a a la cámara de prueba 92 y otro electrodo 20a está en el extremo opuesto de la cámara de prueba 92. Los electrodos 10, 12, y 14 están dispuestos para estar en contacto con una capa de reactivo 22.

5 **[0034]** En las Figuras 3C, 3D, 3E y 3F, los electrodos de detección característicos físicos 19a y 20a están dispuestos adyacentes entre sí y pueden ser colocados en el extremo opuesto 92b de la entrada 92a a la cámara de prueba 92 (Figuras 3C y 3D) o adyacentes a la entrada 92a (figuras 3E y 3F). En todas estas realizaciones, los electrodos sensores característicos físicos están separados de la capa de reactivo 22 de manera que estos electrodos sensores característicos físicos no se vean afectados por la reacción electroquímica del reactivo en presencia de una muestra de fluido (por ejemplo, sangre o fluido intersticial) que contiene glucosa.

10 **[0035]** Haciendo referencia a las Figuras 3G a través de 3J, la tira de ensayo analítica con base electroquímica 400 incluye una capa de sustrato aislante eléctricamente 402, una primera capa conductora modelada 404 dispuesta sobre la capa de sustrato aislante eléctricamente, una capa de reactivo enzimático 406 (para mayor claridad se representa en la figura 3G solamente), una capa espaciadora estampada 408, una segunda capa conductora estampada 410 dispuesta por encima de la primera capa conductora estampada 404, y una capa superior aislante eléctricamente 412. La capa espaciadora estampada 408 está configurada de modo que la tira de prueba analítica basada en electroquímicos 400 también incluye una cámara de muestra 414 formada con una capa espaciadora estampada 408 que define las paredes exteriores de la cámara de muestra 414.

20 **[0036]** La primera capa conductora estampada 404 incluye tres electrodos, un contraelectrodo 404a (también denominado electrodo de referencia), un primer electrodo de trabajo 404b y un segundo electrodo de trabajo 404c (ver Figura 3G).

25 **[0037]** La segunda capa conductora con diseño 410 incluye un primer electrodo de medición de cambio de fase 411 y un segundo electrodo de medición de cambio de fase 413. La segunda capa conductora con diseño 410 también incluye un primer contacto de sonda de cambio de fase 416 y un segundo contacto de sonda de cambio de fase 418.

30 **[0038]** Durante el uso de la tira de ensayo analítica con base electroquímica 400 para determinar un analito que es la concentración de glucosa en sangre en una muestra de fluido fisiológico conjunto, los electrodos 404a, 404b y 404c son empleados por un medidor asociado (no se muestra) para supervisar una respuesta electroquímica de la tira de prueba analítica electroquímica. La respuesta electroquímica puede ser, por ejemplo, una reacción electroquímica inducida por corriente de interés. La magnitud de dicha corriente puede correlacionarse, teniendo en cuenta la característica física de la muestra de fluido corporal determinada por el cambio de fase de la muestra de fluido corporal, con la cantidad de analito presente en la muestra de fluido corporal bajo investigación. Durante dicho uso, se aplica una muestra de fluido corporal a la tira de prueba analítica electroquímica 400 y, por lo tanto, se recibe en la cámara de muestra 414.

35 **[0039]** La capa de sustrato aislante eléctricamente 402 puede ser cualquier sustrato aislante eléctricamente adecuado conocido por un experto en la técnica incluye, por ejemplo, un sustrato de nylon, un sustrato de policarbonato, un sustrato de poliimida, un sustrato de cloruro de polivinilo, un sustrato de polietileno, un sustrato de polipropileno, un sustrato de poliéster glicolado (PETG), un sustrato de poliestireno, un sustrato de silicio, un sustrato de cerámica, un sustrato de vidrio o un sustrato de poliéster (por ejemplo, un sustrato de poliéster de 7 milímetros de espesor). El sustrato eléctricamente aislante puede tener cualquier dimensión adecuada que incluya, por ejemplo, una dimensión de ancho de aproximadamente 5 mm, una dimensión de longitud de aproximadamente 27 mm y una dimensión de espesor de aproximadamente 0,5 mm.

40 **[0040]** La primera capa conductora 404 estampada se puede formar de cualquier material conductor de la electricidad adecuado, tal como, por ejemplo, oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio o combinaciones de los mismos (por ejemplo, óxido de estaño dopado con indio). Además, se puede emplear cualquier técnica o combinación de técnicas adecuadas para formar la primera capa conductora 404 estampada que incluye, por ejemplo, pulverización catódica, evaporación, recubrimiento sin electrodo, serigrafía, impresión por contacto, ablación láser o impresión por huecograbado. Un espesor típico pero no limitativo para la capa conductora con diseño está en el rango de 5 nanómetros a 400 nanómetros.

45 **[0041]** Como es sabido, las tiras de prueba de analito basada en electroquímica convencionales emplean un electrodo de trabajo junto con un electrodo contador asociado/de referencia y la capa de reactivo enzimático para facilitar una reacción electroquímica con un analito de interés y, de este modo, determinar la presencia y/o concentración de ese analito. Por ejemplo, una tira de prueba de analito con base electroquímica para la determinación de la concentración de glucosa en una muestra de fluido puede emplear un reactivo enzimático que incluye la oxidasa de glucosa de enzima y el ferricianuro mediador (que se reduce al ferrocianuro mediador durante la reacción electroquímica). Dichas tiras reactivas de analito convencionales y capas de reactivo enzimático se describen, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos 5,708,247; 5,951,836; 6,241,862; y 6,284,125. A este respecto, la capa de reactivo empleada en diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento puede incluir cualquier reactivo enzimático soluble en muestra adecuado, dependiendo la selección de los reactivos enzimáticos del analito a determinar y la muestra de fluido corporal. Por ejemplo, si la glucosa se va a determinar en una muestra de fluido, la capa de reactivo enzimático 406 puede incluir glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa junto con otros componentes necesarios para la operación funcional.

- 5 [0042] En general, la capa de reactivo enzimático general 406 incluye al menos una enzima y un mediador. Los ejemplos de mediadores adecuados incluyen, por ejemplo, rutenio, cloruro de hexaamina rutenio (III), ferricianuro, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de bipyridilo de osmio y derivados de quinona. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa (GDH) usando un cofactor de pirroloquinolina quinona (PQQ), GDH usando un cofactor de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y GDH usando un cofactor de flavina adenina dinucleótido (FAD). La capa de reactivo enzimático 406 se puede aplicar durante la fabricación utilizando cualquier técnica adecuada que incluya, por ejemplo, serigrafía.
- 10 [0043] Los solicitantes señalan que la capa de reactivo enzimático 406 puede contener también tampones adecuados (tales como, por ejemplo, Tris HCl, citraconato, citrato y fosfato), hidroxietilcelulosa [HEC], carboximetilcelulosa, etilcelulosa y alginato, enzimas estabilizantes y otros aditivos como los que se conocido en el campo.
- 15 [0044] Más detalles con respecto al uso de los electrodos y capas de reactivo enzimático para la determinación de las concentraciones de analitos en una muestra de fluido corporal, aunque en la ausencia de los electrodos de medición de desplazamiento de fase, tiras de ensayo analítico y métodos relacionados descritos en el presente documento, son en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6,733,655.
- 20 [0045] La capa espaciadora estampada 408 se puede formar de cualquier material adecuado que incluya, por ejemplo, una capa adhesiva sensible a la presión de doble cara de 95 micrómetros de grosor, una capa adhesiva activada por calor o una capa plástica adhesiva termoestable. La capa espaciadora estampada 408 puede tener, por ejemplo, un grosor en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, y más preferiblemente entre aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 200 micrómetros.
- 25 [0046] La segunda capa conductora 410 con diseño puede estar formada de cualquier material conductor adecuado que incluya, por ejemplo, cobre, plata, paladio, oro y materiales de carbono conductores. La segunda capa conductora con diseño 410 puede estar dispuesta, por ejemplo, en una superficie inferior de la capa superior 412 eléctricamente aislante (como se representa en las Figuras 3G-3J) o incrustada en la superficie inferior de la capa superior 412 con aislamiento eléctrico. La segunda capa conductora con diseño eléctrico 410 puede tener cualquier grosor adecuado, incluyendo, por ejemplo, un grosor en el rango de 20 micras a 400 micras.
- 30 [0047] El primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 411 y el segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 413 de la segunda capa conductora con diseño 410 están separados dentro de la cámara de muestra 414 por un espacio (en la dirección horizontal de la figura 3J) que es adecuado para la medición de desplazamiento de fase. Tal espacio puede estar, por ejemplo, en el rango de 20 micras a 1.400 micras con un espacio típico de 500 micras. Además, el área de superficie del primer electrodo de medición de cambio de fase 111 y el segundo electrodo de medición de cambio de fase 113 que está expuesto a una muestra de fluido corporal dentro de la cámara de muestra 414 es típicamente de 0,5 mm² pero puede variar, por ejemplo, de 0,1 mm² a 2,0 mm².
- 35 [0048] La tira de ensayo analítica con base electroquímica 400 se puede fabricar, por ejemplo, por la formación secuencial alineada de capa conductora primera modelada 404, la capa de reactivo enzimático 406, la capa separadora modelada 408, la segunda capa conductora estampada 410 y la capa superior eléctricamente aislante 412 sobre la capa de sustrato eléctricamente aislante 402. Cualquier técnica adecuada conocida por un experto en la técnica puede usarse para lograr dicha formación alineada secuencial, incluyendo, por ejemplo, serigrafía, fotolitografía, fotograbado, deposición química de vapor, pulverización catódica, técnicas de laminación en cinta y combinaciones de los mismos.
- 40 [0049] Las tiras de ensayo analítico de acuerdo con realizaciones se pueden configurar, por ejemplo, para la conexión operable eléctrica (a través, por ejemplo, primero y segundo contactos de sonda de desplazamiento de fase 416 y 418) y su uso con la interfaz de célula de muestra de tira de ensayo analítico de un medidor de prueba portátil como se describe en la solicitud de patente pendiente 13/250,525, cuya copia se proporciona en el Apéndice.
- 45 [0050] Se ha determinado que existe una relación entre la reactancia de una muestra de fluido conjunto y la característica física de esa muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (p. ej., una muestra de sangre completa) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando una señal de corriente alterna (CA) es forzada a través de la muestra de fluido corporal, el cambio de fase de la señal alterna dependerá tanto de la frecuencia del voltaje de la señal alterna como de la característica física de la muestra. Por lo tanto, la característica física de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, impulsando señales alternas de una frecuencia conocida (o frecuencias conocidas) a través de la muestra de fluido corporal y detectando su cambio de fase. Los electrodos de medición de cambio de fase de las tiras de prueba analíticas de diversas realizaciones descritas en el presente documento son particularmente adecuados para su uso en tales mediciones de cambio de fase ya que los electrodos de medición de cambio de fase primera y segunda están en contacto directo con una muestra de fluido corporal presente en la cámara de muestra. Además, se puede emplear una característica física de muestra de fluido corporal determinada a partir de
- 50
- 55
- 60
- 65

una o más mediciones de cambio de fase para compensar el efecto de la característica física durante la determinación del analito.

5 **[0051]** Los solicitantes tienen en cuenta que para diversas realizaciones de tiras de ensayo analítico (por ejemplo, una analítica con tira de prueba de base electroquímica) descritas aquí para su uso con un medidor de prueba de mano en la determinación de un analito en una muestra de fluido corporal (por ejemplo, una muestra de sangre completa) puede incluir un sustrato eléctricamente aislante, una primera capa conductora estampada dispuesta sobre el sustrato eléctricamente aislante y que tiene un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. La tira de prueba analítica también puede incluir una capa de reactivo enzimático dispuesta sobre el electrodo de trabajo, una primera capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa conductora estampada y definiendo tanto un primer canal receptor de muestra como una cámara de muestra de determinación de analito dentro de la tira de prueba analítica, y una segunda capa espaciadora estampada dispuesta sobre la primera capa espaciadora estampada y definiendo al menos un segundo canal receptor de muestra. Además, la tira de prueba analítica incluye además una cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal en comunicación fluidica con el segundo canal receptor de muestra. Además, el primer canal de recepción de muestra y la cámara de muestra de determinación de analito de la tira de prueba analítica están aisladas del segundo canal de recepción de muestra y la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal de la tira de prueba analítica.

20 **[0052]** Los solicitantes creen que las tiras de prueba analíticas de diversas realizaciones descritas en el presente documento son beneficiosas en el sentido de que, por ejemplo, el aislamiento (fluido y eléctrico) entre la cámara de muestra de determinación de analito y la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal evita la interferencia potencial entre la determinación del analito en la muestra de fluido corporal y una medición de cambio de fase del fluido corporal. Los solicitantes observan que se obtienen ciertas ventajas al separar el primer canal receptor de muestras y la cámara de determinación de analitos del segundo canal receptor de muestras y la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal por porciones de la primera y/o segunda capa espaciadora con diseño que pueden ser más delgadas, proporcionando así una tira de prueba analítica con una sección transversal pequeña, pero mecánicamente estable.

30 **[0053]** Haciendo referencia a las figuras 3K-3O, tira de ensayo analítica con base electroquímica 500 incluye un sustrato eléctricamente aislante 502, una primera capa conductora con dibujo 504 dispuesta sobre la capa de sustrato eléctricamente aislante, una capa de reactivo enzimático 506 (para mayor claridad se representa en la figura 3K solamente), una primera capa espaciadora estampada 508, una segunda capa espaciadora estampada 510 y una cubierta superior 511. En la realización de la figura 3K, la primera capa espaciadora estampada 508 y la segunda capa espaciadora estampada 510 se representan como estructuras de dos capas. Sin embargo, las capas primera y segunda espaciadoras estampadas empleadas en diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento pueden ser capas unitarias o cualquier otra capa formada adecuadamente.

40 **[0054]** La primera capa espaciadora con diseño 508 está configurada de tal manera que la tira analítica analítica 500 también incluye un primer canal receptor de muestra 512 y una cámara de muestra de determinación de analito 514. La primera capa espaciadora con patrón 508 también está configurada para definir una cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal 516 y una ventilación de cámara de muestra de determinación de analito 518 (para mayor claridad no representada en la figura 3K).

45 **[0055]** La segunda capa espaciadora con diseño 510 está configurada para definir un segundo canal de recepción de muestra 520 y una ventilación de cámara de cambio de fase de fluido corporal 522 (para mayor claridad no representada en la figura 3K).

50 **[0056]** La primera capa conductora con diseño 504 incluye un primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 524, un segundo electrodo de medición de desplazamiento de fase 526, dos electrodos de trabajo 528a y 528b y un electrodo de referencia 530. Para mayor claridad, la figura 3L muestra solo el primer electrodo de medición de desplazamiento de fase 524 y el segundo electrodo de medición de cambio de fase 526 y no la totalidad de la primera capa conductora con diseño 504.

55 **[0057]** El primer canal receptor de muestra 512 y la cámara de muestra de determinación de analito 514 están aislados, tanto fluida como eléctricamente, del segundo canal receptor de muestra 520 y la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 516 (véase la figura 3O en particular en donde la primera y la segunda capa conductora con diseño se omiten para mayor claridad). Además, en la realización de la figura 3O, la cámara de muestra de desplazamiento de fase de fluido corporal está dispuesta en una configuración de lado a lado con la cámara de muestra de determinación de analito.

60 **[0058]** Durante el uso de la tira de prueba analítica basada en electroquímica 500 para determinar un analito en una muestra de fluido corporal, en donde el analito es glucosa en sangre y el fluido corporal es una muestra de sangre completa, un medidor asociado emplea electrodos de trabajo y de referencia (no mostrado) para controlar una respuesta electroquímica de la tira de prueba analítica basada en electroquímica. La respuesta electroquímica puede ser, por ejemplo, una reacción electroquímica inducida por corriente de interés. La magnitud de dicha señal puede correlacionarse, teniendo en cuenta el hematocrito de la muestra de fluido corporal según lo determinado por el cambio

de fase de la muestra de fluido corporal, con la cantidad de analito presente en la muestra de fluido corporal bajo investigación. Durante tal uso, una muestra de fluido corporal se aplica a la tira de ensayo analítico con base electroquímica 500 y, de este modo, se recibe tanto en la cámara de muestras de determinación del analito 514 y de la cámara de muestra por desplazamiento de fase de fluido corporal 516.

5 **[0059]** El sustrato eléctricamente aislante 502 puede ser cualquier sustrato eléctricamente aislante adecuado conocido por un experto en la técnica, que incluye, por ejemplo, un sustrato de nylon, un sustrato de policarbonato, un sustrato de poliimida, un sustrato de cloruro de polivinilo, un sustrato de polietileno, un sustrato de polipropileno, un sustrato de poliéster glicolado (PETG), un sustrato de poliestireno, un sustrato de silicio, un sustrato de cerámica, un sustrato de vidrio o un sustrato de poliéster (por ejemplo, un sustrato de poliéster de 7 milímetros de espesor). El sustrato eléctricamente aislante puede tener cualquier dimensión adecuada que incluya, por ejemplo, una dimensión de ancho de aproximadamente 5 mm, una dimensión de longitud de aproximadamente 27 mm y una dimensión de espesor de aproximadamente 0,5 mm.

15 **[0060]** La primera capa conductora con diseño 504 se puede formar de cualquier material conductor de electricidad adecuado como, por ejemplo, oro, paladio, carbono, plata, platino, óxido de estaño, iridio, indio o combinaciones de los mismos (por ejemplo, óxido de estaño dopado con indio). Además, se puede emplear cualquier técnica adecuada o combinación de técnicas para formar la primera capa conductora con patrón 504, que incluye, por ejemplo, pulverización catódica, evaporación, recubrimiento sin electrodo, serigrafía, impresión por contacto, ablación láser o impresión por huecogrado. Un espesor típico pero no limitativo para la capa conductora con diseño está en el rango de 5 nanómetros a 500 nanómetros.

25 **[0061]** Los solicitantes señalan que las tiras de prueba de analito basadas en electroquímicos convencionales emplean un electrodo de trabajo junto con un electrodo contador/de referencia asociado y una capa de reactivo enzimático para facilitar una reacción electroquímica con un analito de interés y, por lo tanto, determinar la presencia y/o concentración de ese analito. Por ejemplo, una tira de prueba de analito con base electroquímica para la determinación de la concentración de glucosa en una muestra de fluido puede emplear un reactivo enzimático que incluye la enzima glucosa oxidasa y el ferricianuro mediador (que se reduce al ferrocianuro mediador durante la reacción electroquímica). Dichas tiras reactivas de analito convencionales y capas de reactivo enzimático se describen, por ejemplo, en las patentes de los Estados Unidos 5,708,247; 5,951,836; 6,241,862; y 6,284,125. A este respecto, la capa de reactivo empleada en diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento puede incluir cualquier reactivo enzimático soluble en muestra adecuado, dependiendo la selección de los reactivos enzimáticos del analito a determinar y la muestra de fluido corporal. Por ejemplo, si la glucosa se va a determinar en una muestra de fluido, la capa de reactivo enzimático 506 puede incluir glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa junto con otros componentes necesarios para la operación funcional.

35 **[0062]** En general, la capa de reactivo enzimático general 506 incluye al menos una enzima y un mediador. Los ejemplos de mediadores adecuados incluyen, por ejemplo, ferricianuro, ferroceno, derivados de ferroceno, complejos de bipyridilo de osmio y derivados de quinona. Los ejemplos de enzimas adecuadas incluyen glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa (GDH) usando un cofactor de pirroloquinolina quinona (PQQ), GDH usando un cofactor de dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD) y GDH usando un cofactor de dinucleótido de flavina adenina (FAD). La capa de reactivo enzimático 506 se puede aplicar durante la fabricación utilizando cualquier técnica adecuada que incluya, por ejemplo, serigrafía.

45 **[0063]** Los solicitantes señalan que la capa de reactivo enzimático 506 también puede contener tampones adecuados (tales como, por ejemplo, Tris HCl, Citraconato, Citrato y Fosfato), hidroxietilcelulosa [HEC], carboximetilcelulosa, etilcelulosa y alginato, estabilizadores enzimáticos y otros aditivos como son conocido en el campo.

50 **[0064]** Más detalles con respecto al uso de los electrodos y capas de reactivo enzimático para la determinación de las concentraciones de analitos en una muestra de fluido corporal, aunque en la ausencia de los electrodos de medición de desplazamiento de fase, cámaras de muestras por desplazamiento de fase de fluido corporal y segundas tiras analíticas de los canales receptores de muestras y los métodos relacionados descritos en este documento se encuentran en la Patente de los Estados Unidos Núm. 6,733,655.

55 **[0065]** Las capas espaciadoras con patrones primera y segunda 508 y 510, respectivamente, se pueden formar de cualquier material adecuado que incluya, por ejemplo, una capa adhesiva sensible a la presión de doble cara de 95 micrómetros de espesor, una capa adhesiva activada por calor o una capa plástica adhesiva termoestable. La primera capa espaciadora con diseño 508 puede tener, por ejemplo, un espesor en el intervalo de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 500 micrómetros, preferiblemente entre aproximadamente 10 micrómetros y aproximadamente 400 micrómetros, y más preferiblemente entre aproximadamente 40 micrómetros y aproximadamente 600 micrómetros.

65 **[0066]** La tira de ensayo analítica con base electroquímica 500 se puede fabricar, por ejemplo, por la formación secuencial alineada de primera capa con dibujo conductor 504, la capa de reactivo enzimático 506, primera capa separadora modelada 508, y segunda capa modelada espaciadora 510 sobre sustrato eléctricamente aislante 502. Cualquier técnica adecuada conocida por un experto en la técnica puede usarse para lograr dicha formación alineada

secuencial, incluyendo, por ejemplo, serigrafía, fotolitografía, fotograbado, deposición química de vapor, pulverización catódica, técnicas de laminación con cinta y combinaciones de las mismas.

5 **[0067]** Las tiras de ensayo analítico de acuerdo con realizaciones se pueden configurar, por ejemplo, para la conexión eléctrica operable y el uso con la tira de prueba de interfaz célula de muestra analítica de un medidor de prueba de mano como se describe en copendiente solicitud de patente 13/250,525, una copia de la cual se proporciona en el Apéndice.

10 **[0068]** Se ha determinado que existe una relación entre la reactividad de una muestra de fluido y las características físicas de esa muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (p. ej., una muestra de sangre completa) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando una señal alterna como, por ejemplo, una señal de corriente alterna (CA) es forzada a través de la muestra de fluido corporal, la fase de desplazamiento de la señal alterna dependerá tanto de la frecuencia del voltaje de la señal alterna como de la característica física de la muestra. Por lo tanto, la característica física de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, activando señales alternas de frecuencias conocidas a través de la muestra de fluido corporal y detectando su cambio de fase. Los electrodos de medición de cambio de fase de las tiras de prueba analíticas de diversas realizaciones descritas en el presente documento son particularmente adecuados para su uso en tales mediciones de cambio de fase ya que los electrodos de medición de cambio de fase primero y segundo están en contacto directo con una muestra de fluido corporal presente en la cámara de muestra. Además, se puede emplear una característica física de muestra de fluido corporal determinada a partir de una o más mediciones de cambio de fase para compensar el efecto de la característica física durante la determinación del analito.

25 **[0069]** Con referencia a las Figuras 3P-3T, la tira de prueba analítica electroquímica 600 incluye un sustrato aislante eléctrico 602, una primera capa conductora con diseño 604 dispuesta sobre la capa de sustrato eléctricamente aislante, una capa de reactivo enzimático 606 (solo para mayor claridad representada en la Figura 3P), una primera capa espaciadora con patrón 608, una segunda capa conductora con patrón 609, una segunda capa con patrón capa espaciadora 610, y una cubierta superior 611. En la realización de la Figura 3P, la primera capa espaciadora estampada 608 y la segunda capa espaciadora estampada 610 se representan como estructuras de dos capas. Sin embargo, las capas primera y segunda espaciadoras estampadas empleadas en diversas realizaciones proporcionadas en el presente documento pueden ser capas unitarias o cualquier otra capa formateada adecuadamente.

35 **[0070]** La primera capa espaciadora con diseño 608 está configurada de tal manera que la tira de análisis analítica basada en electroquímicos 600 también incluye un primer canal receptor de muestra 612, una cámara de muestra de determinación de analito 614 y un respiradero de la cámara de muestra de determinación de analito 618 (no representado en la Figura 3P pero representado con líneas discontinuas en la Figura 3R). La ventilación de la cámara de muestra de determinación de analito 618 está configurada para ayudar en la introducción de una muestra de fluido corporal en la cámara de muestra de determinación de analito 614 a través del primer canal receptor de muestra 612.

40 **[0071]** La segunda capa espaciadora con diseño 610 está configurada para definir un segundo canal receptor de muestra 620, una cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 616 y una ventilación de cámara de cambio de fase de fluido corporal 622 (no representada en la Figura 3P pero representada con líneas discontinuas en la Figura 3S). El respiradero de la cámara de cambio de fase de fluido corporal 622 está configurado para ayudar en la introducción de una muestra de fluido corporal en la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 616 a través del segundo canal receptor de muestra 620.

50 **[0072]** La primera capa conductora con diseño 604 incluye dos electrodos de trabajo 628a y 628b (representados en las Figuras 3P y 3Q) y un electrodo de referencia 630 (también representado en las Figuras 3P y 3Q). La segunda capa conductora con diseño 609 incluye un primer electrodo de medición de cambio de fase 624 y un segundo electrodo de medición de cambio de fase 626 y está dispuesto sobre la primera capa espaciadora con diseño 608 e incrustada en la estructura bicapa de la segunda capa espaciadora con patrón 610.

55 **[0073]** El primer canal receptor de muestra 612 y la cámara de muestra de determinación de analito 614 se aíslan, tanto fluida como eléctricamente, del segundo canal receptor de muestra 620 y la cámara de muestra de cambio de fase de fluido corporal 616 (ver Figura 3T en particular en donde la primera y la segunda capa conductora con diseño no están representados para mayor claridad).

60 **[0074]** En las diversas realizaciones de la tira de prueba, hay dos mediciones que se realizan en una muestra de fluido depositada sobre la tira de prueba. Una medida es la concentración del analito en la muestra de fluido, mientras que la otra es la característica física en la misma muestra. La medición de la característica física 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) se pueden realizar en secuencia, simultáneamente o superpuestas en duración. Por ejemplo, la medición de glucosa se puede realizar primero y luego la característica física; la medición de características físicas primero y luego la medición de glucosa; ambas medidas al mismo tiempo; o la duración de una medición puede superponerse a la duración de la otra medición. Cada medida se discute en detalle de la siguiente manera con respecto a las Figuras 4A, 4B y 5.

[0075] La figura 4A es un gráfico ejemplar de una señal de prueba aplicada a la tira de prueba 100 y sus variaciones mostradas aquí en las Figuras 3A-3T. Antes de aplicar una muestra de fluido a la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600), el medidor de prueba 200 está en un modo de detección de fluido en donde se aplica una primera señal de prueba de aproximadamente 400 milivoltios entre el segundo electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. Una segunda señal de prueba de aproximadamente 400 milivoltios se aplica preferiblemente simultáneamente entre el primer electrodo de trabajo (por ejemplo, el electrodo 12 de la tira 100) y el electrodo de referencia (por ejemplo, el electrodo 10 de la tira 100). Alternativamente, la segunda señal de prueba también puede aplicarse simultáneamente, de modo que un intervalo de tiempo de la aplicación de la primera señal de prueba se superpone con un intervalo de tiempo en la aplicación de la segunda tensión de prueba. El medidor de prueba puede estar en un modo de detección de fluido durante el intervalo de tiempo de detección de fluido T_{FD} antes de la detección de fluido fisiológico en el momento de inicio en cero. En el modo de detección de fluido, el medidor de prueba 200 determina cuándo se aplica un fluido a la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) de modo que el fluido humedezca el primer electrodo de trabajo 12 o el segundo electrodo de trabajo 14 (o ambos electrodos) con respecto al electrodo de referencia 10. Una vez que el medidor de prueba 200 reconoce que el fluido fisiológico se ha aplicado debido, por ejemplo, a un aumento suficiente en la corriente de prueba medida en uno o ambos del primer electrodo de trabajo 12 y el segundo electrodo de trabajo 14, el medidor de prueba 200 asigna un segundo marcador de cero en el tiempo cero "0" y se inicia el tiempo de prueba intervalo T_s . El medidor de prueba 200 puede muestrear la salida transitoria actual a una velocidad de muestreo adecuada, como, por ejemplo, cada 1 milisegundo a cada 100 milisegundos. Una vez completado el intervalo de tiempo de prueba T_s , la señal de prueba se elimina. Por simplicidad, la figura 4A solo muestra la primera señal de prueba aplicada a la tira de prueba 100 (o sus variantes 400, 500 o 600).

[0076] A continuación, una descripción de cómo se determina la concentración de glucosa a partir de los transitorios de señal conocidos (por ejemplo, la respuesta de señal eléctrica medida en nanoamperios en función del tiempo) que se miden cuando se aplican los voltajes de prueba de la figura 4A a la tira de prueba. 100 (o sus variantes 400, 500 o 600).

[0077] En la figura 4A, las tensiones de ensayo primera y segunda aplicadas a la tira de prueba 100 (o sus variantes descritas en el presente documento) son generalmente de aproximadamente +100 milivoltios a aproximadamente +600 milivoltios. En una realización en donde los electrodos incluyen tinta de carbón y el mediador incluye ferricianuro, la señal de prueba es de aproximadamente +400 milivoltios. Otras combinaciones de mediador y material de electrodo requerirán diferentes voltajes de prueba, como saben los expertos en la materia. La duración de los voltajes de prueba es generalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 segundos después de un período de reacción y típicamente es de aproximadamente 3 segundos después de un período de reacción. Típicamente, el tiempo de secuencia de prueba T_s se mide en relación con el tiempo t_0 . A medida que el voltaje 401 se mantiene en la Figura 4A durante la duración de T_s , se generan señales de salida, que se muestran aquí en la Figura 4B con el transitorio de corriente 702 para el primer electrodo de trabajo 12 que se genera a partir del tiempo cero y del mismo modo el transitorio de corriente 704 para el segundo electrodo de trabajo 14 también se genera con respecto al tiempo cero. Se observa que si bien los transitorios de señal 702 y 704 se han colocado en el mismo punto cero referencial con el fin de explicar el proceso, en términos físicos, existe un ligero diferencial de tiempo entre las dos señales debido al flujo de fluido en la cámara hacia cada uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 a lo largo del eje L-L. Sin embargo, los transitorios actuales se muestrean y configuran en el microcontrolador para que tengan el mismo tiempo de inicio. En la Figura 4B, los transitorios actuales se acumulan hasta un pico de tiempo pico T_p en ese momento, la corriente cae lentamente hasta aproximadamente uno de 2,5 segundos o 5 segundos después del tiempo cero. En el punto 706, aproximadamente a los 5 segundos, la señal de salida para cada uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 puede medirse y sumarse. Alternativamente, la señal de solo uno de los electrodos de trabajo 12 y 14 puede duplicarse.

[0078] Con referencia a la figura 2B, el sistema activa una señal para medir o muestrear las señales de salida I_E de al menos uno de los electrodos de trabajo (12 y 14) en cualquiera de una pluralidad de puntos de tiempo o posiciones $T_1, T_2, T_3, \dots, T_N$. Como puede verse en la Fig. 4B, la posición de tiempo puede ser cualquier punto de tiempo o intervalo en la secuencia de prueba T_s . Por ejemplo, la posición de tiempo en donde se mide la señal de salida puede ser un único punto de tiempo $T_{1,5}$ a 1,5 segundos o un intervalo 708 (por ejemplo, intervalo ~10 milisegundos o más, dependiendo de la frecuencia de muestreo del sistema) superpuesto al punto de tiempo $T_{2,8}$ aproximado 2,8 segundos.

[0079] Desde el conocimiento de los parámetros de la tira de prueba (por ejemplo, código de calibración por lotes desplazamiento y la pendiente de lote) para la tira de prueba en particular 100 y sus variaciones, la concentración de analito se puede calcular. Los transitorios de salida 702 y 704 se pueden muestrear para derivar señales I_E (mediante la suma de cada uno de los I_{WE1} y I_{WE2} actuales o duplicando uno de I_{WE1} o I_{WE2}) en varias posiciones de tiempo durante la secuencia de prueba. A partir del conocimiento del desplazamiento del código de calibración del lote y la pendiente del lote para la tira de prueba particular 100 y sus variaciones en las Figuras 3B-3T, se puede calcular la concentración de analito.

[0080] Se hace notar que "Intercepción" y "Pendiente" son los valores obtenidos mediante la medición de los datos de calibración de un lote de tiras de prueba. Por lo general, se seleccionan al azar alrededor de 1500 tiras del lote o lote. El fluido fisiológico (p. ej., sangre) de los donantes se eleva a varios niveles de analito, típicamente seis concentraciones diferentes de glucosa. Por lo general, la sangre de 12 donantes diferentes se agrega a cada uno de

los seis niveles. Ocho tiras reciben sangre de donantes y niveles idénticos para que se realicen un total de $12 \times 6 \times 8 = 576$ pruebas para ese lote. Estos se comparan con el nivel real de analito midiéndolos con un analizador de laboratorio estándar como el Yellow Springs Instrument (YSI). Se traza un gráfico de la concentración de glucosa medida contra la concentración de glucosa real (o la corriente medida versus la corriente YSI) y una fórmula $y = mx + c$ mínimos cuadrados ajustados al gráfico para dar un valor para la pendiente del lote m y la intercepción del lote c para las tiras restantes del lote o lote. Los solicitantes también han proporcionado métodos y sistemas en los que se deriva la pendiente del lote durante la determinación de una concentración de analito. La "pendiente del lote", o "pendiente", por lo tanto, puede definirse como el gradiente medido o derivado de la línea de mejor ajuste para un gráfico de la concentración de glucosa medida representada frente a la concentración de glucosa real (o corriente medida versus corriente YSI). Por lo tanto, la "intercepción por lotes", o "intercepción", puede definirse como el punto en donde la línea de mejor ajuste para un gráfico de la concentración de glucosa medida representada contra la concentración de glucosa real (o corriente medida versus corriente YSI) se encuentra con el eje y .

[0081] Vale la pena señalar aquí que los componentes diferentes, los sistemas y procedimientos descritos anteriormente permiten que los solicitantes proporcionan un sistema de medición de analito que hasta ahora no estaba disponible en la técnica. En particular, este sistema incluye una tira reactiva que tiene un sustrato y una pluralidad de electrodos conectados a los respectivos conectores de electrodos. El sistema incluye además un medidor de analito 200 que tiene una carcasa, un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodo de la tira de prueba y un microcontrolador 300, que se muestra aquí en la Figura 2B. El microprocesador 300 está en comunicación eléctrica con el conector 220 del puerto de la tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas de la pluralidad de electrodos.

[0082] Con referencia a la Figura 2B, detalles de una implementación preferida del medidor 200 donde los mismos números en las Figuras 2A y 2B tienen una descripción común. En la Figura 2B, un conector de puerto de banda 220 está conectado a la interfaz analógica 306 por cinco líneas que incluyen una línea de detección de impedancia EIC para recibir señales desde el (los) electrodo(s) de detección de característica física, señales de activación de CA de línea alterna de señal al electrodo de detección de característica(s) física(s), línea de referencia para un electrodo de referencia y líneas de detección de señal desde el electrodo de trabajo 1 respectivo y el electrodo de trabajo 2. También se puede proporcionar una línea de detección de tira 221 para el conector 220 para indicar la inserción de una tira de prueba. La interfaz analógica 306 proporciona cuatro entradas al procesador 300: (1) impedancia real Z' ; (2) impedancia imaginaria Z'' ; (3) señal muestreada o medida del electrodo de trabajo 1 del biosensor o I_{we1} ; (4) señal muestreada o medida del electrodo de trabajo 2 del biosensor o I_{we2} . Hay una salida del procesador 300 a la interfaz 306 para conducir una señal oscilante AC de cualquier valor desde 25kHz a aproximadamente 250kHz o más a los electrodos sensores físicos característicos. Se puede determinar un diferencial de fase P (en grados) a partir de la impedancia real Z' y la impedancia imaginaria Z'' donde:

$$P = \tan^{-1} \{Z''/Z'\} \quad \text{Ec. 3.1}$$

[0083] y la magnitud M (en ohmios y convencionalmente escrita como $|Z|$) de la línea Z' y Z'' de la interfaz 306 puede ser determinada dónde

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

Ec. 3.2

[0084] En este sistema, el microprocesador está configurado para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de modo que se derive una pendiente de lote definida por una característica física de una muestra de fluido y (b) aplique una segunda señal a la pluralidad de electrodos para que se determine una concentración de analito basada en la pendiente del lote derivado. Para este sistema, la pluralidad de electrodos de la tira reactiva o biosensor incluye al menos dos electrodos para medir la característica física y al menos otros dos electrodos para medir la concentración de analito. Por ejemplo, los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos están dispuestos en la misma cámara prevista en el sustrato. Alternativamente, los al menos dos electrodos y los al menos otros dos electrodos están dispuestos en diferentes cámaras provistas en el sustrato. Se observa que para algunas realizaciones, todos los electrodos están dispuestos en el mismo plano definido por el sustrato. En particular, en algunas de las realizaciones descritas en el presente documento, un reactivo está dispuesto cerca de los al menos otros dos electrodos y no está dispuesto ningún reactivo en los al menos dos electrodos. Una característica a destacar en este sistema es la capacidad de proporcionar una medición precisa del analito dentro de aproximadamente 10 segundos de la deposición de una muestra de fluido (que puede ser una muestra fisiológica) en el biosensor como parte de la secuencia de prueba.

[0085] Como un ejemplo de un cálculo de analito para la tira 100 (Fig. 3A(1), 3A(2), o 3A(3) y sus variantes en las Figuras 3B-3T), se supone en la Fig. 4B que el valor de la señal muestreada en 706 para el primer electrodo de trabajo 12 es de aproximadamente 1600 nanoamperios, mientras que el valor de la señal en 706 para el segundo electrodo de trabajo 14 es de aproximadamente 1300 nanoamperios y el código de calibración de la tira de prueba indica que la

intersección es de aproximadamente 500 nanoamperios y la pendiente es de aproximadamente 18 nanoamperios/mg/dL. La concentración de glucosa G_0 puede determinarse a partir de la Ecuación 3,3 como sigue:

$$G_0 = [(I_E) - \text{Interceptar}] / \text{Pendiente} \quad \text{Ec. 3.3}$$

5
donde

I_E es una señal (proporcional a la concentración de analito) que es la señal total de todos los electrodos en el biosensor (por ejemplo, para el sensor 100, ambos electrodos 12 y 14 (o $I_{we1} + I_{we2}$));

10 I_{we1} es la señal medida para el primer electrodo de trabajo en el tiempo de muestreo establecido;

I_{we2} es la señal medida para el segundo electrodo de trabajo en el tiempo de muestreo establecido;

la pendiente es el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular;

15 la intersección es el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular.

[0086] De la Ec. 3,3; $G_0 = [(1600 + 1300) - 500] / 18$ y, por lo tanto, $G_0 = 133,33$ nanoamperios ~ 133 mg/dL.

20 **[0087]** Se hace notar aquí que, aunque los ejemplos se han dado en relación con un biosensor 100 que tiene dos electrodos de trabajo (12 y 14 en la Fig. 3A(1)) de tal manera que las corrientes medidas desde los respectivos electrodos de trabajo han sido añadidas juntas para proporcionar una corriente medida total I_E , la señal resultante de solo uno de los dos electrodos de trabajo puede multiplicarse por dos en una variación de la tira de prueba 100 donde solo hay un electrodo de trabajo (ya sea el electrodo 12 o 14). En lugar de una señal total, se puede usar un promedio de la señal de cada electrodo de trabajo como la corriente total medida I_E para las ecuaciones 3,3, 6 y 8-11 descritas aquí, y por supuesto, con la modificación apropiada de los coeficientes operativos (como es conocido por los expertos en la técnica) para dar cuenta de un total menor corriente medida I_E que en comparación con una realización en donde se añaden las señales medidas juntos. Alternativamente, el promedio de las señales medidas puede multiplicarse por dos y usarse como I_E en las ecuaciones 3,3, 6 y 8-11 sin la necesidad de derivar los coeficientes operativos como en el Ejemplo anterior. Se observa que la concentración de analito aquí no se corrige para ninguna característica física y que se pueden proporcionar ciertas compensaciones a los valores de señal I_{we1} e I_{we2} para tener en cuenta los errores o el tiempo de retraso en el circuito eléctrico del medidor 200. La compensación de temperatura puede también se puede utilizar para garantizar que los resultados se calibren a una temperatura referencial como, por ejemplo, la temperatura ambiente de aproximadamente 20 grados centígrados.

35 **[0088]** Ahora que una concentración de glucosa (G_0) puede determinarse a partir de la señal I_E , una descripción de la técnica del solicitante para determinar la característica física de la muestra de fluido se proporciona en relación con la figura 5. En la figura 5, el sistema 200 (Fig. 2) aplica una primera señal de entrada oscilante 800 a una primera frecuencia (por ejemplo, de aproximadamente 25 kilohercios) a un par de electrodos sensores. El sistema también está configurado para medir o detectar una primera señal de salida oscilante 802 del tercer y cuarto electrodos, lo que en particular implica medir un primer diferencial Δt_1 entre las primeras señales oscilantes de entrada y salida. Al mismo tiempo o durante períodos de tiempo superpuestos, el sistema también puede aplicar una segunda señal de entrada oscilante a una segunda frecuencia (p. ej., aproximadamente 100 kilohercios a aproximadamente 1 megahercio o más, y preferiblemente aproximadamente 250 kilohercios) a un par de electrodos y luego medir o detectar una segunda señal de salida oscilante del tercer y cuarto electrodos, lo que puede implicar medir un segundo diferencial de tiempo Δt_2 (no se muestra) entre las primeras señales oscilantes de entrada y salida. A partir de estas señales, el sistema estima una característica física de la muestra de fluido basada en los diferenciales de tiempo primera y segunda Δt_1 y Δt_2 . A partir de entonces, el sistema puede derivar una concentración de glucosa. La estimación de la característica física se puede hacer aplicando una ecuación de la forma

$$50 \quad HCT_{EST} = \frac{(C_1 \Delta t_1 - C_2 \Delta t_2 - C_3)}{m_1}$$

Ec. 4.1

55 en donde

cada uno de C_1 , C_2 y C_3 es una constante operacional para la tira de prueba y m_1 representa un parámetro de los datos de regresión.

60 **[0089]** Los detalles de esta técnica ejemplar se pueden encontrar en la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. SN 61/530,795 presentada el 2 de septiembre de 2011, titulada "Hematocrit Corrected Glucose Measurements for Electrochemical Test Strip Using Time Differential of the Signals".

65 **[0090]** Otra técnica para determinar características físicas puede ser por dos mediciones independientes de características físicas. Esto puede obtenerse determinando: (a) la impedancia de la muestra de fluido a una primera frecuencia y (b) el ángulo de fase de la muestra de fluido a una segunda frecuencia sustancialmente mayor que la

primera frecuencia. En esta técnica, la muestra de fluido se modela como un circuito que tiene reactancia desconocida y resistencia desconocida. Con este modelo, se puede determinar una impedancia (como se indica mediante la notación " $|Z|$ ") para la medición (a) a partir del voltaje aplicado, el voltaje a través de una resistencia conocida (por ejemplo, la resistencia de la tira intrínseca) y el voltaje a través de la impedancia desconocida V_Z ; y de manera similar, para la medición (b), el ángulo de fase puede medirse a partir de una diferencia de tiempo entre las señales de entrada y salida por parte de los expertos en la materia. Los detalles de esta técnica se muestran y describen en la solicitud de patente provisional pendiente SN 61/530,808 presentada el 2 de septiembre de 2011. También se pueden utilizar otras técnicas adecuadas para determinar la característica física de la muestra de fluido, como, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos N° 4,919,770, Patente de Estados Unidos N° 7,972,861, Publicaciones de Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2010/0206749, 2009/0223834, o "Electric Cell-Substrate Impedance Sensing (ECIS) as a Noninvasive Means to Monitor the Kinetics of Cell Spreading to Artificial Surfaces" por Joachim Wegener, Charles R. Keese e Ivar Giaever y publicado por Experimental Cell Research 259, 158-166 (2000) doi: 10.1006/excr.2000.4919, disponible en línea en <http://www.idealibrary.com>; "Utilization of AC Impedance Measurements for Electrochemical Glucose Sensing Using Glucose Oxidase to Improve Detection Selectivity" por Takuya Kohma, Hidefumi Hasegawa, Daisuke Oyamatsu y Susumu Kuwabata y publicado por Bull. Chem Soc. Jpn. Vol. 80, N° 1, 158-165 (2007).

[0091] Otra técnica para determinar la característica física puede obtenerse conociendo la diferencia de fase (por ejemplo, ángulo de fase) y la magnitud de la impedancia de la muestra. En un ejemplo, se proporciona la siguiente relación para la estimación de la característica física o la característica de impedancia de la muestra ("IC"):

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

Ec. 4.2

donde:

M representa una magnitud $|Z|$ de una impedancia medida en ohmios;

P representa una diferencia de fase entre las señales de entrada y salida (en grados)

y_1 es aproximadamente $-3,2e-08$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí (y dependiendo de la frecuencia de la señal de entrada, puede ser cero);

y_2 es aproximadamente $4,1e-03$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí (y dependiendo de la frecuencia de la señal de entrada, puede ser cero);

y_3 es aproximadamente $-2,5e+01$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí;

y_4 es aproximadamente $1,5e-01$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí (y dependiendo de la frecuencia de la señal de entrada, puede ser cero); y

y_5 es aproximadamente $5,0$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí (y dependiendo de la frecuencia de la señal de entrada, puede ser cero);

[0092] Se hace notar aquí que, cuando la frecuencia de la señal de CA de entrada es (por ejemplo, mayores de 75kHz), entonces los términos paramétricos y_1 y y_2 relacionados con la magnitud de la impedancia M puede ser $\pm 200\%$ de los valores ejemplares dados aquí, de modo que cada uno de los términos paramétricos puede incluir cero o incluso un valor negativo. Por otro lado, cuando la frecuencia de la señal de CA es baja (por ejemplo, menos de 75 kHz), los términos paramétricos y_4 y y_5 relacionados con el ángulo de fase P pueden ser $\pm 200\%$ de los valores ejemplares dados aquí, de modo que cada uno de los términos paramétricos puede incluir cero o incluso un valor negativo. Se observa aquí que una magnitud de H o HCT, como se usa en el presente documento, es generalmente igual a la magnitud de IC. En una implementación ejemplar, H o HCT es igual a IC como H o HCT se usa en esta solicitud.

[0093] En otra implementación alternativa, se proporciona la ecuación 4,3. La ecuación 4,3 es la derivación exacta de la relación cuadrática, sin usar ángulos de fase como en la ecuación 4,2.

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

Ec. 4.3

donde:

IC es la característica de impedancia [%];

M es la magnitud de la impedancia [Ohm];

y1 es aproximadamente $1,2292e1$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí;
 y2 es aproximadamente $-4,3431e2$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí;
 y3 es aproximadamente $3,5260e4$ y $\pm 10\%$, 5% o 1% del valor numérico provisto aquí.

5 **[0094]** En virtud de los diversos componentes, sistemas y conocimientos proporcionados en el presente documento, al menos cuatro técnicas de determinar una concentración de analito de una muestra de fluido (que puede ser una muestra fisiológica) (y variaciones de tal método) se consiguen por los solicitantes.

10 **[0095]** Con referencia a la figura 6A1, el método implica el depósito de una muestra de fluido (que puede ser una muestra fisiológica) en un biosensor en el paso 904A (en la forma de una tira de prueba como se muestra en las figuras 3A(1), 3A(2), o 3A(3)-3T) que se ha insertado en un medidor (paso 902A). Una vez que se enciende el medidor 200, se aplica un voltaje a la tira 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) y cuando la muestra se deposita en la cámara de prueba, el voltaje aplicado transforma físicamente el analito en la muestra en una forma diferente debido a la reacción enzimática del analito con el reactivo en la cámara de prueba. A medida que la muestra fluye hacia el canal capilar de la célula de prueba, se obtiene la característica física de la muestra (paso 908A). En particular, el paso de obtener la característica física (paso 908A) incluye aplicar una primera señal a la muestra para medir una característica física de la muestra, mientras que el paso 906A de iniciar una reacción enzimática implica conducir una segunda señal a la muestra, y el paso de medición (paso 912A) implica evaluar una señal de salida de los al menos dos electrodos en un punto en el tiempo después del inicio de la secuencia de prueba, en donde se establece una nueva pendiente de lote (en el paso 910A) en función de al menos la característica física medida o estimada (paso 908A).

25 **[0096]** El establecimiento de una nueva pendiente de lote para derivar una medición de concentración de analito más precisa merece una discusión con referencia a las Figuras 7 y 6A2. Los solicitantes han encontrado que la tira de prueba de glucosa existente hecha por LifeScan (comercializada bajo la marca Ultra) tiene variaciones en los transitorios de salida de señal dependiendo de la concentración de glucosa y el hematocrito. Estas variaciones se pueden ver en la figura 7 en donde a un nivel alto de glucosa ("Alto G") o nivel medio de glucosa ("Medio G"), la señal transitoria varía claramente en función del nivel característico físico y en bajo nivel de glucosa ("Lo-G"), la señal transitoria no varía tan claramente como en Alto G o Medio G en función del hematocrito. Específicamente, en Alto G, los transitorios de señal 1000a, 1002a y 1004a (para 30%, 42% y 55% Hct) mantienen una separación generalmente consistente en la salida de señal a lo largo del tiempo después del pico a aproximadamente 1,5 segundos después del inicio de la secuencia de prueba. Del mismo modo, en Medio G, los transitorios de señal 1000b, 1002b y 1004b (para 30%, 42% y 55% de Hct) mantienen una separación constante en la salida de señal a lo largo del tiempo después del pico a aproximadamente 1,5 segundos después del inicio de la secuencia de prueba. En Bajo G, los transitorios de señal 1000c, 1002c y 1004c (para 30%, 42% y 55% de Hct) generalmente convergen juntos después del pico a aproximadamente 1,5 segundos después del inicio de la secuencia de prueba.

40 **[0097]** En base a estas observaciones, los solicitantes han encontrado que existe una relación entre la pendiente del lote de estas tiras de prueba probadas en los niveles Bajo G, Medio G y Alto G con respecto al 30%, 42% y 55% de niveles de hematocrito. En particular, los solicitantes han descubierto que la pendiente del lote para estas tiras generalmente es curva con respecto al nivel de hematocrito, que se muestra aquí en la Figura 6A2. en la Figura 6A2, la pendiente del lote disminuye de forma generalmente curvada en hematocritos bajos (p. ej., 30%), medios (p. ej., 42%) y altos (p. ej., 55%). Como consecuencia, al conocer la característica física de la muestra de la Ecuación 4 anterior, la relación en la Figura 6A2 puede explotarse para permitir la pendiente en la Ecuación 3,3 a acomodar los diferentes niveles de características físicas para lograr mediciones de concentración de glucosa mucho más precisas.

45 **[0098]** Hay que señalar que mientras que la pendiente "x" en la Figura 6A2 parece ser una línea lineal, la pendiente "x" es de hecho una línea curva y una curva ha sido equipada para la relación entre las características físicas y la pendiente implícita en la Figura 6A2. Los solicitantes consideran que esta curva ajustada para la Figura 6A2 es una ecuación de segundo orden de la forma:

$$\text{Nueva pendiente} = aH^2 + bH + c \quad \text{Ec. 5}$$

donde

55 *Nueva pendiente* es la pendiente de lote nueva derivada o calculada;
 H es una característica física medida o estimada;
 a es aproximadamente $1,35e-6$,
 b es aproximadamente $-3,79e-4$,
 c es aproximadamente $3,56e-2$.

60 **[0099]** La ecuación 5 se puede usar en lugar de trazar contra la Figura 6A2, dependiendo de la potencia informática disponible del procesador. La viabilidad de este enfoque se puede ver aquí en la Figura 6A3, que es un gráfico de una gran cantidad de tiras reactivas en diferentes rangos de glucosa y niveles de hematocrito versus sesgo porcentual mediante el uso de las Ecuaciones 5 y 6. en la Figura 6A3, se puede ver que prácticamente toda la concentración de glucosa en diferentes rangos de glucosa (bajo, medio y alto) en aproximadamente el 30%, 42% y aproximadamente el 55% del hematocrito tienen un sesgo de menos del + 10%.

[0100] Continuando con el proceso ejemplar de la Figura 6A1, una vez que se conoce la característica física en el paso 908A de la Ecuación 4, como por ejemplo Hct -55%, se utiliza el gráfico de la Figura 6A2 para determinar la pendiente de lote apropiada, designada aquí como "Nueva pendiente", que es aproximadamente 0,019. Alternativamente, la ecuación 5 se puede utilizar para derivar la Nueva pendiente a partir de la característica física medida o estimada. Esta Nueva pendiente (de la Fig. 6A2 o Ec. 5) se usa junto con la intercepción de lote (Interceptar) del lote particular de la tira de prueba en la Ecuación 3,3, como se establece a continuación en la Ecuación 6.

$$G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{x} \right]$$

Ec. 6.

donde

G_0 representa una concentración de analito

I_E es una señal (proporcional a la concentración de analito) medida en el punto de *Tiempo de muestreo* especificado;

x o "Nueva pendiente" es el valor obtenido de la relación en la Figura 6A2 o de la ecuación. 5;

Interceptar es el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular.

[0101] Una vez que la salida de señal I_E de la cámara de prueba se mide en el tiempo designado, típicamente a aproximadamente 2,5 segundos o aproximadamente 5 segundos, la señal I_E se usa posteriormente con Nueva pendiente (del lote) e Intercepción (del lote) en el cálculo de la concentración de analito (en este caso glucosa) con la ecuación 6 arriba. Aquí se observa que I_E podría ser una corriente de un solo electrodo de trabajo donde el biosensor tiene solo un electrodo de trabajo, una suma de salidas de corriente de dos electrodos de trabajo, una corriente de un electrodo de trabajo multiplicada por dos o una corriente promedio de los dos electrodos de trabajo. Debe notarse que el paso de aplicar la primera señal y la activación de la segunda señal está en orden secuencial en que el orden puede ser la primera señal, luego la segunda señal o ambas señales superpuestas en secuencia; alternativamente, la segunda señal primero y luego la primera señal o ambas señales se superponen en secuencia. Alternativamente, la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden tener lugar simultáneamente.

[0102] En el método, el paso de aplicar la primera señal implica dirigir una señal alterna provista por una fuente de energía apropiada (p. ej., el medidor 200) a la muestra para que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna. La característica física es el hematocrito. El paso de dirección puede incluir conducir señales alternas primera y segunda a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia. Preferiblemente, la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia. Como ejemplo, la primera frecuencia puede ser cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 100 kHz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 250 kHz a aproximadamente 1 MHz o más. Como se usa en el presente documento, la frase "señal alterna" puede tener algunas partes de la señal que alternan en polaridad o todas las señales de corriente alterna o una corriente alterna con un desplazamiento de corriente continua o incluso una señal multidireccional combinada con una señal de corriente continua.

[0103] Aunque el método puede especificar solo un punto de tiempo de muestreo, el método puede incluir el muestreo de tantos puntos de tiempo como sea necesario, como, por ejemplo, muestreo de la señal de salida continuamente en el tiempo de muestreo especificado, por ejemplo, cada 10 milisegundos a 100 milisegundos) desde el inicio de la secuencia de prueba hasta al menos aproximadamente 10 segundos después del inicio y los resultados almacenados para el procesamiento cerca del final de la secuencia de prueba. Los solicitantes observan que el tiempo de muestreo apropiado se mide desde el inicio de la secuencia de prueba. Como cuestión práctica, el sistema se puede programar para muestrear la señal de salida en un intervalo de muestreo de tiempo apropiado durante toda la secuencia de prueba, como por ejemplo, un muestreo cada 100 milisegundos o incluso tan poco como aproximadamente 1 milisegundo. En esta variación, la salida de señal muestreada en el punto de tiempo de muestreo especificado es el valor utilizado para calcular la concentración de analito.

[0104] Se observa que en las realizaciones preferidas, la medición de una señal de salida para la concentración de glucosa se realiza antes de la medición o estimación del hematocrito. Alternativamente, el nivel de hematocrito puede medirse o estimarse antes de la medición de la concentración de glucosa.

[0105] Por lo tanto, como otro beneficio de la enseñanza proporcionada en este documento, se logra un método para demostrar una mayor precisión de una tira de prueba que hasta ahora. Este método implica proporcionar un lote de tiras reactivas, típicamente en un lote de al menos aproximadamente 1500 tiras reactivas (y en algunos casos hasta 1 millón de tiras reactivas por lote), introduciendo una muestra referencial que contiene una concentración referencial

de un analito a cada uno del lote de tiras reactivas para iniciar una secuencia de prueba (una "muestra referencial" contiene una concentración "referencial" o "conocida" de un analito. El método implica hacer reaccionar el analito con un reactivo en la tira reactiva para provocar una transformación física del analito próximo a los dos electrodos, la determinación de una característica física de la muestra de referencia, obtener un parámetro de biosensor (por ejemplo, una pendiente por lotes) para el lote de tiras de prueba basados en las características físicas determinadas de la muestra de referencia; muestrear una salida eléctrica de la muestra referencial en un punto de tiempo predeterminado durante la secuencia de prueba, y calculando una concentración de analito basada en el parámetro biosensor derivado y la salida de muestra eléctrica para proporcionar un valor final de concentración de analito para cada lote de tiras reactivas de manera que al menos el 95% de los valores de concentración de analito del lote de tiras reactivas estén dentro de aproximadamente $\pm 15\%$ de la concentración de analito referencial para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%, mostrado aquí en la Figura 6A3 (un ejemplo de una "transformación física", específicamente una "reacción enzimática", de un analito para formar un material diferente es la oxidación de glucosa a D-glucono- δ -lactona y peróxido de hidrógeno por glucosa- δ oxidasa (donde el analito es glucosa y el reactivo comprende glucosa oxidasa)).

[0106] En la Figura 6A3, se realizaron experimentos para cuantificar la mejora en las mediciones de glucosa a partir del método señalado anteriormente. La cuantificación de la mejora se puede mostrar por el "sesgo" en diferentes niveles de hematocrito. El sesgo, que es una estimación del error relativo en la medición de 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 ecuaciones de la forma: $Sesgo_{abs} = G_{calculado} - G_{referencia}$ para $G_{referencia}$ menos de 100 mg/dL glucosa y

$$Sesgo_{\%} = \frac{G_{calculado} - G_{referencia}}{G_{referencia}}$$

para $G_{referencia}$ mayor o igual a 100 mg/dL de glucosa donde

$Sesgo_{abs}$ es sesgo absoluto,

$Sesgo_{\%}$ es el porcentaje de sesgo,

$G_{calculado}$ es la concentración de glucosa determinada por el método en este documento y

$G_{referencia}$ es la concentración de glucosa de referencia.

[0107] Como se puede ver en la Figura 6A3, la mayoría o prácticamente toda la concentración de glucosa que usa esta técnica está dentro de aproximadamente $\pm 15\%$ de sesgo para el hematocrito de aproximadamente 30% de hematocrito a aproximadamente 55% de hematocrito. Específicamente, en la región 1010A, solo una concentración de glucosa superior a 100 mg/dL está fuera del sesgo de -15%; en la región 1012A de hematocrito intermedio, algunas concentraciones de glucosa están fuera del rango de sesgo de -15% y en la región 1014A de hematocrito alto, se dispersan más concentraciones de glucosa fuera del sesgo de -15% en comparación con las regiones 1010A y 1012A.

[0108] Con referencia a la Figura 6B1, otra técnica consiste en depositar una muestra de fluido (que puede ser un fisiológica de la muestra) en un biosensor en el paso 904B (en la forma de una tira de prueba como se muestra en las figuras 3A(1), 3A(2), o 3A(3)-3T) que se ha insertado en un medidor (paso 902B). Una vez que se enciende el medidor 200, se aplica un voltaje a la tira 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) y cuando la muestra se deposita en la cámara de prueba, el voltaje aplicado transforma físicamente el analito en la muestra en una forma diferente debido a la reacción enzimática del analito con el reactivo en la cámara de prueba. A medida que la muestra fluye hacia el canal capilar de la célula de prueba, se obtiene la característica física de la muestra (paso 908B). En particular, el paso de obtener o medir la característica física (paso 908B) incluye aplicar una primera señal a la muestra para derivar una característica física de la muestra, mientras que el paso 906B de iniciar una reacción enzimática (aplicando señales eléctricas a la muestra y reactivo) implica conducir una segunda señal a la muestra, y el paso de medición (paso 912B) implica medir una señal de salida de los al menos dos electrodos en un punto en el tiempo después del inicio de la secuencia de prueba, en la cual un tiempo de muestreo el punto se especifica (en el paso 910B) en función de al menos la característica física medida o estimada (paso 908B).

[0109] En una variación del método, el paso de aplicar la primera señal implica dirigir una señal alterna proporcionada por una fuente de energía apropiada (por ejemplo, el medidor 200) a la muestra para que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna. La característica física es el hematocrito. El paso de dirección puede incluir conducir señales alternas primera y segunda a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia. Preferiblemente, la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia. Como ejemplo, la primera frecuencia puede ser cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 100 kHz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 250 kHz a aproximadamente 1 MHz o más. Como se usa en el presente documento, la frase "señal alterna" puede tener algunas partes de la señal que alternan en polaridad o todas las señales de corriente alterna o una corriente alterna con un desplazamiento de corriente continua o incluso una señal multidireccional combinada con una señal de corriente continua.

[0110] Una vez que la característica física de la muestra se determina u obtiene de una técnica adecuada, la característica física se puede usar para especificar un punto de tiempo de muestreo en donde durante la secuencia de prueba se podría medir la señal de salida de la cámara de prueba. En particular, los solicitantes han encontrado una relación entre la característica física y el punto de tiempo de muestreo, como se muestra aquí en la Figura 7. Esta relación se ha explorado más de tal manera que los solicitantes pudieron derivar una relación directa entre el punto de tiempo de muestreo de la muestra y la característica física de la muestra, que se muestra aquí en la Figura 6B2. Como consecuencia, al conocer la característica física de la muestra de la Ecuación 4 anterior, la relación en la Figura 6B2 puede explotarse para permitir que se especifique el punto de tiempo de muestreo para acomodar los diferentes niveles de característica física a fin de lograr una glucosa mucho más precisa medidas de concentración que hasta ahora.

[0111] Con referencia de nuevo a la Figura 7, puede verse que a medida que la concentración de analito (proporcional a la salida de señal) aumenta, el pico de la alta concentración de glucosa (denotado por 1002a, 1004a, y 1006a) se desplaza a la derecha como en comparación con la concentración media de glucosa (denotada por 1002b, 1004b y 1006b). De manera similar, el pico de la concentración media de glucosa está más a la derecha de la figura 7 en comparación con la concentración baja de glucosa (denotada por 1002c, 1004c y 1006c). También se puede ver aquí que el estado estacionario de las bajas concentraciones de glucosa (1002c, 1004c y 1006c) se alcanza antes que las concentraciones medias de glucosa (1002b, 1004b y 1006b). Este patrón se repite para concentraciones altas de glucosa (1002a, 1004a y 1006b) en comparación con concentraciones medias de glucosa.

[0112] A partir de los datos en la Figura 7, los solicitantes pudieron derivar una relación de segundo grado entre la característica física detectada y el tiempo de muestreo, que se muestra aquí en la Figura 6B2. En la Figura 6B2, se ajusta una curva a los valores de hematocrito en aproximadamente 30%, 42% y aproximadamente 55% y valores de glucosa para estos rangos de hematocritos (de la Figura 7). Los solicitantes consideran que esta curva ajustada es una ecuación de la forma:

$$\text{Tiempo de muestreo} = x_1 H^{x_2} + x_3 \quad \text{Ec. 7}$$

donde,

por conveniencia, el "Tiempo de muestreo" se designa como un punto de tiempo desde el comienzo de la secuencia de prueba en donde tomar muestras de la señal de salida de la tira de prueba,

H representa la característica física de la muestra;

x_1 es aproximadamente 4,3e5;

x_2 es aproximadamente -3,9; y

x_3 es aproximadamente 4,8.

[0113] Aunque el método puede especificar solo un punto de tiempo de muestreo, el método puede incluir el muestreo de tantos puntos de tiempo como sea necesario, como, por ejemplo, muestrear la salida de señal continuamente (en un tiempo de muestreo especificado, por ejemplo, cada 10 milisegundos a 100 milisegundos) desde el inicio de la secuencia de prueba hasta al menos aproximadamente 10 segundos después del inicio y los resultados almacenados para el procesamiento cerca del final de la secuencia de prueba. Los solicitantes observan que el tiempo de muestreo apropiado se mide desde el inicio de la secuencia de prueba. Como cuestión práctica, el sistema se puede programar para muestrear la señal de salida en un intervalo de muestreo de tiempo apropiado durante toda la secuencia de prueba, como por ejemplo, un muestreo cada 100 milisegundos o incluso tan poco como aproximadamente 1 milisegundo. En esta variación, la salida de señal muestreada en el punto de tiempo de muestreo especificado es el valor utilizado para calcular la concentración de analito.

[0114] Con referencia de nuevo a la Figura 6B1, el método puede ahora determinar la concentración de analito (paso 914B) en base a la señal medida (paso 912B) muestreada en el punto de tiempo especificado, que especifica punto de tiempo es una función de la obtenida o medida o característica física estimada de la muestra (p. ej., de la gráfica de la Figura 6B2 o la Ecuación 7). Es decir, una vez que se ha especificado el tiempo de muestreo T de la Ecuación 7, el método proporciona la medición de la señal de salida de la cámara de prueba (por ejemplo, la cámara 92) para que la salida muestreada pueda utilizarse con la Ecuación 3,3 para proporcionar una concentración de analito.

[0115] Una tabla de consulta, representada aquí con referencia a la Tabla 1, también se puede utilizar además de la Ecuación 7 para especificar un punto de tiempo de muestreo apropiado. En la Tabla 1, el procesador utiliza el valor de la característica física del sistema para buscar el momento apropiado en donde la salida de señal del biosensor es muestreado o medido para determinar la concentración de analito. Por ejemplo, una vez que se ha determinado la característica física, en este caso alrededor del 33% de hematocrito, el tiempo en donde se utiliza la salida de señal del biosensor 100 para determinar la concentración de analito puede deducirse de la Tabla 1, que muestra que el tiempo en que el sistema debe muestrear la señal de salida es aproximadamente a 5,32 segundos después del inicio de la secuencia de prueba.

Tabla 1

	Característica Física (% de Hematocrito)	Tiempo de muestreo T (segundos)
5	30	5,56
	31	5,46
	32	5,38
	33	5,32
10	34	5,26
	35	5,2
	36	5,16
	37	5,12
15	38	5,08
	39	5,06
	40	5,02
	41	5
	42	5
20	43	4,98
	44	4,96
	45	4,96
	46	4,94
	47	4,92
25	48	4,92
	49	4,9
	50	4,9
	51	4,9
30	52	4,88
	53	4,88
	54	4,88
	55	4,86

35 **[0116]** Hay que señalar que la paso de aplicación de la primera señal y el accionamiento de la segunda señal está en orden secuencial en que el orden puede ser la primera señal entonces la segunda señal o ambas señales superpuestas en secuencia; alternativamente, la segunda señal primero y luego la primera señal o ambas señales se superponen en secuencia. Alternativamente, la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden tener lugar simultáneamente.

40 **[0117]** Se hace notar que en las realizaciones preferidas, la medición de una salida de señal para la concentración de glucosa se lleva a cabo antes de la estimación de la característica física. Alternativamente, el nivel característico físico puede estimarse, medirse u obtenerse antes de la medición de la concentración de glucosa.

45 **[0118]** Por lo tanto, como otro beneficio de la enseñanza proporcionada en el presente documento, se logra un método para demostrar una mayor precisión de una tira de prueba que hasta ahora. Este método implica proporcionar un lote de tiras reactivas, típicamente en un lote de al menos aproximadamente 1500 tiras reactivas (y en algunos casos hasta 1 millón de tiras reactivas por lote), introduciendo una muestra referencial que contiene una concentración referencial de un analito a cada uno de los lotes de tiras de prueba para iniciar una secuencia de prueba. El método implica hacer reaccionar el analito para causar una transformación física del analito con el reactivo entre los dos electrodos, determinar una característica física de la muestra referencial, estimar la concentración del analito, tomar muestras de una salida eléctrica de la muestra referencial en un punto de tiempo específico durante la secuencia de prueba definida por la característica física medida o estimada de la muestra y la concentración de analito estimada, y calcular una concentración de analito basada en el tiempo de muestreo especificado de manera que al menos el 95% de los valores de concentración de analito del lote de tiras de prueba estén dentro de aproximadamente el 25% de la concentración de analito referencial para el rango de hematocrito de aproximadamente el 30% a aproximadamente el 55%, que se muestra aquí en la Figura 6B3.

60 **[0119]** Como se puede ver en la Figura 6B3, la mayor parte o prácticamente toda la concentración de glucosa que usa esta técnica está dentro de aproximadamente un sesgo de $\pm 25\%$ para el hematocrito de aproximadamente 30% de hematocrito a aproximadamente 55% de hematocrito. Específicamente, en la región 1010B, solo una concentración de glucosa superior a 100 mg/dL está fuera del sesgo de -15%; en la región 1012B de hematocrito intermedio, algunas concentraciones de glucosa están fuera del rango de sesgo de aproximadamente -25% y en la región 1014B de hematocrito alto, se dispersan más concentraciones de glucosa fuera del sesgo de aproximadamente -25% en comparación con las regiones 1010B y 1012B.

65

[0120] Todavía se puede entender otra técnica con referencia a la Figura 6C1. Esta técnica implica depositar una muestra de fluido (que es una muestra fisiológica) en un biosensor en el paso 904C (en forma de una tira de prueba como se muestra en las Figuras 3A(1), 3A(2) o 3A(3)-3T) que se ha insertado en un medidor (paso 902C). Una vez que se enciende el medidor 200, se aplica un voltaje a la tira 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) y cuando la muestra se deposita en la cámara de prueba, el voltaje aplicado transforma físicamente el analito en la muestra en una forma diferente debido a la reacción enzimática del analito con el reactivo en la cámara de prueba. A medida que la muestra fluye hacia el canal capilar de la célula de prueba, se obtiene la característica física de la muestra (paso 908C). En particular, el paso de obtener o medir la característica física (paso 908C) incluye aplicar una primera señal a la muestra para derivar una característica física de la muestra, mientras que el paso 906C de iniciar una reacción enzimática (aplicando señales a la muestra y reactivo) implica conducir una segunda señal a la muestra, y el paso de medición (paso 912C) implica medir una señal de salida de los al menos dos electrodos en un punto en el tiempo después del inicio de la secuencia de prueba, en donde un punto de tiempo de muestreo se especifica (en el paso 909) y se deriva una pendiente de lote (paso 910C) y en función de al menos la característica física medida o estimada (paso 908C).

[0121] En una variación del método, el paso de aplicar la primera señal implica dirigir una señal alterna proporcionada por una fuente de energía apropiada (por ejemplo, el medidor 200) a la muestra para que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna. La característica física que se detecta es el hematocrito. El paso de dirección puede incluir conducir una primera y una segunda señal alterna a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia. Preferiblemente, la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia. Como ejemplo, la primera frecuencia puede ser cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 100 kHz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 250 kHz a aproximadamente 1 MHz o más. Como se usa en el presente documento, la frase "señal alterna" puede tener algunas partes de la señal que alternan en polaridad o todas las señales de corriente alterna o una corriente alterna con un desplazamiento de corriente continua o incluso una señal multidireccional combinada con una señal de corriente continua.

[0122] Una vez que la característica física de la muestra se determina u obtiene de una técnica adecuada, la característica física se puede usar para especificar un punto de tiempo de muestreo (paso 909) en qué punto durante la secuencia de prueba la señal de salida de la cámara de prueba podría medirse. En particular, los solicitantes han encontrado una relación entre la característica física y el punto de tiempo de muestreo, como se muestra aquí en la Figura 7. Esta relación se ha explorado más de tal manera que los solicitantes pudieron derivar una relación directa entre el punto de tiempo de muestreo de la muestra y la característica física de la muestra, que se muestra aquí en la Figura 6C2. Como consecuencia, al conocer la característica física de la muestra de la Ecuación 4 anterior, la relación en la Figura 6C2 puede explotarse para permitir que se especifique el punto de tiempo de muestreo para acomodar los diferentes niveles de característica física a fin de lograr mediciones de concentración de analito mucho más precisas.

[0123] Con referencia de nuevo a la figura 7, se puede observar que a medida que la concentración de analito (proporcional a la salida de señal) aumenta, el pico de la alta concentración de glucosa (denotada por 1002a, 1004a, y 1006a) se desplaza a la derecha como en comparación con la concentración media de glucosa (denotada por 1002b, 1004b y 1006b). De manera similar, el pico de la concentración media de glucosa está más a la derecha de la Fig. 7A en comparación con la concentración baja de glucosa (denotada por 1002c, 1004c y 1006c). También se puede ver aquí que el estado estacionario de las bajas concentraciones de glucosa (1002c, 1004c y 1006c) se alcanza antes que las concentraciones medias de glucosa (1002b, 1004b y 1006b). Este patrón se repite para concentraciones altas de glucosa (1002a, 1004a y 1006b) en comparación con concentraciones medias de glucosa.

[0124] Aunque el método puede especificar solo un punto de tiempo de muestreo, el método puede incluir muestrear tantos puntos de tiempo como sea necesario, como, por ejemplo, muestrear la salida de señal continuamente (en un tiempo de muestreo especificado tal como cada milisegundo a 100 milisegundos) desde el inicio de la secuencia de prueba hasta al menos aproximadamente 10 segundos después del inicio y los resultados almacenados para el procesamiento cerca del final de la secuencia de prueba. Los solicitantes observan que el tiempo de muestreo apropiado se mide desde el inicio de la prueba. Como cuestión práctica, el sistema se puede programar para muestrear la señal de salida en un intervalo de muestreo de tiempo apropiado durante toda la secuencia de prueba, como por ejemplo, un muestreo cada 100 milisegundos o incluso tan poco como aproximadamente 1 milisegundo. En esta variación, la salida de señal muestreada en el punto de tiempo de muestreo especificado es el valor utilizado para calcular la concentración de analito.

[0125] Una tabla de consulta, representada aquí con referencia a la Tabla 1, también se puede utilizar además de la Ecuación 7 para determinar el punto de tiempo de muestreo apropiado T. en la Tabla 1, el procesador utiliza el valor de la característica física. el sistema busca el momento apropiado en donde se muestrea o mide la salida de señal del biosensor para determinar la concentración de analito. Por ejemplo, una vez que se ha determinado la característica física, en este caso alrededor del 33% de hematocrito, el tiempo en donde se utiliza la salida de señal del biosensor 100 para determinar la concentración de analito puede deducirse de la Tabla 1, que muestra que el tiempo en que el sistema debe muestrear, la salida de la señal es aproximadamente a 5,32 segundos después del inicio de la secuencia de prueba.

[0126] Para mejorar aún más la precisión de los resultados, el método puede implicar evaluar una señal de salida de los al menos dos electrodos en un punto en el tiempo después del inicio de la secuencia de prueba, en donde se deriva una nueva pendiente del lote (en el paso 910C) en función de al menos la característica física medida o estimada (paso 908C).

[0127] La configuración de una nueva pendiente de lote (paso 910C) para derivar una medición de concentración más precisa de analito merece una discusión con referencia a las Figuras 7 y 6C3. Los solicitantes han encontrado además que existe otra relación entre la pendiente del lote de estas tiras de prueba probadas en los niveles Bajo G, Medio G y Alto G con respecto a los niveles de hematocrito del 30%, 42% y 55% de la Figura 7. En particular, los solicitantes han encontrado que la pendiente del lote para estas tiras es generalmente curva con respecto al nivel de hematocrito, que se muestra aquí en la Figura 6C3. en la Figura 6C3, la pendiente del lote disminuye de manera generalmente curvada en hematocritos bajos (p. ej., 30%), medios (p. ej., 42%) y altos (p. ej., 55%). Como consecuencia, al conocer la característica física de la muestra de la Ecuación 4 anterior, la relación en la Figura 6C3 se puede explotar para permitir que se calcule la pendiente en la Ecuación 3,3 para los diferentes niveles de característica física a fin de lograr mediciones de concentración de glucosa mucho más precisas.

[0128] Debe notarse que mientras la pendiente "x" en la Figura 6C3 parece ser una línea lineal, la pendiente "x" es de hecho una línea curva y se ha ajustado una curva para la relación entre la característica física y la pendiente implícita en la Figura 6C3. Los solicitantes encontraron esta curva ajustada para la Figura 6C3 y la definieron en la Ecuación 5 anteriormente. Se observa que debido a un ajuste en donde se tomó el tiempo de muestreo para la realización descrita aquí, la ecuación 5 se usa preferiblemente con los siguientes coeficientes: a es aproximadamente $-1,98e-6$; b es aproximadamente $-2,87e-5$; y c es aproximadamente $2,67e-2$ y $\pm 10\%$ para cada una de las magnitudes proporcionadas. El ajuste se debe al hecho de que los nuevos coeficientes (a, b y c) se calculan a diferentes tiempos de muestreo, mientras que antes, el tiempo de muestreo se fijaba en aproximadamente 5 segundos. Esto hará que los coeficientes a, b y c sean diferentes para maximizar la precisión. Si un experto en la técnica usara los mismos coeficientes a, b y c que antes, dicha persona experta aún puede obtener la concentración de analito pero las estimaciones resultantes se deteriorarán. El impulsor aquí es que la pendiente de la relación de glucosa con el hematocrito está cambiando dentro de la señal transitoria, por lo que se necesitan diferentes pendientes ya que el tiempo de muestreo varía entre aproximadamente 3,5 segundos y aproximadamente 6 segundos.

[0129] Se hace notar que la ecuación 5 se puede utilizar en lugar de trazar contra la Figura 6C3, dependiendo de la potencia de cálculo del procesador disponible. Continuando con el proceso ejemplar de la Figura 6C1, una vez que se conoce la característica física en el paso 908C de la Ecuación 4, como por ejemplo Hct -55%, se utiliza el gráfico de la Figura 6C3 o la Ecuación 5 para determinar la pendiente de lote apropiada, designada aquí como "**Nueva pendiente**", que es aproximadamente 0,019. Alternativamente, la Ecuación 5 se puede utilizar para derivar **Nueva pendiente** de la característica física medida o estimada. Esta **Nueva pendiente** (de la Fig. 6C3 o la Ec. 5) se usa junto con la intercepción por lotes (Interceptar) con la relación de tiempo de muestreo que los solicitantes han encontrado, como se estableció anteriormente con respecto a la Ec. 5.

[0130] Haciendo referencia de nuevo a la Figura 6C1, el método ahora puede determinar la concentración de analito (paso 914C) basándose en una nueva pendiente de lote (es decir, **Nueva pendiente**) derivada de la característica física medida o estimada de la muestra (en el paso 910C) junto con la señal medida (paso 912C) muestreada en el punto de tiempo especificado (en el paso 909), cuyo punto de tiempo especificado es una función de la característica física obtenida o medida o estimada de la muestra (por ejemplo, del gráfico de la Figura 6C2 o la Ecuación 5) Es decir, una vez que se ha especificado el tiempo de muestreo de la Ecuación 5 y **Nueva pendiente** de la Ecuación 6, el método proporciona la medición de la señal de salida de la cámara de prueba (por ejemplo, la cámara 92) para que la salida muestreada se pueda utilizar con la Ecuación 3,3 para proporcionar una concentración de analito.

[0131] En una realización, la concentración de analito se determina en base a una forma modificada de la Ecuación 3,3, delineada aquí como Ecuación 8:

$$G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{\text{Nueva pendiente}} \right]$$

Ec. 8

donde

G_0 representa una concentración de analito

I_E es una señal (proporcional a la concentración de analito) medida en el punto *Tiempo de muestreo* especificado;

"**Nueva pendiente**" es el valor obtenido de la relación en la Figura 6C3 o de la ecuación 5;

la intercepción es el valor obtenido de la prueba de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular.

[0132] Una vez que la salida de señal I_E de la cámara de prueba se mide en el tiempo especificado (paso 909) en cualquier punto entre aproximadamente 3 segundos y aproximadamente 8 segundos, la señal I_E se usa posteriormente con *Nueva pendiente* (del lote) e *Interceptar* (del lote) en el cálculo de la concentración de analito (en este caso glucosa) con la ecuación 8 arriba. La intercepción comprende un parámetro de fabricación para un lote de biosensores, y en las realizaciones descritas en el presente documento, la intercepción varía típicamente de aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,6. Debe notarse que el paso de aplicar la primera señal y la activación de la segunda señal está en orden secuencial en que el orden puede ser la primera señal, luego la segunda señal o ambas señales superpuestas en secuencia; alternativamente, la segunda señal primero y luego la primera señal o ambas señales se superponen en secuencia. Alternativamente, la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden tener lugar simultáneamente.

[0133] Se observa que en las realizaciones preferidas, la medición de una señal de salida para la concentración de analito se realiza antes de la estimación de la característica física. Alternativamente, el nivel característico físico puede estimarse, medirse u obtenerse antes de la medición de la concentración de analito.

[0134] Por lo tanto, como otro beneficio de la enseñanza proporcionada en este documento, hasta ahora se logra un método para demostrar una mayor precisión de una tira de prueba. Este método implica proporcionar un lote de tiras reactivas, típicamente en un lote de al menos aproximadamente 1500 tiras reactivas (y en algunos casos hasta 1 millón de tiras reactivas por lote), introduciendo una muestra referencial que contenga una concentración referencial de un analito en cada del lote de tiras reactivas para iniciar una secuencia de prueba. El método implica hacer reaccionar el analito para provocar una transformación física del analito con el reactivo entre los dos electrodos, determinar una característica física de la muestra referencial, derivar una pendiente de lote para la tira de prueba, muestrear una salida eléctrica de la muestra referencial en un punto de tiempo especificado durante la secuencia de prueba definida por la característica física medida o estimada de la muestra, y calculando una concentración de analito basada en el tiempo dictado y la pendiente del lote derivado de manera que al menos el 95% de los valores de concentración de analito del lote de prueba las tiras están dentro de aproximadamente $\pm 15\%$ de la concentración de analito referencial para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%, como se muestra aquí en la Figura 6C4.

[0135] Como se puede ver en la Figura 6C4, la mayoría o prácticamente toda la concentración de glucosa que usa esta técnica está dentro de aproximadamente $\pm 15\%$ de sesgo para el hematocrito de aproximadamente 30% de hematocrito a aproximadamente 55% de hematocrito. Específicamente, en la región 1010C, ninguna de las concentraciones de glucosa superiores a 100 mg/dL está fuera del sesgo de -15%; en la región 1012C de hematocrito intermedio, algunas concentraciones de glucosa están fuera del rango de sesgo del 15% y en la región 1014C de hematocrito alto, algunas concentraciones más de glucosa se dispersan fuera del sesgo del 15% en comparación con las regiones 1010C y 1012C.

[0136] Sin embargo, se puede entender una técnica adicional con referencia a la Figura 6D1. Esta técnica implica depositar una muestra de fluido (que puede ser una muestra fisiológica) en un biosensor en el paso 904 (en forma de una tira de prueba como se muestra en las Figuras 3A(1), 3A(2) o 3A(3)-3T) que se ha insertado en un medidor (paso 902). Una vez que se enciende el medidor 200, se aplica un voltaje a la tira 100 (o sus variantes 400, 500 o 600) y cuando la muestra se deposita en la cámara de prueba, la señal aplicada transforma físicamente el analito en la muestra en una forma diferente debido a la reacción enzimática del analito con el reactivo en la cámara de prueba. A medida que la muestra fluye hacia el canal capilar de la célula de prueba, se obtiene la característica física de la muestra (paso 908) junto con la estimación de la concentración de analito (paso 910). A partir de la característica física obtenida (paso 908) y la concentración estimada de analito (paso 910), se define un punto de tiempo de muestreo en donde se mide la salida de señal de la muestra durante la secuencia de prueba (en la etapa 914) y se usa para calcular la concentración de analito en el paso 916. En particular, el paso de obtener la característica física (paso 908) incluye aplicar una primera señal a la muestra para medir una característica física de la muestra, mientras que el paso 906 de iniciar una reacción enzimática implica conducir una segunda señal a la muestra, y el paso de medición (paso 914) implica evaluar una señal de salida de los al menos dos electrodos en un punto en el tiempo después del inicio de la secuencia de prueba, en donde el punto en el tiempo se establece (en el paso 912) como una función de al menos la característica física medida o estimada (paso 908) y la concentración estimada de analito (paso 910).

[0137] La determinación del punto apropiado en el tiempo en función de las características físicas medidas o estimadas en el paso 912 puede determinarse mediante el uso de una tabla de consulta programada en el microprocesador del sistema. Por ejemplo, se puede proporcionar una tabla de consulta que permita que el sistema seleccione el tiempo de muestreo apropiado para el analito con la característica física medida o conocida de la muestra.

[0138] En particular, un punto de tiempo de muestreo apropiado puede, alternativamente, estar basado en una estimación temprana del analito y la característica física medida o conocida para llegar al tiempo de muestreo apropiado que da el menor error o sesgo en comparación con los valores referenciales. En esta técnica que no pertenece a la invención, se proporciona una tabla de consulta en donde el punto de tiempo de muestreo definido se

correlaciona con (a) la concentración estimada de analito y (b) la característica física de la muestra. Por ejemplo, la Tabla 2 puede programarse en el medidor para proporcionar una matriz en la cual las categorías cualitativas (baja, media y alta glucosa) del analito estimado forman la columna principal y las categorías cualitativas (baja, media y alta) de las características físicas medidas o estimadas forman la fila del encabezado. En la segunda columna, t/Hct es un valor determinado experimentalmente del cambio de tiempo por % de diferencia de hematocrito del hematocrito nominal del 42%. Como un ejemplo, para un 55% de hematocrito en "Glucosa Media" indicaría un cambio de tiempo de $(42-55)*90 = -1170$ ms. El tiempo de -1170 milisegundos se agrega al tiempo de prueba original de aproximadamente 5000 milisegundos dando $(5000-1170 = 3830)$ milisegundos) ~ 3,9 segundos.

Tabla 2

Analito Estimado	t/Hct (en milisegundos)	Punto de tiempo de muestreo T para Lo Hct (desde el inicio de la secuencia de prueba, en segundos)	Punto de tiempo de muestreo T para Hct medio (desde el inicio de la secuencia de prueba, en segundos)	Punto de tiempo de muestreo T para Hct alta (desde el inicio de la secuencia de prueba, en segundos)
Glucosa baja	40	5,5	5	4,5
Glucosa media	90	6,1	5	3,9
Glucosa alta	110	6,3	5	3,6

[0139] El tiempo T en donde el sistema debería muestrear la señal de salida del biosensor se basa tanto en la categoría cualitativa del analito estimado como en la característica física medida o estimada y está predeterminada en función del análisis de regresión de un tamaño de muestra grande de muestras fisiológicas de fluidos reales. Los solicitantes observan que el tiempo de muestreo apropiado se mide desde el inicio de la secuencia de prueba. Como cuestión práctica, el sistema se puede programar para muestrear la señal de salida en un intervalo de muestreo de tiempo apropiado durante toda la secuencia de prueba, como por ejemplo, un muestreo cada 100 milisegundos o incluso tan poco como aproximadamente 1 milisegundo. Al muestrear toda la salida de señal transitoria durante la secuencia de prueba, el sistema puede realizar todos los cálculos necesarios cerca del final de la secuencia de prueba en lugar de intentar sincronizar el tiempo de muestreo con el punto de tiempo establecido, lo que puede introducir errores de temporización debido al sistema retrasar.

[0140] Los solicitantes a continuación discutirán la tabla de consulta 2 (que no pertenece a la invención) en relación con el analito particular de glucosa en muestras de fluidos fisiológicos. Las categorías cualitativas de glucosa en sangre se definen en la primera columna de la Tabla 2 en donde las concentraciones bajas de glucosa en sangre de menos de aproximadamente 70 mg/dL se designan como "Glucosa Baja"; concentraciones de glucosa en sangre superiores a aproximadamente 70 mg/dL pero inferiores a aproximadamente 250 mg/dL se designan como "Glucosa Media"; y las concentraciones de glucosa en sangre superiores a aproximadamente 250 mg/dL se designan como "Glucosa Alta".

[0141] Durante una secuencia de prueba, se puede obtener un "Analito Estimado" muestreando la señal en un punto de tiempo conveniente, típicamente a los cinco segundos durante una secuencia de prueba típica de 10 segundos. La medición muestreada en este punto de tiempo de cinco segundos permite una estimación precisa del analito (glucosa en sangre). El sistema puede referirse a una tabla de consulta (p. ej., Tabla 2) para determinar cuándo medir la salida de señal de la cámara de prueba en un tiempo de muestreo específico T basado en dos criterios: (a) analito estimado y (b) valor cualitativo de la característica física de la muestra. Para el criterio (b), el valor cualitativo de la característica física se desglosa en tres subcategorías de Bajo Hct, Medio Hct y Alto Hct. Por lo tanto, en el caso de que la característica física medida o estimada sea alta (p. ej., superior al 46%) y la glucosa estimada también sea alta, entonces, según la Tabla 2, el tiempo de prueba para que el sistema mida la salida de señal de la cámara de prueba sería alrededor de 3,6 segundos. Por otro lado, si el hematocrito medido es bajo (por ejemplo, menos de 38%) y

[0142] la glucosa estimada se baja entonces de acuerdo con la Tabla 2, el tiempo de prueba T para el sistema para medir la señal de salida de la cámara de prueba sería de unos 5,5 segundos.

[0143] Una vez que la salida de señal I_T de la cámara de prueba se mide en el tiempo designado (que se rige por la característica física medida o estimada), la señal I_T se usa posteriormente en el cálculo de la concentración de analito (en este caso glucosa) con la ecuación 9 a continuación

$$G_0 = \left[\frac{I_T - \text{Interceptor}}{\text{pendiente}} \right] \quad \text{Ec. 9}$$

donde

- 5 G_0 representa una concentración de analito;
 I_T representa una señal (proporcional a la concentración de analito) determinada a partir de la suma de las señales finales medidas en un tiempo de muestreo especificado T, que puede ser la corriente total medida en el tiempo de muestreo especificado T;
 La pendiente representa el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular y es típicamente de aproximadamente 0,02; y
 10 la intercepción representa el valor obtenido de la prueba de calibración de un lote de tiras de prueba de las cuales proviene esta tira particular y es típicamente de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,7.

15 **[0144]** Hay que señalar que el paso de aplicación de la primera señal y la conducción de la segunda señal es secuencial en que el orden puede ser la primera señal de entonces la segunda señal o ambas señales superpuestas en secuencia; alternativamente, la segunda señal primero y luego la primera señal o ambas señales se superponen en secuencia. Alternativamente, la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal pueden tener lugar simultáneamente.

20 **[0145]** En el método, el paso de aplicar la primera señal implica dirigir una señal alterna provista por una fuente de energía apropiada (p. ej., el medidor 200) a la muestra para que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna. La característica física que se detecta es el hematocrito. El paso de dirección puede incluir conducir una primera y una segunda señal alterna a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es más baja que la segunda frecuencia. Preferiblemente, la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia. Como ejemplo, la primera frecuencia puede ser cualquier frecuencia en el rango de aproximadamente 10 kHz a aproximadamente 100 kHz y la segunda frecuencia puede ser de aproximadamente 250 kHz a aproximadamente 1 MHz o más. Como se usa en el presente documento, la frase "señal alterna" o "señal oscilante" puede tener algunas partes de la señal que alternan en polaridad o todas las señales de corriente alterna o una corriente alterna con un desplazamiento de corriente directa o incluso una señal multidireccional combinada con una señal directa-actual.

[0146] Otros refinamientos de la Tabla 2 basados en investigaciones adicionales de la técnica permitieron a los solicitantes diseñar la Tabla 3, que se muestra a continuación (que tampoco pertenece a la invención).

35 **Tabla 3. Tiempo de Muestreo S a G Estimado y Característica Física Medida o Estimada**

G estimado [mg/dL]	Característica física medida o estimada (HCT [%])												
	24	27	30	33	36	39	42	45	48	51	54	57	60
25	4.6	4.6	4.5	4.4	4.4	4.4	4.3	4.3	4.3	4.2	4.1	4.1	4.1
50	5	4.9	4.8	4.7	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	4	4
75	5.3	5.3	5.2	5	4.9	4.8	4.7	4.5	4.4	4.3	4.1	4	3.8
100	5.8	5.6	5.4	5.3	5.1	5	4.8	4.6	4.4	4.3	4.1	3.9	3.7
125	6.1	5.9	5.7	5.5	5.3	5.1	4.9	4.7	4.5	4.3	4.1	3.8	3.6
150	6.4	6.2	5.9	5.7	5.5	5.3	5	4.8	4.6	4.3	4	3.8	3.5
175	6.6	6.4	6.2	5.9	5.6	5.4	5.2	4.9	4.6	4.3	4	3.7	3.4
200	6.8	6.6	6.4	6.1	5.8	5.5	5.2	4.9	4.6	4.3	4	3.7	3.4
225	7.1	6.8	6.5	6.2	5.9	5.6	5.3	5	4.7	4.3	4	3.6	3.2
250	7.3	7	6.7	6.4	6	5.7	5.3	5	4.7	4.3	4	3.6	3.2
275	7.4	7.1	6.8	6.4	6.1	5.8	5.4	5	4.7	4.3	4	3.5	3.2
300	7.5	7.1	6.8	6.5	6.2	5.8	5.5	5.1	4.7	4.3	4	3.5	3.1
w325	7.6	7.3	6.9	6.5	6.2	5.8	5.5	5.1	4.7	4.3	3.9	3.5	3.1
350	7.6	7.3	7	6.6	6.2	5.8	5.5	5.1	4.7	4.3	3.9	3.5	3.1
375	7.7	7.3	7	6.6	6.2	5.8	5.5	5.1	4.7	4.3	3.9	3.5	3.1
400	7.7	7.3	6.9	6.5	6.2	5.8	5.4	5	4.7	4.3	3.9	3.5	3.1
425	7.6	7.3	6.9	6.5	6.2	5.8	5.4	5	4.6	4.3	3.8	3.5	3.1
450	7.6	7.2	6.8	6.4	6.1	5.7	5.3	5	4.6	4.3	3.8	3.5	3.1
475	7.4	7.1	6.7	6.4	6	5.6	5.3	4.9	4.6	4.2	3.8	3.5	3.1
500	7.3	7	6.6	6.2	5.9	5.5	5.2	4.9	4.5	4.1	3.8	3.5	3.2
525	7.1	6.8	6.5	6.1	5.8	5.5	5.1	4.8	4.4	4.1	3.8	3.5	3.2
550	7	6.7	6.3	5.9	5.6	5.3	5	4.7	4.4	4.1	3.8	3.5	3.2
575	6.8	6.4	6.1	5.8	5.5	5.2	4.9	4.6	4.3	4.1	3.8	3.5	3.4
600	6.5	6.2	5.9	5.6	5.3	5	4.7	4.5	4.3	4	3.8	3.6	3.4

[0147] Como en la Tabla 2, se usa una característica física medida o estimada en la Tabla 3 junto con una concentración estimada de analito para derivar un tiempo S en donde la muestra debe ser medida. Por ejemplo, si el rasgo característico medido es de aproximadamente 30% y la glucosa estimada (mediante muestreo de aproximadamente 2,5 a 3 segundos) es de aproximadamente 350, el tiempo en donde el microcontrolador debe tomar muestras del líquido es de aproximadamente 7 segundos. En otro ejemplo, donde la glucosa estimada es de aproximadamente 300 mg/dL y la característica física medida o estimada es del 60%, el punto de tiempo de muestreo especificado sería de aproximadamente 3,1 segundos.

[0148] Para las realizaciones utilizadas con la Tabla 3, la concentración de glucosa estimada se proporciona con una ecuación:

$$G_{est} = \frac{(I_E - x_2)}{x_1}$$

Ec. 10

donde

G_{est} representa la concentración de glucosa estimada;
 I_E es la señal medida en aproximadamente 2,5 segundos;
 x₁ es la pendiente (por ejemplo, x₁ = 1,3e01);
 x₂ es la intersección (por ejemplo, x₂ = 6,9e02)

[0149] A partir de la glucosa estimada, la concentración de glucosa se puede determinar a partir de:

$$G_o = \frac{(I_s - x_4)}{x_3}$$

Ec. 11

donde:

G_o representa la concentración de glucosa;
 I_s es la señal medida en un punto de tiempo de muestreo especificado S de la Tabla 3;
 x₃ es la pendiente (por ejemplo, x₃ = 9,6); y
 x₄ es la intersección (p. ej., x₄ = 4,8e02).

[0150] Aunque el método puede especificar solo un punto de tiempo de muestreo, el método puede incluir el muestreo de tantos puntos de tiempo como sea necesario, como, por ejemplo, muestrear la salida de señal continuamente (en el tiempo de muestreo especificado, por ejemplo, cada 1 milisegundo a 100 milisegundos) desde el inicio de la secuencia de prueba hasta al menos aproximadamente 10 segundos después del inicio y los resultados almacenados para el procesamiento cerca del final de la secuencia de prueba. En esta variación, la salida de señal muestreada en el punto de tiempo de muestreo especificado (que puede ser diferente del punto de tiempo de muestreo predeterminado) es el valor utilizado para calcular la concentración de analito.

[0151] Se hace notar que en las variantes preferidas de las técnicas mencionadas anteriormente (no pertenecientes a la invención), la medición de una salida de señal para el valor que es un tanto proporcional a la concentración de analito se lleva a cabo 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 de glucosa estimada G_E se obtiene mediante la Ecuación 3,3 con I_E muestreada en aproximadamente uno de 2,5 segundos o 5 segundos, como en la Figura 6D2, la característica física se obtiene mediante la Ecuación 4 y la medición de glucosa G se obtiene mediante utilizando la salida de señal medida I_D en los puntos de tiempo de muestreo designados (p. ej., la salida de señal medida I_D se muestrea a 3,5 segundos o 6,5 segundos) para la señal transitoria 1000.

[0152] Por lo tanto, como otro beneficio de la enseñanza hasta ahora, se logra un método para demostrar una mayor precisión de una tira reactiva. Este método implica proporcionar un lote de tiras reactivas, típicamente en un lote de al menos aproximadamente 1500 tiras reactivas (y hasta un millón o más de tiras reactivas en ciertos casos), introduciendo una muestra referencial que contenga una concentración referencial de un analito en cada uno del lote de tiras reactivas para iniciar una secuencia de prueba. El método implica hacer reaccionar el analito para causar una transformación física del analito con el reactivo entre los dos electrodos, determinar una característica física de la muestra referencial, estimar la concentración del analito, tomar muestras de una salida eléctrica de la muestra referencial en un punto de tiempo determinado durante la secuencia de prueba definida por la característica física medida o estimada de la muestra y la concentración de analito estimada, y calculando una concentración de analito

basada en el tiempo dictado de manera que al menos el 95% de los valores de concentración de analito del lote de tiras de prueba estén dentro de $\pm 10\%$ de la concentración de analito referencial para el rango de hematocrito de aproximadamente 30% a aproximadamente 55%, que se muestra aquí en la Figura 6D3.

5 **[0153]** En la Figura 6D3, se realizaron experimentos para cuantificar la mejora en las mediciones de glucosa del método mencionado anteriormente. La cuantificación de la mejora se puede mostrar por el "sesgo" en diferentes niveles de hematocrito. El sesgo, que es una estimación del error relativo en la medición de glucosa, se calculó para cada concentración de glucosa determinada con el método descrito en este ejemplo.

10 **[0154]** Como se puede ver en la Figura 6D3, la mayoría o casi toda la concentración de glucosa que usa esta técnica está dentro de aproximadamente $\pm 10\%$ de sesgo para el hematocrito de aproximadamente 30% de hematocrito a aproximadamente 55% de hematocrito. Se cree que esto es un gran avance ya que la técnica anterior de muestreo de la señal de salida transitoria en un punto de tiempo fijo (generalmente a aproximadamente uno de 2,5 segundos o 5 segundos desde el comienzo de la secuencia de prueba) para este tipo específico de tira de prueba generalmente
15 falla mostrar cualquier sesgo de menos del $\pm 20\%$. En virtud de las descripciones y enseñanzas proporcionadas en el presente documento, el solicitante pudo diseñar una tira de prueba de glucosa que tiene un sustrato, una pluralidad de electrodos dispuestos en el sustrato y conectados a los conectores de electrodos respectivos. La tira de prueba 100 incluye al menos un reactivo dispuesto en al menos uno de la pluralidad de electrodos, en donde al menos uno de los electrodos está configurado para detectar una característica física de la muestra de fluido depositada en el al
20 menos un electrodo y al menos otro de los electrodos están configurados para medir la señal de salida de la muestra tras la aplicación de la señal de entrada a la muestra. Con la tira reactiva se incluyen instrucciones de uso con un medidor de glucosa. Las instrucciones incluyen además indicaciones incrustadas en un medio de comunicación apropiado (por ejemplo, papel, computadora, internet, medio de audio o visual o similar) para que un usuario inserte los conectores de electrodos de la tira de prueba en un puerto de tira de prueba del medidor de glucosa. El medidor indicado para usar con la tira de prueba de glucosa incluye un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los conectores de electrodos respectivos de una tira de prueba, y un microprocesador en comunicación eléctrica con el conector del puerto de tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas de una pluralidad de electrodos de la tira reactiva conectados a los respectivos conectores de electrodos de la tira reactiva durante una secuencia de prueba. Las instrucciones incluyen además indicaciones incrustadas en un medio de comunicación apropiado (por ejemplo, papel, computadora, internet, medio de audio o visual o similar) para que el usuario deposite una muestra de fluido cerca de al menos uno de la pluralidad de electrodos para que el microprocesador 300 es operable para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de modo que se determine una característica física de una muestra de fluido depositada en la pluralidad de electrodos; (b) estimar una concentración de analito basada en un punto de tiempo de muestreo predeterminado durante una secuencia de prueba; y (c) aplicar una
25 segunda señal a la pluralidad de electrodos en un punto de tiempo de muestreo durante la secuencia de prueba dictada por la característica física determinada de modo que se calcule una concentración de analito a partir de la segunda señal.

40 **[0155]** De manera similar, el solicitante pudo diseñar una tira de prueba de glucosa 100 que tiene un sustrato, una pluralidad de electrodos dispuestos en el sustrato y conectados a los respectivos conectores de electrodos. La tira de prueba incluye al menos un reactivo dispuesto en al menos uno de la pluralidad de electrodos, en donde al menos uno de los electrodos está configurado para detectar una característica física de la muestra de fluido depositada en al menos un electrodo y al menos otro de los electrodos. Los electrodos están configurados para medir la señal de salida de la muestra tras la aplicación de la señal de entrada a la muestra. Con la tira reactiva se incluyen instrucciones de uso con un medidor de glucosa. Las instrucciones incluyen indicios incrustados en un medio de comunicación apropiado (por ejemplo, papel, computadora, internet, medios de audio o visuales y similares) para que un usuario inserte los conectores de electrodos de la tira de prueba en un puerto de tira de prueba del medidor de glucosa. El medidor indicado para usar con la tira de prueba de glucosa incluye un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los conectores de electrodos respectivos de una tira de prueba, y un microprocesador en comunicación eléctrica con el conector del puerto de tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar
45 señales eléctricas de una pluralidad de electrodos de la tira reactiva conectados a los respectivos conectores de electrodos de la tira reactiva durante una secuencia de prueba. Las instrucciones incluyen además indicaciones para que el usuario deposite una muestra de fluido cerca de al menos uno de la pluralidad de electrodos para que el microprocesador sea operable para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de modo que se determine un tiempo de muestreo específico a partir de una característica física de una muestra de fluido, (b) aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos, y (c) medir la salida de una señal de uno de la pluralidad de electrodos en el tiempo de muestreo especificado para que se determine una concentración de analito.

60 **[0156]** Del mismo modo, el solicitante fue capaz de idear una tira de ensayo de glucosa que tiene un sustrato, una pluralidad de electrodos dispuestos sobre el sustrato y conectados a los conectores de los electrodos respectivos. La tira de prueba incluye al menos un reactivo dispuesto en al menos uno de la pluralidad de electrodos, en donde al menos uno de los electrodos está configurado para detectar una característica física de la muestra de fluido depositada en al menos un electrodo y al menos otro de los electrodos. Los electrodos están configurados para medir la señal de salida de la muestra tras la aplicación de la señal de entrada a la muestra. Con la tira reactiva se incluyen instrucciones de uso con un medidor de glucosa. Las instrucciones incluyen indicios incrustados en un medio de comunicación apropiado (por ejemplo, papel, computadora, internet, medios de audio o visuales y similares) para que un usuario
65

inserte los conectores de electrodos de la tira de prueba en un puerto de tira de prueba del medidor de glucosa. El medidor indicado para usar con la tira de prueba de glucosa incluye un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los conectores de electrodos respectivos de una tira de prueba, y un microprocesador en comunicación eléctrica con el conector del puerto de tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas de una pluralidad de electrodos de la tira reactiva conectados a los respectivos conectores de electrodos de la tira reactiva durante una secuencia de prueba. Las instrucciones incluyen además indicaciones para que el usuario deposite una muestra de fluido cerca de al menos uno de la pluralidad de electrodos para que el microprocesador sea operable para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos para que se derive un punto de tiempo de muestreo específico y una pendiente del lote determinada a partir de una característica física de una muestra de fluido, (b) aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos, y (c) medir una señal de salida de uno de la pluralidad de electrodos en el tiempo de muestreo especificado para que se determine una concentración de analito basada en la señal medida en el tiempo de muestreo especificado y la pendiente del lote.

[0157] De manera similar, el solicitante fue capaz de diseñar una tira de prueba de glucosa que tiene un sustrato, una pluralidad de electrodos dispuestos en el sustrato y conectados a los conectores de electrodos respectivos. La tira de prueba incluye al menos un reactivo dispuesto en al menos uno de la pluralidad de electrodos, en donde al menos uno de los electrodos está configurado para detectar una característica física de la muestra de fluido depositada en al menos un electrodo y al menos otro de los electrodos. Los electrodos están configurados para medir la señal de salida de la muestra tras la aplicación de la señal de entrada a la muestra. Con la tira reactiva se incluyen instrucciones de uso con un medidor de glucosa. Las instrucciones incluyen indicios incrustados en un medio de comunicación apropiado (por ejemplo, papel, computadora, internet, medios de audio o visuales y similares) para que un usuario inserte los conectores de electrodos de la tira de prueba en un puerto de tira de prueba del medidor de glucosa. El medidor indicado para usar con la tira de prueba de glucosa incluye un conector de puerto de tira de prueba configurado para conectarse a los conectores de electrodos respectivos de una tira de prueba, y un microprocesador en comunicación eléctrica con el conector del puerto de tira de prueba para aplicar señales eléctricas o detectar señales eléctricas de una pluralidad de electrodos de la tira reactiva conectados a los respectivos conectores de electrodos de la tira reactiva durante una secuencia de prueba. Las instrucciones incluyen además indicaciones para que el usuario deposite una muestra de fluido cerca de al menos uno de la pluralidad de electrodos para que el microprocesador sea operable para: (a) aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de modo que se derive una pendiente de lote definida por la característica física de una muestra de fluido, y (b) aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos para que se determine una concentración de analito basada en la pendiente del lote derivado.

[0158] Aunque las técnicas descritas en el presente documento se han dirigido a la determinación de glucosa, las técnicas también pueden aplicarse a otros analitos (con modificaciones apropiadas por parte de los expertos en la materia) que se ven afectados por las características físicas de la muestra de fluido en donde el analito está dispuesto en la muestra de fluido; sin embargo, tales técnicas no pertenecen a la invención. Por ejemplo, la característica física de una muestra de fluido fisiológico podría explicarse en la determinación de cetona o colesterol en la muestra de fluido, que puede ser fluido fisiológico, calibración o fluido de control. También se pueden utilizar otras configuraciones de biosensores. Por ejemplo, los biosensores mostrados y descritos en las siguientes patentes de EE.UU. Pueden utilizarse con las diversas realizaciones descritas en el presente documento: patentes de EE.UU. N^{os} 6179979; 6193873; 6284125; 6413410; 6475372; 6716577; 6749887; 6863801; 6890421; 7045046; 7291256; 7498132.

[0159] Como se sabe, la detección de la característica física no tiene que hacerse alternando señales, sino que puede hacerse con otras técnicas. Por ejemplo, se puede utilizar un sensor adecuado (por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de EE.UU. N^o 20100005865 o EP1804048 B1) para determinar la viscosidad u otras características físicas. Alternativamente, la viscosidad se puede determinar y utilizar para obtener hematocritos basándose en la relación conocida entre hematocritos y viscosidad como se describe en "Blood Rheology and Hemodynamics" por Oguz K. Baskurt, MD, Ph.D., 1 y Herbert J. Meiselman, Sc.D., Seminars in Thrombosis and Hemostasis, volumen 29, número 5, 2003.

[0160] Como se describió anteriormente, el microcontrolador o un microprocesador equivalente (y componentes asociados que permiten que el microcontrolador funcione para su propósito previsto en el entorno pretendido tal como, por ejemplo, el procesador 300 en la figura 2B) puede utilizarse con códigos de computadora o instrucciones de software para llevar a cabo los métodos y técnicas descritas en este documento. Los solicitantes señalan que el microcontrolador ejemplar 300 (junto con componentes adecuados para el funcionamiento funcional del procesador 300) en la figura 2B está incrustado con firmware o cargado con un software de computadora representativo de los diagramas lógicos en las Figuras 6A (1), 6B (1); 6C (1); o 6D (1) y el microcontrolador 300, junto con el conector asociado 220 y la interfaz 306 y sus equivalentes, son los medios para: (a) determinar un tiempo de muestreo específico basado en una característica física detectada o estimada, estando el tiempo de muestreo especificado en al menos un punto de tiempo o intervalo referenciado desde el inicio de una secuencia de prueba al depositar una muestra en la tira de prueba y (b) determinar una concentración de analito basada en el punto de tiempo de muestreo especificado. Alternativamente, los medios para determinar pueden incluir medios para aplicar una primera señal a la pluralidad de electrodos de modo que se derive una pendiente de lote definida por una característica física de una muestra de fluido y para aplicar una segunda señal a la pluralidad de electrodos para que una concentración de analito se determine en función de la pendiente del lote derivado y el tiempo de muestreo especificado.

[0161] Además, aunque la invención ha sido descrita en términos de variaciones particulares y figuras ilustrativas, los expertos normales en la técnica reconocerán que la invención no está limitada a las variaciones o figuras descritas. Además, cuando los métodos y pasos descritos anteriormente indican ciertos eventos que ocurren en cierto orden, se pretende que ciertos pasos no tengan que realizarse en el orden descrito, sino en cualquier orden, siempre y cuando los pasos permitan que las realizaciones funcionen según los propósitos previstos. Por lo tanto, en la medida en que haya variaciones de la invención, que caigan dentro del alcance de la invención como se define en las reivindicaciones, es la intención que esta patente cubra también esas variaciones.

Sección "F"

[0162] Los siguientes aspectos, que se presentaron originalmente en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nº de serie 13/250,525 y PCT/GB2012/052421 forman parte de la presente divulgación, pero no pertenecen a la invención:

1. Un medidor de prueba portátil para usar con una tira de prueba analítica en la determinación de un analito en una muestra de fluido corporal, el medidor de prueba portátil que comprende:

una carcasa;

un bloque de microcontrolador dispuesto en la carcasa; y

un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase que incluye:

un subbloque de generación de señal;

un subbloque de filtro de paso bajo;

un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica;

un subbloque amplificador de transimpedancia; y

un subbloque de detector de fase,

en donde el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil, y

en donde el bloque de microcontrolador está configurado para calcular el hematocrito del fluido corporal en función del cambio de fase medido.

2. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el cambio de fase utilizando una señal de una primera frecuencia y una segunda señal de una segunda frecuencia.

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

4. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de borde ascendente.

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

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

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

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

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

10. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el cambio de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor

de prueba portátil forzando una señal de frecuencia conocida a través de la muestra de fluido corporal y midiendo el cambio de fase de la señal.

- 5 11. El medidor de prueba portátil de aspecto F9 en donde la primera frecuencia está en el rango de 10kHz a 25kHz y la segunda frecuencia está en el rango de 250kHz a 500kHz, y en donde el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque de microcontrolador están configurados de tal manera que la señal de la primera frecuencia se emplea como señal de referencia durante la medición del desplazamiento de fase de una muestra de fluido corporal.
- 10 12. El medidor de prueba portátil de aspecto F9 en donde el bloque de generación de señal está integrado con el bloque de microcontrolador.
- 15 13. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde el bloque de interfaz de célula de muestra de la tira de prueba analítica está configurado para interactuar operativamente con la célula de muestra de la tira de prueba analítica a través de un primer electrodo y como segundo electrodo de la tira de prueba analítica dispuesta en la célula de muestra.
- 20 14. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde la tira de prueba analítica es una tira de prueba analítica basada en electroquímica configurada para la determinación de glucosa en una muestra de sangre completa.
- 25 15. El medidor de prueba portátil de aspecto F1 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase Quadratur DEMUX.
- 30 16. Un método para emplear un medidor de prueba portátil y una tira de prueba analítica, comprendiendo el método:
 introducir una muestra de sangre completa en una célula de muestra de una tira de prueba analítica; medir un cambio de fase de la muestra de fluido corporal en la célula de muestra usando un bloque de medición basado en el cambio de fase y un bloque de microcontrolador de un medidor de prueba portátil; y calcular el hematocrito de la muestra de sangre completa en función del cambio de fase medido utilizando el bloque de microcontrolador.
- 35 17. El método del aspecto F16 incluye además: determinar un analito en la muestra de fluido corporal introducida usando la tira de prueba analítica, el medidor de prueba portátil y el hematocrito calculado.
- 40 18. El método del aspecto F17 en donde la tira de prueba analítica es una tira de prueba analítica basada en electroquímicos y el analito es glucosa.
- 45 19. El método del aspecto F16 en donde el paso de medición incluye medir el desplazamiento de fase con un bloque de circuito de medición basado en desplazamiento de fase que incluye:
 un subbloque de generación de señal;
 un subbloque de filtro de paso bajo;
 un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica;
 un subbloque amplificador de transimpedancia; y
 un subbloque de detector de fase.
- 50 20. El método del aspecto F19 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de borde ascendente.
- 55 21. El método del aspecto F19 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de captura de doble borde.
- 60 22. El método del aspecto F19 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase XOR.
- 65 23. El método del aspecto F19 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase de modulación síncrona.
24. El método del aspecto F19 en donde el subbloque del detector de fase está configurado como un detector de fase Quadratur DEMUX.
25. El método del aspecto F16 en donde el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el desplazamiento de fase usando una señal de una primera frecuencia y una segunda señal de una segunda frecuencia.

26. El método del aspecto F25 en donde la muestra de fluido corporal es una muestra de sangre completa y en donde la primera frecuencia está en el rango de 10kHz a 25kHz y la segunda frecuencia está en el rango de 250kHz a 500kHz.

5

APÉNDICE

[0163] El siguiente apéndice, que fue presentado originalmente en la solicitud de patente de Estados Unidos N° de Serie 13/250,525 y PCT/GB2012/052421 junto con aspectos "F" anteriormente como parte de cada uno de la solicitud de patente anterior presentada provisional de Estados Unidos Números de serie 61/581,087; 61/581,089; 61/581,099; 61/581,100, y 61/654,013, forman parte de la presente divulgación: la siguiente divulgación se refiere, en general, a dispositivos médicos y, en particular, a medidores de prueba y métodos relacionados.

10

[0164] La determinación (por ejemplo, detección y/o medición de concentración) de un analito en una muestra de fluido es de interés particular en el campo de la medicina. Por ejemplo, puede ser deseable determinar las concentraciones de glucosa, cuerpos cetónicos, colesterol, lipoproteínas, triglicéridos, acetaminofeno y/o HbA1c en una muestra de un fluido corporal como orina, sangre, plasma o líquido intersticial. Dichas determinaciones se pueden lograr utilizando un medidor de prueba portátil en combinación con tiras de prueba analíticas (por ejemplo, tiras de prueba analíticas basadas en electroquímicos).

15

[0165] Las características de la divulgación se exponen con particularidad en los aspectos F. Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente divulgación haciendo referencia a la siguiente descripción detallada que establece realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la divulgación y los dibujos que se acompañan, en los que números similares indican elementos similares, de los cuales:

20

FIG. 8 es una representación simplificada de un medidor de prueba portátil de acuerdo con una realización de la presente descripción;

25

FIG. 9 es un diagrama de bloques simplificado de varios bloques del medidor de prueba portátil de la FIG. 8; FIG. 10 es un diagrama de bloques simplificado de un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase que puede emplearse en realizaciones de acuerdo con la presente descripción;

30

FIG. 11 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de filtro de paso bajo dual que puede emplearse en realizaciones de la presente descripción;

FIG. 12 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de amplificador de transimpedancia (TIA) como puede emplearse en realizaciones de la presente divulgación;

35

FIG. 13 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado que representa un subbloque de filtro de paso bajo dual, un subbloque de carga de calibración, un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica, un subbloque de amplificador de transimpedancia, un subbloque de medición de cambio de fase XOR bloque y un subbloque de medición de desplazamiento de fase Quadratur DEMUX como puede emplearse en un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase de realizaciones de la presente divulgación; y

40

FIG. 14 es un diagrama de flujo que representa etapas en un método para emplear un medidor de prueba portátil de acuerdo con una realización de la presente descripción.

[0166] La siguiente descripción detallada debe leerse con referencia a los dibujos, en los que elementos similares en diferentes dibujos están numerados de forma idéntica. Los dibujos, que no están necesariamente a escala, representan realizaciones ejemplares a modo de explicación solamente y no pretenden limitar el alcance de la divulgación. La descripción detallada ilustra a modo de ejemplo, no a modo de limitación, los principios de la divulgación. Esta descripción claramente permitirá a un experto en la materia hacer y usar la divulgación, y describe varias realizaciones, adaptaciones, variaciones, alternativas y usos de la divulgación, incluido lo que actualmente se cree que es el mejor modo de llevar a cabo la divulgación.

45

50

[0167] Como se usa en el presente documento, los términos "aproximadamente" o "alrededor de" para cualquier valor numérico o intervalo 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.

55

[0168] En general, los medidores de prueba portátiles para usar con una tira de prueba analítica en la determinación de un analito en una muestra de fluido corporal (es decir, una muestra de sangre completa) de acuerdo con las realizaciones de la presente divulgación incluyen una carcasa, un bloque de microcontrolador dispuesto en la carcasa y un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase (también denominado circuito de hematocrito basado en desplazamiento de fase). En tales medidores de prueba portátiles, el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase incluye un subbloque de generación de señal, un subbloque de filtro de paso bajo, un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica, un subbloque de amplificador de transimpedancia, y un subbloque de detector de fase. Además, el bloque de medición de hematocrito basado en el cambio de fase y el bloque de microcontrolador están configurados para medir el cambio de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil y el

60

65

bloque de microcontrolador también configurado para calcular el hematocrito de la muestra de fluido corporal en función del cambio de fase medido.

5 [0169] Los medidores de prueba portátiles de acuerdo con las realizaciones de la presente descripción son beneficiosos porque proporcionan una precisión mejorada de la determinación de analitos en muestras de sangre completa midiendo el hematocrito de la muestra de sangre completa y luego empleando el hematocrito medido durante la determinación de analitos.

10 [0170] Una vez que un experto en la materia es informado de la presente divulgación, reconocerá que un ejemplo de un medidor de prueba portátil que puede modificarse fácilmente como un medidor de prueba manual de acuerdo con la presente divulgación es el medidor de glucosa OneTouch® Ultra® 2 disponible en el mercado de LifeScan Inc. (Milpitas, California). Ejemplos adicionales de medidores de prueba portátiles que también se pueden modificar se encuentran en las publicaciones de solicitudes de patentes de EE.UU. 2007/0084734 (publicada el 19 de abril de 2007) y 2007/0087397 (publicada el 19 de abril de 2007) y en el número de publicación internacional WO2010/049669 (publicada el 6 de mayo de 2010).

15 [0171] La FIG. 8 es una representación simplificada de un medidor de prueba portátil 100 de acuerdo con una realización de la presente descripción. FIG. 9 es un diagrama de bloques simplificado de varios bloques del medidor de prueba portátil 100. La FIG. 10 es un diagrama de bloques combinado simplificado de un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase del medidor de prueba portátil 100. La FIG. 11 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque de filtro de paso bajo dual del medidor de prueba portátil 100. La FIG. 12 es un diagrama esquemático anotado simplificado de un subbloque amplificador de transimpedancia del medidor de prueba portátil 100. La FIG. 13 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado de partes de un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase del medidor de prueba portátil 100.

20 [0172] Haciendo referencia a las FIGs. 8 a 13, el medidor de prueba portátil 100 incluye una pantalla 102, una pluralidad de botones de interfaz de usuario 104, un conector de puerto de banda 106, una interfaz USB 108 y una carcasa 110 (véase la FIG. 8). Con referencia a la FIG. 9 en particular, el medidor de prueba portátil 100 también incluye un bloque de microcontrolador 112, un bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114, un bloque de control de pantalla 116, un bloque de memoria 118 y otros componentes electrónicos (no mostrados) para aplicar un voltaje de prueba a la tira de prueba analítica (etiquetada TS en la FIG. 8), y también para medir una respuesta electroquímica (por ejemplo, una pluralidad de valores de corriente de prueba) y determinar un analito basado en la respuesta electroquímica. Para simplificar las descripciones actuales, las figuras no representan todos esos circuitos electrónicos.

25 [0173] La pantalla 102 puede ser, por ejemplo, una pantalla de cristal líquido o una pantalla biestable configurada para mostrar una imagen de pantalla. Un ejemplo de una imagen de pantalla puede incluir una concentración de glucosa, una fecha y hora, un mensaje de error y una interfaz de usuario para indicar al usuario final cómo realizar una prueba.

30 [0174] El conector 106 del puerto de la tira está configurado para interactuar operativamente con una tira de prueba analítica TS, tal como una tira de prueba analítica basada en electroquímica configurada para la determinación de glucosa en una muestra de sangre completa. Por lo tanto, la tira de prueba analítica está configurada para la inserción operativa en el conector 106 del puerto de la tira y para interactuar operativamente con el bloque 114 de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase a través de, por ejemplo, contactos eléctricos adecuados.

35 [0175] La interfaz USB 108 puede ser cualquier interfaz adecuada conocida por un experto en la materia. La interfaz de USB 108 es esencialmente un componente pasivo que está configurado para alimentar y proporcionar una línea de datos al medidor de prueba portátil 100.

40 [0176] Una vez que una tira de prueba analítica se conecta con el medidor de prueba portátil 100, o antes del mismo, una muestra de fluido corporal (p. ej., una muestra de sangre completa) se introduce en una cámara de muestra de la tira de prueba analítica. La tira de prueba analítica puede incluir reactivos enzimáticos que transforman selectivamente y cuantitativamente un analito en otra forma química predeterminada. Por ejemplo, la tira de prueba analítica puede incluir un reactivo enzimático con ferricianuro y glucosa oxidasa para que la glucosa pueda transformarse físicamente en una forma oxidada.

45 [0177] El bloque de memoria 118 de medidor de prueba de mano 100 incluye un algoritmo adecuado y se puede configurar, junto con el bloque microcontrolador 112 para determinar un analito en base a la respuesta electroquímica de la tira de ensayo analítico y el hematocrito de la muestra introducida. Por ejemplo, en la determinación de la glucosa en sangre del analito, el hematocrito puede usarse para compensar el efecto del hematocrito en las concentraciones de glucosa en sangre determinadas electroquímicamente.

50 [0178] El bloque de microcontrolador 112 está dispuesto dentro de la carcasa 110 y puede incluir cualquier microcontrolador y/o microprocesador adecuado conocido por los expertos en la materia. Uno de estos microcontroladores adecuados es un microcontrolador disponible comercialmente de Texas Instruments, Dallas, TX, EE.UU. y número de pieza MSP430F5138. Este microcontrolador puede generar una onda cuadrada de 25 a 250 kHz

65

y una onda desplazada de fase de 90 grados de la misma frecuencia y, por lo tanto, funcionar como un bloque s de generación de señal que se describe más adelante. MSP430F5138 también tiene capacidades de procesamiento de analógico a digital (A/D) adecuadas para medir voltajes generados por bloques de medición de hematocrito basados en desplazamiento de fase empleados en realizaciones de la presente descripción.

[0179] Con referencia en particular a la FIG. 10, el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114 incluye un subbloque de generación de señal 120, un subbloque de filtro de paso bajo 122, un subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica 124, un bloque de carga de calibración opcional 126 (dentro de líneas discontinuas de la FIG. 10), un subbloque amplificador de transimpedancia 128 y un subbloque de detector de fase 130.

[0180] Como se describe más adelante, el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase 114 y el bloque de microcontrolador 112 están configurados para medir el cambio de fase de una muestra de fluido corporal en una célula de muestra de una tira de prueba analítica insertada en el medidor de prueba portátil, por ejemplo, midiendo el cambio de fase de una o más señales eléctricas de alta frecuencia conducidas a través de la muestra de fluido corporal. Además, el bloque del microcontrolador 112 está configurado para calcular el hematocrito del fluido corporal en función del cambio de fase medido. El microcontrolador 112 puede calcular el hematocrito, por ejemplo, empleando un convertidor A/D para medir los voltajes recibidos de un subbloque de detector de fase, convertir los voltajes en un cambio de fase y luego emplear un algoritmo adecuado o una tabla de búsqueda para convertir el cambio de fase en un valor de hematocrito. Una vez informado de la presente divulgación, un experto en la materia reconocerá que dicho algoritmo y/o tabla de consulta se configurará para tener en cuenta diversos factores, como la geometría de la tira (incluida el área del electrodo y el volumen de la cámara de muestra) y la frecuencia de la señal.

[0181] Se ha determinado que existe una relación entre la reactancia de una muestra de sangre completa y el hematocrito de esa muestra. El modelado eléctrico de una muestra de fluido corporal (es decir, una muestra de sangre completa) como componentes capacitivos y resistivos paralelos indica que cuando una señal de corriente alterna (CA) es forzada a través de la muestra de fluido corporal, el cambio de fase de la señal de CA dependerá de tanto la frecuencia del voltaje de CA como el hematocrito de la muestra. Además, el modelado indica que el hematocrito tiene un efecto relativamente menor en el cambio de fase cuando la frecuencia de la señal está en el rango de aproximadamente 10kHz a 25kHz y un efecto máximo en el cambio de fase cuando la frecuencia de la señal está en el rango de aproximadamente 250 kHz a 500 kHz. Por lo tanto, el hematocrito de una muestra de fluido corporal puede medirse, por ejemplo, activando señales de CA de frecuencia conocida a través de la muestra de fluido corporal y detectando su cambio de fase. Por ejemplo, el cambio de fase de una señal con una frecuencia en el rango de 10kHz a 25kHz se puede usar como una lectura de referencia en una medición de hematocrito de este tipo mientras que el cambio de fase de una señal con una frecuencia en el rango de 250 kHz a 500 kHz se puede utilizar como la medida principal.

[0182] Haciendo referencia a las FIGs. 10 a 13 en particular, el subbloque de generación de señal 120 puede ser cualquier bloque de generación de señal adecuado y está configurado para generar una onda cuadrada (0V a Vref) de una frecuencia deseada. Tal subbloque de generación de señal puede, si se desea, integrarse en el bloque de microcontrolador 112.

[0183] La señal generada por el subbloque de generación de señal 120 se comunica al subbloque de filtro de paso bajo dual 122, que está configurado para convertir la señal de onda cuadrada a una señal de onda sinusoidal de una frecuencia predeterminada. El doble LPF de la FIG. 11 está configurado para proporcionar una señal de una primera frecuencia (como una frecuencia en el rango de 10kHz a 25kHz) y una señal de una segunda frecuencia (como una frecuencia en el rango de 250 kHz a 500kHz) al subbloque de interfaz de célula de muestra de tira de prueba analítica y una cámara de muestra de tiras reactivas analíticas (también denominada célula de medición de HCT). La selección de la primera y segunda frecuencia se realiza usando el interruptor IC7 de la FIG. 11. El doble LPF de la FIG. 11 incluye dos amplificadores operacionales adecuados (IC4 e IC5) como el amplificador operacional disponible de Texas Instruments, Dallas, Texas, EE.UU. Como amplificador operacional CMOS de alta velocidad, número de pieza OPA354.

[0184] Haciendo referencia a la FIG. 11, F-DRV representa una entrada de onda cuadrada de baja o alta frecuencia (por ejemplo, 25 kHz o 250 kHz) y está conectada tanto a IC4 como a IC5. La señal Fi-HIGH/LOW (del microcontrolador) selecciona la salida del subbloque 122 de filtro de paso bajo dual a través del interruptor IC7. C5 en la FIG. 11 está configurado para bloquear el voltaje de funcionamiento del subbloque 122 de filtro de paso bajo dual desde la célula de medición de HCT.

[0185] Aunque un LPF dual específico se representa en la FIG. 11, el subbloque de filtro de paso bajo dual 122 puede ser cualquier subbloque de filtro de paso bajo adecuado conocido por un experto en la técnica que incluye, por ejemplo, cualquier filtro de paso bajo de retroalimentación múltiple adecuado, o un filtro de paso bajo Sallen and Key.

[0186] La onda sinusoidal producida por el subbloque 122 de filtro de paso bajo se comunica al subbloque de interfaz de célula de muestra de la tira de prueba analítica 124 donde se conduce a través de la célula de muestra de la tira de prueba analítica (también denominada célula de medición de HCT). El bloque 124 de interfaz de célula de muestra

de la tira de prueba analítica puede ser cualquier bloque de interfaz de célula de muestra adecuado que incluye, por ejemplo, un bloque de interfaz configurado para interactuar operativamente con la célula de muestra de la tira de prueba analítica a través del primer electrodo y los segundos electrodos de la tira de prueba analítica dispuestos en la célula de muestra. En tal configuración, la señal puede ser conducida a la célula de muestra (desde el subbloque de filtro de paso bajo) a través del primer electrodo y captada desde la célula de muestra (por el subbloque del amplificador de transimpedancia) a través del segundo electrodo como representado en la FIG. 13.

[0187] La corriente producida al conducir la señal a través de la célula de muestra es recogida por el subbloque 128 del amplificador de transimpedancia y convertida en una señal de voltaje para la comunicación al subbloque 130 del detector de fase.

[0188] El subbloque de transimpedancia 128 puede ser cualquier subbloque de transimpedancia adecuado conocido por un experto en la materia. FIG. 12 es un diagrama de bloques esquemático anotado simplificado de uno de tales subbloques de amplificadores de transimpedancia (basado en dos amplificadores operacionales OPA354, IC3 e IC9). El primer paso del subbloque 128 TIA funciona a, por ejemplo, 400 mV, lo que limita la amplitud de CA a +/- 400 mV. El segundo paso del subbloque 128 TIA opera en $V_{ref}/2$, una configuración que permite la generación de una salida de la extensión completa de las entradas A/D del microcontrolador. C9 del subbloque 128 TIA sirve como un componente de bloqueo que solo permite que pase una señal de onda sinusoidal de CA.

[0189] El subbloque de detector de fase 130 puede ser cualquier subbloque de detector de fase adecuado que produzca una frecuencia digital que pueda ser leída por el bloque 112 del microcontrolador usando una función de captura, o un voltaje analógico que pueda ser leída nuevamente por el bloque microcontrolador 112 utilizando un convertidor analógico a digital. FIG. 13 representa un esquema que incluye dos subbloques de detector de fase de este tipo, a saber, un detector de fase XOR (en la mitad superior de la FIG. 13 y que incluye IC22 e IC23) y un detector de fase DEMUX en cuadratura (en la mitad inferior de la FIG. 13 e incluidos IC12 e IC13).

[0190] La FIG. 13 también representa un subbloque de carga de calibración 126 que incluye un interruptor (IC16) y una carga ficticia R7 y C6. El subbloque de carga de calibración 126 está configurado para la medición dinámica de un desplazamiento de fase para el desplazamiento de fase conocido de cero grados producido por la resistencia R7, proporcionando así un desplazamiento de fase para su uso en la calibración. C6 está configurado para forzar un ligero cambio de fase predeterminado, por ejemplo, para compensar los retrasos de fase causados por las capacidades parásitas en las trazas de señal a la célula de muestra, o por retrasos de fase en los circuitos eléctricos (LPF y TIA).

[0191] El circuito detector de fase en cuadratura DEMUX de la FIG. 13 incluye dos porciones, una porción para una parte resistiva de la señal de CA entrante y una porción para la porción reactiva de la señal de CA entrante. El uso de tales dos porciones permite la medición simultánea de la porción resistiva y reactiva de la señal de CA y un rango de medición que cubre 0 grados a 360 grados. El circuito Quadrature DEMUX de la FIG. 13 genera dos voltajes de salida separados. Uno de estos voltajes de salida representa la "medición en fase" y es proporcional a la parte "resistiva" de la señal de CA, el otro voltaje de salida representa la "medición en cuadratura" y es proporcional a la " parte reactiva de la señal". El cambio se calcula como:

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

[0192] Tal circuito de detector de fase DEMUX en cuadratura también se puede emplear para medir la impedancia de una muestra de fluido en la célula de muestra. Se hipotetiza, sin estar limitado, que la impedancia podría emplearse junto con el cambio de fase, o independientemente del mismo, para determinar el hematocrito de la muestra corporal. La amplitud de una señal forzada a través de la célula de muestra se puede calcular usando las dos salidas de voltaje del circuito DEMUX en cuadratura de la siguiente manera:

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

[0193] Esta amplitud se puede comparar con una amplitud medida para la resistencia conocida del bloque de carga de calibración 126 para determinar la impedancia.

[0194] La porción del detector de fase XOR tiene un rango de medición de 0° a 180°, o alternativamente un rango de medición de -90° a + 90°, dependiendo de si la "Entrada de onda cuadrada de μC " está en fase a la onda sinusoidal o está configurada a 90° cambio de fase de detector de fase XOR produce una frecuencia de salida que siempre es el doble de la frecuencia de entrada, sin embargo, varía el ciclo de trabajo. Si ambas entradas están perfectamente en fase, la salida es BAJA, si ambas entradas están desplazadas 180°, la salida siempre es ALTA. Al integrar la señal de salida (por ejemplo, a través de un elemento RC simple) se puede generar un voltaje que sea directamente proporcional al cambio de fase entre ambas entradas.

[0195] Una vez informado de la presente divulgación, un experto en la materia reconocerá que los subbloques de detector de fase empleados en las realizaciones de la presente divulgación pueden tomar cualquier forma adecuada e incluir, por ejemplo, formas que emplean técnicas de captura de borde ascendente, técnicas duales de captura de bordes, técnicas XOR y técnicas de demodulación síncrona.

5 [0196] Dado que el subbloque 122 del filtro de paso bajo, el subbloque 128 del amplificador de transimpedancia y el subbloque 130 del detector de fase pueden introducir un cambio de fase residual en el bloque 114 de medición de hematocrito basado en el cambio de fase, el bloque 126 de carga de calibración se puede incluir opcionalmente en el bloque de medición de hematocrito basado en desplazamiento de fase. El bloque de carga de calibración 126 está configurado para ser esencialmente de naturaleza resistiva (por ejemplo, una carga de 33k ohmios) y, por lo tanto, no induce un cambio de fase entre el voltaje de excitación y la corriente generada. El bloque de carga de calibración 126 está configurado para conectarse a través del circuito para dar una lectura de calibración "cero". Una vez calibrado, el medidor de prueba portátil puede medir el cambio de fase de una muestra de fluido corporal, restar la lectura "cero" para calcular un cambio de fase corregido y posteriormente calcular el hematocrito de la muestra corporal en función del cambio de fase corregido.

15 [0197] La FIG. 14 es un diagrama de flujo que representa pasos en un método 200 para emplear un medidor de prueba portátil y una tira de prueba analítica (por ejemplo, una tira de prueba analítica basada en electroquímica). El método 200, en el paso 210, incluye la introducción de una muestra de sangre completa en una célula de muestra de la tira de prueba analítica.

20 [0198] En el paso 220, se mide un cambio de fase de la muestra de sangre completa en la célula de muestra usando un bloque de medición basado en cambio de fase y un bloque de microcontrolador de un medidor de prueba portátil. El método 200 incluye además calcular el hematocrito de la muestra de sangre completa basándose en el cambio de fase medido utilizando el bloque de microcontrolador (véase el paso 230 de la FIG. 14).

25 [0199] Una vez informado de la presente divulgación, un experto en la materia reconocerá que los métodos de acuerdo con las realizaciones de la presente divulgación, incluido el método 200, pueden modificarse fácilmente para incorporar cualquiera de las técnicas, beneficios y características de los medidores de prueba manuales de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación y descritas en el presente documento.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

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

- a) depositar una muestra de fluido en cualquiera de los al menos dos electrodos para iniciar una secuencia de prueba de analito;
- b) aplicar una primera señal a la muestra para derivar una característica física de la muestra;
- c) obtener una característica física de la muestra;
- d) especificar un tiempo de muestreo basado en la característica física obtenida;
- e) conducir una segunda señal a la muestra, en donde la segunda señal se aplica desde el comienzo de la secuencia de prueba de analito; y
- f) medir una señal de salida en el tiempo de muestreo especificado de al menos un electrodo de los al menos dos electrodos;
- g) calcular una concentración de analito basada en la señal de salida medida, en donde

i) el biosensor es una tira de prueba y el tiempo de muestreo especificado se calcula utilizando una ecuación de la forma:

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

donde

"Tiempo de muestreo especificado" se designa como un punto de tiempo (en segundos) desde el inicio de la secuencia de prueba en donde se muestrea la señal de salida de la tira de prueba, *H* representa la característica física de la muestra;
 x_1 es 4,3e5(s) +/- 10%;
 x_2 es -3,9 +/- 10%; y
 x_3 es 4,8 (s) +/- 10%, o

ii) el tiempo de muestreo especificado se busca en la Tabla 1 de búsqueda,

en donde el tiempo de muestreo especificado se designa como un punto de tiempo (en segundos) desde el comienzo de la secuencia de prueba en donde tomar muestras de la señal de salida de la tira de prueba:

Tabla 1

Característica física	Tiempo de muestreo T (segundos)
30	5,56
31	5,46
32	5,38
33	5,32
34	5,26
35	5,2
36	5,16
37	5,12
38	5,08
39	5,06
40	5,02
41	5
42	5
43	4,98
44	4,96
45	4,96
46	4,94
47	4,92
48	4,92
49	4,9
50	4,9
51	4,9
52	4,88
53	4,88

(Continuación)

Característica física	Tiempo de muestreo T (segundos)
54	4,88
55	4,86

y en donde la característica física comprende hematocrito y el analito es glucosa.

2. El método de la reivindicación 1, en donde la aplicación de la primera señal y la activación de la segunda señal es en orden secuencial.

3. El método de la reivindicación 1, en donde la aplicación de la primera señal se superpone con la activación de la segunda señal.

4. El método de la reivindicación 1, en donde la aplicación de la primera señal comprende dirigir una señal alterna a la muestra de modo que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal alterna.

5. El método de la reivindicación 1, en donde la aplicación de la primera señal comprende dirigir una señal óptica a la muestra de modo que se determine una característica física de la muestra a partir de una salida de la señal óptica.

6. El método de la reivindicación 4, en donde la dirección comprende activar la primera y segunda señal alterna a diferentes frecuencias respectivas en las que una primera frecuencia es menor que la segunda frecuencia.

7. El método de la reivindicación 6, en donde la primera frecuencia es al menos un orden de magnitud menor que la segunda frecuencia.

8. El método de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en donde la primera frecuencia comprende cualquier frecuencia en el rango de 10 kHz a 250 kHz.

9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el cálculo de la concentración de analito se calcula

$$G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{\text{pendiente}} \right]$$

con una ecuación de la forma: donde

G_0 representa una concentración de analito

I_E representa, o es, una señal (valor o medida; proporcional a la concentración de analito) medida en el tiempo de muestreo especificado, citado en nA;

La pendiente representa el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular, citado en nA/(mg/dL); e

Interceptar representa el valor obtenido de las pruebas de calibración de un lote de tiras reactivas de las cuales proviene esta tira particular, citado en nA.

10. Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende además:

derivar una pendiente de lote para el biosensor basado en la característica física del paso de obtención, en donde el cálculo de la concentración de analito se basa en la señal de salida medida en el tiempo de muestreo especificado y la pendiente del lote derivado,

en donde el biosensor es una tira de prueba de un lote de tiras de prueba y la pendiente del lote se define como el gradiente medido o derivado de la línea de mejor ajuste para un gráfico de la concentración de glucosa medida trazada contra concentración real de glucosa para el lote de tiras reactivas.

11. El método de la reivindicación 10, en donde la pendiente derivada se determina a partir de una ecuación de la forma:

$$\text{Nueva Pendiente} = aH^2 + bH + c$$

donde

Nueva pendiente representa la pendiente derivada;

H es una característica física medida o estimada;

a es $1,4e-6$ +/- 10%,

b es $-3,8e-4$ +/- 10%,

c es $3,6e-2$ +/- 10%.

12. El método de la reivindicación 11, en donde el cálculo de la concentración de analito se calcula con una ecuación

$$G_0 = \left[\frac{I_E - \text{Interceptar}}{\text{pendiente}} \right]$$

de la forma: donde

- 5 G_0 representa una concentración de analito
 I_E representa una señal (proporcional a la concentración de analito) medida en el *tiempo de muestreo especificado*, citado en nA;
Nueva pendiente representa el valor derivado de la característica física medida o estimada, citada en nA/(mg/dL); e
 10 Interceptar representa el valor obtenido de las pruebas de calibración del lote de tiras reactivas de las que proviene esta tira en particular, citado en nA.

13. Un medidor de glucosa (200) que comprende:

- 15 una carcasa;
 un conector de puerto de tira reactiva (220) configurado para conectarse a los respectivos conectores de electrodos de la tira reactiva (100); y
 medios configurados para realizar los pasos b) a g) del método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

20 14. El medidor de la reivindicación 13, en donde los medios configurados para realizar los pasos b) a g) del método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 están configuradas para determinar la concentración de analito de la muestra en función del tiempo de muestreo específico dentro de los 10 segundos posteriores al inicio de la secuencia de prueba.

25 15. Un sistema de medición de glucosa que comprende:

- una tira de prueba (100) que incluye:
 30 un sustrato (5); y
 una pluralidad de electrodos conectados a conectores de electrodos respectivos; y
 el medidor de glucosa (200) según la reivindicación 13.

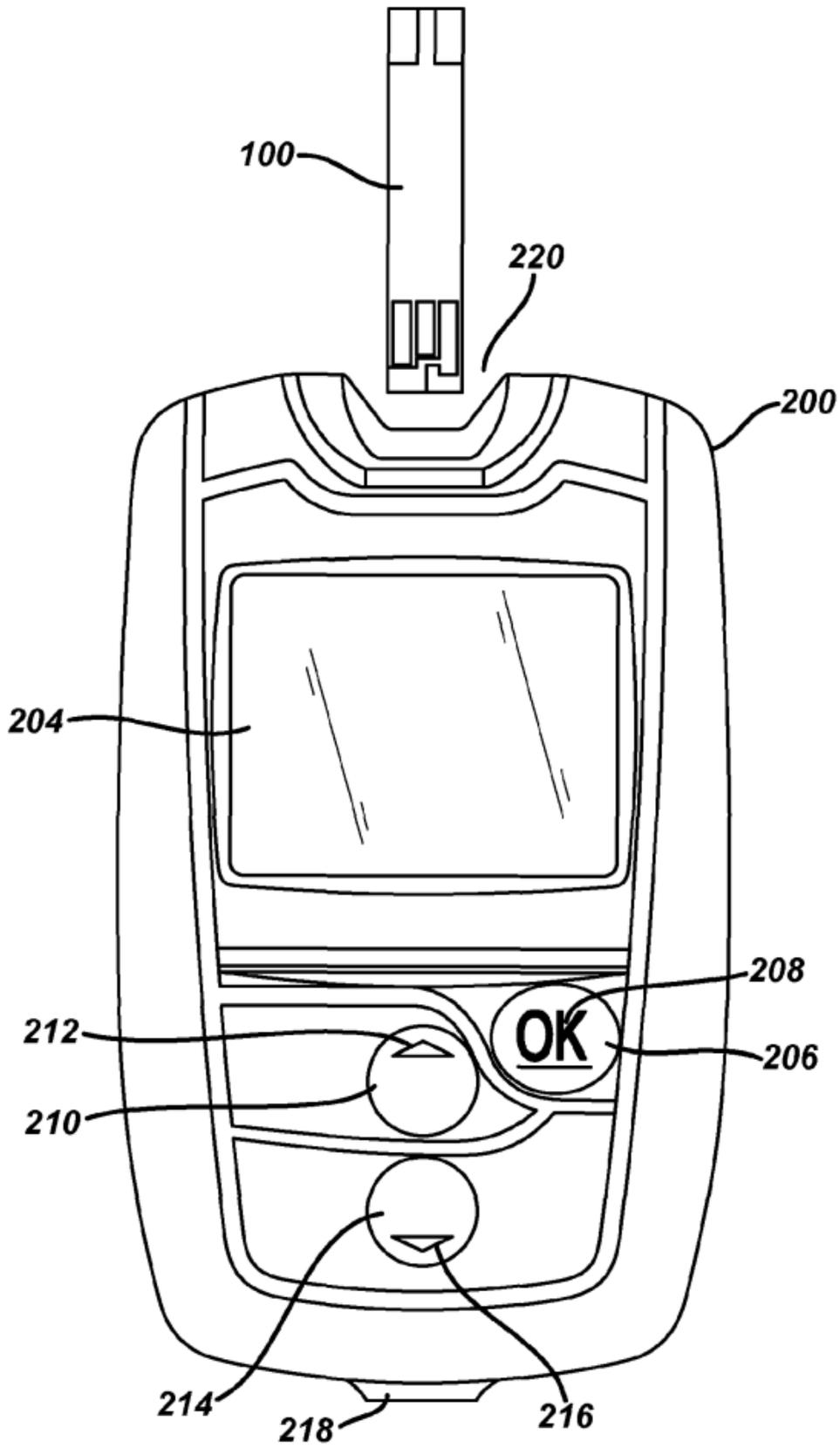


FIG. 1

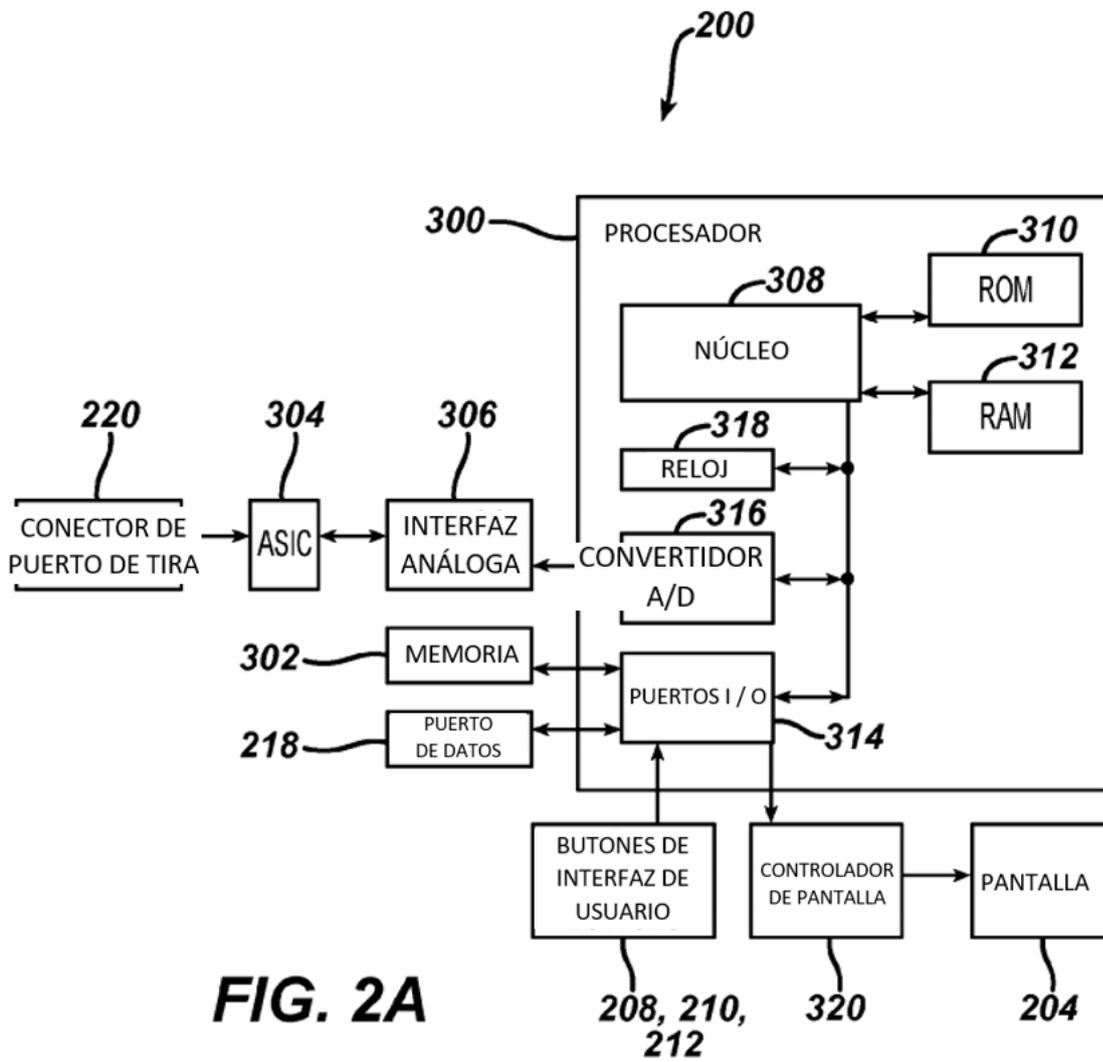


FIG. 2A

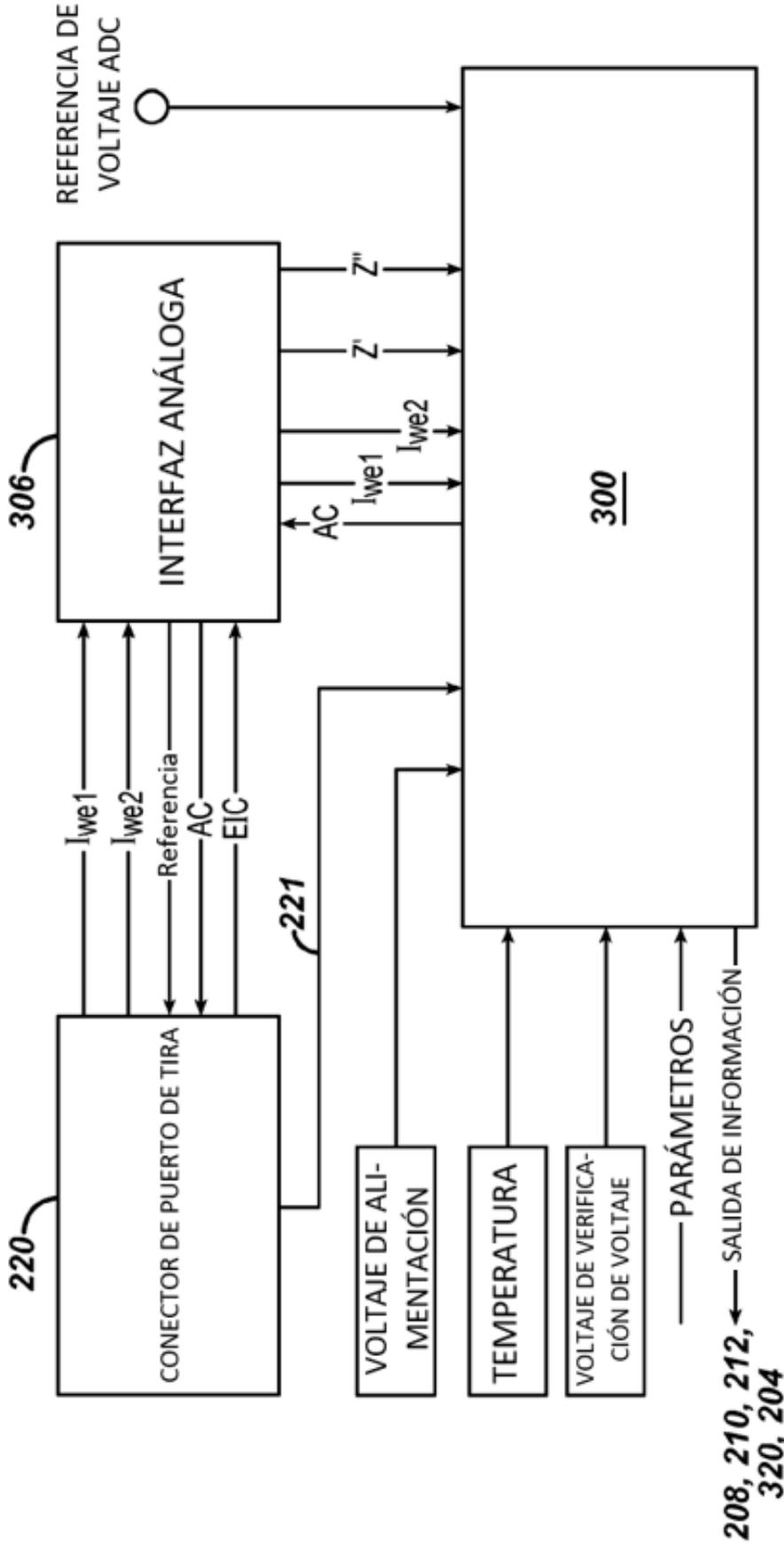
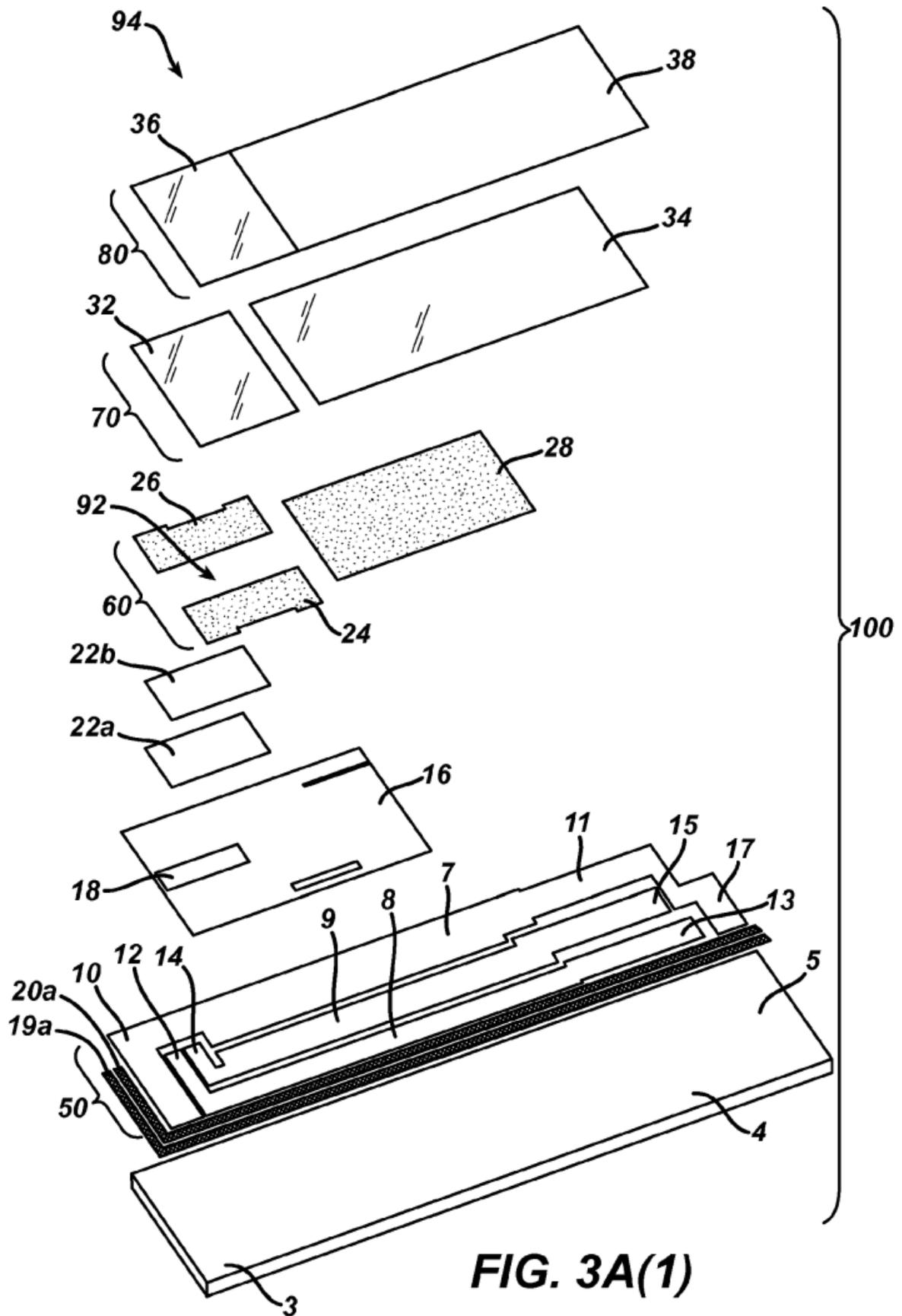


FIG. 2B



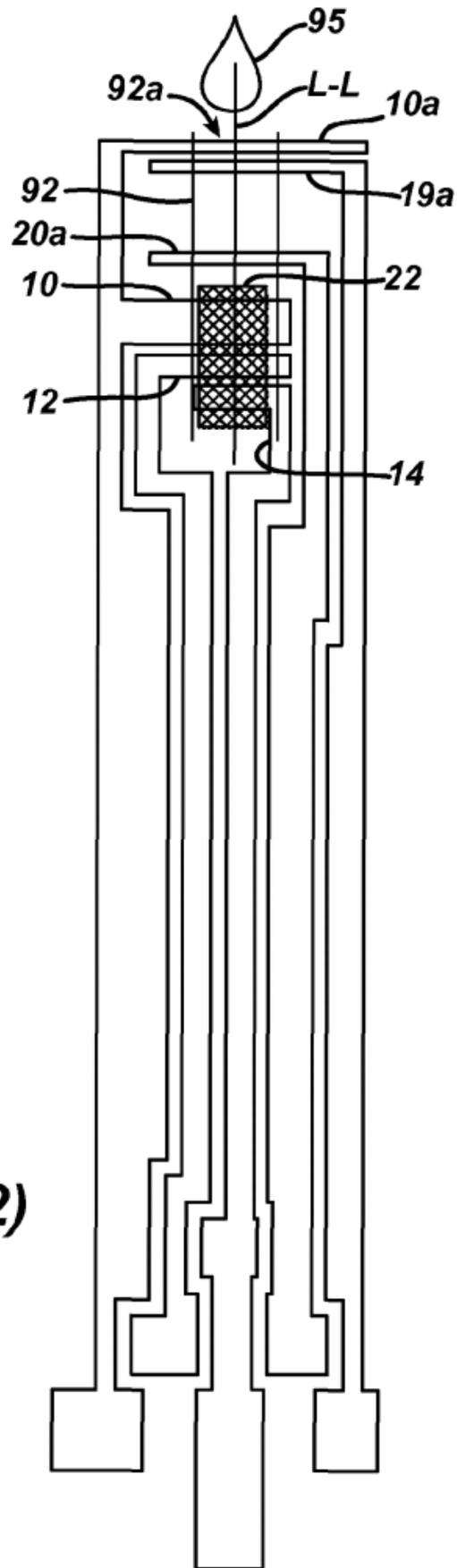


FIG. 3A(2)

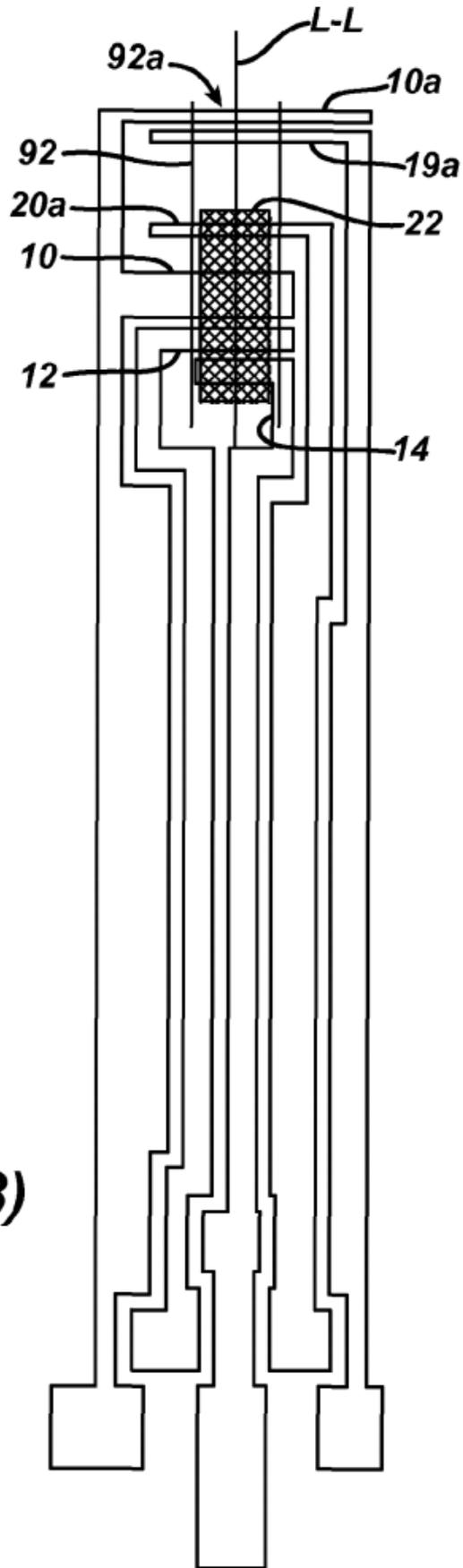


FIG. 3A(3)

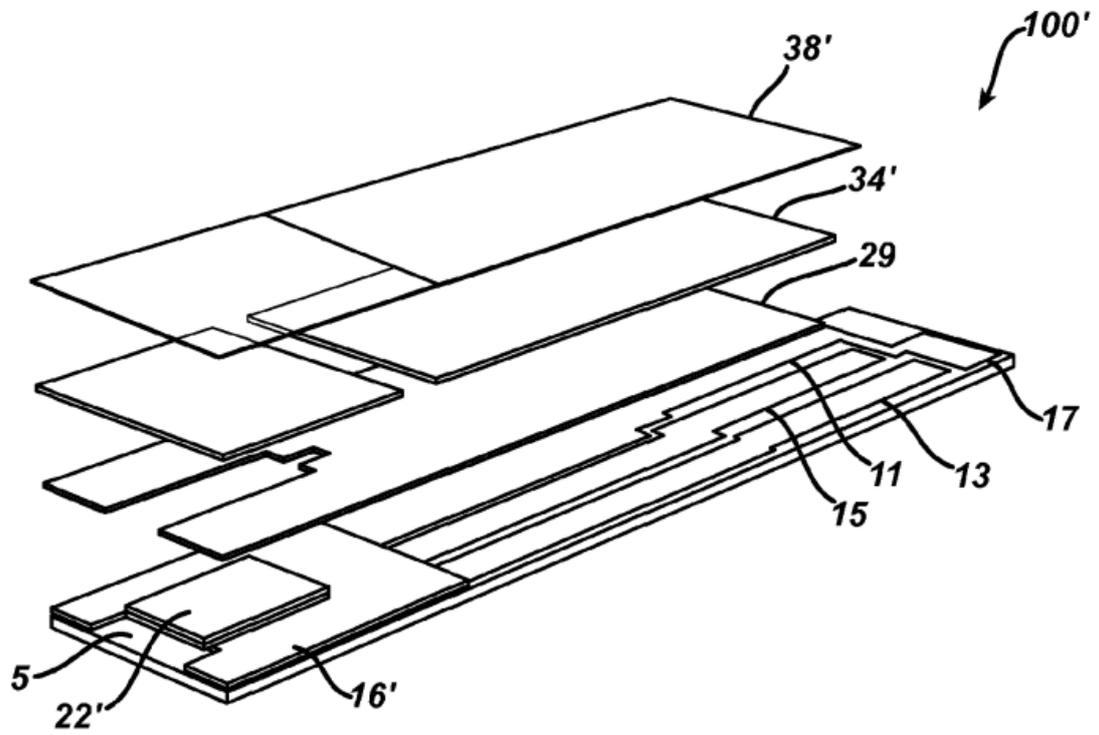


FIG. 3A(4)

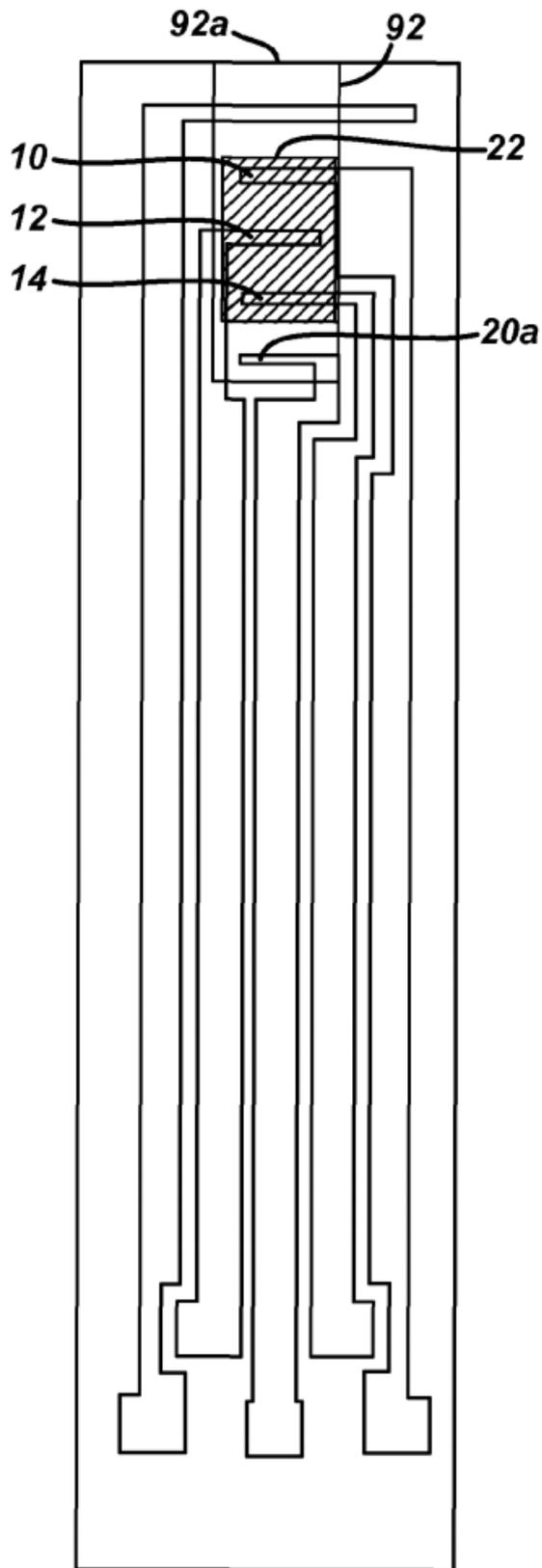


FIG. 3B

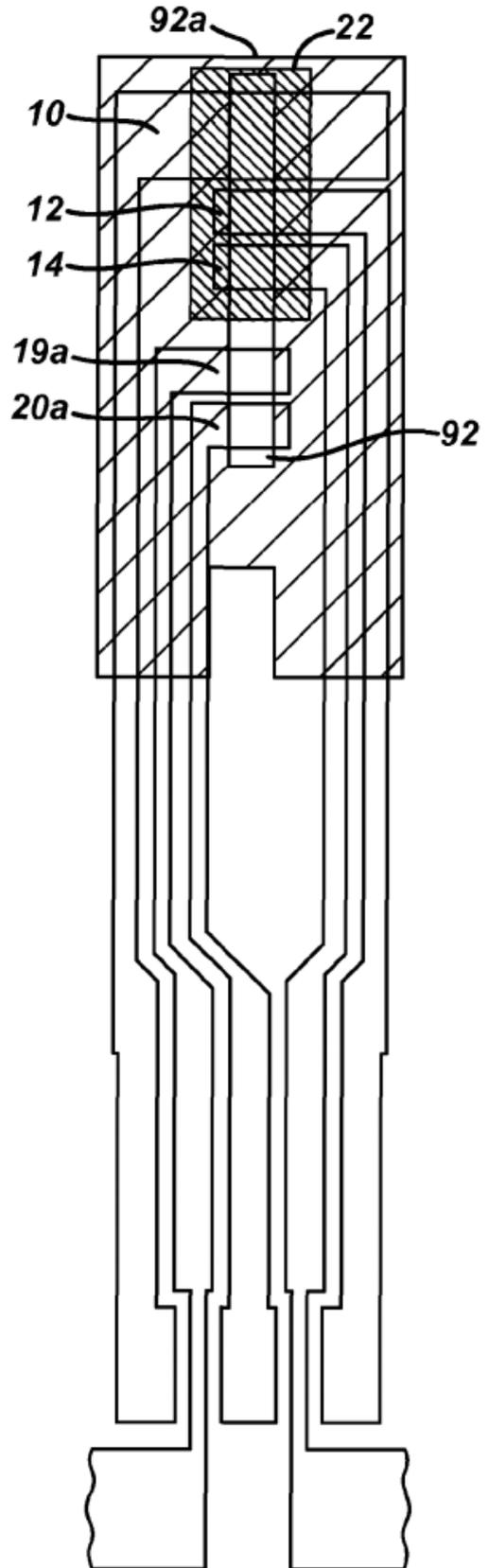


FIG. 3C

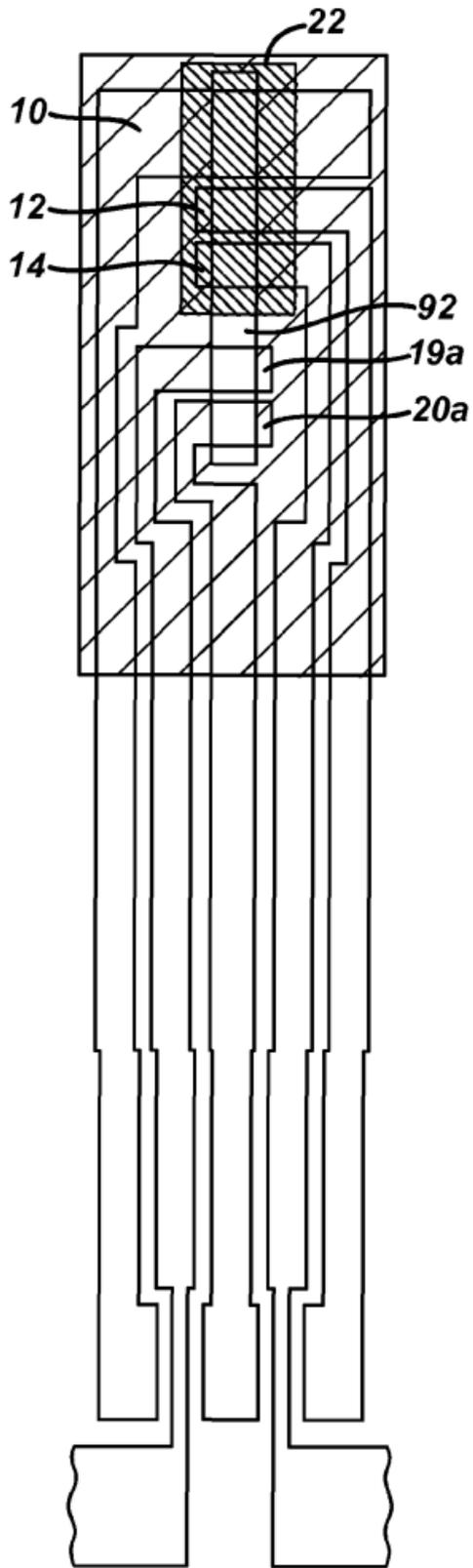


FIG. 3D

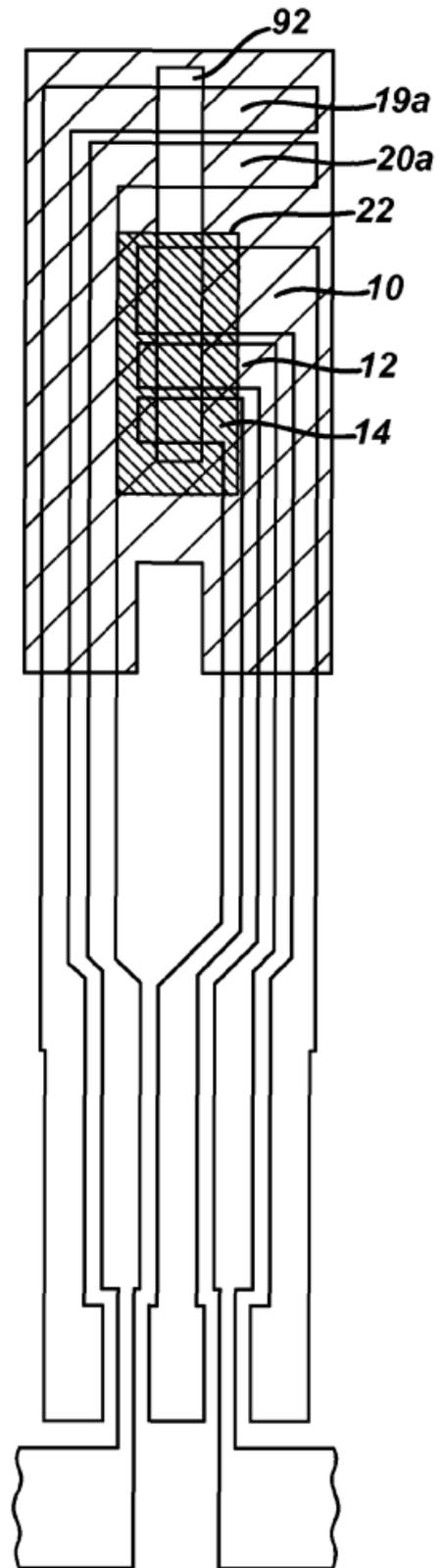


FIG. 3E

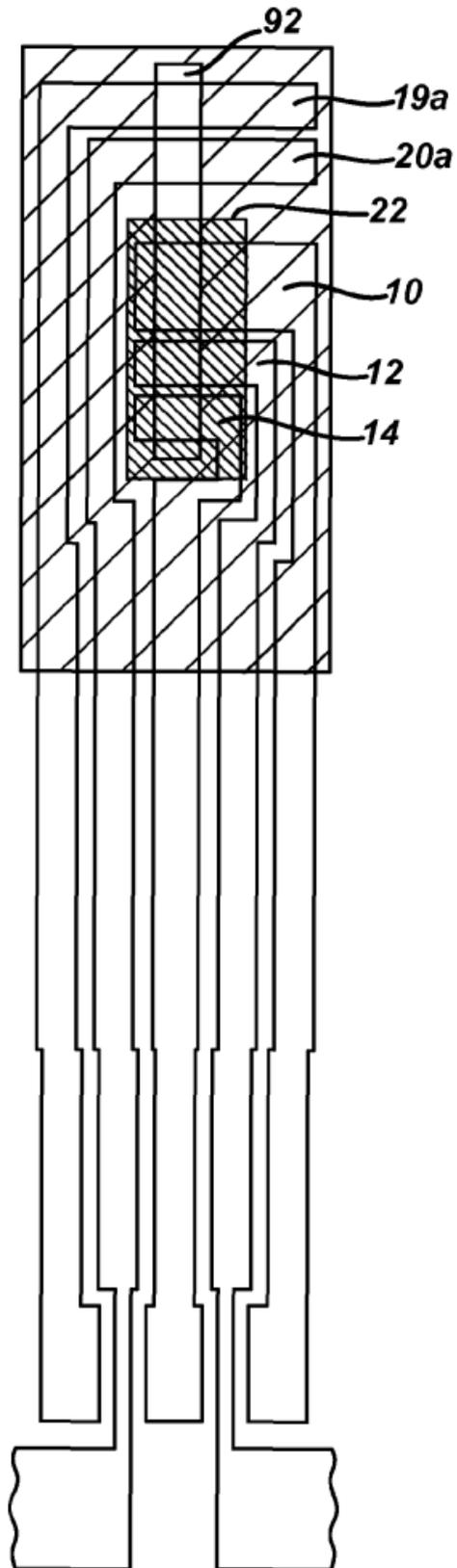


FIG. 3F

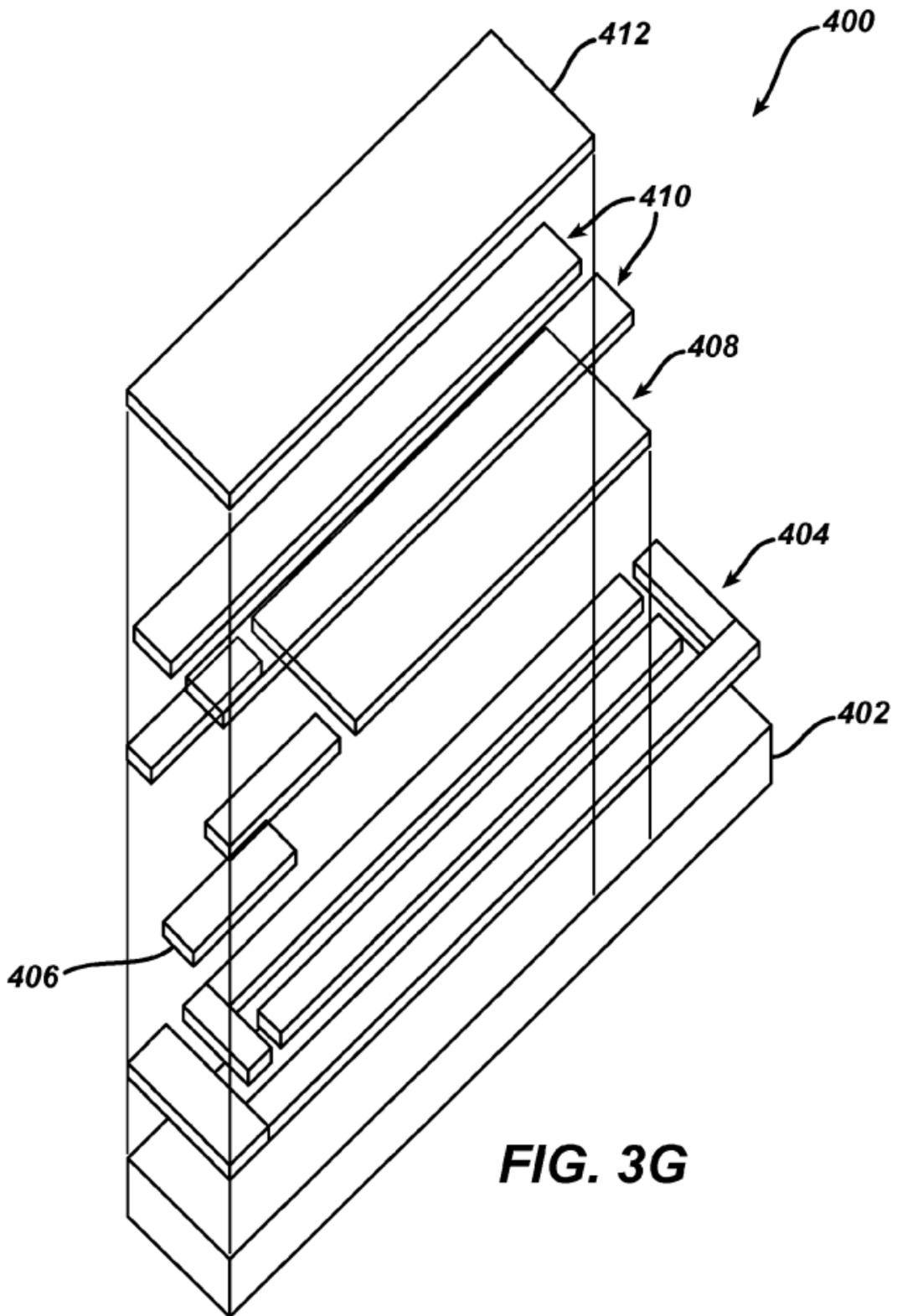


FIG. 3G

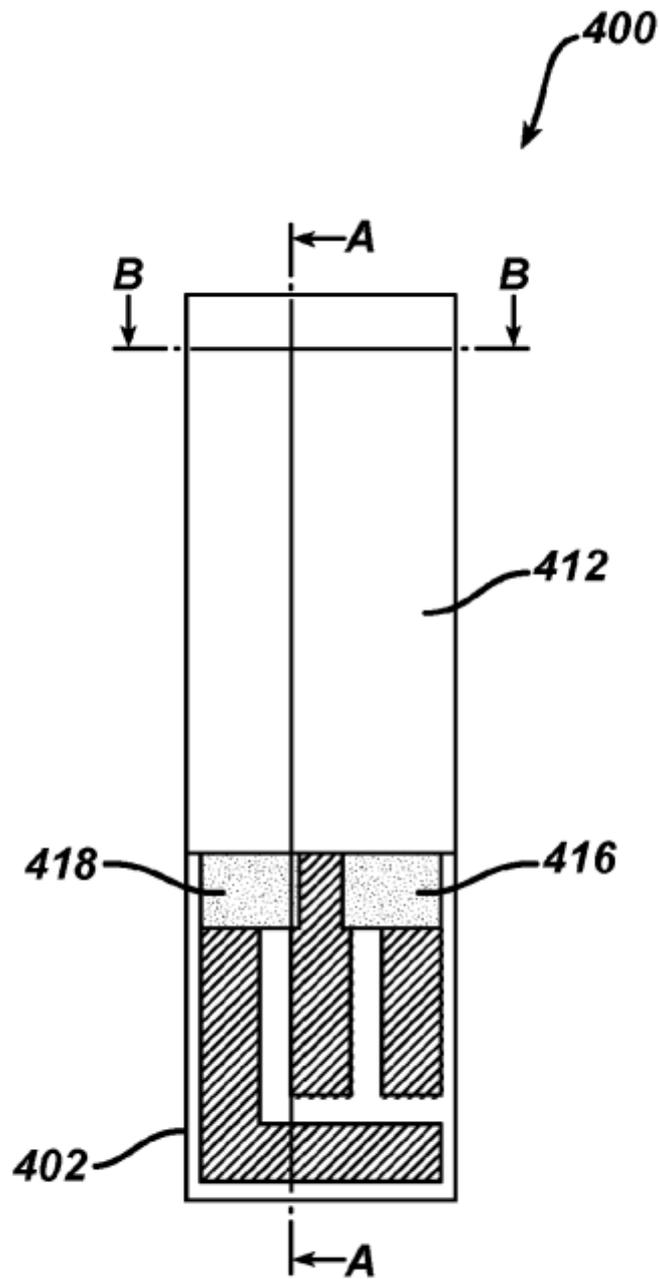


FIG. 3H

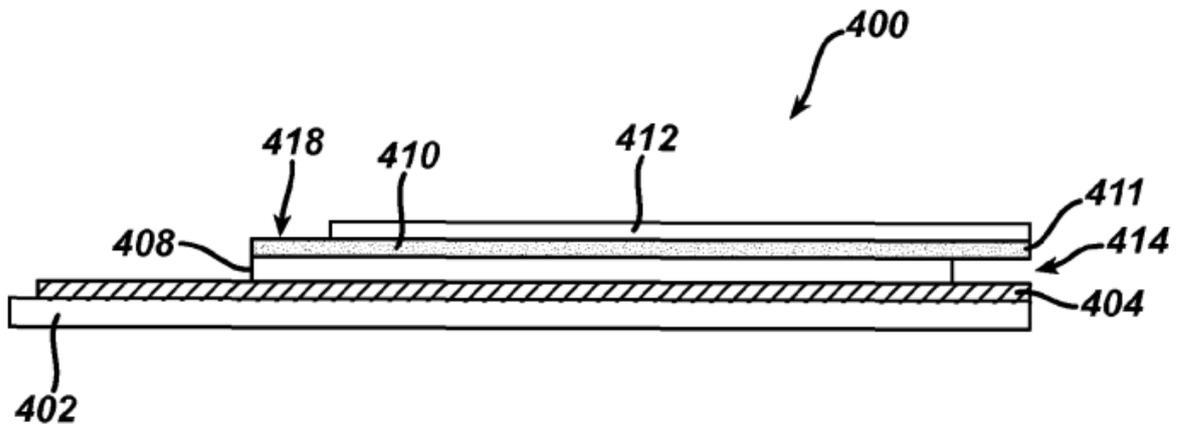


FIG. 3I

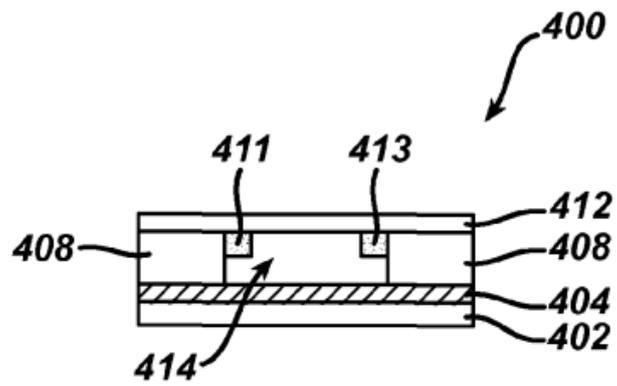
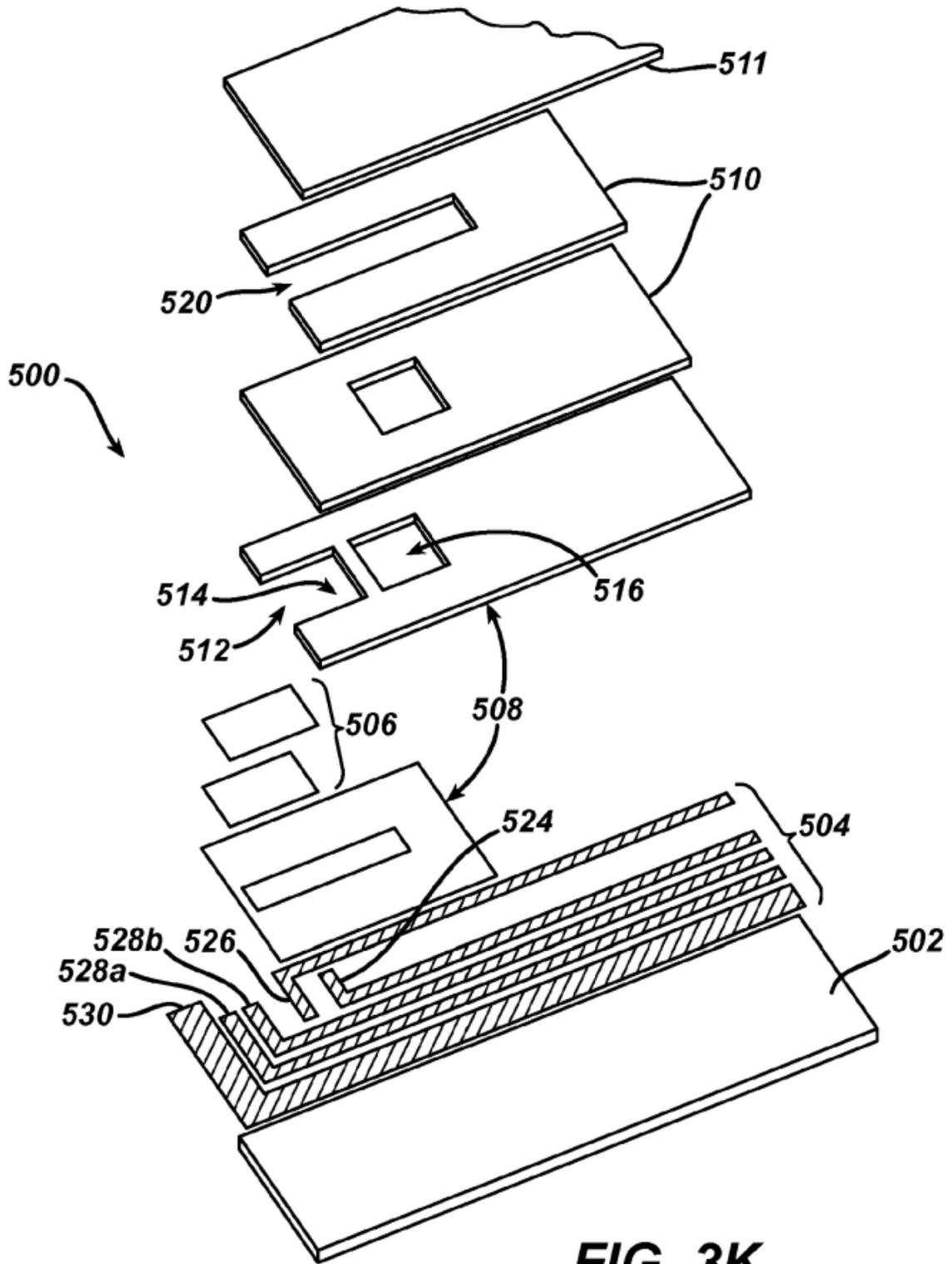


FIG. 3J



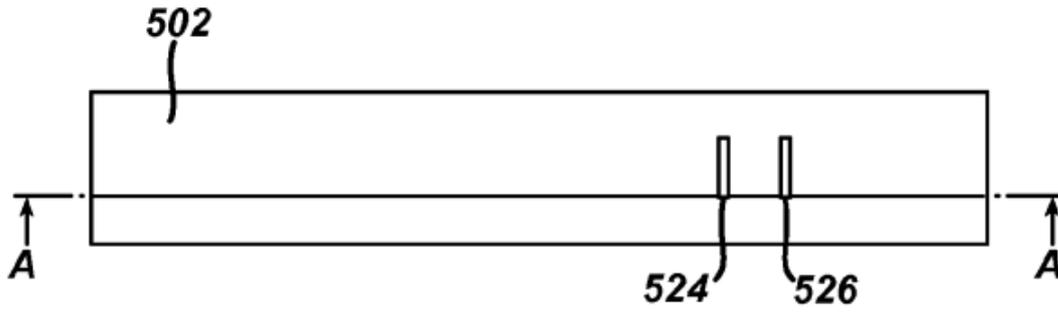


FIG. 3L

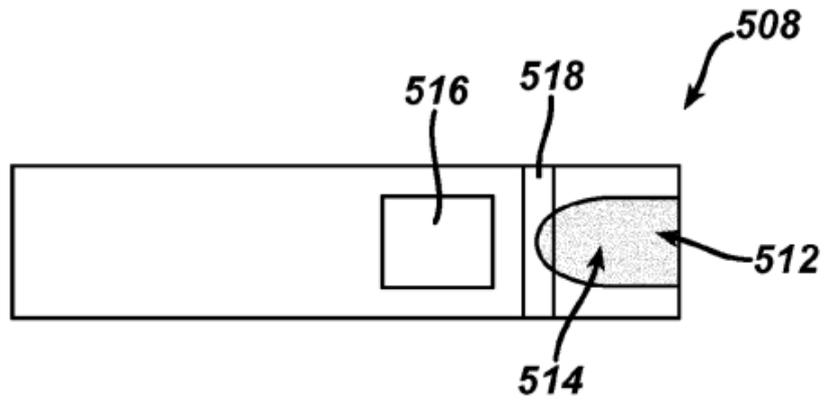


FIG. 3M

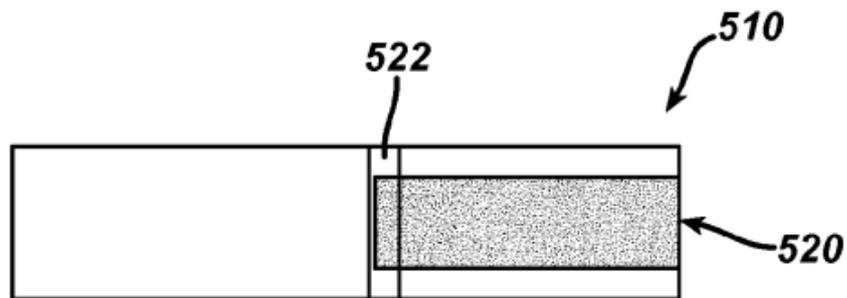


FIG. 3N

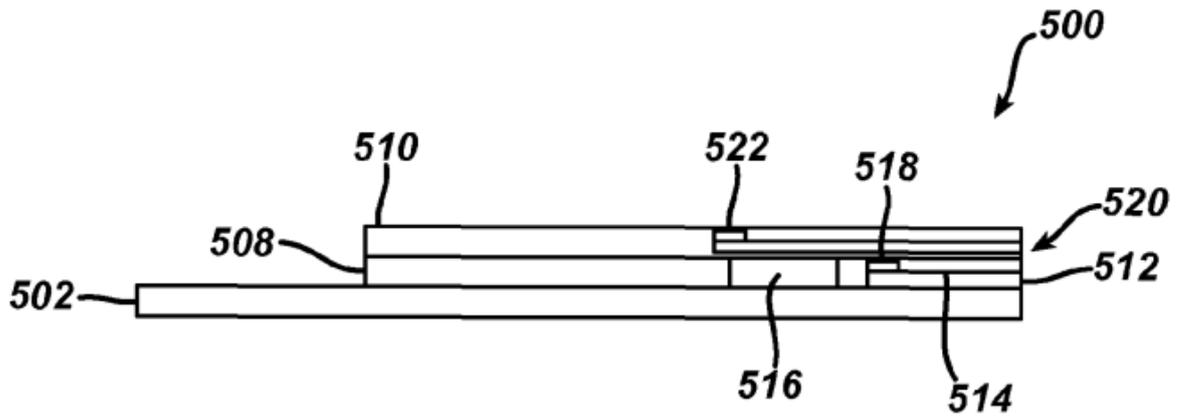


FIG. 30

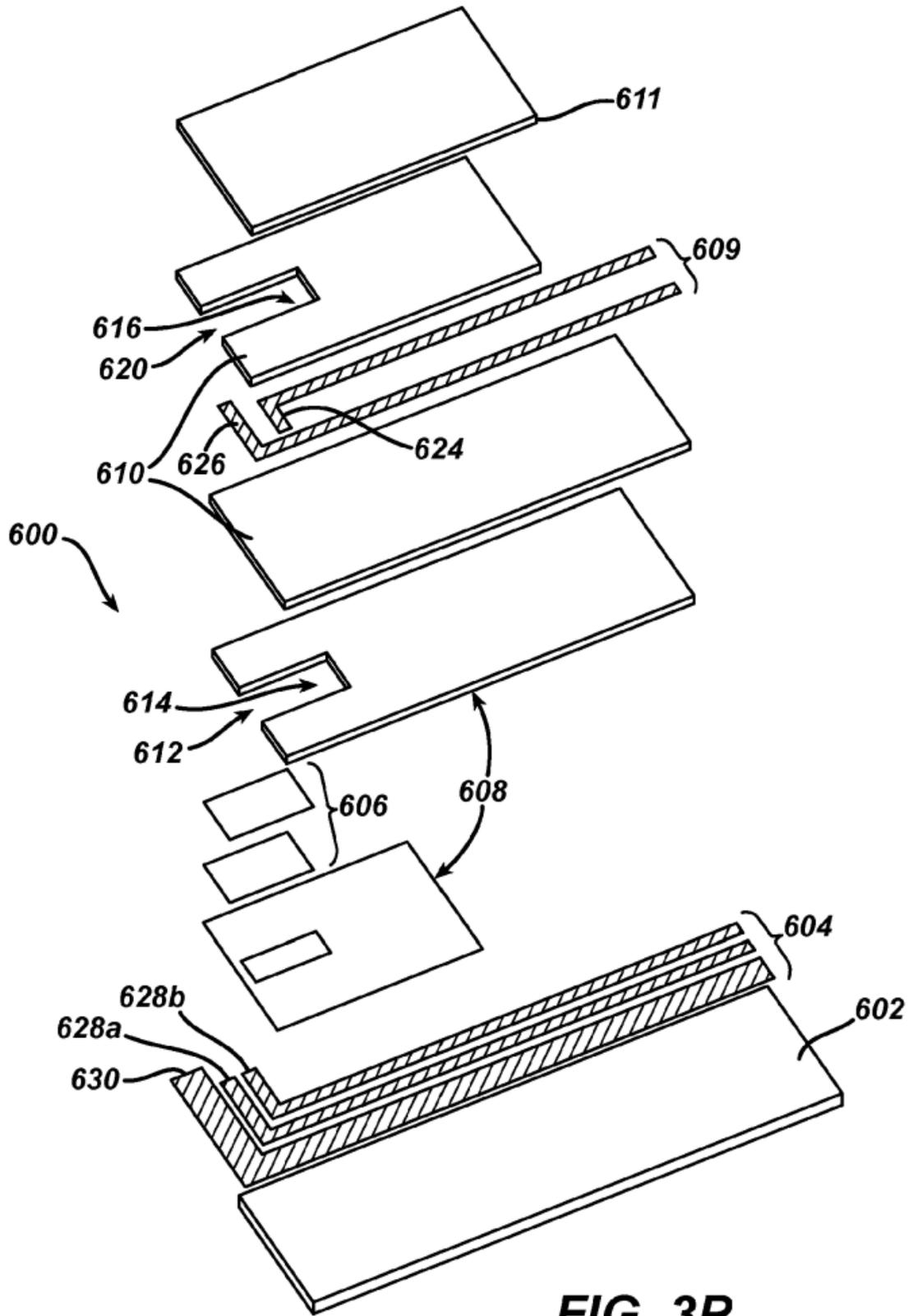


FIG. 3P

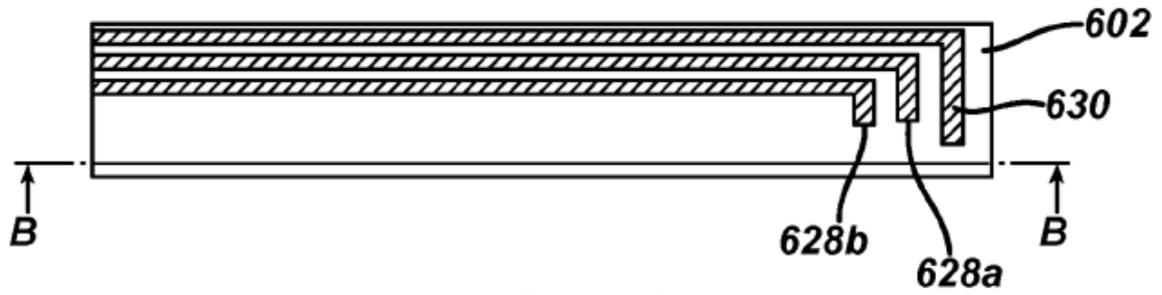


FIG. 3Q

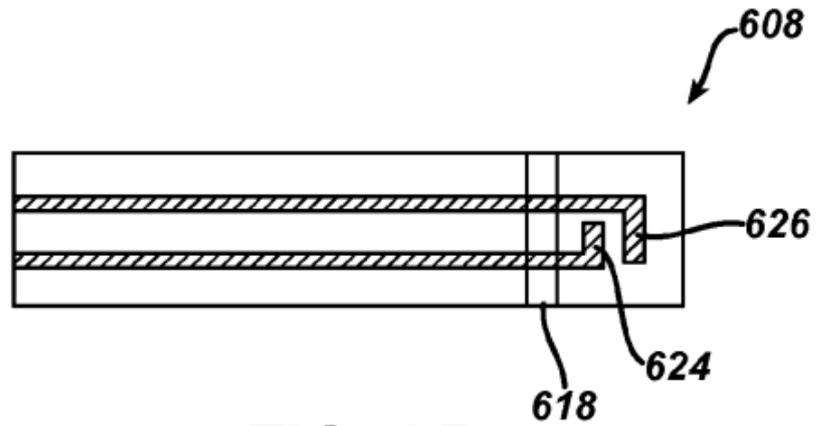


FIG. 3R

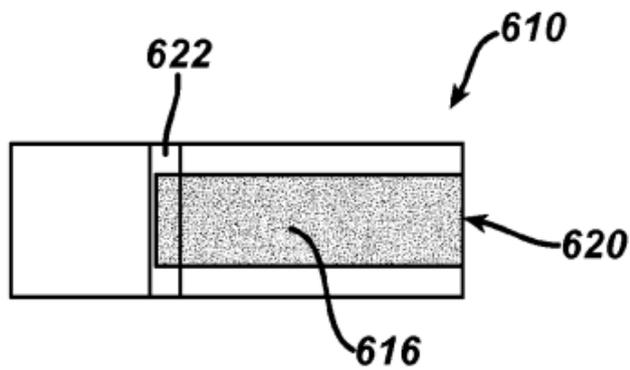


FIG. 3S

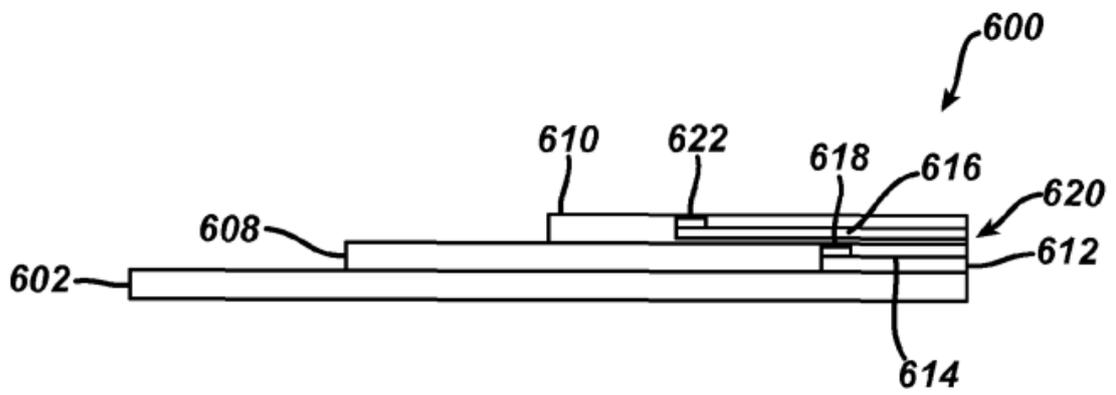


FIG. 3T

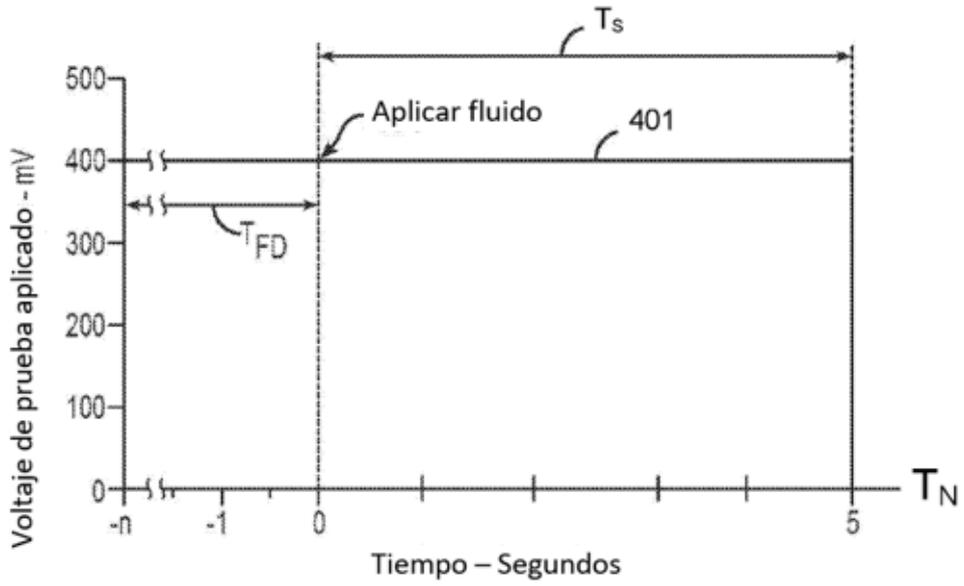
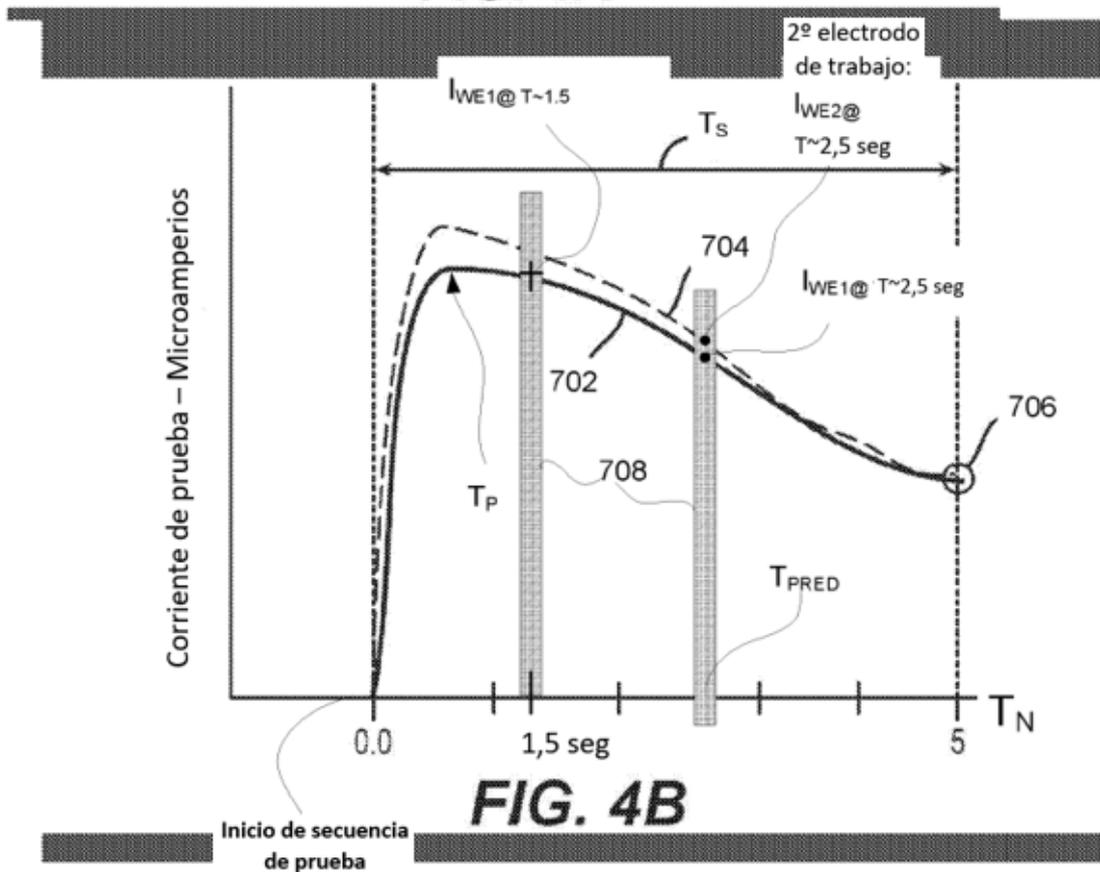


FIG. 4A



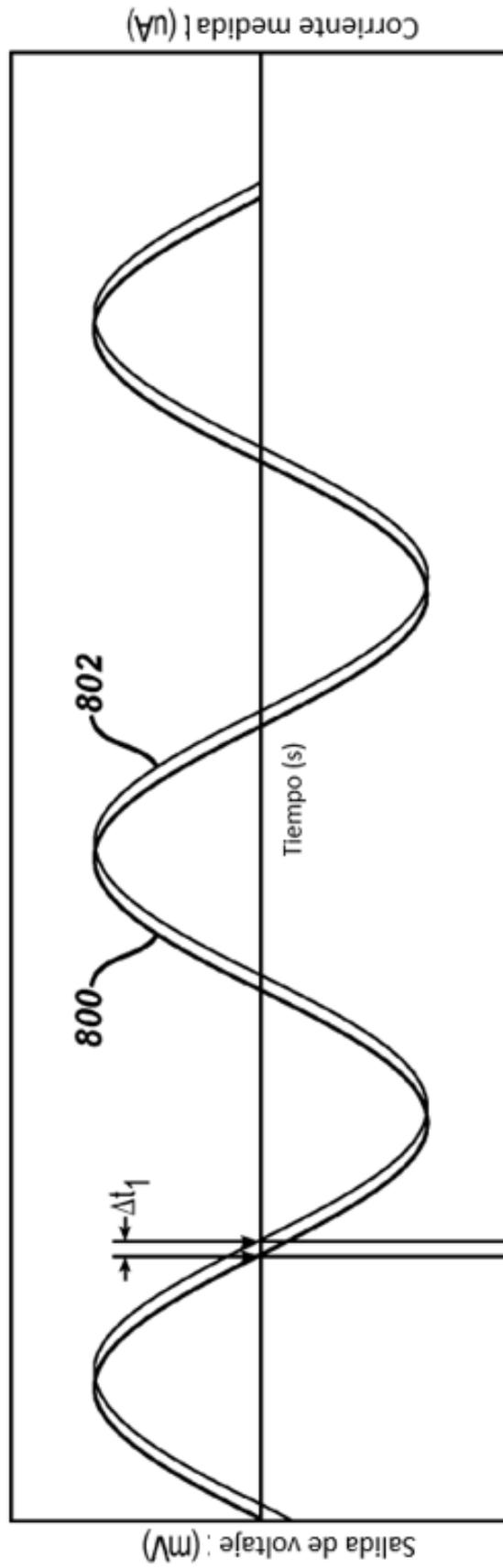
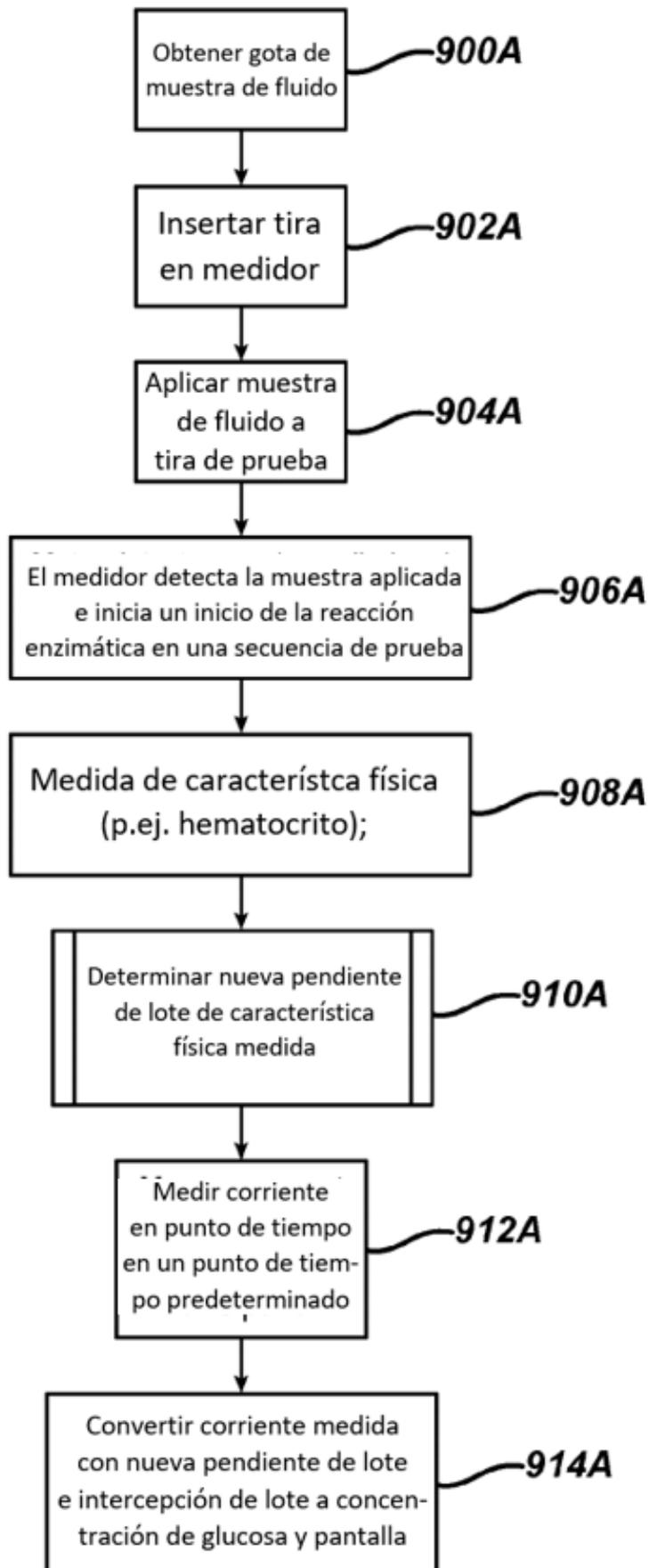


FIG. 5



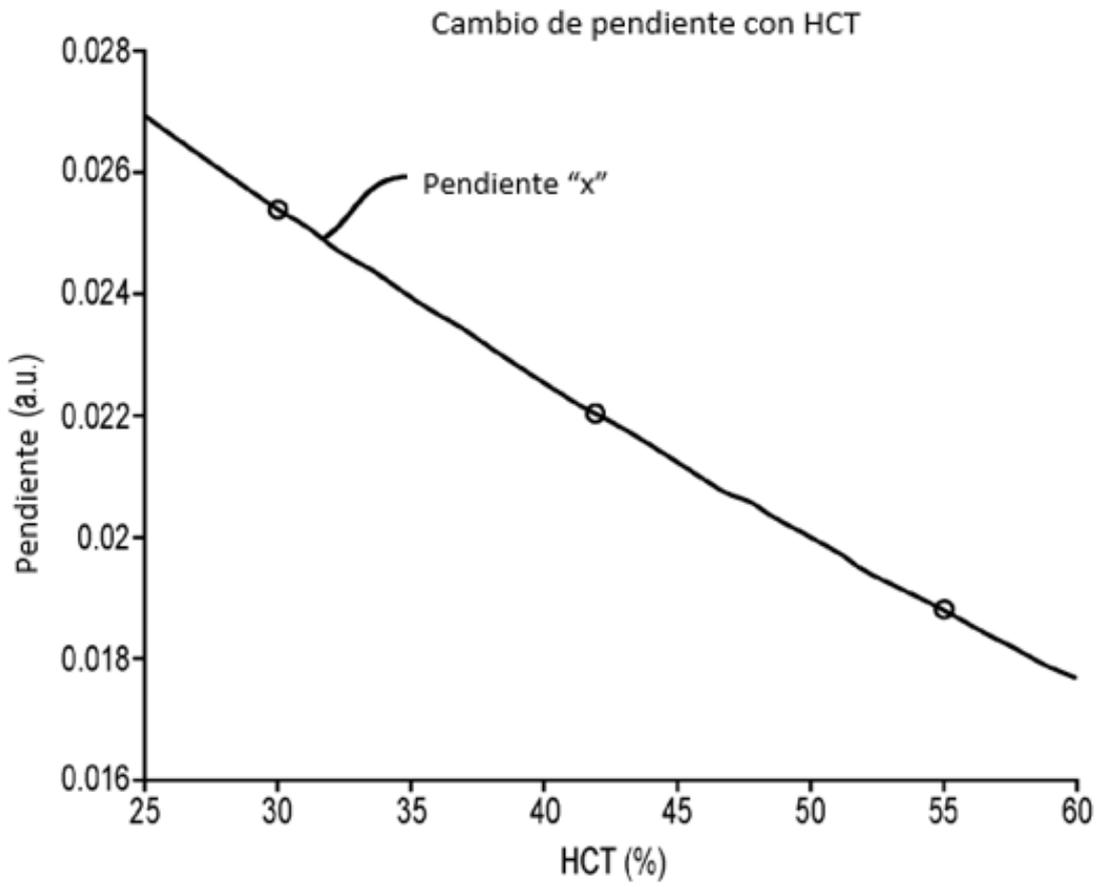


FIG. 6A(2)

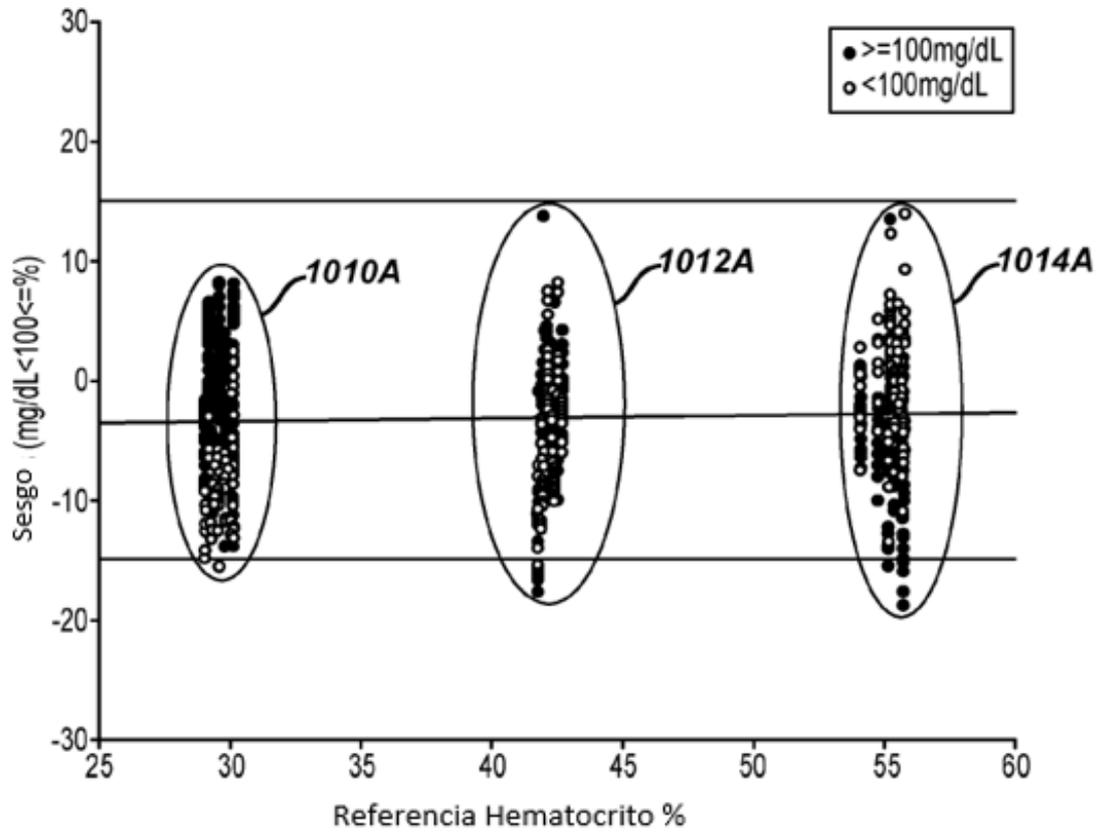


FIG. 6A(3)

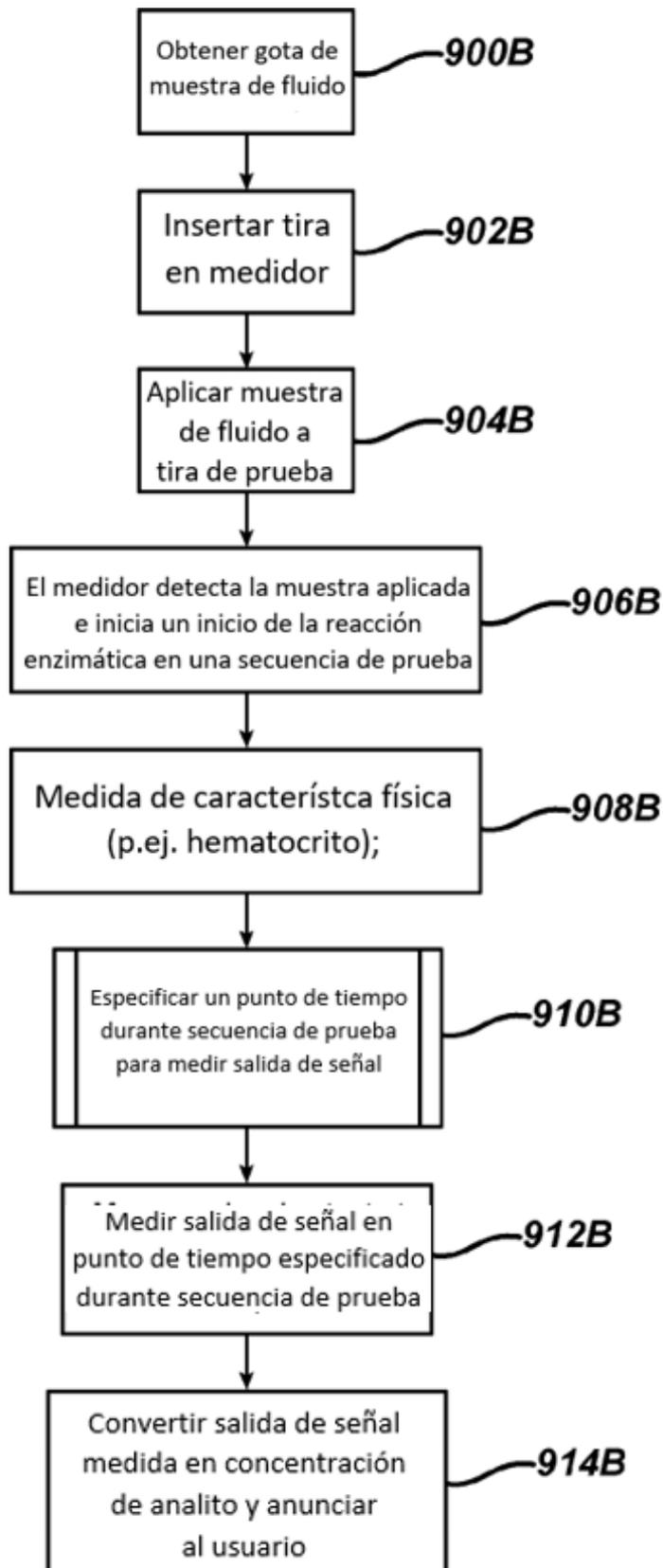


FIG. 6B(1)

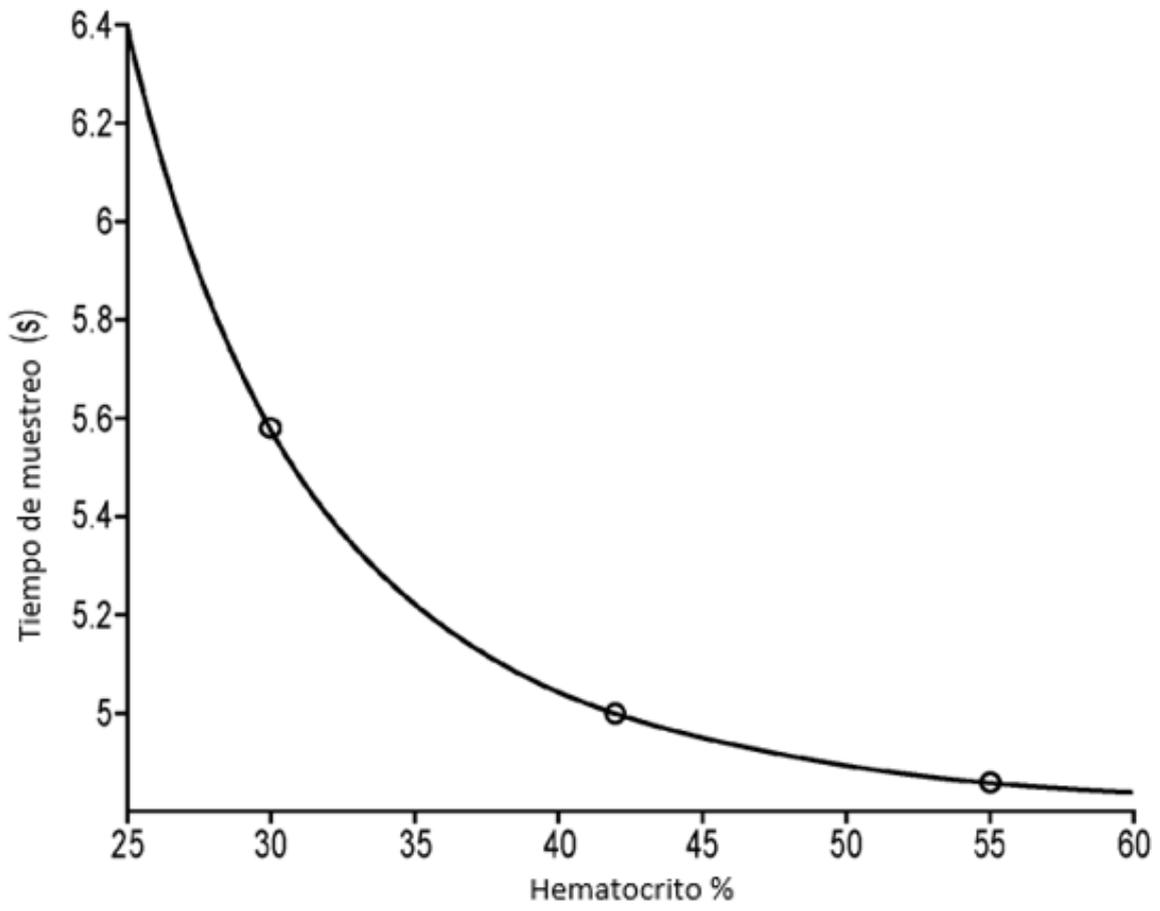


FIG. 6B(2)

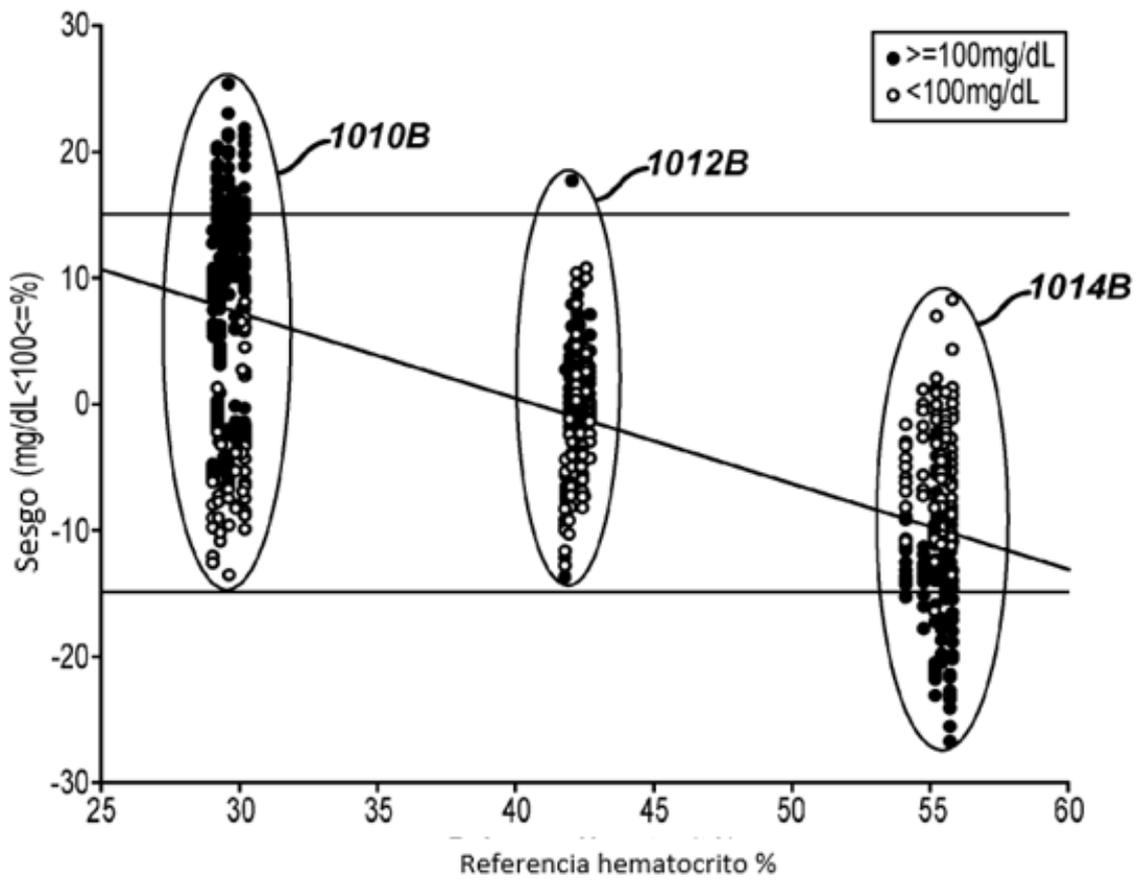


FIG. 6B(3)

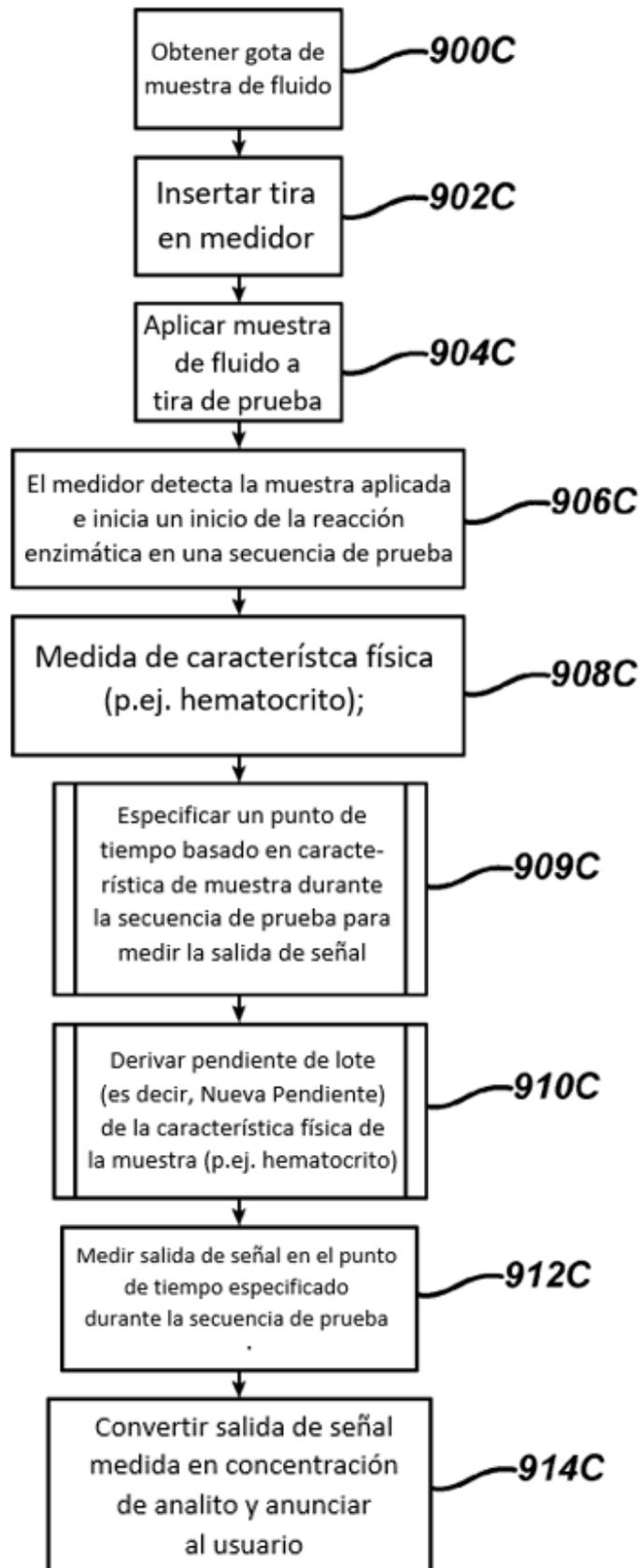


FIG. 6C(1)

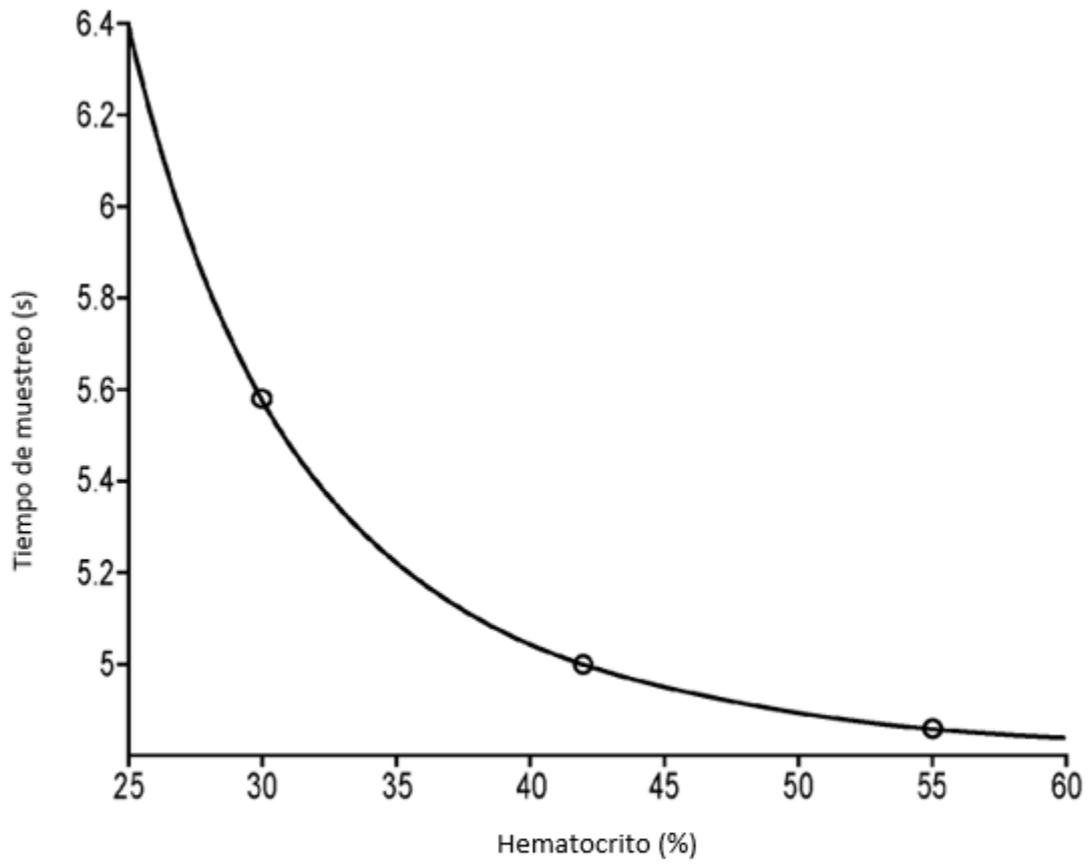


FIG. 6C(2)

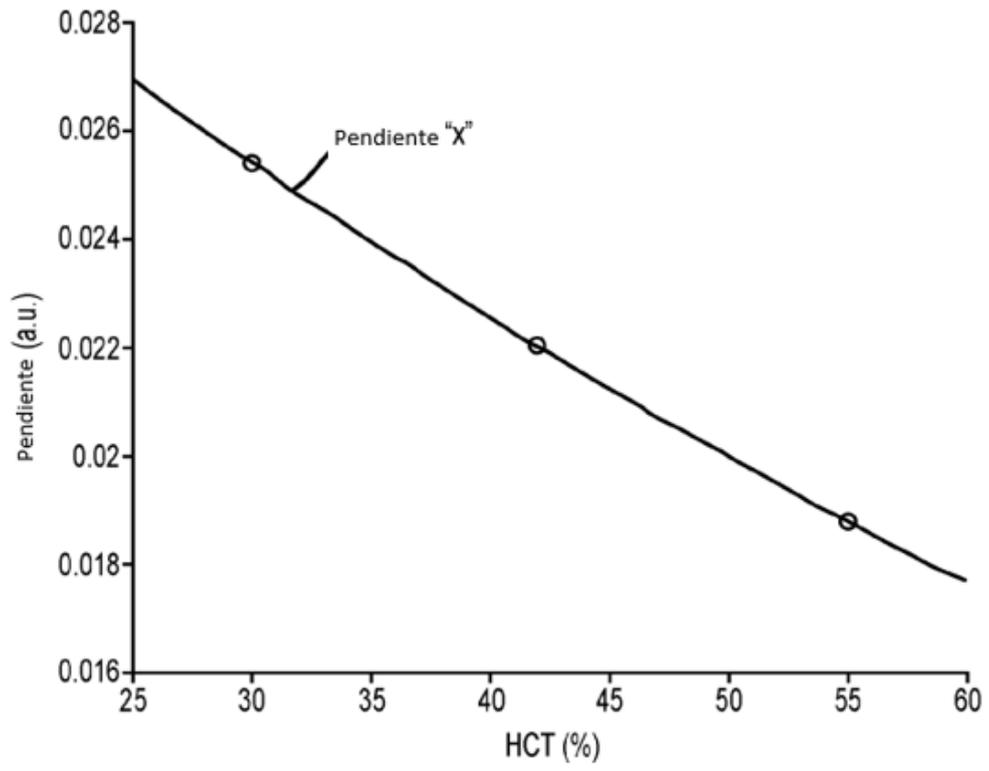


FIG. 6C(3)

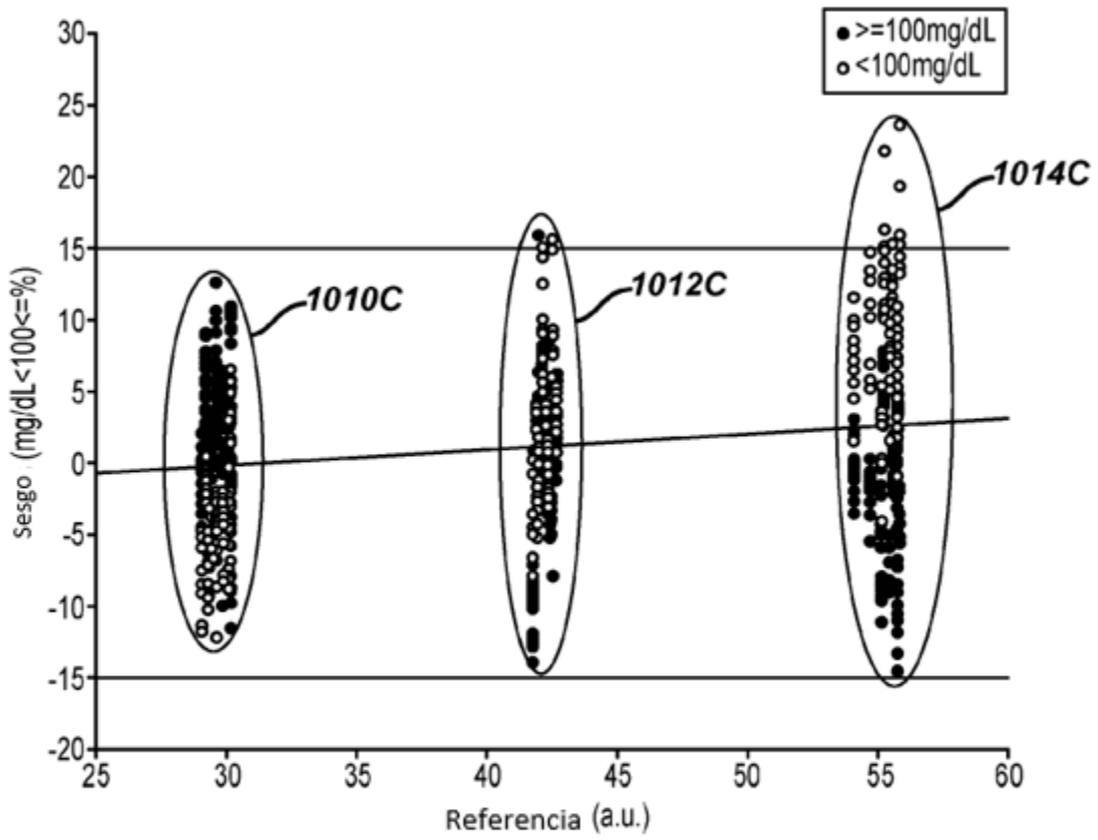


FIG. 6C(4)

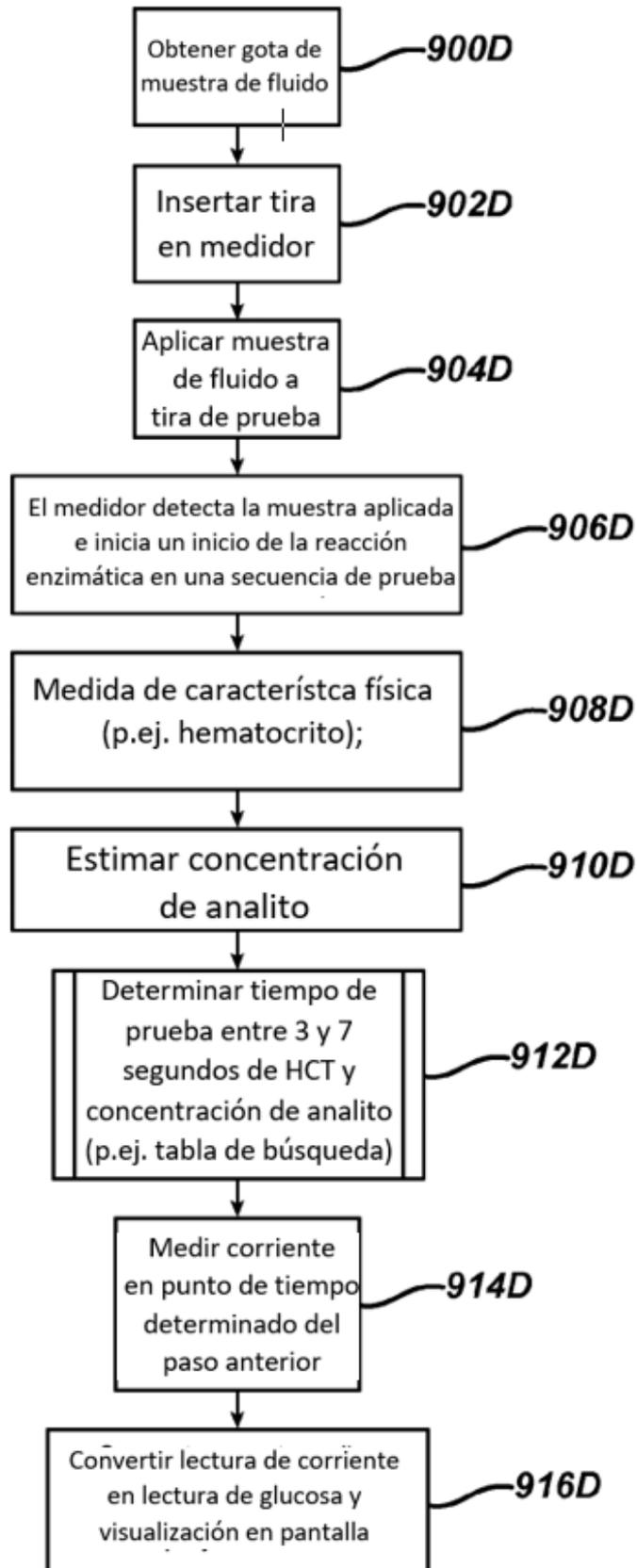


FIG. 6D(1)

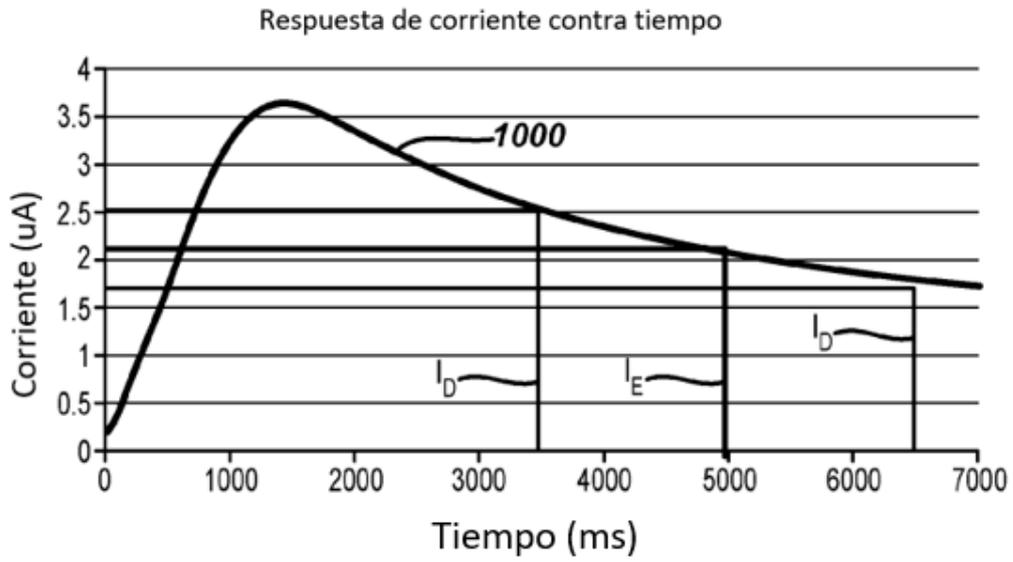


FIG. 6D(2)

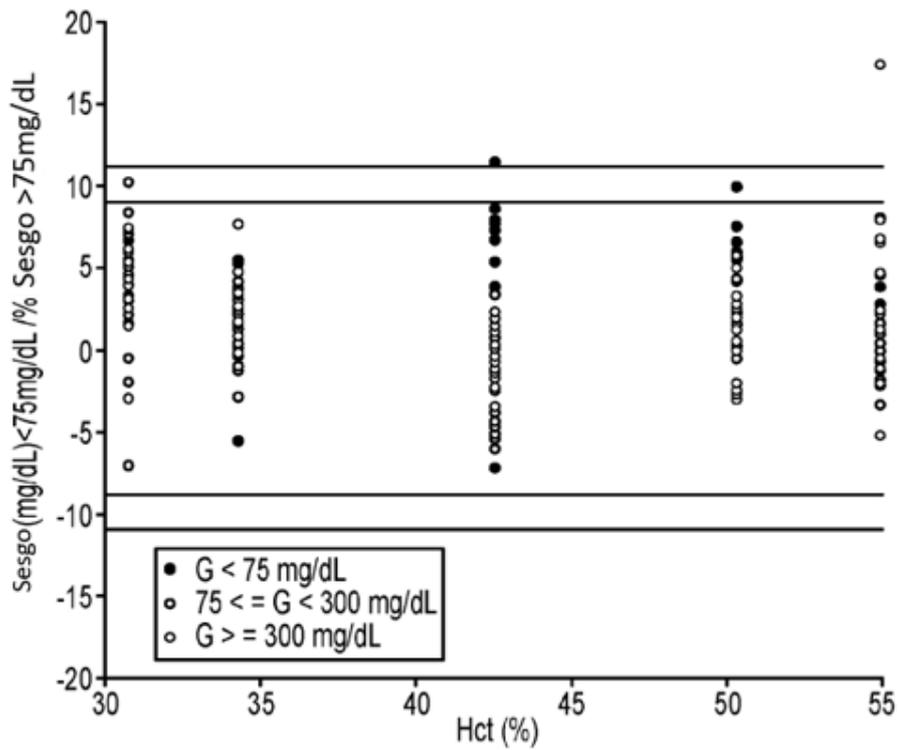


FIG. 6D(3)

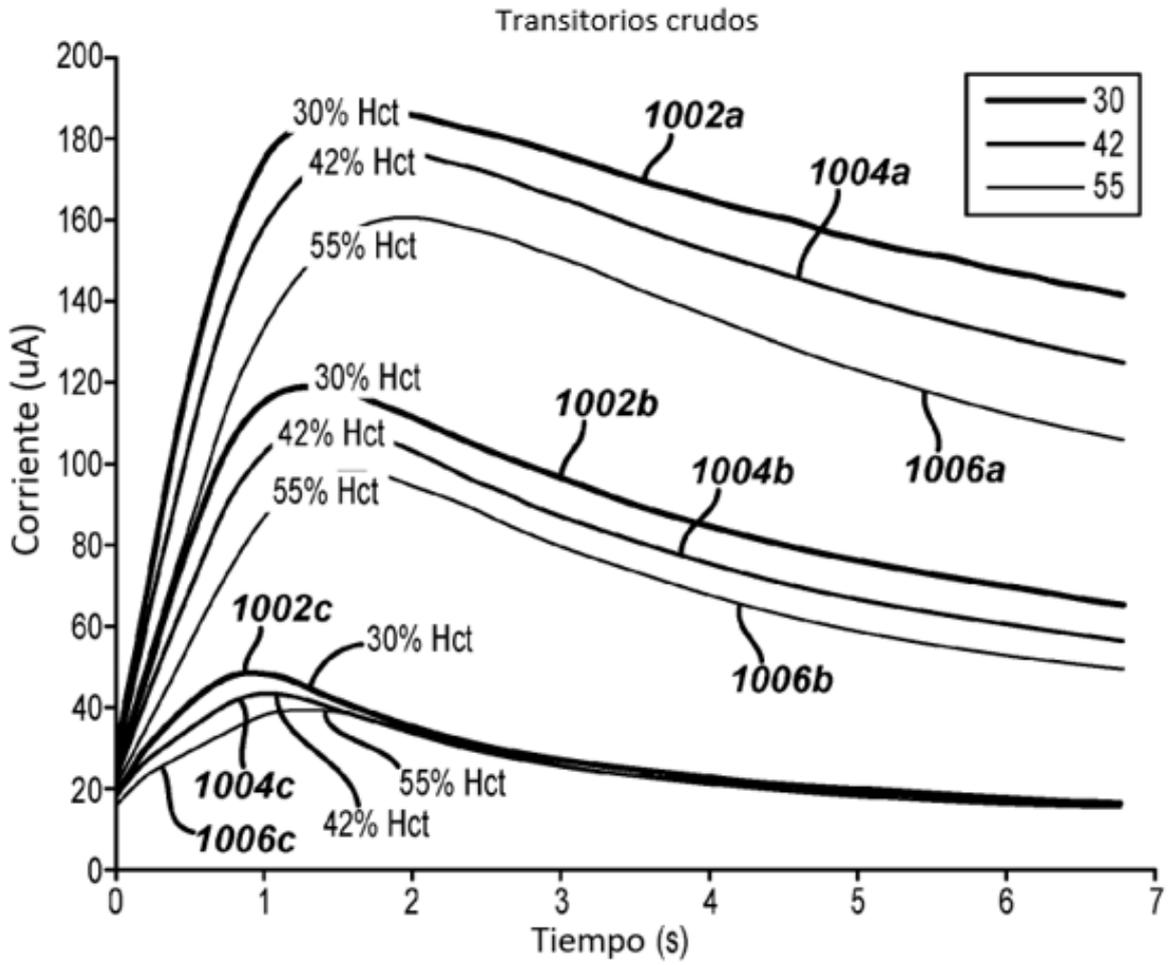


FIG. 7

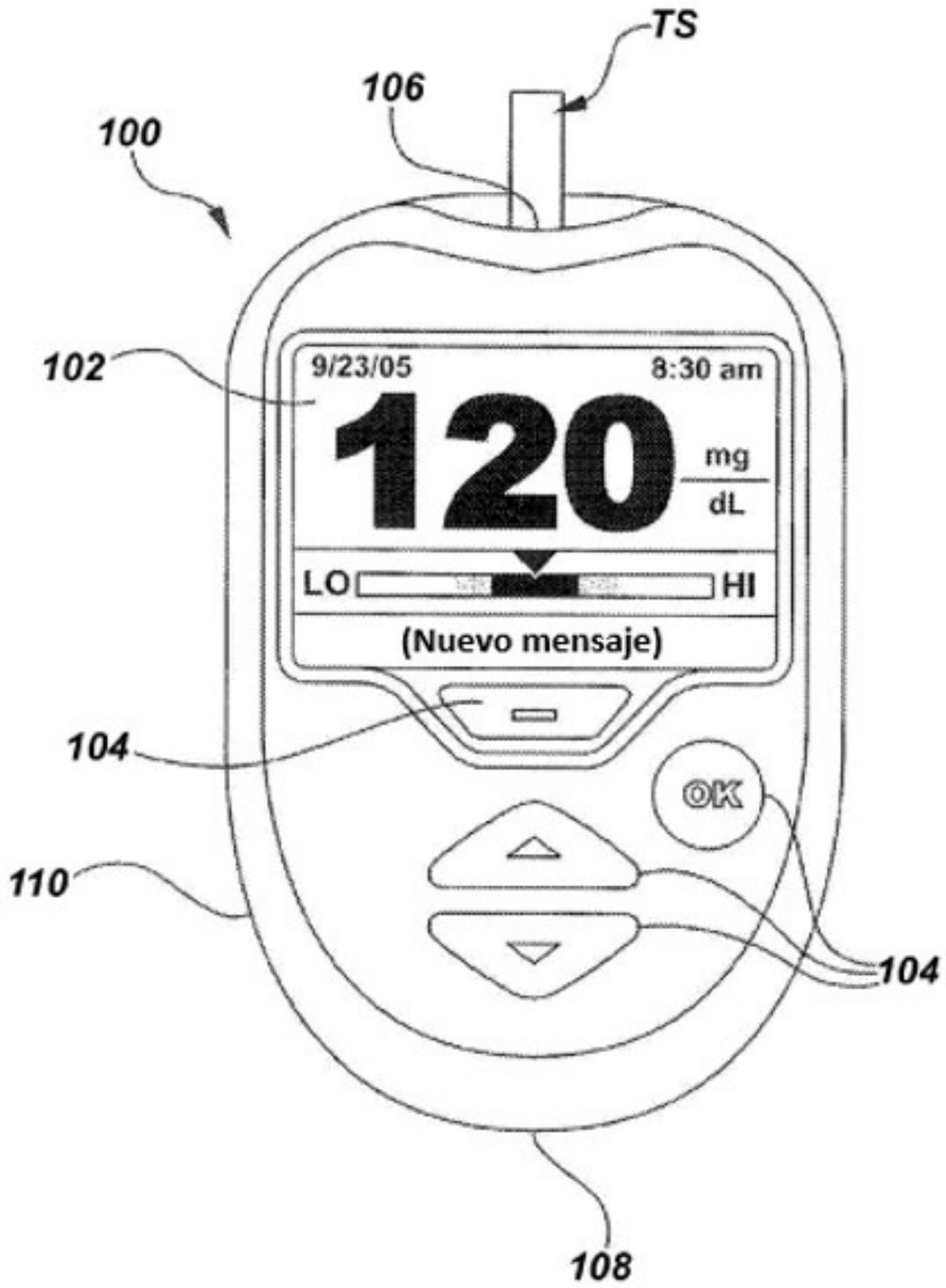


FIG. 8

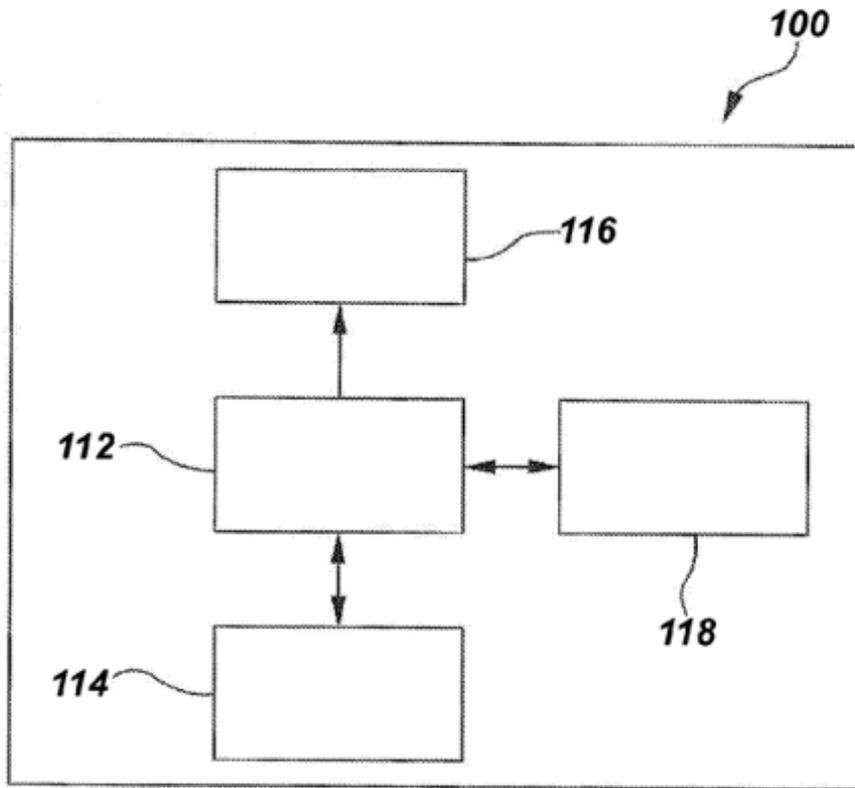


FIG. 9

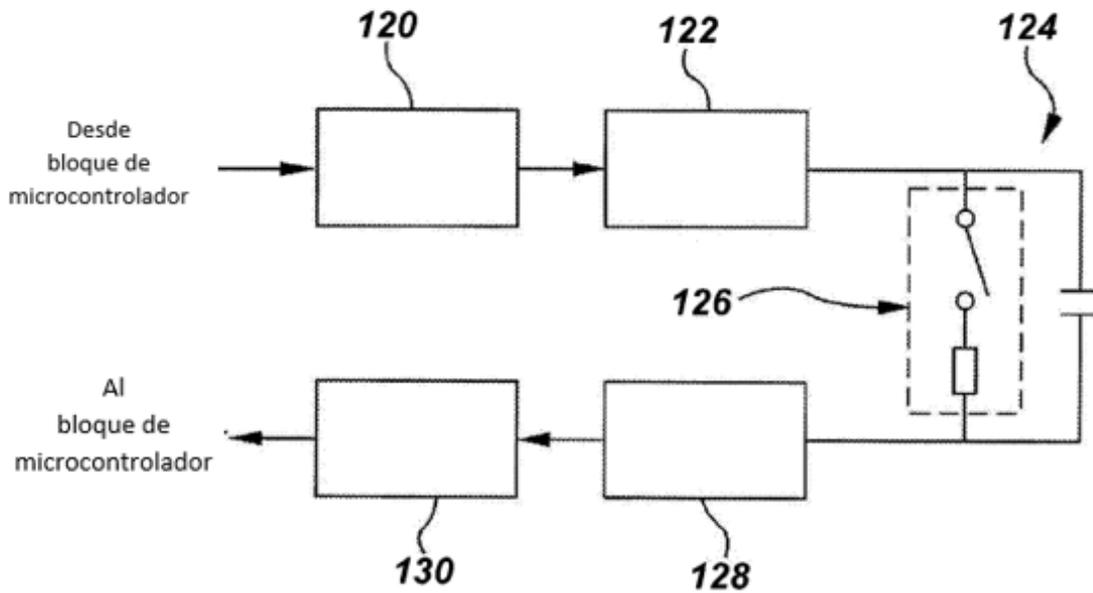


FIG. 10

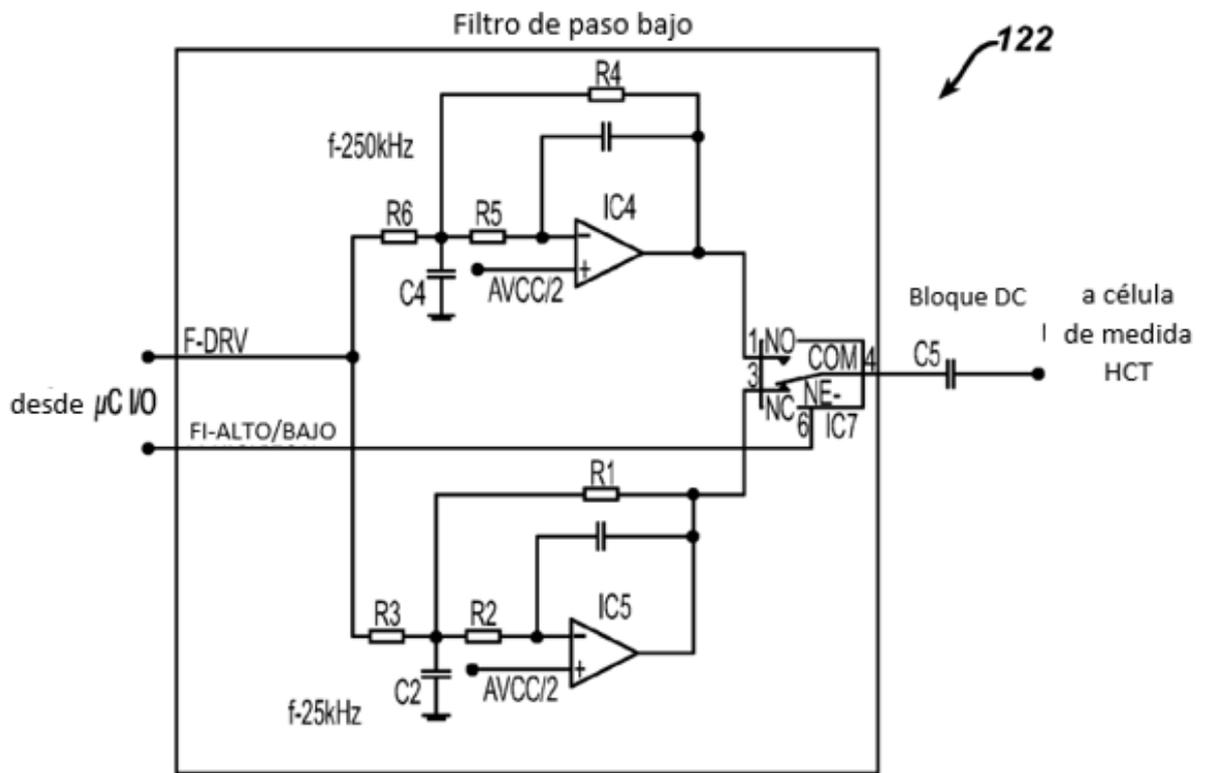


FIG. 11

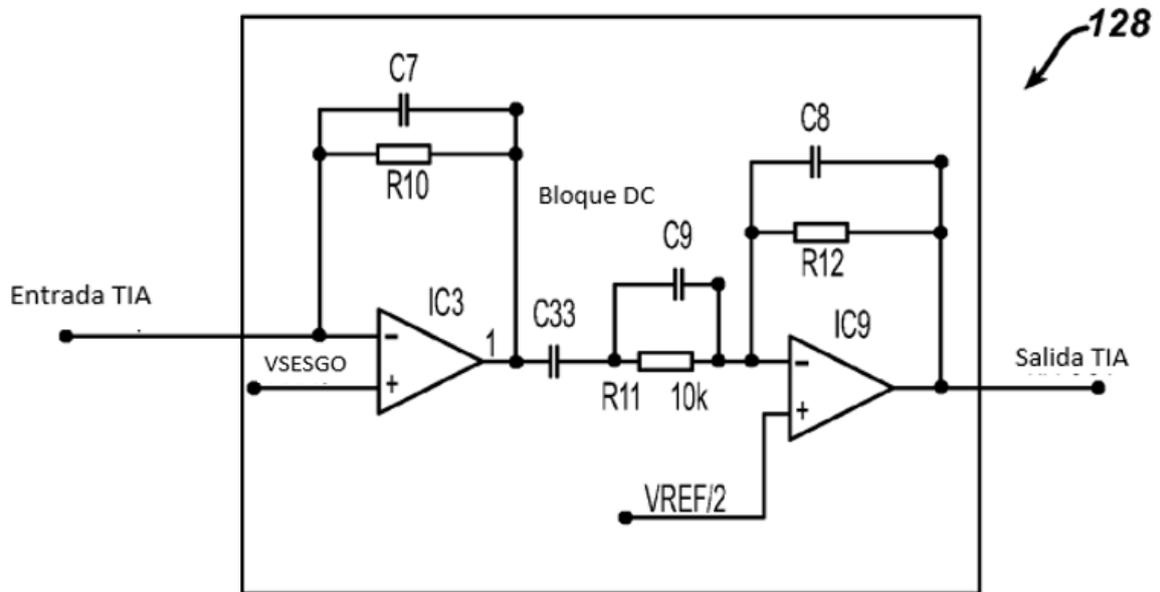


FIG. 12

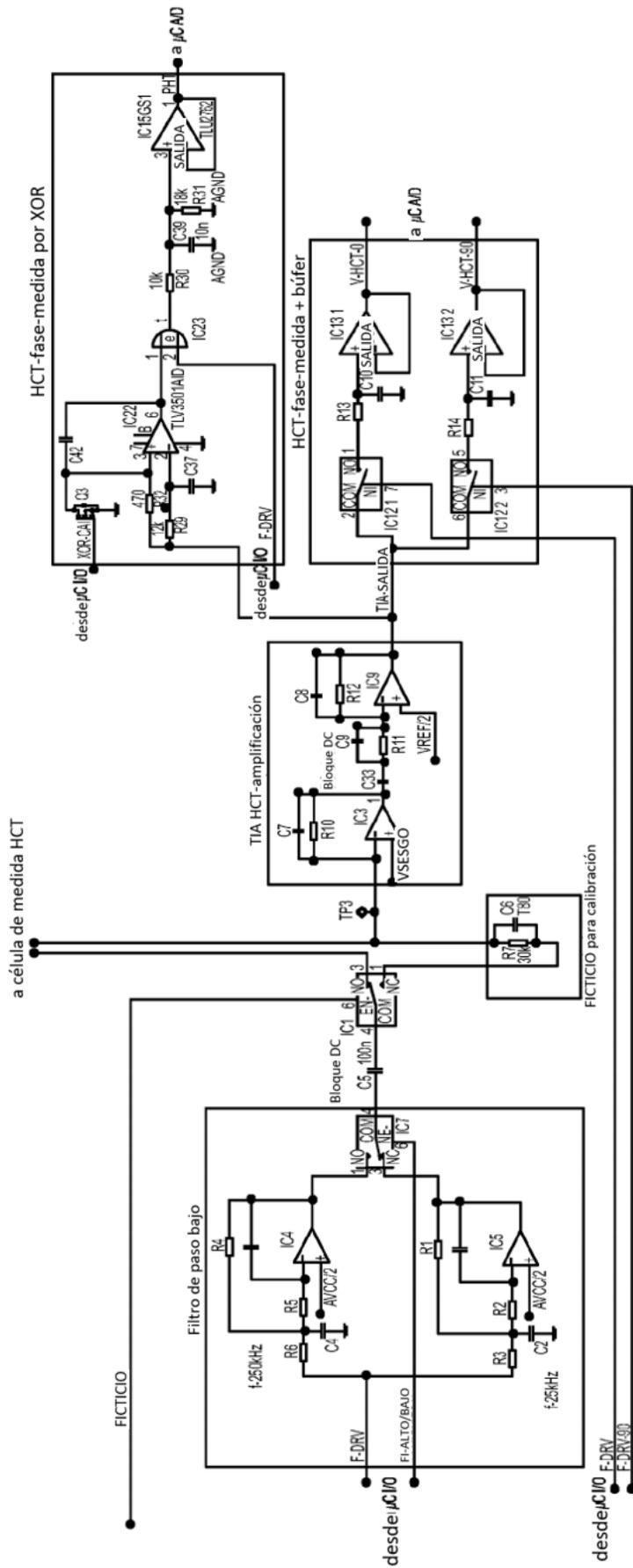


FIG. 13

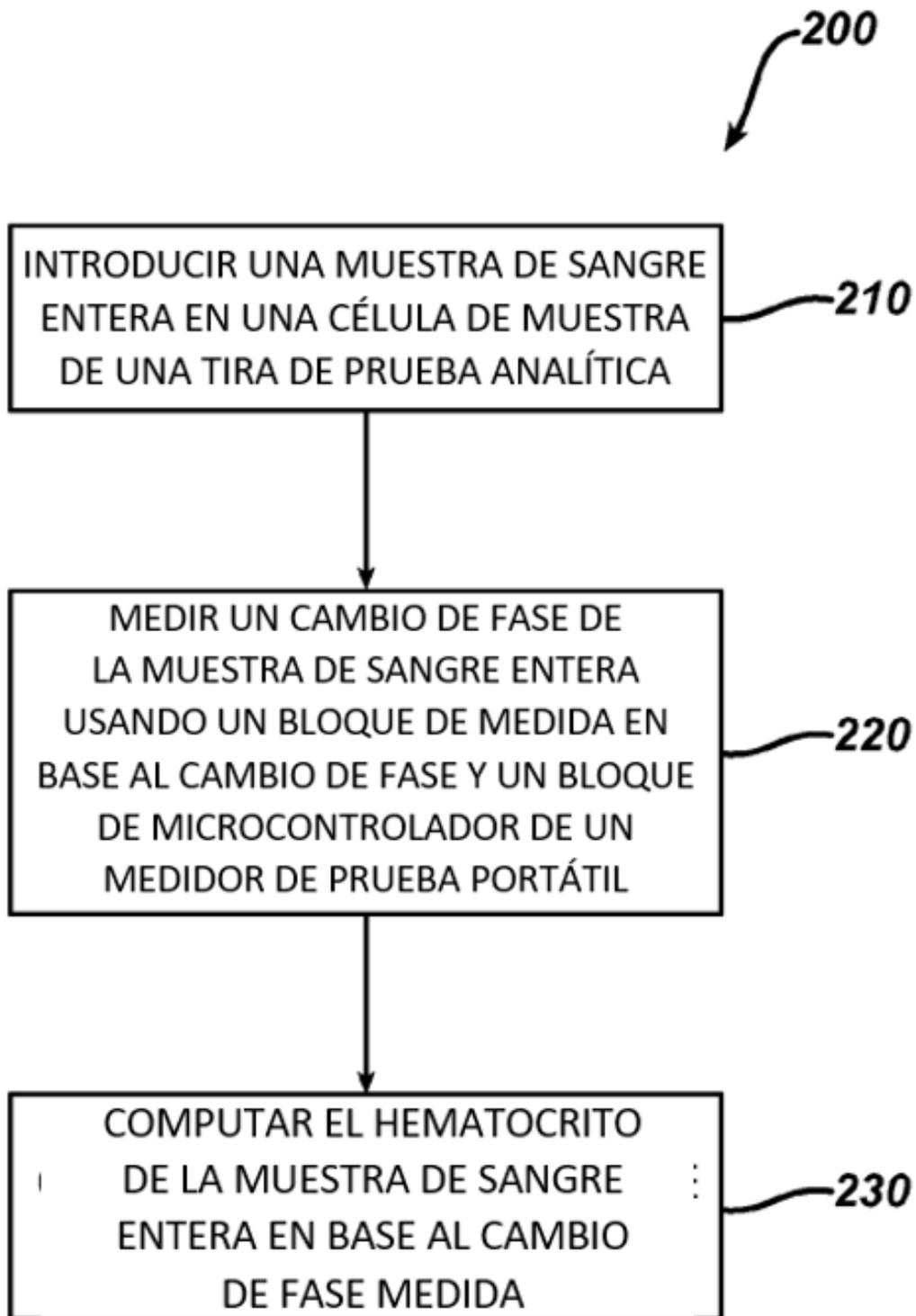


FIG. 14