

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 783 001**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/487** (2006.01)

**G01N 33/49** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2013** **E 15188852 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020** **EP 2995947**

54 Título: **Aparato biosensor de impedancia eléctrica de HbA1c y método**

30 Prioridad:

**13.04.2012 GB 201206588**

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

**16.09.2020**

73 Titular/es:

**SMARTCARE TECHNOLOGIES LIMITED (100.0%)  
One Bell Lane  
Lewes, East Sussex BN7 1JU, GB**

72 Inventor/es:

**INGER, PHILLIP J y  
BRYAN, MATTHEW ROBERT**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 783 001 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**

Aparato biosensor de impedancia eléctrica de HbA1c y método

5 La presente invención se refiere a un sistema de medición de muestras. En particular, la presente invención se refiere a la medición de las propiedades de muestras líquidas o de (que contienen) sangre. En particular, la invención se refiere a un sistema de medición de muestras para medir determinadas propiedades seleccionadas de un sustrato líquido, como los niveles de glucosa en una muestra de sangre. La invención también se refiere a una placa de muestreo, a un dispositivo de medición, a un *software* que contiene un portador de datos para hacer  
10 funcionar el dispositivo de medición.

Existe la necesidad generalizada de mejorar la precisión de los sistemas de medición de muestras, como los que permiten, por ejemplo, a las personas con diabetes, conocer sus niveles de azúcar en sangre, es decir, la concentración de glucosa en sangre.  
15

Los sistemas de medición de ejemplo existentes utilizan un dispositivo de medición que recibe y toma lecturas de medición a partir de una placa de muestreo moteada con la muestra de sangre de un usuario. La placa de muestreo suele ser rectangular y en su extremo se carga con la muestra de sangre. Cuando se carga la muestra de sangre, normalmente es atraída hacia una zona de muestras que tiene un número de zonas de muestreo desde las que el sistema toma las mediciones.  
20

Habitualmente, cada zona de muestreo tiene su propio contenido particular. Por ejemplo, la primera zona de muestreo puede tener un depósito de glucosa oxidasa en su interior, un segundo depósito que comprende una mezcla de glucosa oxidasa y una cantidad predeterminada de glucosa, mientras que una tercera zona de muestreo puede no tener ningún depósito. A medida que la muestra de sangre es atraída hacia las tres zonas de muestreo, las reacciones químicas se producen con los depósitos de cada zona de muestreo, lo que produce electrolitos diferentes. Cada zona de muestreo crea un puente entre un par de electrodos correspondientes. Cuando la placa de muestreo se inserta en un dispositivo de medición en funcionamiento, se crea una diferencia de potencial en cada zona de muestreo por medio de los electrodos. De esta manera, las lecturas de la corriente eléctrica de cada zona de muestreo proporcionan las mediciones necesarias para evaluar los niveles de azúcar (glucosa) en sangre. Por ejemplo, la primera zona de muestreo puede proporcionar la medición principal, mientras que la segunda zona de muestreo puede proporcionar un grado de calibración, pues ya hay presente una cantidad conocida de glucosa. La tercera zona puede proporcionar una comprobación final, que tiene en cuenta la contribución de los valores que no son glucosa en las mediciones de la primera y segunda zonas de muestreo.  
25  
30  
35

No obstante, a pesar de estas calibraciones y comprobaciones finales, los márgenes de error en dichas lecturas de glucosa en sangre siguen siendo altos. De hecho, los niveles de glucosa en sangre se ven muy influidos por los niveles de glucosa en sangre fluctuantes y transitorios en el plasma de la muestra de sangre, que pueden no representar los niveles de glucosa en sangre a largo plazo del paciente y, en su lugar, pueden simplemente indicar una subida o caída transitoria reciente de los niveles de glucosa en sangre del plasma sanguíneo del paciente, por ejemplo, debido que acabe de comer o a otros factores del entorno a corto plazo.  
40

El documento de patente japonesa publicado JP 2008 076143 A describe un instrumento para medir la concentración de hemoglobina y HbA1c.  
45

El documento US2010/0089774 A1 y S.U. Son *et al.*, *Fabrication of disposable biochip for measuring percent hemoglobin A1c(%HbA1c) Sensors and Actuators A*, 130-131 (2006) 267-272, divulgan sensores electroquímicos para determinar la concentración de HbA1c en sangre.

50 La presente invención intenta conseguir esto.

El plasma sanguíneo es el componente líquido de la sangre en el que suelen estar suspendidas las células sanguíneas de la sangre total. Habitualmente, el plasma sanguíneo constituye aproximadamente el 55 % del volumen total de la sangre. Este es la parte fluida extracelular de la sangre y, en su mayoría, es agua, aunque  
55 contiene glucosa disuelta y otros contenidos.

El porcentaje de volumen de los eritrocitos en sangre es lo que se conoce como hematocrito (HCT). Otros términos que lo definen es el *packed cell volume* (PCV, "volumen de células empaquetadas") o la *erythrocyte volume fraction* (FVE, "fracción del volumen de eritrocitos), ambos por influencia del inglés. El hematocrito suele ser, normalmente del 45 % en hombres y del 40 % en mujeres. El hematocrito suele calcularse multiplicando el recuento de eritrocitos de una muestra de sangre por el volumen de células promedio, y después, dividiendo el resultado por el volumen de sangre total de la muestra.  
60

La glucohemoglobina (es decir, la hemoglobina A1c, HbA1c o simplemente A1c) es una forma de hemoglobina que se mide principalmente para identificar la concentración de glucosa promedio en el plasma durante períodos prolongados de tiempo. Se forma en una ruta de glucación no enzimática por medio de la exposición de la  
65

hemoglobina a la glucosa del plasma.

Los niveles normales de glucosa producen una cantidad normal de glucohemoglobina. A medida que aumenta la cantidad promedio de glucosa en sangre, aumenta la fracción de glucohemoglobina. Esto sirve como marcador de los niveles de glucosa en sangre promedio durante los meses anteriores a la medición. La cromatografía líquida y la electroforesis capilar son dos maneras de medir la glucohemoglobina (HbA1c). Ambos métodos son complejos, caros y totalmente inadecuados para que los pueda implementar de manera fácil y sencilla una o un paciente.

En su forma más general, la invención es como se define en las reivindicaciones del presente documento. Por ejemplo, es un sistema (método y/o aparato) para medir el nivel de glucohemoglobina en una muestra líquida que contiene sangre según la impedancia eléctrica que tiene (por ejemplo, la resistencia y la reactancia) como respuesta a una diferencia de potencial eléctrico alterno aplicada en la muestra. El hematocrito medido se puede utilizar para mejorar la precisión de las mediciones de glucosa en sangre de la sangre en otro aspecto de la invención. Se ha descubierto que la aplicación de una diferencia de potencial alterno (tensión) en una muestra de este tipo produce una resistencia y/o una reactancia que son sorprendentemente sensibles al hematocrito. La invención aprovecha este descubrimiento. La presencia de eritrocitos dentro de una muestra de sangre complica la interpretación de las mediciones de glucosa en sangre con el uso de los métodos existentes. La invención puede acabar con o reducir dicha complicación para permitir que se realicen mediciones de glucosa en sangre más precisas. En otro ejemplo, es un sistema (método y/o aparato) para medir el nivel de glucohemoglobina (HbA1c) en una muestra líquida que contiene sangre según la impedancia eléctrica que tiene (por ejemplo, la resistencia y la reactancia) como respuesta a una diferencia de potencial eléctrico alterno aplicada en la muestra. Se ha descubierto que la aplicación de una diferencia de potencial alterno (tensión) en una muestra de este tipo produce una resistencia y/o una reactancia que son sorprendentemente sensibles a la HbA1c de la muestra. La invención aprovecha este descubrimiento.

En un ejemplo, una placa de muestreo comprende una zona de muestras para recibir una muestra líquida. La placa de muestreo puede tener dos electrodos de transmisión con unos respectivos terminales de electrodo distintos y separados por un hueco para recibir la muestra líquida dentro de la zona de muestras y utilizarla para transmitir una señal eléctrica a través de la muestra. Se pueden proporcionar dos electrodos de detección con unos respectivos terminales de electrodo distintos separados entre los terminales de electrodo de los dos electrodos de transmisión, para así utilizarlos en la detección de una señal eléctrica generada por los electrodos de transmisión dentro de una muestra.

En el presente documento, una "placa de muestreo" puede significar cualquier superficie capaz de recibir una muestra líquida en una zona de muestras. No obstante, preferentemente, la placa de muestreo es portátil. Convenientemente, la placa de muestreo puede cubrir un área inferior a  $1 \text{ m}^2$ , preferentemente inferior a  $50 \text{ cm}^2$ , más preferentemente, inferior a  $10 \text{ cm}^2$ , y más preferentemente inferior a  $5 \text{ cm}^2$ . La placa de muestreo puede cubrir un área inferior a los  $500 \text{ mm}^2$  (por ejemplo,  $350 \text{ mm}^2$ ) donde la placa de muestreo sea de  $10 \text{ mm}$  de ancho por  $35 \text{ mm}$  de largo. Convenientemente, la placa de muestreo puede ser rectangular. La placa de muestreo puede ser una tira y puede ser una tira flexible. No obstante, preferentemente, la placa de muestreo es una placa individual, preferentemente una placa de muestreo rígida. El grosor de la placa de muestreo es, preferentemente, inferior a  $1 \text{ cm}$ , preferentemente inferior a  $1 \text{ mm}$ , más preferentemente, inferior a  $0,5 \text{ mm}$ , más preferentemente, inferior a  $0,25 \text{ mm}$ .

La placa de muestreo es preferentemente compatible con un dispositivo de medición. Por ejemplo, el dispositivo de medición puede funcionar preferentemente para comunicarse con la placa de muestreo para medir una o más propiedades seleccionadas de la muestra. Preferentemente, la placa de muestreo se puede insertar en el dispositivo de medición para que se puedan tomar las mediciones.

Los dos terminales de electrodo de detección pueden presentar entre sí laterales opuestos que definen, entre ellos, un espacio de detección alargado que se extiende a lo largo de la zona de muestras para recibir, al menos, partes de la muestra en su interior. Los terminales de electrodo de detección pueden ser sustancialmente planos y estar uno al lado del otro para definir un espacio de detección sustancialmente plano. La anchura de los dos terminales de electrodo de detección es preferentemente la misma. Dicha anchura es, preferentemente, alrededor del doble del tamaño del espacio de detección entre ellos.

Los dos terminales de electrodo de transmisión pueden presentar, entre sí, laterales opuestos que definen entre ellos un espacio de transmisión alargado que se extiende a lo largo de la zona de muestras, para así recibir, al menos, partes de la muestra en su interior, estando adaptados los electrodos de transmisión para transmitir la señal eléctrica de manera transversal a través del espacio de transmisión. Los terminales de electrodo de transmisión pueden ser sustancialmente planos y estar uno al lado del otro para definir un espacio de transmisión sustancialmente plano.

El espacio de detección puede extenderse a lo largo del espacio de transmisión. El espacio de detección y/o el espacio de transmisión pueden tener, preferentemente, una anchura sustancialmente uniforme a lo largo de, al menos, una parte de su longitud.

Un terminal de electrodo de transmisión y un terminal de electrodo de detección adyacente se pueden disponer en el interior de/sobre la placa de muestreo, de modo que presenten entre sí sus lados opuestos que definen, entre ellos, un espacio de división alargado. Preferentemente, este espacio de división se extiende a lo largo de la zona de muestras para definir una separación entre dichos terminales adyacentes dentro de la zona de muestras. Esto puede aplicarse en cada uno de los terminales de electrodo de transmisión y en su respectivo terminal de electrodo de detección adyacente/colindante.

El espacio de separación tiene, preferentemente, una anchura sustancialmente uniforme a lo largo de, al menos, parte de su longitud, preferente y sustancialmente toda su longitud. Cada anchura del espacio de separación tiene, preferentemente, el mismo tamaño. Preferentemente, la anchura del espacio de separación es de alrededor de 1½ veces la anchura del espacio de detección.

Los terminales de electrodo de detección pueden formarse sobre una superficie de la placa de detección dentro de la zona de muestras. Preferentemente, los terminales de electrodo de transmisión se forman sobre una superficie de la placa de detección en común con los terminales de electrodo de detección de dentro de la zona de detección. Los electrodos se pueden formar sobre la placa de muestreo mediante un proceso de impresión conocido. No obstante, para un mejor grado de precisión o consistencia, se utiliza preferentemente una técnica conocida como ablación láser para retirar el material de los electrodos (por ejemplo, el oro) formado como una lámina/revestimiento sobre una superficie de la placa de muestreo, donde se requieren los espacios de electrodo. Preferentemente, durante la producción, el material de electrodo conductor se puede colocar sobre un área de superficie en un lateral de la placa de muestreo que no tenga los espacios, y entonces, los espacios se pueden extirpar por láser para definir los electrodos.

La placa de muestreo se dispone, preferentemente, para conectarse eléctricamente de manera extraíble al aparato eléctrico, adaptado para suministrar la corriente de transmisión hacia los electrodos de transmisión y para tomar las mediciones a través de los electrodos de detección. En este sentido, preferentemente, cada uno de los electrodos de transmisión y cada uno de los electrodos de detección está en comunicación eléctrica con los contactos eléctricos respectivos proporcionados sobre la placa de muestreo, que están expuestos para conectarse eléctricamente de forma simultánea a una fuente de corriente de transmisión externa y a los circuitos de detección externos, respectivamente, de un aparato de este tipo.

Preferentemente, la anchura del espacio de detección es de más de aproximadamente 90 micrómetros y de menos de aproximadamente 160 micrómetros. Preferentemente, la anchura del espacio de división es aproximadamente 1,5 veces la anchura del espacio de detección. Una diferencia de potencial alterno se aplica preferentemente a través de un espacio entre dos electrodos diseñados para que la muestra que se está midiendo cree un puente entre ellos. Se ha descubierto que el dimensionamiento meticuloso del espacio de detección y del espacio de transmisión mejora enormemente la medición del hematocrito, y también permite medir la HbA1c. El tamaño del espacio es preferente y sustancialmente menor que el tamaño de un espacio entre los electrodos, que normalmente se emplea en los sistemas existentes diseñados para medir la glucosa en sangre. Preferentemente, el espacio de detección es más ancho que la anchura promedio de un eritrocito humano, pero menos ancho que la anchura promedio de dos células de este tipo.

Se postula, pero no se afirma, que el espacio de detección sirve para formar una matriz generalmente lineal de eritrocitos a lo largo de este, en el que la matriz, por lo general, es de la anchura de una célula (estando esta limitada por la anchura del espacio de detección), y que las partes del espacio de detección que no están ocupadas por eritrocitos están ocupadas por plasma sanguíneo. A determinadas frecuencias de señal eléctrica, el plasma sanguíneo, por lo habitual, es más conductor eléctrico que los eritrocitos. Mediante la aplicación de una tensión oscilante, los eritrocitos siguen siendo móviles (por ejemplo, oscilan) dentro del espacio y puede que no recubran uno u otro de los electrodos. El resultado puede ser que, dentro del espacio de detección, se conserve una matriz lineal definida de eritrocitos móviles dentro del plasma sanguíneo conductor. La proporción de eritrocitos dentro del espacio, con respecto a la cantidad de plasma sanguíneo dentro de este, influye en la cantidad de rutas conductoras de electricidad (a través del plasma, alrededor de los eritrocitos) disponibles para las corrientes aplicadas. Esta puede manifestarse en sí misma como un valor de impedancia eléctrica (por ejemplo, como resistencia, reactancia) determinado por un valor de hematocrito y/o por un valor de HbA1c, tal y como se ha observado.

La zona de muestras puede comprender un reactivo para que reaccione con la glucosa libre de la muestra líquida. Esto puede ocurrir cuando la placa de muestreo se utilice para medir un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la muestra líquida, como se describe más adelante. El reactivo puede ser un depósito formado sobre uno (por ejemplo, exclusivamente) de los electrodos de transmisión en la zona de muestras (por ejemplo, el que se usa como ánodo) para que una muestra del interior pueda acceder fácilmente a este. El depósito puede estar en forma de tinta o pasta. Los reactivos preferidos son oxidantes. De forma más preferida, son enzimas y, de forma especialmente preferida, son glucosa oxidasa (GOX) y glucosa deshidrogenasa (GDH). Donde no haya un reactivo de este tipo, la placa de muestreo se puede utilizar para medir el hematocrito, como se describe más adelante.

La placa de muestreo puede comprender otra zona de muestras que contenga un par de electrodos de transmisión,

como los descritos anteriormente, y un par de electrodos de detección, como también los descritos anteriormente. La zona de muestras adicional puede no contener ningún reactivo y estar pensada para utilizarse para medir el HCT de una muestra de sangre, mientras que la otra zona de muestras puede contener el reactivo y estar pensada para medir de forma simultánea o secuencial la HbA1c de la misma muestra.

5 Como alternativa, los terminales de electrodo de transmisión de la zona de muestras adicional pueden comprender únicamente un par de electrodos de transmisión que pueden exponer entre sí, a través de un hueco respectivo, laterales opuestos de electrodo que se extienden a lo largo de la zona de muestras. La zona de muestras adicional puede contener el reactivo y estar pensada para utilizarse en la medición de los niveles de glucosa en sangre en el  
10 plasma de una muestra de sangre. Estos laterales opuestos pueden definir entre ellos un espacio de transmisión para recibir una muestra en su interior. Este hueco puede definir un espacio que tenga preferentemente más de 200 micrómetros de anchura y que pueda tener de entre 200 y 400 micrómetros de anchura. Se ha descubierto que estas dimensiones son las convenientes para los electrodos en las zonas de muestreo que contienen el reactivo que reacciona con la glucosa libre de la muestra líquida, y para medir una corriente generada como respuesta a una  
15 tensión de transmisión continua (CC) aplicada en el espacio de transmisión. La corriente medida se puede utilizar para determinar la medición de la glucosa en el plasma sanguíneo de la muestra.

Los lados opuestos del par de electrodos de transmisión de la zona de muestras adicional pueden tener longitudes desiguales y pueden ser curvos. Un lado puede ser convexo y, el opuesto, recíprocamente cóncavo y de mayor  
20 longitud que el lado convexo. Preferentemente, el electrodo con el lado más largo se utiliza como el cátodo del par. Esto es conveniente en vista del tamaño mayor del espacio en cada par adicional de electrodos. Se ha descubierto que las corrientes eléctricas conducidas por aquellos espacios más amplios a través de una muestra de sangre son más propensas a disiparse en una dirección a lo largo del espacio, en lugar de fluir directamente por el espacio sin desviarse. Para captar mejor las cargas disipadas (corrientes) en la muestra de sangre, el electrodo hacia el que  
25 fluyen las cargas cuando se aplica una tensión continua (CC) entre los electrodos es el que tiene el borde más largo. El hueco del espacio de transmisión puede ser sustancialmente uniforme a lo largo de, al menos, parte de su longitud.

En uno de sus aspectos, la invención proporciona un aparato de muestreo como el que se define en las reivindicaciones del presente documento. Este se utiliza para llevar a cabo mediciones eléctricas en una muestra  
30 líquida que contiene sangre e incluye dos terminales de salida de corriente para emitir una señal de corriente alterna aplicada entre ellos, y una unidad de corriente alterna eléctrica en comunicación eléctrica con los dos terminales de salida de corriente, para así aplicar en estos una corriente alterna eléctrica de una amplitud y frecuencia determinadas cuando una muestra líquida esté conectada de forma eléctrica entre los dos terminales de salida de  
35 corriente.

El aparato de muestreo incluye una unidad de tensión en comunicación eléctrica con los dos terminales de salida de corriente para aplicar una diferencia de potencial eléctrico continuo (CC), que es sustancialmente constante (CC), de una magnitud determinada. Se proporciona un primer terminal de entrada de tensión que reciba una primera entrada  
40 externa de señal eléctrica y un segundo terminal de entrada de tensión diferente que reciba una segunda entrada externa de señal eléctrica cuando la muestra líquida esté en conexión eléctrica entre el primer y el segundo terminales de entrada de tensión. El aparato incluye uno o varios detectores de tensión para medir una primera tensión y una segunda tensión utilizando dichas primera y segunda señales eléctricas, respectivamente.

45 Hay dispuesta una unidad de control dentro del aparato de muestreo para controlar la unidad de corriente eléctrica y aplicar la corriente eléctrica alterna de frecuencia determinada y, simultáneamente, para controlar la unidad de tensión y el detector o detectores de tensión y medir la primera y segunda tensiones, en ambos casos, cuando se aplica la diferencia de potencial eléctrico continuo CC (por ejemplo, sustancialmente constante) y cuando no se aplica la diferencia de potencial eléctrico continuo CC.

50 Hay dispuesta una unidad de cálculo en el aparato de muestreo para calcular un primer valor de impedancia eléctrica (por ejemplo, reactancia) utilizando la primera y la segunda tensiones medidas cuando se aplica la diferencia de potencial eléctrico continuo CC (por ejemplo, sustancialmente constante) y para calcular un segundo valor de impedancia eléctrica (por ejemplo, reactancia) cuando no se aplique la diferencia de potencial eléctrico  
55 continuo CC.

La unidad de cálculo se dispone en el aparato de muestreo para generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la muestra líquida según el primer valor de reactancia eléctrica, el segundo valor de reactancia eléctrica y un valor que represente la concentración del volumen relativo de eritrocitos en la muestra  
60 líquida (hematocrito, HCT).

La unidad de cálculo se puede disponer para generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la sangre de una muestra según el primer valor de reactancia eléctrica, el segundo valor de reactancia eléctrica y un valor del volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito, HCT) según la siguiente  
65 fórmula, y esta almacena el resultado y/o envía el resultado al usuario:

$$HbA1c = 100x \left( 1 - \frac{X_1}{HCT \times X_2} \right).$$

El valor del hematocrito HCT puede ser un valor medido de forma coetánea, por ejemplo, medido usando una muestra de sangre en la placa de muestreo, o puede ser un valor predeterminado que sea generado de forma independiente a la unidad de muestreo.

5 La cantidad  $X_1$  se considera que representa la reactancia de una muestra de sangre debida a los eritrocitos glucosilados de la sangre del interior de la primera zona de muestreo de la que, con el reactivo, se ha oxidado sustancialmente la glucosa libre, mientras que  $X_2$  se considera que representa la reactancia de la muestra de sangre total en la que el plasma y los eritrocitos contienen glucosa. La proporción de dicha reactancia debido a los eritrocitos se considera que está representada por la expresión  $(HCT) \times (X_2)$  según el hematocrito de la muestra.

10 La frecuencia determinada presenta, preferentemente, un valor en el intervalo de 500 KHz a 1,5 MHz, por ejemplo, de aproximadamente 1 MHz. Más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 750 KHz a 1,25 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 850 KHz a 1,15 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 900 KHz a 1,1 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 970 KHz a 1,03 MHz. Se ha descubierto que una frecuencia de aproximadamente 1 MHz trabaja especialmente bien, y que también son convenientes las frecuencias razonablemente cercanas a este valor, aunque se ha descubierto que los intervalos comentados anteriormente son aceptables en cuanto a la precisión de la medición al implementar la invención. El valor de la tensión continua (CC) puede ser un valor en el intervalo de aproximadamente 0,01 voltios a aproximadamente 1,0 voltios, o preferentemente de aproximadamente 0,1 voltios a aproximadamente 0,5 voltios, o más preferentemente, de aproximadamente 0,2 voltios a aproximadamente 0,3 voltios, por ejemplo, de aproximadamente 0,25 voltios.

25 Se postula, aunque no se afirma, que la presencia de una tensión continua (CC) en el espacio de transmisión y, por tanto, en el espacio de detección, tiene el efecto de polarizar o alinear físicamente, en una dirección en común, todos aquellos eritrocitos que no están glucosilados, mientras que los eritrocitos glucosilados no se ven obligados a alinearse y no se ven afectados, en gran medida, por la tensión continua aplicada en la muestra. La consecuencia tiene mayor agudeza cuando se aplica una corriente alterna (CA) en la muestra de sangre al tiempo que se está sometiendo de forma simultánea a esta tensión CC. Se cree que el resultado es que los eritrocitos no glucosilados alineados por la tensión CC aplicada son mucho menos sensibles a la corriente CA aplicada de manera simultánea (es decir, son menos capaces de interactuar/oscilar de forma dinámica como respuesta a esta) que los eritrocitos glucosilados. El resultado es que la parte de la impedancia (por ejemplo, la reactancia) de la muestra de sangre que aparece de los eritrocitos no glucosilados cae drásticamente, dejando que los eritrocitos glucosilados dominen la impedancia de la muestra. La comparación de este valor de la impedancia con el valor de la impedancia de la misma muestra, pero medido cuando no se aplica tensión continua (CC) (y, por lo tanto, no se produce la alineación de las células no glucosiladas), facilita una vía para determinar la proporción de eritrocitos glucosilados en la muestra y, a partir de ello, una medición de la HbA1c.

40 De manera alternativa o adicional, la unidad de cálculo se puede disponer para generar un valor que represente el volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito) según los valores de impedancia eléctrica (por ejemplo, la resistencia y la reactancia) medidos de esa manera a partir de la muestra. La unidad de cálculo se puede disponer para generar un valor que represente la concentración de hemoglobina glucosilada en la muestra líquida según esto.

45 El aparato de muestreo se puede utilizar para la ejecución de mediciones eléctricas en una muestra líquida que contiene sangre, comprendiendo el aparato dos terminales de salida de corriente para emitir una señal de corriente alterna aplicada entre ellos, y una unidad de corriente eléctrica alterna en comunicación eléctrica con los dos terminales de salida de corriente, para así aplicar entre ellos una corriente eléctrica alterna de una amplitud y frecuencia determinadas, cuando una muestra líquida está en conexión eléctrica entre los dos terminales de salida de corriente.

50 Este aparato de muestreo puede incluir un primer terminal de entrada de tensión, para recibir una primera señal eléctrica introducida de manera externa en este, y segundo un terminal de entrada de tensión distinto, para recibir una segunda señal eléctrica introducida de manera externa en este, cuando dicha muestra líquida está en conexión eléctrica entre el primer y el segundo terminales de entrada de tensión, y un detector o detectores de tensión para medir una primera tensión y una segunda tensión utilizando dichas primera y segunda señales eléctricas, respectivamente.

60 Una unidad de control se puede disponer en este aparato de muestreo para controlar la unidad de corriente eléctrica para aplicar la corriente eléctrica alterna a una primera frecuencia y, simultáneamente, para controlar el detector o detectores de tensión para medir la primera y segunda tensiones, y para controlar, además, la unidad de corriente eléctrica para aplicar la corriente eléctrica alterna a una segunda frecuencia que sobrepase la primera frecuencia y, simultáneamente, para controlar el detector o detectores de tensión para medir la primera y segunda tensiones. La

primera frecuencia puede ser un valor (por ejemplo, 50 KHz) dentro de un primer intervalo continuo de valores de aproximadamente 1 KHz a aproximadamente 150 KHz. Más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 25 KHz a 125 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 35 KHz a 100 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 45 KHz a 75 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 47 KHz a 53 KHz. Se ha descubierto que una frecuencia de aproximadamente 50 KHz trabaja especialmente bien, y que también son convenientes las frecuencias razonablemente cercanas a este valor, aunque se ha descubierto que los intervalos comentados anteriormente son aceptables en cuanto a la precisión de la medición al implementar la invención.

La segunda frecuencia puede ser un valor (por ejemplo, 1 MHz) dentro de un segundo intervalo continuo de valores desde aproximadamente 500 KHz a aproximadamente 1,5 MHz. Más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 750 KHz a 1,25 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 850 KHz a 1,15 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 900 KHz a 1,1 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 970 KHz a 1,03 MHz. Se ha descubierto que una segunda frecuencia de aproximadamente 1 MHz trabaja especialmente bien, y que también son convenientes las frecuencias razonablemente cercanas a este valor, aunque se ha descubierto que los intervalos comentados anteriormente son aceptables en cuanto a la precisión de la medición al implementar la invención.

En general, el intervalo preferido de frecuencias, y la frecuencia preferente dentro de dicho intervalo, se ve influido, hasta cierto punto, por las consideraciones geométricas del proceso de muestreo. Los factores, como el tamaño del área de superficie de los elementos conductores/electrodos dentro de una zona de pruebas de una placa de muestreo con respecto al tamaño del área de superficie de las partes no conductoras/sin electrodos entre los electrodos, pueden influir en la posición y magnitud de los intervalos de frecuencia de señal de CA adecuados. Estas áreas de superficie pueden estar ubicadas, normalmente, dentro de un área de muestreo, pocillo o zona de una placa de muestreo que tenga un diámetro o anchura de entre aproximadamente 0,5 mm y 5 mm, o más preferentemente, de aproximadamente 1 mm y 3 mm, tal como de un diámetro o anchura de aproximadamente 1,6 mm. Estas dimensiones permiten un tamaño de muestra lo suficientemente grande como para realizar mediciones fiables, pero no proporcionan un tamaño de muestreo (o tamaño de placa de muestreo) que sea demasiado grande para estos fines, o para un uso práctico en general.

Este aparato de muestreo puede incluir una unidad de cálculo, dispuesta para calcular un primer valor de impedancia eléctrica (por ejemplo, la resistencia y/o reactancia) utilizando la primera y segunda tensiones medidas a la misma frecuencia, y un segundo valor de impedancia eléctrica (por ejemplo, la resistencia y/o reactancia) y un valor de reactancia, utilizando la primera y segunda tensiones medidas a la segunda frecuencia. La primera impedancia eléctrica puede ser un valor de resistencia ( $R_1$ , ohmios). La segunda impedancia puede comprender una parte resistiva ( $R_2$ , ohmios) y una parte reactiva ( $X_3$ , ohmios). La unidad de cálculo se puede disponer para generar un valor que represente el volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito, HCT) según el primer y segundo valores de resistencia eléctrica ( $R_1$ ,  $R_2$ ) y el valor de reactancia eléctrica ( $X_3$ ).

El aparato de muestreo se puede disponer para calcular el HCT según la siguiente ecuación:

$$HCT = \left[ A \ln \left( \frac{R_1}{R_2} \right) + B \ln (X_3 + X_0) - C \right].$$

Las cantidades A, B y C son preferentemente constantes asociadas a un diseño de placa de muestreo en uso. Por ejemplo, los valores de A, B y C pueden estar normalmente, cada uno, en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5, o preferentemente entre aproximadamente 0,1 y 0,25, o más preferentemente, entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 0,2. Por ejemplo, los electrodos de la lámina de muestreo pueden formarse a partir de un material conductor (por ejemplo, un metal como el oro) que tenga una resistencia de la lámina de 5 ohmios por cuadrado, pudiendo ser los valores en cuestión los siguientes: A=0,142; B=0,155; C=0,157. Se ha descubierto que el valor del concepto A se ve afectado por las propiedades eléctricas de los electrodos de la placa de muestreo (por ejemplo, de los terminales del electrodo de transmisión y/o de los terminales del electrodo de detección) dentro de la zona o zonas de muestreo. Las distintas propiedades, como la conductividad (por ejemplo, la resistencia de la lámina), las tensiones y corrientes eléctricas aplicadas en los electrodos de la zona o zonas de muestreo y la geometría (por ejemplo, anchuras) de los terminales del electrodo de transmisión y los terminales del electrodo de detección. Se ha descubierto que el valor del concepto B se ve afectado por la naturaleza de la interacción e interfaz entre la muestra de sangre y la superficie de la tira de muestreo en la zona de muestreo. Por ejemplo, la rugosidad de la superficie microscópica y la "capacidad de humectación" de la superficie afectan al valor de este concepto. De igual modo, el cociente de aspecto de los electrodos dentro de las zonas de muestreo (por ejemplo, la "altura" de la muestra de sangre en comparación con el área de las superficies de electrodo en la zona de muestreo sobre la que se dispone) puede afectar al valor de B (por tanto, la geometría tridimensional (por ejemplo, la profundidad) de la zona de muestreo juega un papel importante. Se ha descubierto que el concepto C se ve afectado por la geometría de la forma de la muestra determinada por la forma de la zona de muestreo, de forma similar a la influencia que tiene sobre el concepto B. Los electrodos pueden tener una resistencia de la lámina en el

intervalo de aproximadamente 2 ohmios por cuadrado a aproximadamente 15 ohmios por cuadrado.

Los valores reales, adaptados a una geometría determinada de la zona de muestreo y a la estructura y material de los electrodos, se pueden determinar mediante calibración periódica empleando muestras de sangre disponibles en el mercado con un HCT conocido, como será evidente para los expertos en la materia. El valor de  $X_0$  puede ser simplemente cero o puede ajustarse, si fuera necesario, para mejorar la precisión predictiva de la ecuación.

El aparato de muestreo se puede disponer para generar el valor que representa el volumen relativo de los eritrocitos en la muestra líquida /hematocrito), como se ha descrito anteriormente), y para generar el valor que representa la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en una muestra líquida, como se ha descrito anteriormente, usando dicho hematocrito.

El aparato de muestreo puede incluir la placa de muestreo descrita con anterioridad. Por ejemplo, cada uno de los dos electrodos de transmisión de la placa de muestreo pueden adaptarse para conectarse de forma eléctrica y simultánea a un respectivo de los dos terminales de salida de corriente. Además, cada uno de los dos electrodos de detección de la placa pueden estar adaptados para conectarse de forma eléctrica y simultánea a un respectivo del primer terminal de entrada de tensión y al segundo terminal de entrada de tensión, conectando así los dos electrodos de transmisión y los dos electrodos de detección al aparato de muestreo, de manera simultánea, para que exista la comunicación eléctrica entre ellos.

El aparato de muestreo (por ejemplo, el dispositivo de medición) puede utilizarse para llevar a cabo mediciones eléctricas en una muestra líquida que contiene sangre, comprendiendo el aparato: un primer terminal de salida, dispuesto para emitir una corriente eléctrica alterna (CA); y un segundo terminal de salida, dispuesto para emitir una tensión eléctrica continua aplicada en él (más preferentemente, una tensión sustancialmente constante (CC); y terminales de entrada de tensión (por ejemplo, dos), que reciben, cada uno, una señal de tensión eléctrica de entrada introducida de forma externa en ellos; y terminales de entrada de corriente (por ejemplo, dos), que reciben, cada uno, una señal de corriente eléctrica de entrada introducida de forma externa en ellos. El aparato puede incluir una unidad de control, dispuesta para aplicar una corriente eléctrica alterna en el primer terminal de salida y para medir, de forma simultánea, una primera tensión eléctrica en los terminales de entrada de tensión que surge de estos cuando la muestra líquida está conectada en serie eléctrica entre el primer terminal de salida y un terminal de entrada de corriente, y dispuesta para aplicar una tensión continua (más preferentemente, una tensión eléctrica sustancialmente constante (CC)) en el segundo terminal de salida y, de forma simultánea, para medir una segunda corriente eléctrica en un terminal de entrada de corriente que surge de este cuando una muestra líquida está conectada en serie eléctrica entre el segundo terminal de salida y un terminal de entrada de corriente. Se puede disponer una unidad de cálculo del aparato para calcular la resistencia eléctrica y/o los valores de reactancia de la muestra utilizando un valor de la primera corriente eléctrica y un valor de la primera tensión medida de forma simultánea, y disponerse para calcular un primer valor calculado que representa el volumen relativo de los eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito) según la resistencia eléctrica y/o los valores de reactancia calculados; y para calcular un segundo valor calculado que representa una cantidad de glucosa en la muestra líquida según el primer valor calculado y la segunda corriente eléctrica medida, y para emitir el resultado. La segunda corriente eléctrica medida se puede medir al tiempo que se aplica la tensión continua (CC) en una zona de muestras de una placa de muestreo, que contiene un depósito de reactivo que reacciona con la glucosa libre de una muestra de sangre cuando se aplica, para utilizarla en la medición de un primer valor de los niveles de glucosa en sangre en la muestra de sangre, cuando haya. La corriente alterna se puede aplicar en una zona de muestras que no tenga dicho reactivo y para utilizarla en la medición del hematocrito de una muestra de sangre, cuando haya. El valor del hematocrito se puede utilizar para mejorar el primer valor de los niveles de glucosa en sangre en una muestra de sangre.

En un aspecto, la invención proporciona un método de medición de la muestra como el definido en las reivindicaciones del presente documento. El método puede realizar mediciones eléctricas en una muestra líquida que contiene sangre, comprendiendo el método la recepción de la muestra líquida sobre una placa de muestras que comprende terminales de electrodo que están separados por un hueco, adaptado para que la sangre de la muestra líquida cree un puente en este, y que comprenden un reactivo que reacciona con la glucosa libre de la muestra líquida, y la aplicación en los electrodos de una corriente alterna eléctrica que tiene una frecuencia determinada para generar una primera diferencia de potencial en el hueco entre los terminales de electrodo. El método incluye, también, aplicar entre los terminales de electrodo una diferencia de potencial eléctrico sustancialmente constante (CC) de una magnitud determinada, y determinar un valor de una primera reactancia eléctrica de la muestra líquida que crea un puente en dicho hueco durante dicha frecuencia determinada, y después, eliminar la diferencia de potencial eléctrico sustancialmente constante (CC) de entre los dos terminales de electrodo. El método incluye aplicar en los electrodos la corriente eléctrica alterna que tiene la frecuencia determinada, sin el potencial CC aplicado, para generar una segunda diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo, y determinar un valor de una segunda reactancia eléctrica de la muestra líquida que crea un puente en el hueco durante la frecuencia determinada. El método incluye generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la sangre de una muestra según el primer valor de reactancia eléctrica, el segundo valor de reactancia eléctrica y un valor del volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito). La frecuencia determinada presenta, preferentemente, un valor en el intervalo de 500 KHz a 1,5 MHz, por ejemplo, de aproximadamente 1 MHz. Más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de

750 KHz a 1,25 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 850 KHz a 1,15 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 900 KHz a 1,1 MHz, aún más preferentemente, la frecuencia determinada presenta un valor en el intervalo de 970 KHz a 1,03 MHz.

5 En un ejemplo, un método de medición de muestras comprende recibir la muestra líquida sobre una placa de muestras que comprende los terminales de electrodo que están separados por un hueco, que está adaptado para que sangre de la muestra líquida cree un puente entre ellos, y aplicar en los electrodos una corriente eléctrica alterna que tiene una primera señal de frecuencia, para así generar una primera diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo. Este método puede incluir determinar un valor de una primera resistencia eléctrica de la muestra líquida que crea el puente en el hueco durante la primera frecuencia de señal. El método puede incluir aplicar en los electrodos una corriente eléctrica alterna que tiene una segunda frecuencia de señal, que sobrepasa la primera frecuencia de señal, para generar una segunda diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo, y determinar un valor de una segunda resistencia eléctrica y un valor de una reactancia de la muestra líquida que crea un puente en el hueco durante la segunda frecuencia de señal. Este método puede incluir generar un valor del volumen relativo de eritrocitos (hematocrito) de la muestra líquida según el primer valor de impedancia eléctrica y el segundo valor de impedancia eléctrica. La primera frecuencia presenta, preferentemente, un valor en el intervalo de 1 KHz a 150 KHz, por ejemplo, de aproximadamente 50 KHz. Más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 25 KHz a 125 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 35 KHz a 100 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 45 KHz a 75 KHz, aún más preferentemente, la primera frecuencia presenta un valor en el intervalo de 47 KHz a 53 KHz. La segunda frecuencia presenta, preferentemente, un valor en el intervalo de 500 KHz a 1,5 MHz, por ejemplo, de aproximadamente 1 MHz. Más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 750 KHz a 1,25 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 850 KHz a 1,15 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 900 KHz a 1,1 MHz, aún más preferentemente, la segunda frecuencia presenta un valor en el intervalo de 970 KHz a 1,03 MHz.

30 El método puede comprender generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) de la sangre de la muestra utilizando el valor que representa el volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito), generado según el método anterior.

35 Para ilustrar mejor la invención, a continuación, se incorporan ejemplos no limitantes de las realizaciones de la invención con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 ilustra esquemáticamente una placa de muestreo conectada a una unidad de muestreo;

la figura 2 ilustra los terminales de electrodo de la placa de muestreo con mayor detalle;

40 la figura 3 ilustra la placa de muestreo aislada, en forma de tira de muestreo desechable;

la figura 4 ilustra esquemáticamente una placa de muestreo y un aparato de muestreo según otra realización de la invención, que comprende dos zonas de muestras y grupos de electrodos;

45 la figura 5 ilustra esquemáticamente diagramas de circuito equivalentes;

la figura 6 muestra esquemáticamente una placa de muestreo y una unidad de muestreo que contiene un ASIC, que comprende componentes de circuito adaptados para implementar la generación y recepción de señales en y desde una placa de muestreo;

50 la figura 7 muestra esquemáticamente una placa de muestreo y una unidad de muestreo que contiene un ASIC, que comprende componentes de circuito adaptados para implementar la generación y recepción de señales en y desde una placa de muestreo.

55 En los dibujos, los elementos similares tienen símbolos de referencia similares.

60 La figura 1 muestra una placa de muestreo (1) en forma de tira de material firme y no conductor (por ejemplo, plástico) que presenta una zona de muestras circular (2), definida por un rebaje circular formado en el interior de la tira, que recibe una muestra de sangre líquida. Dentro de la zona de muestras hay cuatro terminales de electrodo (3, 4, 5, 6) formados sobre una superficie de la placa, que forman la base de la zona de muestras y que están expuestos para hacer contacto con una muestra recibida. Los terminales de electrodo comprenden, cada uno, una capa de material conductor inerte, preferentemente oro.

65 Los cuatro terminales de electrodo comprenden dos terminales de electrodo de transmisión (3, 4), cada uno de los cuales tiene forma de segmento circular, cuyo borde curvado coincide con una parte del borde circular de la zona de muestras circular. El borde recto del segmento de cada uno de los dos terminales de electrodo de transmisión es

paralelo a y se opone al borde recto de segmento del otro de los dos terminales de electrodo de transmisión, para definir entre ellos un espacio de transmisión alargado y recto con una anchura uniforme en la zona de muestras, a través del cual los terminales de electrodo de transmisión se oponen entre sí y a través del cual se transmite la corriente de transmisión, tal y como se explica con mayor detalle más abajo.

5 Dentro del espacio de transmisión alargado se extienden dos terminales de electrodo de detección (5, 6) rectos y paralelos de dos tiras separadas entre sí por un espacio de detección con anchura uniforme, definido por la separación entre los bordes laterales opuestos de cada tira. Los bordes opuestos de los dos electrodos de detección son sustancialmente paralelos a cada borde de segmento recto de cada uno de los dos terminales de electrodo de transmisión. Además, el borde de segmento recto de cada uno de los dos terminales de electrodo de transmisión (3, 4) se opone a un borde recto y paralelo correspondiente de un terminal de electrodo de detección (6, 5) adyacente, para así definir entre ellos un espacio de división sustancialmente recto y alargado que se extiende a lo largo de la zona de muestras, en paralelo al espacio de detección. De esta manera, los dos electrodos de detección definen un espacio de detección recto y uniforme de las partes de recepción de la muestra de sangre dentro de la zona de muestreo, y los dos terminales de electrodo de transmisión definen, junto con los terminales de electrodo de detección contiguos, dos espacios de división a cada lado de los electrodos de detección, que son paralelos entre sí y con respecto al espacio de detección, y que separan los terminales de electrodo de detección de los terminales de electrodo de transmisión dentro de la zona de detección.

20 La anchura del espacio de detección es, preferentemente, de entre aproximadamente 90 micrómetros y aproximadamente 150 micrómetros, por ejemplo, de aproximadamente 100 micrómetros, y está dimensionado para recibir, en cualquier punto a lo largo del espacio de detección, una sola célula sanguínea humana sin permitir que esa célula sanguínea cree un puente en el espacio y, simultáneamente, haga contacto con los dos electrodos de detección que definen el espacio de detección. En cambio, el espacio está dimensionado para permitir que un área de célula sanguínea oscile en el espacio entre los electrodos de detección opuestos, como respuesta a una corriente alterna conducida transversalmente a través del espacio de detección entre los dos terminales de electrodo de transmisión (3, 4). De esta manera, se puede disponer una fila de células sanguíneas a lo largo del espacio de detección cuando una muestra de sangre líquida sea recibida dentro de la zona de detección, y se pueden someter a una corriente de transmisión alterna dirigida de manera transversal (por ejemplo, sustancialmente perpendicular) a la fila de células.

35 Se ha descubierto que esta geometría, y la matriz lineal de células sanguíneas individuales que permite en uso, proporcionan un medio sorprendentemente preciso y estable para medir, no solo los valores del hematocrito (HCT) de la muestra de sangre, sino que también se ha descubierto que permiten medir con exactitud la concentración de glucohemoglobina en la muestra de sangre (es decir, el denominado nivel de glucosa "fijo" de las células sanguíneas, o el denominado valor HbA1c). Se ha descubierto que determinar de manera precisa el primero es importante para permitir determinar de manera exacta la segunda, es decir: es necesario saber cuánta cantidad de célula son eritrocitos para poder determinar la cantidad de glucosa fija que portan. La presente invención podría implementarse para determinarlas de manera simultánea o secuencial con fiabilidad y precisión.

40 La anchura de cada uno de los espacios de división paralelos, a cada lado de los terminales del electrodo de detección, es preferentemente de alrededor de 1,5 veces el valor de la anchura del espacio de detección. De nuevo, esta dimensión del espacio y la disposición paralela de las células sanguíneas que permiten los espacios de división, se ha descubierto que ayuda a dotar de precisión y estabilidad.

45 Cada uno de los terminales de electrodo dentro de la zona de muestreo está conectado de forma eléctrica a una línea conductora de electricidad respectiva, formada en el interior del cuerpo de la placa de detección, para así quedar aislado eléctricamente a lo largo de su longitud hasta terminar en una zona de contacto eléctrica expuesta en un extremo o lado de la placa de muestreo, distal a la zona de muestras. Por ejemplo, el primer terminal de electrodo de transmisión (3) está conectado eléctricamente a una primera zona de contacto de transmisión (14) a través de una primera tira conductora de electricidad (10) (por ejemplo, de oro). El primer terminal de electrodo de detección (6) está conectado eléctricamente a una primera zona de contacto de detección (13) a través de una segunda tira conductora de electricidad (9) (por ejemplo, de oro). De manera similar, el segundo terminal de electrodo de detección (5) está conectado eléctricamente a una segunda zona de contacto de detección (12) a través de una tercera tira conductora de electricidad (8) (por ejemplo, de oro). Finalmente, el segundo terminal de electrodo de transmisión (4) está conectado eléctricamente a una segunda zona de contacto de transmisión (11) a través de una cuarta tira conductora de electricidad (7) (por ejemplo, de oro).

60 Estas cuatro zonas de contacto se organizan en una línea a lo largo de un borde de la placa de detección, en el extremo distal de la tira, para permitir que el extremo de la tira sea insertado en una toma/puerto eléctrico de una unidad de detección de electricidad (15), para así hacer que cada una de las cuatro zonas de contacto estén en conexión eléctrica simultánea con uno respectivo de los cuatro terminales de contacto eléctrico (16, 17, 19, 20) de la unidad de detección.

65 La unidad de detección puede ser un mando o un aparato más grande del equipo. La unidad de detección comprende una fuente de corriente alterna (18), dispuesta para generar una corriente eléctrica alterna con una

amplitud y frecuencia seleccionadas, y aplica la corriente alterna en un primer y segundo terminales de contacto de detección (16, 17) para aplicarla en los terminales de electrodo de transmisión (3, 4) como corriente de transmisión, a través de la primera y segunda zonas de contacto de transmisión de la placa de detección. Una unidad de procesador de control (23) está conectada de forma operativa a la fuente de corriente (18) para controlar la frecuencia de la señal de corriente generada. Por ejemplo, el procesador de control puede controlar la frecuencia de la señal de corriente para que sea un valor (por ejemplo, 50 KHz) que se encuentre en un intervalo continuo de valores, desde aproximadamente 1 KHz a aproximadamente los 150 KHz, o para que sea un valor (por ejemplo, 1 MHz) que se encuentre en un segundo intervalo continuo de valores, desde aproximadamente 500 KHz hasta aproximadamente 1,5 MHz. El procesador de control está dispuesto para conmutar selectivamente el valor de la frecuencia desde un primer valor que se encuentra en el primer intervalo hasta un segundo valor que se encuentra en el segundo intervalo.

Una unidad de detector (21) está conectada de forma eléctrica a un primer y segundo terminales de contacto (19, 20) para recibir señales de tensión desde el primer y segundo electrodos de detección (6, 5) a través de la primera y segunda zonas de contacto de la placa de detección.

El procesador de control (23) está dispuesto para controlar que el generador de corriente eléctrica aplique una corriente eléctrica alterna a una primera frecuencia (seleccionada del interior del primer intervalo de valores) y, de forma simultánea, para controlar que el detector de tensión (21) mida una primera señal de tensión recibida a través del primer electrodo de detección, y que mida una segunda señal de tensión recibida a través del segundo electrodo de detección.

Posteriormente, el procesador de control controla, además, que el generador de corriente eléctrica aplique una corriente eléctrica alterna a una segunda frecuencia que sobrepase la primera frecuencia (seleccionada del segundo intervalo de frecuencias) y, de forma simultánea, controla que el detector de tensión (21) mida un tercer y cuarto valores de tensión, recibidos desde el primer y segundo electrodos de detección, respectivamente.

El procesador de control está dispuesto para calcular un primer valor de resistencia eléctrica ( $R_1$ , ohmios) utilizando una amplitud de la diferencia de tensión entre la primera y segunda tensiones, medidas a la primera frecuencia, y la amplitud de la corriente alterna aplicada asociada, y para calcular un valor de impedancia eléctrica ( $Z_2=R_2+jX_3$ , ohmios) utilizando una amplitud de la diferencia de tensión entre la tercera y cuarta tensiones, medidas a la segunda frecuencia, y la amplitud de la corriente alterna aplicada asociada. Aquí, R representa un componente resistivo de impedancia y X representa un componente reactivo de impedancia. La cantidad  $j = \sqrt{-1}$ .

Utilizando estos dos valores de impedancia, el procesador de control está dispuesto para generar un valor (HCT) que represente el volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito) según la siguiente ecuación.

$$HCT = \left[ A \ln \left( \frac{R_1}{R_2} \right) + B \ln(X_3 + X_0) - C \right]$$

Esta ecuación se comenta con mayor detalle más adelante (ecuación (3)). Mediante calibración y experimentación periódica, como es evidente para los expertos en la materia, se pueden determinar los valores de las constantes A, B, C y  $X_0$  para un espacio de detección y/o anchura de espacio de división determinados, y el material/estructura del electrodo para una placa de detección determinada. Se apreciará que los valores del HCT de las muestras de sangre calibradas se pueden obtener a través de otros métodos conocidos que posibiliten dicha calibración. Con el uso de este método, se descubre que la desviación típica de los valores de HCT estimados, cuando se compara frente al método de microhematocrito conocido, es de menos del 1,5 % cuando se mide el HCT en el intervalo del 20 al 60 %.

En una versión modificada de la realización de la figura 1, un electrodo de transmisión (4) de los electrodos de la zona de muestreo (2) puede tener un depósito de una enzima (por ejemplo, glucosa oxidasa, glucosa deshidrogenasa) que reaccione con la glucosa libre del componente plasmático de la muestra de sangre, para oxidarla sustancialmente. En dicho caso, el procesador de control está dispuesto para controlar que el generador de corriente eléctrica aplique una corriente eléctrica alterna a una primera frecuencia (seleccionada del segundo intervalo de valores), aplicándose una compensación de tensión CC (por ejemplo, de aproximadamente 0,25 voltios) en los electrodos de transmisión (3, 4), y para controlar, de forma simultánea, que el detector de tensión (21) mida una primera señal de tensión recibida a través del primer electrodo de detección y que mida una segunda señal de tensión recibida a través del segundo electrodo de detección. Posteriormente, el procesador de control controla, además, que el generador de corriente eléctrica aplique una corriente eléctrica alterna a la misma primera frecuencia (seleccionada del segundo intervalo de frecuencias), sin aplicar una compensación de tensión CC en los electrodos de transmisión, y controla, de forma simultánea, que el detector de tensión (21) mida un tercer y cuarto valores de señal de tensión recibidos desde el primer y segundo electrodos de detección, respectivamente.

El procesador de control está dispuesto para calcular un primer valor de reactancia eléctrica ( $X_1$ , ohmios) utilizando una amplitud de la diferencia de tensión entre la primera y segunda tensiones, medidas a la primera frecuencia, y la

amplitud de la corriente alterna aplicada asociada, y para calcular un segundo valor de reactancia eléctrica ( $X_2$ , ohmios) utilizando una amplitud de la diferencia de tensión entre la tercera y cuarta tensiones, medidas a la segunda frecuencia, y la amplitud de la corriente alterna aplicada asociada.

- 5 Después, el procesador de control calcula un valor (HbA1c) que representa la concentración de glucohemoglobina en la muestra de sangre según la siguiente ecuación.

$$HbA1c = 100x \left( 1 - \frac{X_1}{HCT \times X_2} \right).$$

- 10 Donde HCT es un valor de hematocrito predeterminado de la muestra de sangre obtenida de forma independiente, por ejemplo, según la invención, o de otra manera.

- 15 Se ha descubierto que este método proporciona un resultado de medición de la HbA1c con una precisión de  $\pm 10\%$  o más en 20 segundos. La concentración de HbA1c depende de la concentración de glucosa en sangre y del período de vida del eritrocito (la célula de la hemoglobina). Debido a que los eritrocitos están en circulación durante, aproximadamente 120 días, la HbA1c representa la concentración de glucosa integrada durante las siguientes 8 a 10 semanas, por lo que queda libre de las grandes fluctuaciones que se producen a diario en las concentraciones de glucosa en sangre en el plasma sanguíneo.

- 20 Antes de que se realice la medición de una muestra de sangre, se determina la temperatura de la placa de muestreo. Esto se puede realizar mediante cualquier medio adecuado, como será evidente para y sabrán los expertos en la materia. Preferentemente, la temperatura de la placa de muestreo puede determinarse mediante un termopar montado en el conector del puerto de tira. Para mejorar adicionalmente la precisión, la temperatura de la muestra debería mantenerse, preferentemente, a  $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 1,5\text{ }^\circ\text{C}$ . Esto se podría lograr, por ejemplo, mediante un control de la temperatura ambiente del área en la que se almacenan o utilizan las placas de muestreo, o mediante un calentador (por ejemplo, traceado eléctrico, alambre/tira de calentamiento óhmico, etc., no mostrado) formado en la tira que se puede conectar de manera eléctrica a una fuente de alimentación dentro de la unidad de detección (15, figura 1) para calentar de manera controlada la placa de muestreo. También se puede formar un termopar (no mostrado) en el interior/sobre la placa de muestreo, que está dispuesto, así mismo, para ser alimentado por la unidad de muestreo cuando la placa de muestreo se conecte a esta durante el uso. Este se puede emplear para regular el calentador (si hubiera) y/o simplemente para permitir que la unidad de muestreo determine la temperatura de la placa de muestreo.

- 25 Se resalta el hecho de que ambos componentes del valor de impedancia ( $Z_2$ ), el reactivo ( $X_3$ ) y el resistivo ( $R_2$ ), se emplean en estas ecuaciones cuando se utilizan las señales de CA de mayor frecuencia, mientras que solo se utilizará el componente resistivo ( $R_1$ ) en frecuencias de señal más reducidas. Esto se deriva de la consideración de las vías de corriente eléctrica, que se puede considerar que fluyen por las matrices lineales de sangre de la muestra recibida dentro de los espacios de muestreo y división de la zona de muestras tal y como se expresa a continuación.

- 40 La figura 5 ilustra un circuito equivalente que representa lo que se postula que son las rutas conductoras de la corriente eléctrica transmitida a través de una muestra de sangre, entre los electrodos de transmisión de la placa de muestreo. Aunque no se afirma, esto se postula porque es útil para la comprensión.

- 45 Una primera ruta de corriente (100) pasa la corriente por la línea de las células de sangre (101) del interior del espacio de detección, a través del plasma sanguíneo (102) u otro líquido añadido entre las células sanguíneas. Esta ruta conductora se puede considerar de naturaleza puramente resistiva. Una segunda ruta conductora (103) pasa a través de una célula sanguínea (104). La ruta a través de los contenidos de la célula sanguínea (por ejemplo, la glucosa) se puede considerar resistiva, mientras que la ruta a través de las paredes de la célula sanguínea se puede considerar capacitiva.

- 50 Estas dos rutas de corriente actúan en paralelo y presentan una impedancia eléctrica ( $Z$ ) que se puede aproximar de la siguiente manera.

$$Z = R + jX = R_a \left\{ \frac{1 + \omega^2 C_b^2 R_b (R_b + R_a) - j\omega C_b R_a}{1 + \omega^2 C_b^2 (R_b + R_a)^2} \right\}$$

- 55 Donde  $R_a$  es la resistencia del plasma,  $R_b$  es la resistencia de los contenidos de la célula sanguínea, incluyendo la glucosa, y  $C_b$  es la capacitancia de la célula sanguínea, donde  $j = \sqrt{-1}$ .

- 60 A frecuencias suficientemente bajas, la impedancia reactiva de la célula sanguínea, que aparece de la capacitancia de la célula sanguínea, es muy alta e impide el flujo de corriente a través de la célula. Sustancialmente, solo está disponible la primera ruta de corriente (a través del plasma). A frecuencias suficientemente altas, la impedancia reactiva de la célula sanguínea cae y la segunda ruta de corriente se vuelve cada vez más significativa. La segunda ruta hace que la resistencia del contenido de una célula sanguínea influya en el valor de la impedancia  $Z$ , así como

la influencia restante del plasma debido a la primera ruta de corriente restante. De esta manera, el empleo de los componentes de impedancia de una muestra sanguínea tanto en frecuencias bajas como en altas permite sondear la influencia de los contenidos de la célula sanguínea.

- 5 Se ha descubierto que la presencia de glucosa dentro de una célula sanguínea tiene un efecto que puede medirse durante la fase en la que la señal de corriente eléctrica pasa a través de la muestra. Se postula que esto puede deberse a que la presencia de glucosa dentro de la célula sanguínea aumenta el número de electrones disponible que puede reaccionar frente a la señal de transmisión oscilante, mejorando así el flujo de corriente a través de la célula. Esto influye en la fase en la que la corriente pasa a través de la muestra. Se puede considerar que la presencia de glucosa en la célula influye en la resistencia  $R_b$  de los contenidos celulares, según el modelo de circuito equivalente. La fase de una tensión detectada en la muestra de sangre en dichas circunstancias podría representarse así:

$$Fase = \arccot\left(\frac{X}{R}\right) = \arccot\left(\frac{\omega C_b R_a}{1 + \omega^2 C_b^2 R_b (R_b + R_a)}\right)$$

- 15 Se puede observar que el ángulo de fase se ve influido por  $R_b$ , la resistencia de los contenidos celulares. De esta manera, se postula que esto puede formar parte del origen de la relación entre la fase de una señal de transmisión eléctrica dentro de la muestra y la cantidad de glucosa dentro de las células sanguíneas (es decir, relacionada con la HbA1c).
- 20 La figura 2 ilustra una vista en primer plano de los terminales de electrodo (3, 4, 5 y 6) de las figuras 1, 3 y 4. La figura indica una anchura del espacio de detección y anchuras del espacio de división apropiadas a cada lado del espacio de detección. Un espacio de detección de 100 micrómetros con una anchura uniforme es apropiado. Las anchuras de división de 150 micrómetros también son adecuadas. Cada terminal de electrodo de detección dentro del espacio de transmisión, entre los dos terminales de electrodo de transmisión (3, 4) es una tira plana y con bordes rectos de oro, que tiene una anchura sustancialmente uniforme de 200 micrómetros. Esto deriva en una anchura del espacio de transmisión de 800 micrómetros. De manera similar, cada terminal de electrodo de transmisión es un segmento plano de oro.

- 30 La figura 3 ilustra una realización de una placa de detección de la figura 1 en forma de tira desechable (1). La estructura del electrodo y el conductor de la tira desechable es la descrita anteriormente con referencia a la figura 1. Así mismo, el extremo de la tira que contiene los terminales de electrodo de transmisión y detección (3, 4, 5 y 6) comprende una zona de muestras (2) para recibir la muestra sanguínea, rodeada por un cuerpo poroso (27) que está en comunicación fluida con la zona de muestras, en donde el cuerpo poroso está dispuesto para recibir el aire que se desplaza desde la zona de muestras a medida que la muestra de sangre líquida es recibida en la zona de muestras.

- 35 La expresión "en comunicación fluida con" puede significar "estar interconectado/a", donde "estar interconectado/a" significa compartir un límite común. Preferentemente, "en comunicación fluida con" se refiere a donde el cuerpo poroso es adyacente a la zona de muestras. El cuerpo poroso puede definir la base de la zona de muestras y/o la pared o paredes de la zona de muestras. El cuerpo poroso puede rodear la zona de muestras. Preferentemente, el cuerpo poroso define la zona de muestras o define un límite exterior de la zona de muestras. Preferentemente, el cuerpo poroso define el perímetro de la zona de muestras o, al menos, parte del perímetro de la zona de muestras. Preferentemente, el cuerpo poroso es externo a la propia zona de muestras. Preferentemente, la zona de muestras no tiene cuerpo poroso.

- 45 Preferentemente, el cuerpo poroso está dispuesto para recibir el aire desplazado a medida que la muestra líquida se aproxima al cuerpo poroso. Preferentemente, el cuerpo poroso está dispuesto para recibir el aire desplazado en la misma dirección hacia la que discurre (o se propaga) la muestra líquida hacia el interior de la zona de muestras. Preferentemente, el cuerpo poroso está dispuesto para recibir un desplazamiento lateral del aire a medida que la muestra líquida se aproxima al cuerpo poroso de forma lateral. Preferentemente, la zona de muestras está dispuesta para impedir el reflujo de la muestra líquida.

- 50 Una ventaja de esta disposición es que el cuerpo poroso ayuda a que la muestra líquida fluya hacia la zona de muestras con la mínima resistencia al aire, proporcionando un medio mediante el cual el aire se puede desplazar directamente (preferentemente, en la misma dirección en la que la muestra líquida entra en la zona de muestras). Esto permite que la muestra líquida entre en la zona de muestras con una mayor velocidad. En cambio, cuando no existe dicho cuerpo poroso, la resistencia al aire retarda el flujo de la muestra líquida hacia el interior de la zona de muestras.

- 60 Otra ventaja de la disposición es que el cuerpo poroso ayuda a que la muestra líquida se propague uniformemente por la zona de muestras, proporcionando así una mayor consistencia de muestreo y, en consecuencia, unas mediciones de mayor precisión. En cambio, cuando no existe dicho cuerpo poroso, la resistencia al aire afecta a la dinámica de fluidos de la muestra líquida empeorando la propagación (resistencia al aire desde todos los lados) y, en su lugar, haciendo que la muestra líquida se quede acumulada como una masa (con la ayuda de la tensión

- superficial). Así, la muestra líquida tiende a fluir como una masa en una sola dirección ya que, de esta manera, la masa vence la resistencia al aire en esa dirección en particular. Otra ventaja es que se mitiga la formación de bolsas de aire, lo que también permite una mejor propagación y unas mediciones más precisas. La muestra líquida es preferentemente hidrófila, más preferentemente es de base acuosa, y más preferentemente es sangre. En este caso, se pueden medir los niveles de glucosa en sangre del paciente diabético. El cuerpo poroso es preferente y sustancialmente impermeable a la muestra líquida. El cuerpo poroso es preferente y sustancialmente impermeable al agua. El cuerpo poroso es preferente y sustancialmente impermeable a una muestra líquida acuosa, y más preferente y sustancialmente impermeable a la sangre.
- El cuerpo poroso está preferente y sustancialmente ubicado alrededor del perímetro de la zona de muestras. Preferentemente, la base de la zona de muestras no tiene cuerpo poroso. Preferentemente, la zona de muestras no tiene parte superior. Cuando la zona de muestras comprende parte superior, esta parte superior no tiene, preferentemente, cuerpo poroso. El cuerpo poroso preferentemente comprende material hidrófobo. Preferentemente, el cuerpo poroso comprende al menos un 50 % en peso, más preferentemente, al menos un 70 % en peso, y más preferentemente al menos un 90 % en peso de material hidrófobo. El cuerpo poroso tiene, preferentemente, un tamaño de poro promedio de entre 10 a 300 micrómetros, preferentemente de entre 50 y 200 micrómetros, y más preferentemente de entre 100 y 150 micrómetros. El cuerpo poroso comprende, preferentemente, una malla porosa, que también es preferentemente hidrófoba en general. Dicha malla porosa comprende, preferentemente, poliéter éter cetona (PEEK), polipropileno (PP), poliéster (PET), fluoruro de polivinilideno (PVDF), clorotrifluoroetileno de etileno (ECTFE), etileno-co-tetrafluoroetileno (ETFE), nailon (poliamida) o etileno-propileno fluorado (FEP). La malla porosa comprende, preferentemente, poliéster (PET). Más preferentemente, la malla porosa comprende Sefar 07-120/34.
- Por consiguiente, cuando la zona de muestras (2) tiene parte superior, se puede acceder a la zona de muestras a través de un puerto de entrada (25) en el que se puede colocar una muestra de sangre (26). Por acción capilar, la muestra de sangre es atraída a través del cuerpo de entrada y hacia el interior de la zona de muestras, desplazando el aire hacia el cuerpo poroso (27), cuando lo hace, para finalmente ocupar la zona de muestras que cubre los terminales de electrodo de transmisión y detección que hay ahí. La parte superior es una estructura transpirable creada por debajo de una fina película de polímero que cubre la zona de muestras. Normalmente, la capa porosa es una malla hecha con hebras de polímero que están revestidas para crear una barrera hidrófoba frente a la sangre a medida que fluye hacia la zona de muestras. Un corte de forma geométrica en la malla define la zona de muestras y el puerto de entrada, que permite que la muestra llene la zona de muestras por la acción capilar creada por la fina película superior.
- La figura 4 ilustra otra realización de la invención, en la que una placa de muestreo (30) comprende dos conjuntos (31, 32) de disposiciones sustancialmente idénticas de electrodo de transmisión y detección, que tienen, cada una, una estructura sustancialmente idéntica a la estructura de electrodo y conductor descrita anteriormente con referencia a las figuras 1 a 3. En particular, el primer grupo de electrodos (31) comprende un par de los terminales de electrodo de transmisión (3a, 4a) comentados anteriormente, ubicados en el interior de una primera zona de muestras (2a) de la placa de muestreo. Un par de los terminales de electrodo de detección (5a, 6a) comentados anteriormente se extiende en paralelo a lo largo del espacio de transmisión formado entre los dos electrodos de transmisión. Una respectiva de las cuatro tiras conductoras (7a, 8a, 9a, 10a) conecta de forma eléctrica un terminal de transmisión o terminal de electrodo de detección con una respectiva de las cuatro zonas de contacto distintas (11a, 12a, 13a, 14a) dispuestas a lo largo del borde distal de la tira. Un segundo grupo de electrodos (32) comprende un par de los terminales de electrodo de transmisión (3a, 4a) comentados anteriormente, ubicados en el interior de una segunda zona de muestras (2a) de la placa de muestreo. Un par de los terminales de electrodo de detección (5a, 6a) comentados anteriormente se extiende en paralelo a lo largo del espacio de transmisión formado entre los dos electrodos de transmisión. Una respectiva de las cuatro tiras conductoras (7b, 8b, 9b, 10b) conecta de forma eléctrica un terminal de transmisión o terminal de electrodo de detección con una respectiva de las cuatro zonas de contacto distintas (11b, 12b, 13b, 14) dispuestas a lo largo del borde distal de la tira. Por consiguiente, hay ocho zonas de contacto, organizadas a lo largo del borde distal de la tira de muestreo, para insertarlas en una toma/puerto de una unidad de detección eléctrica (42), para conectar de forma eléctrica cada una de las ocho zonas de contacto, de forma simultánea, con uno respectivo de los ocho terminales de contacto eléctrico de la unidad de detección.
- La primera y segunda zona de muestras (2a, 2b) de la placa de muestreo están comunicadas con un puerto de entrada de muestras (35) individual y en común a través de uno respectivo de los dos conductos de muestras (36, 37) que se bifurcan desde el puerto de entrada y que se comunican con una zona de muestras determinada. Las dos zonas de muestras (2a, 2b) están, cada una, rodeadas por un cuerpo poroso (27), como el descrito anteriormente, que está en comunicación fluida con cada una de las zonas de muestras, en donde el cuerpo poroso está dispuesto para recibir el aire desplazado desde la zona de muestras a medida que la muestra de sangre líquida es recibida en la zona de muestras. El cuerpo de aire poroso define el puerto de entrada (35) y los conductos de muestras (36, 37), así como la periferia circular de cada una de las zonas de muestras.
- Una cantidad de una enzima (38) (por ejemplo, glucosa oxidasa ("GOX") o glucosa deshidrogenasa (GDH)), se coloca sobre uno de los dos terminales de electrodo de transmisión (4b) en la segunda zona de muestras (2b). La

enzima (por ejemplo, GOX o GDH) se coloca para permitir que haga contacto con y que reaccione con una muestra de sangre introducida en la segunda zona de muestras. Al hacerlo, la enzima reacciona con la muestra de sangre para consumir la glucosa libre presente en el plasma de la muestra de sangre. Como resultado, cuando se ha completado la reacción, la muestra de sangre ubicada dentro de la segunda zona de muestras no contiene sustancialmente glucosa libre y cualquier glucosa presente solo debería ser, sustancialmente, glucosa fija en los eritrocitos de la muestra de sangre, que es inaccesible para la enzima (por ejemplo, GOX o GDH).

En la unidad de detección (42), hay dispuesto un procesador de control (41) para controlar la fuente de corriente (18) y la unidad detectora de tensión (21), como se ha descrito anteriormente con referencia a la figura 1 cuando se mide el hematocrito (HCT). El procesador de control (41) está dispuesto para controlar una segunda fuente de corriente (39) y una segunda unidad detectora de tensión (40) de la unidad de detección, como se ha descrito anteriormente con referencia a la figura 1 ("versión modificada") cuando se utiliza para medir la HbA1c.

La figura 6 ilustra, esquemáticamente, un ASIC (circuito integrado de aplicaciones específicas, 50) dispuesto para conectarse a un circuito integrado de microcontrolador (55) para su uso en el interior de la unidad de detección (42, figura 4). El ASIC es sensible a las señales de control de una unidad de control (55), para así aplicar en el segundo grupo de electrodos (31) de la tira de detección una corriente alterna (CA) que tiene una primera frecuencia de 1 Mhz y para aplicar de forma selectiva y simultánea una tensión continua (CC) de, más preferentemente, un valor sustancialmente constante en consonancia con las señales de control. Esto tiene el objetivo de medir la HbA1c de la muestra de sangre que crea un puente entre los electrodos de dicho segundo grupo.

El ASIC es sensible a las señales de control de una unidad de control (55), de forma selectiva, para aplicar en el primer grupo de electrodos (32) de la tira de detección una corriente alterna (CA) que tiene una primera frecuencia de 1 MHz o una segunda frecuencia de 50 KHz según las señales de control. Esto tiene el objetivo de medir el hematocrito de la muestra de sangre que crea un puente entre los electrodos de dicho segundo grupo.

El ASIC está dispuesto para recibir las señales de tensión desde el primer y segundo terminales de electrodo de detección (5b, 6b) del segundo grupo de electrodos (31) de la placa de detección, y para recibir las señales de tensión del primer y segundo terminales de electrodo de detección (5a, 6a) del primer grupo de electrodos (32) de la placa de detección. El ASIC es sensible a las señales de tensión y a las señales de corriente para medir los valores pico/de amplitud de dichas tensiones y corrientes, para que el microcontrolador los utilice en el cálculo de los valores de resistencia eléctrica y reactancia de las muestras de sangre que crean puentes entre los electrodos del primer y segundo grupos de electrodos (31, 32), para así determinar los valores del hematocrito y de la HbA1c de su interior.

La unidad de control (55) lleva a cabo las funciones de la unidad procesadora de control (41) de la figura 4.

En particular, el microcontrolador (55) está dispuesto para proporcionar un nivel de tensión continua (CC) (más preferentemente, un nivel de tensión sustancialmente continua (CC)) y para emitir una señal de salida analógica correspondiente (CC) a través de un convertidor de digital a analógico (56) conectado a un puerto de entrada (57) del ASIC (50). Además, el microcontrolador también está dispuesto para producir una señal de salida analógica alterna (CA) de onda cuadrada modulada por ancho de pulso a través de un modulador de ancho de pulso (PWM, 58) como primera señal (59) que tiene una frecuencia de 1 MHz, y para introducir la señal en un segundo puerto de entrada (61) del ASIC y para producir una segunda señal de salida de onda cuadrada modulada (60) distinta que tiene una frecuencia de 50 KHz y para introducir la señal en un tercer puerto de entrada (62) del ASIC. Estas dos señales de salida modulada por ancho de pulso son señales de corriente eléctrica que, cada una, se mantiene en un nivel de amplitud predeterminado (más preferentemente, sustancialmente constante) gracias al microcontrolador. El ASIC incluye un preamplificador, en forma de amplificador operativo (63), que comprende un circuito de retroalimentación (64) que incluye una resistencia. El preamplificador está dispuesto para recibir la señal de tensión CC desde el microcontrolador en un primer puerto de entrada (67) del preamplificador, y para emitir un valor amplificado en un primer puerto de salida (65) del ASIC. El ASIC también incluye una unidad de filtro de onda sinusoidal de 1 MHz (67) y una unidad de filtro de onda sinusoidal de 50 KHz (68), cada una dispuestas para recibir y filtrar una entrada de señal de corriente oscilante respectiva de 1 MHz y 50 KHz desde el microcontrolador, en el segundo y tercer puertos de entrada (61, 62) del ASIC. Cada una de las unidades de filtro de onda sinusoidal está dispuesta para recibir la respectiva entrada de señal de onda cuadrada (PWM) y para alterar la forma de la onda cuadrada de la señal y transformarla sustancialmente en una forma de onda sinusoidal y para emitir el resultado como una señal de onda sinusoidal de CA. En el ASIC se proporciona una unidad conmutadora analógica (69) que tiene dos puertos de entrada para recibir una respectiva de las dos señales de onda sinusoidal de CA desde las unidades de filtro de onda sinusoidal de 1 MHz y 50 KHz. La unidad conmutadora analógica está dispuesta para ser controlada por el microcontrolador y enviar selectivamente una de la señal de onda sinusoidal (CA) de 1 MHz y la señal de onda sinusoidal de 50 KHz hacia un puerto de entrada de señales de un segundo preamplificador (71) del ASIC, para amplificar dicha señal de salida. De esta forma, el microcontrolador puede controlar, gracias a la unidad conmutadora analógica, cuál de las señales sinusoidales (CA) de 1 MHz y de 50 KHz se emite finalmente desde el segundo preamplificador y desde el ASIC.

La tira de muestreo (30) se enseña conectada de forma eléctrica al ASIC de la unidad de detección, de modo que un primer terminal de electrodo de transmisión (4b) de un segundo grupo de electrodos (31) que detectan la HbA1c está

conectado de forma eléctrica al primer puerto de salida del ASIC, y de modo que un primer terminal de electrodo de transmisión (4a) de un primer grupo de electrodos (32) que detectan el hematocrito está conectado de forma eléctrica al segundo puerto de salida del ASIC.

5 Así mismo, la unidad conmutadora analógica está dispuesta para ser controlada por el microcontrolador y para enviar la señal de onda sinusoidal (CA) de 1 MHz hacia un segundo puerto de entrada de señales (66) del primer preamplificador (63) del ASIC para amplificar dicha señal de salida. La primera unidad preamplificadora está dispuesta para amplificar de forma selectiva una señal de onda sinusoidal (CA) de 1 MHz con o sin la presencia simultánea del nivel de tensión CC aplicado en el primer puerto de entrada (67) de dicho amplificador. El  
10 microcontrolador controla cuando/si el nivel de tensión CC se aplica en la primera unidad preamplificadora.

La unidad conmutadora analógica también está dispuesta para emitir, a través de un tercer puerto de salida (73), una señal que representa el tiempo de un pico/amplitud de la señal de onda sinusoidal CA recibida por la unidad conmutadora analógica desde la primera y segunda unidades de filtro de onda sinusoidal. Esta señal se introduce en  
15 una unidad de fase y tensión (74) que, como se explicará con más detalle a continuación, está dispuesta para medir una diferencia de fase temporal entre una corriente CA, aplicada en los electrodos de transmisión del primer y segundo grupo de electrodos, y una tensión CA, generada entre los terminales de electrodo de detección de los respectivos grupos de electrodos de la placa de detección, y para generar el resultado como una señal que representa dicha diferencia de fase temporal.

El ASIC incluye una unidad detectora de pico (77) en comunicación con la unidad de fase y tensión y que comprende un primer y segundo puertos de entrada de señales (82, 83) comunicados con un primer y segundo puertos de entrada de tensión (75, 76) del ASIC, respectivamente, para recibir las señales de tensión desde los terminales de electrodo de detección (5a, 6a) del primer grupo de electrodos (32) de la placa de detección. Hay dispuesto un tercer  
20 puerto de entrada (84) de la unidad detectora de pico que está comunicado con un segundo electrodo de transmisión (3a) del primer grupo de electrodos de transmisión (32) a través de un primer puerto de entrada de corriente (78) del ASIC y que está dispuesto para recibir la corriente transmitida a través del primer grupo de electrodos, entre el primer electrodo de transmisión (4a) y el segundo electrodo de transmisión (3a) de dicho grupo.

La unidad detectora de pico también comprende un cuarto y quinto puertos de entrada de señales (85, 86) comunicados con un tercer y cuarto puertos de entrada de tensión (79, 80) del ASIC, respectivamente, para recibir las señales desde los terminales de electrodo de detección (5b, 6a) del primer grupo de electrodos (31) de la placa de detección. Hay dispuesto un sexto puerto de entrada (87) de la unidad detectora de pico que está comunicado con un segundo electrodo de transmisión (3b) del primer grupo de electrodos de transmisión (31) a través de un  
30 segundo puerto de entrada de corriente (81) del ASIC y que está dispuesto para recibir la corriente transmitida a través del segundo grupo de electrodos, entre el primer electrodo de transmisión (4b) y el segundo electrodo de transmisión (3b) de dicho grupo.

De esta manera, el ASIC incluye un primer y segundo puertos de entrada de tensión (75, 76) que se conectan de forma eléctrica a un primer y segundo puertos de entrada (82, 83) de la unidad detectora de pico, y están adaptados para recibir una primera y segunda tensiones respectivas desde los electrodos de detección respectivos del primer grupo de electrodos (32). El ASIC también incluye un tercer y cuarto puertos de entrada de tensión (79, 80) que están conectados de forma eléctrica y similar a los puertos de entrada (85, 86) de la unidad detectora de pico. Un primer puerto de entrada de corriente (78) y un segundo puerto de entrada de corriente (81) están cada uno  
40 conectados, respectivamente, a un primer y segundo puertos de entrada de corriente (84, 87) de la unidad detectora de pico. Cada uno del primer al sexto puertos de entrada de la unidad detectora de pico están dispuestos para recibir señales de tensión y corriente respectivas que se amplifican gracias a un par respectivo de unidades amplificadoras (92) del interior del aparato, dispuesto en conexión eléctrica en serie a lo largo de la respectiva línea de transmisión de señales que deriva en los puertos de entrada en cuestión. Estas unidades amplificadoras sirven para amplificar las señales respectivas antes de que las reciba la unidad detectora de pico, y se pueden formar en el ASIC, si es necesario, o en cualquier lugar de la unidad detectora, pero siempre estando conectadas de forma operativa al ASIC, como se muestra en las figuras.

La unidad detectora de pico comprende un puerto de salida conectado de forma eléctrica a una unidad de muestreo y reserva (90), que está dispuesta para recibir desde la unidad detectora de pico una señal que representa un valor del pico en una señal de tensión CA recibida por el detector de pico, y/o un valor que representa un valor de corriente pico recibido por el detector de pico. Estos valores de pico representan, por lo general, los valores de amplitud de una corriente CA asociada y de las entradas de señal de tensión en la unidad detectora de pico desde los electrodos de la placa de muestreo (módulo biosensor). La unidad de muestreo y reserva puede operar para  
55 retener de forma momentánea los valores de señal recibidos desde la unidad detectora de pico, cuando sea necesario, para después transmitirlos al microcontrolador.

La unidad de fase y tensión (74) tiene un puerto de entrada conectado de forma eléctrica a un puerto de salida del ASIC para emitir una señal de tensión que representa una diferencia de fase medida (cambio de tiempo medido) entre los valores de tensión pico detectados por el detector de pico y los valores pico de la señal de corriente CA emitida por la unidad conmutadora analógica.  
65

Una unidad de cronómetro (89) está conectada de forma operativa y controlada por el microcontrolador (55) a través de la unidad de registros de control (91) y la interfaz (SPI) con el microcontrolador. La unidad de cronómetro está dispuesta para medir el intervalo de tiempo entre los picos de señal detectados por la unidad detectora de pico y utilizarlo en la medición de un ángulo de fase entre la corriente aplicada y la tensión medida.

De esta manera, la unidad de fase y tensión y la unidad detectora de pico proporcionan los valores que representan la amplitud de una señal de tensión CA y una señal de corriente CA recibida por la unidad detectora de pico y la diferencia de fase que se produce entre dichas señales. Con estos valores medidos, el microcontrolador está dispuesto para calcular los valores de resistencia y reactancia de las muestras dentro de las zonas de muestreo de la placa de muestreo (módulo biosensor).

La unidad de muestreo y reserva (90) tiene dos puertos de salida, que están, cada uno, comunicado con un primer y segundo puerto de salida (94, 95) respectivo del ASIC, para emitir de forma separada los valores asociados con el primer y segundo grupos de electrodos (31, 32), respectivamente.

El puerto de salida de tensión del ASIC está dispuesto para poder conectarse (y se muestra conectado) a un módulo biosensor den forma de tira de muestreo, como la que se muestra en la figura 4. El primer puerto de salida de corriente (65) del ASIC está conectado a un electrodo de transmisión (4b) de la zona de muestreo de la tira de muestreo, pensada para medir la HbA1c, y el segundo puerto de entrada de corriente (81) está dispuesto para conectarse de forma eléctrica (y se muestra conectado) al otro electrodo de transmisión (3b) de dicha zona de muestreo. De manera similar, el segundo puerto de salida de corriente (72) del ASIC se puede conectar de forma eléctrica (y se muestra conectado) a un primer electrodo de transmisión (4a) de la otra zona de muestreo de la tira de muestreo, pensada para medir el hematocrito, mientras que el otro electrodo de transmisión (3a) de dicha zona de muestreo se puede conectar de forma eléctrica (y se muestra conectado) al primer puerto de entrada de corriente (78) del ASIC.

Los dos electrodos de detección (5a, 6a) de la tira de muestreo del interior de la zona de muestreo del hematocrito están, cada uno, conectados de forma separada al primer y segundo puertos de entrada de tensión (75, 76) del ASIC, respectivamente, a través de un par respectivo de unidades amplificadoras (92). De manera similar, los dos electrodos de detección (5a, 6b) de la zona de muestreo de la tira de muestreo, pensada para medir la HbA1c, están cada uno conectados de forma separada a un puerto respectivo del tercer y cuarto puertos de entrada de tensión (79, 80) del ASIC. De esta manera, las corrientes eléctricas se pueden transmitir por los electrodos de transmisión de las dos zonas de muestreo a través del ASIC y se pueden determinar las tensiones resultantes y las diferencias de fase de tensión/corriente que se producen a partir de las muestras líquidas que están dentro de dichas zonas de detección.

En particular, cuando se transmite una señal de corriente CA a través de un par de terminales de electrodo de transmisión del primer o segundo grupo de terminales de electrodo, la muestra de sangre que crea un puente en el espacio de transmisión entre dichos terminales de electrodo responde de tal manera que presenta una impedancia eléctrica ( $Z$ , ohmios). Esta se manifiesta en que se genera la diferencia de potencial eléctrico CA a través la muestra, medida por/entre los dos terminales de electrodo de detección del grupo determinado de terminales, que no está en fase temporal con la señal de corriente CA. La muestra no solo presenta una resistencia ( $R$ , ohmios) que es disipativa (real), sino también una reactancia ( $X$ , ohmios) que no es disipativa (imaginaria).

De esta manera, si la corriente de transmisión CA de amplitud  $|I|$  y frecuencia angular  $\omega$  está representada por:

$$I = |I|\exp\{j(\omega t + \theta_I)\}$$

donde  $j = \sqrt{-1}$ , y  $\theta_I$  es la fase temporal de la señal de corriente CA de onda sinusoidal, entonces, la tensión resultante en los dos electrodos de detección del grupo determinado de electrodos se representa así:

$$V = |V|\exp\{j(\omega t + \theta_V)\}$$

donde  $\theta_V$  es la fase temporal de la señal de tensión CA de onda sinusoidal de amplitud  $|V|$  y frecuencia angular  $\omega$ .

La impedancia de la muestra se proporciona de la siguiente manera:

$$Z = |Z|\exp\{j\phi\}$$

donde  $|Z|$  es la magnitud de la impedancia y  $\phi$  es su ángulo de fase.

La resistencia de la muestra de sangre ( $R$ ) se proporciona de la siguiente manera:

$$R = |Z|\cos(\phi)$$

Y la reactancia de la muestra de sangre (X) se proporciona así

$$X = |Z|\text{sen}(\phi)$$

5 donde |Z| se puede medir utilizando las amplitudes conocidas |I| y |V| de las señales de corriente aplicada y de tensión resultante, respectivamente. De manera similar, el ángulo de fase de la impedancia se puede determinar aplicando la ley de Ohm:

$$V = |V| \exp\{j(\omega t + \theta_v)\} = I x Z = |I|x|Z|\exp\{j(\omega t + \theta_i + \phi)\}$$

10 así

$$\phi = \theta_v - \theta_i = \omega x \Delta t$$

donde  $\Delta t$  es el desfase temporal entre un pico de la señal de corriente de onda sinusoidal CA aplicada y un pico medido de la tensión CA resultante en la muestra de sangre.

15 Así, los valores de la resistencia (R) y reactancia (X) de la muestra de sangre pueden determinarse a partir del valor de amplitud/pico de corriente CA (|I|) aplicado a una frecuencia  $\omega$  entre los dos terminales de electrodo de transmisión en una zona de muestras, la amplitud/pico de tensión CA resultante (|V|), medido entre los electrodos de detección en dicha zona de muestreo, y el desfase temporal ( $\Delta t$ ) entre dichos dos picos sucesivos, de la siguiente manera:

$$R = \left| \frac{V}{I} \right| \cos(\omega x \Delta t) \quad \text{Ecuación (1)}$$

$$X = \left| \frac{V}{I} \right| \text{sen}(\omega x \Delta t) \quad \text{Ecuación (2)}$$

25 La unidad de muestreo conoce o mide estos valores utilizando el ASIC descrito anteriormente, y el microcontrolador (55) está dispuesto para calcular estos valores de resistencia y reactancia.

30 Sobre el ASIC se proporciona una unidad de registros de control (91) y se dispone para controlar, bajo el control general del microprocesador a través de una unidad de interfaz (SPI), los tiempos y organización de las señales de control para hacer funcionar los amplificadores (señales /en (de *enable*, en inglés) para "activar" los amplificadores), los filtros, los conmutadores y otros componentes del ASIC. Los registros de control pueden ser de un tipo evidente para los expertos en la materia.

35 En el ASIC se forma un termopar (88) que está conectado de forma eléctrica entre un puerto de señales de la unidad de registros de control (91) y un terminal de tierra, y está dispuesto en el dispositivo de muestreo para hacer contacto físico con una parte de la placa de muestreo cuando esta esté operativamente conectada al dispositivo de muestreo en uso. La unidad de registros de control está dispuesta para recibir las señales, desde el termopar, que representan la temperatura de la placa de muestreo (30) y para transportar dichas señales al microcontrolador, para que el microcontrolador pueda determinar la temperatura de la placa de muestreo.

40 En uso, la unidad de muestreo puede funcionar tal y como se describe. Cuando un usuario ha aplicado una muestra de sangre en la primera y segunda zonas de muestreo (figura 4; 2a, 2b) de la placa de muestreo (30), la muestra de sangre se divide entre la primera zona de muestreo (2a), pensada para medir el hematocrito, y la segunda zona de muestreo (2b) pensada para medir la HbA1c. El punto de GOX/GDH (38) provisto en la segunda zona de muestreo reacciona con la glucosa libre presente en el plasma sanguíneo de la muestra de sangre dentro de dicha zona, para oxidarla sustancialmente. Para este proceso se permite un período de tiempo adecuado (de varios segundos, por ejemplo, de entre 0,5 y 15 segundos). Este se ha descubierto que es tan corto como 0,5 segundos. Se puede  
 50 ralentizar utilizando un mediador que permitiría el registro de las señales transitorias durante un marco temporal suficiente para determinar el nivel de glucosa libre en la muestra. Para determinar la Hb1Ac, solo se necesita oxidar la glucosa libre, y por tanto, es importante observar, al menos, que se ha producido y decaído un transitorio antes de que comience la secuencia de medición de la Hb1Ac. Posteriormente, la tira de muestreo que lleva la sangre se conecta de forma eléctrica a la unidad de muestreo (si no estaba conectada aún), como se muestra en la figura 4 y  
 55 en la figura 6.

El microcontrolador mostrado en la figura 6 está dispuesto para suministrar una corriente eléctrica alterna (CA) hacia el primer preamplificador (63) del ASIC (50) con una frecuencia de 1 MHz, por medio de la unidad de filtro de ondas sinusoidales de 1 MHz (67), para transmitir dicha corriente a través de la muestra que crea un puente entre los dos electrodos del interior de la segunda zona de muestreo, y por lo tanto, para generar una primera diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo de transmisión, que se puede medir a través de los dos terminales de electrodo de detección (5b, 6b) dentro de dicha zona de muestreo. Este estado se mantiene

5 durante un período de tiempo de varios milisegundos de duración (por ejemplo, de entre aproximadamente 20 ms y aproximadamente 200 ms o menos). Posteriormente, el microcontrolador está dispuesto para aplicar una tensión continua (CC) sustancialmente constante en la primera unidad preamplificadora (63) del ASIC, para enviar hacia el primer puerto de salida del ASIC (65) una compensación de CC sustancialmente constante de aproximadamente  
 10 0,25 voltios, en combinación con la señal de corriente CA de 1 MHz, que se aplica de manera simultánea en la segunda zona de muestreo. El microcontrolador se dispone, después, para emplear la unidad detectora de pico y la unidad de fase y tensión del ASIC para medir la amplitud de la tensión en los dos terminales de electrodo de detección (5b, 6b) en la primera zona de muestreo, y el desfase temporal entre las sucesivas apariciones de un pico en la corriente CA aplicada y la tensión CA resultante, y para medir un primer valor de la reactancia eléctrica ( $X_1$ ) de la muestra de sangre según la ecuación (2) anterior.

15 El microcontrolador está dispuesto para, posteriormente, no aplicar la compensación de tensión CC y para continuar aplicando la señal de corriente CA de 1 MHz en el primer y segundo terminales de electrodo de transmisión de la segunda zona de muestreo. Después de un período de tiempo adecuado que va después de eliminar la tensión compensada CC (por ejemplo, de entre aproximadamente 20 ms y aproximadamente 200 ms o menos), el microcontrolador se dispone para emplear entonces la unidad detectora de pico y la unidad de fase y tensión del ASIC para medir la amplitud de la tensión en los dos terminales de electrodo de detección (5b, 6b) en la primera zona de muestreo, y el desfase temporal entre las sucesivas apariciones de un pico en la corriente CA aplicada y la tensión CA resultante, y para medir un segundo valor de la reactancia eléctrica ( $X_2$ ) de la muestra de sangre según  
 20 la ecuación (2) anterior.

25 Ya sea antes, durante o después de realizar el proceso anterior en la muestra de sangre del interior de la segunda zona de muestreo, el microcontrolador se dispone para determinar el hematocrito (HCT) de la muestra de sangre de la siguiente manera.

30 El microcontrolador está dispuesto para suministrar una corriente CA de 50 KHz hacia la unidad conmutadora analógica (69) del ASIC a través de la unidad de filtro de onda sinusoidal de 50 KHz (68) y para controlar que la unidad conmutadora conecte la corriente CA de 50 KHz con el segundo puerto de salida (72) del ASIC a través de la segunda unidad preamplificadora (71). Esto hace que la señal CA sea aplicada en los terminales de electrodo de transmisión (3a, 4a) de la primera zona de muestras, que una corriente eléctrica alterna que tiene una primera frecuencia de señal de 50 KHz genere una primera diferencia de potencial alterno de 50 KHz en el hueco entre los terminales de electrodo, medida por los dos electrodos de detección (5b, 6b) de la primera zona de muestras.

35 El microcontrolador se dispone para emplear, después, la unidad detectora de pico y la unidad de fase y tensión del ASIC para medir la amplitud de la tensión en los dos terminales de electrodo de detección (5a, 6a) en la primera zona de muestreo, y el desfase temporal entre las sucesivas apariciones de un pico en la corriente CA aplicada y la tensión CA resultante, y para medir un primer valor de la resistencia eléctrica ( $X_1$ ) de la muestra de sangre según la ecuación (1) anterior.

40 El microcontrolador está dispuesto para, entonces, suministrar una corriente CA de 1 MHz hacia la unidad conmutadora analógica (69) del ASIC a través de la unidad de filtro de onda sinusoidal de 1 MHz (67) y para controlar que la unidad conmutadora conecte la corriente CA de 1 MHz con el segundo puerto de salida (72) del ASIC a través de la segunda unidad preamplificadora (71). Esto hace que la señal CA de 1 MHz sea aplicada en los terminales de electrodo de transmisión (3a, 4a) de la primera zona de muestras, que una corriente eléctrica alterna que tiene una primera frecuencia de señal de 1 MHz genere una segunda diferencia de potencial alterno de 1 MHz en el hueco entre los terminales de electrodo, medida por los dos electrodos de detección (5b, 6b) de la primera zona de muestras.

45 El microcontrolador se dispone para emplear, después, la unidad detectora de pico y la unidad de fase y tensión del ASIC para medir la amplitud de la tensión en los dos terminales de electrodo de detección (5a, 6a) de la primera zona de muestras, y el desfase temporal entre las sucesivas apariciones de un pico en la corriente CA aplicada y la tensión CA resultante, y para medir un segundo valor de la resistencia eléctrica ( $R_2$ ) de la muestra de sangre según la ecuación (1) anterior, y para medir un tercer valor de la reactancia eléctrica ( $X_3$ ) de la muestra de sangre en la primera zona de muestras según la ecuación (2) anterior.

50 El microcontrolador está dispuesto para calcular, posteriormente, un valor del volumen relativo de eritrocitos (hematocrito, HCT) de la muestra líquida según el primer valor de resistencia eléctrica, el segundo valor de resistencia eléctrica y el tercer valor de reactancia eléctrica según la siguiente fórmula, y para almacenar el resultado y/o enviar el resultado al usuario:

55

$$HCT = \left[ A1n \left( \frac{R_1}{R_2} \right) + B1n(X_3 + X_0) - C \right] \quad \text{Ecuación (3)}$$

60 Donde A, B y C son constantes asociadas a la placa de muestreo en cuestión. Por ejemplo, los valores de A, B y C pueden estar normalmente, cada uno, en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5, o preferentemente entre aproximadamente 0,1 y 0,25, o más preferentemente, entre aproximadamente 0,1 y  
 65

aproximadamente 0,2. Por ejemplo, cuando se utilizan electrodos formados con oro que tienen una resistencia de lámina de 5 ohmios por cuadrado y la geometría ilustrada en la figura 4, pudiendo ser los valores en cuestión los siguientes:

- 5        A=0,142;  
           B=0,155;  
           C=0,157.

10       Los valores reales, adaptados a una geometría determinada de la zona de muestreo y a la estructura y material de los electrodos, se pueden determinar mediante calibración periódica empleando muestras de sangre disponibles en el mercado con un HCT conocido, como será evidente para los expertos en la materia. El valor de  $X_0$  puede ser simplemente cero o puede ajustarse, si fuera necesario, para mejorar la precisión predictiva de la ecuación. Se ha descubierto que el concepto A está correlacionado con la conductividad de los terminales de electrodo de la tira de detección. Se ha descubierto que el concepto B se correlaciona con la resistividad de la interfaz (por ejemplo, la humectación) entre la muestra de sangre y los terminales de electrodo de la zona de muestras. Este está influido por el material del electrodo (por ejemplo, oro) y por la calidad de la estructura (por ejemplo, rugosidad) de las superficies de electrodo. Se ha descubierto que el concepto C se tiene correlación con la variabilidad del tamaño promedio de la célula sanguínea (por ejemplo, determinado para las células sanguíneas glucosiladas o "no fijas") del interior de la muestra. Este se ve fuertemente influido por el grupo étnico, el grupo sanguíneo e interferencias como las que serán evidentes para los expertos en la materia. Los valores de C asociados a los diferentes grupos étnicos (o grupo sanguíneo o interferencias conocidas) se pueden almacenar en una tabla de consulta dentro (o a la que se puede acceder a través) del procesador de control para seleccionarlos de forma apropiada durante la calibración.

25       La tabla 1 muestra ejemplos de valores de hematocrito de una muestra de sangre del tipo A calculados según el método y las ecuaciones anteriores. Se crearon tres grupos de diez mediciones utilizando el diseño de tira ilustrado en las figuras 1, 3, 4 y 6 para medir el HCT. En cada uno de los tres grupos se utilizó una muestra de sangre que tenía un valor de HCT conocido, en concreto, 52 %, 42 % y 31 %. Las mediciones de las resistencias  $R_1$  y  $R_2$  y la reactancia  $X_3$  se llevaron a cabo a una frecuencia de señal CA de 50 KHz y 1 MHz, respectivamente, y se introdujeron en la ecuación (3) para crear el valor de medición del HCT en cada una de las mediciones. Las diez mediciones de cada uno de los tres valores de HCT comunes distintos (conocidos) muestran una medición del HCT sistemáticamente precisa.

35       El microcontrolador está dispuesto para, después, generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la sangre de una muestra según el primer valor de reactancia eléctrica, el segundo valor de reactancia eléctrica y un valor del volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito, HCT) según la siguiente fórmula, y esta almacena el resultado y/o envía el resultado al usuario:

$$HbA1c = 100x \left( 1 - \frac{X_1}{HCTxX_2} \right) \qquad \text{Ecuación (4)}$$

40       La cantidad  $X_1$  representa la reactancia de una muestra de sangre debido a los eritrocitos glucosilados de la sangre del interior de la segunda zona de muestreo, de la que se ha oxidado sustancialmente la glucosa con GOX/GDH, mientras que  $X_2$  representa la reactancia de la muestra de sangre total en la que el plasma y los eritrocitos contienen glucosa. La proporción de dicha reactancia debido a los eritrocitos se determina así:  $(HCT)x(X_2)$ ; según el hematocrito de la muestra de la primera zona de muestreo.

45       La figura 7 muestra una forma alternativa de la tira de muestreo y de la unidad de muestreo para leer la tira de muestreo con el fin de medir únicamente el hematocrito.

50       Esta tira de muestreo alternativa (30A) comprende una primera zona de muestreo que contiene un primer grupo de electrodos, idéntico al grupo de electrodos ilustrado de las figuras 1 a la 3 y en la primera zona de muestreo (2a) de la zona de muestreo de la figura 4 y la figura 6. El primer grupo de electrodos comprende un par de terminales de electrodo de transmisión (3a, 4a) que definen un espacio de transmisión dentro del cual se disponen dos terminales de electrodo de detección (5a, 6a) para detectar una caída de tensión en una muestra de sangre cuando esta crea un puente en el espacio de transmisión, que se produce por una corriente CA transmitida entre los dos terminales de electrodo de transmisión. El primer grupo de electrodos y los elementos del circuito del ASIC (50A) con los que se disponen para conectarse de forma eléctrica (mostrados conectados en la figura 7) son los mismos que los elementos del ASIC (50) ilustrado anteriormente en la figura 6. Dichos elementos de circuito se disponen para ser puestos en funcionamiento y controlados por el microcontrolador (55A), sustancialmente como se ha descrito anteriormente con referencia a la primera zona de muestras de la tira de muestras de la figura 6, para determinar la medición del hematocrito utilizando la ecuación (3) anterior.

60       No obstante, la segunda zona de muestreo de esta tira de muestreo alternativa comprende un solo par de terminales de electrodo de transmisión (100, 101) que definen entre ellos un espacio de transmisión curvado (102). El par de electrodos de transmisión está dispuesto para conectarse de forma eléctrica al ASIC para aplicar una tensión eléctrica CC (un valor preferente y sustancialmente constante) en el espacio de transmisión curvado cuando/si la

muestra de sangre crea un puente entre ellos en el interior de la segunda zona de detección. Un depósito de reactivo, como una enzima o similar, que reacciona con la glucosa de la muestra de sangre (por ejemplo, la glucosa oxidasa (GOX) o la glucosa deshidrogenasa (GDH)) se proporciona sobre la superficie del ánodo (por ejemplo, el terminal de electrodo 101) y los dos electrodos de transmisión. Los elementos similares tienen símbolos de referencia similares, como entre las figuras 6 y 7.

El ASIC (50A) con este diseño alternativo se diferencia del ASIC de la figura 6 en que la unidad conmutadora analógica (69A) no proporciona una entrada de corriente CA de 1 MHz (66, figura 6) en la primera unidad preamplificadora (63). La primera unidad preamplificadora (63A) no tiene un circuito de retroalimentación (64, figura 6) y simplemente recibe desde el microcontrolador una señal de tensión CC (más preferentemente, sustancialmente constante), que esta amplifica, y envía el resultado a un primer puerto de salida de tensión (65A) del ASIC para conectarse de forma eléctrica con un electrodo de transmisión (100) de la segunda zona de muestras.

La señal de tensión CC es emitida por el microcontrolador (55A) a través de un convertidor de digital a analógico (56) e introducida en un amplificador (63A) formado dentro del ASIC, cuya salida amplificada se introduce en un puerto de salida de tensión (65A) del ASIC y en un primer puerto de entrada (104) de una unidad amplificadora operativa (103) formada en el ASIC. El amplificador operativo tiene un segundo puerto de entrada (105) que sirve como terminal de entrada de tensión de la unidad de detección, conectado respectivamente a un terminal de ánodo (101) del segundo par de electrodos de transmisión de la placa de muestras, cuando esta última esté conectada en uso al primero, como se muestra en la figura 7.

El amplificador operativo tiene un respectivo puerto de salida (107) que está conectado a su segundo puerto de entrada a través de un circuito de retroalimentación que comprende una resistencia (106). Como resultado, la tensión de transmisión CC ( $V_{\text{transmisión}}$ ) aplicada en el primer puerto de entrada del amplificador operativo por medio de la primera unidad amplificadora (63A) se expresa como un nivel de tensión sustancial y correspondientemente constante en el segundo puerto de entrada (105) del amplificador operativo. Esto produce una diferencia de potencial constante de forma controlada en los electrodos de transmisión del par de electrodos (100, 101) en la segunda zona de muestras con respecto a una tensión de referencia ( $V_{\text{ref}}$ ). La conducción consecutiva a través de una muestra de sangre en la segunda zona de muestras de la tira de muestreo entra en el amplificador operativo conectado de forma eléctrica a esa muestra de sangre. El resultado es que el amplificador operativo recibe una corriente cuantificable en su segundo puerto de entrada (105). Esta corriente se envía desde el puerto de salida (107) del amplificador operativo, a través de un amplificador de tensión (109), hasta un convertidor de analógico a digital de 12 bits (97B) del microcontrolador, para utilizarla en la determinación de un valor del nivel de glucosa en sangre de la muestra de la segunda zona de muestras, tal como se describe a continuación. La corriente medida también se introduce desde el amplificador operativo hasta un puerto de entrada de la unidad detectora de pico (77), que está dispuesta para detectar la aparición de un pico en la corriente detectada desde la segunda zona de muestras, y para hacer saber al microcontrolador (55A) el momento de dicha aparición a través de un convertidor de analógico a digital de 12 bits (97B) del microcontrolador, para utilizarla en la determinación de un valor del nivel de glucosa en sangre de la muestra de la segunda zona de muestras, tal como se describe a continuación.

Se ha descubierto que una tensión continua (CC) contenida entre los dos electrodos de transmisión de la segunda zona de muestras y, por lo tanto, aplicada en la muestra de sangre ahí ubicada durante el período de reacción de la enzima (GOX/GDH), hará que una corriente variable en el tiempo pase a través de la muestra de sangre. Se cree que la variación se produce, en parte, por el cambio (caída) en la cantidad de glucosa libre del plasma de la muestra, que produce una resistencia eléctrica cambiante del componente plasmático de la sangre. Más preferentemente, la tensión CC es sustancialmente constante por motivos de simplicidad, no obstante, si se desea, se podrían emplear las tensiones CC no constantes (por ejemplo, las que caen o suben suavemente de forma controlada), aunque es probable que compliquen el diseño y el funcionamiento del aparato y, por lo tanto, se prefiere una tensión CC sustancialmente constante.

Comenzando con una subida inicial (casi instantánea) de la corriente hasta un valor pico en un momento " $t_{\text{pico}}$ ", la cantidad observada de corriente cae monótonicamente a medida que la glucosa se va oxidando cada vez más en el plasma sanguíneo. La temperatura de la muestra afecta en la velocidad de caída de la corriente (las temperaturas más bajas producen una caída más rápida). Se ha descubierto que la velocidad de caída de la corriente observada, que se produce después del valor pico de corriente, es característica de la cantidad de glucosa que hay originariamente en el plasma de la muestra sanguínea antes de que comience el proceso de oxidación. La caída de corriente observada es probable que se vuelva a reproducir cuando se repita el proceso. Así, llevando a cabo este proceso de manera inicial con una pluralidad suficiente de muestras de sangre, cada una con una cantidad cada vez más distinta de glucosa en su componente plasmático, se pueden elaborar una pluralidad de curvas de referencia del tipo descrito anteriormente (o conjuntos de datos que las representen) a partir de las cuales se podrá llevar a cabo, por referencia, una medición futura de la glucosa en el plasma sanguíneo. Es decir, con la pluralidad de curvas de referencia (o datos representativos) se puede llevar a cabo una operación de muestreo de sangre coetánea, tal y como se ha descrito anteriormente, para generar una corriente cuantificable que varíe, por lo general, según la curva de caída de corriente descrita con anterioridad. Mediante la medición de un valor de corriente en particular en un momento seleccionado durante dicha caída de corriente (es decir, en un punto a lo largo de la curva de caída de corriente coetánea), se puede identificar posteriormente un nivel de glucosa en el plasma sanguíneo asociado a

dicho valor de corriente obtenido de una curva de referencia. Después, se puede concluir que el nivel de glucosa en plasma sanguíneo medido coetáneamente presenta el mismo nivel de glucosa. Con este objetivo se puede utilizar una tabla de consulta (TDC) u otro medio de almacenamiento. El proceso puede incluir medir un valor coetáneo " $I_m$ " de la corriente que cae en un momento específico " $t_m$ " después del momento " $t_{pico}$ " en el que se produce el pico detectado de la corriente medida (el momento especificado que también se ha utilizado al generar las curvas de referencia). Después, este valor de corriente identifica el valor de glucosa almacenado en la TDC asociada con la curva de referencia que presentaba el mismo valor de corriente en el mismo momento específico en su fase de caída de la corriente. El valor almacenado en la TDC que coincide con un valor coetáneo identificará el nivel de glucosa en plasma sanguíneo asociado medido de esta manera. El momento específico ( $t_m$ ) puede ser de entre aproximadamente 1 segundo y aproximadamente 15 segundos. Las distintas curvas de referencia o TDC se pueden utilizar según la temperatura medida de la tira de detección, determinada, por ejemplo, por el termopar descrito en el presente documento.

De esta manera, el microcontrolador está dispuesto para aplicar una tensión CC en el par de electrodos de transmisión (100, 101) en la segunda zona de muestras y para medir la corriente resultante.

La unidad de muestras contiene una TDC de este tipo, como la descrita anteriormente, y se dispone para comparar los respectivos valores de corriente medidos de forma coetánea (en descenso) de manera distinta a la segunda zona de muestras, con los valores de corriente de referencia almacenados, para así identificar la coincidencia más cercana (o realizar la interpolación entre las dos coincidencias más cercanas) y para obtener un valor de glucosa en plasma sanguíneo asociado " $BG_{bruto}$ " a partir de la TDC asociada a dicha coincidencia. Puede haber una pluralidad de TDC que pueden estar asociadas de forma respectiva a las curvas de referencia generadas de una temperatura común especificada de la muestra de sangre. La unidad de cálculo puede estar dispuesta para seleccionar la TDC apropiada en función de la temperatura medida de la tira de muestreo en el momento de la medición en cuestión. En la unidad de muestreo se puede proporcionar un termopar (no mostrado) para que haga contacto físico con la placa de muestreo (30A) en uso y para proporcionar las señales a las que responde el microcontrolador para determinar una temperatura de la placa de muestreo y, a partir de dicha determinación, seleccionar la TDC más apropiada para utilizarla tal y como se ha descrito con anterioridad. Como alternativa, mediante el análisis de varias temperaturas, se puede determinar un factor de corrección de la temperatura ( $T_C$ ) y utilizarlo para compensar la medición de los efectos de la temperatura. Así, se puede utilizar una TDC de " $I_m$ " y " $t_m$ " y el valor obtenido de la TDC que utiliza  $I_m$  y  $t_m$  se puede ajustar utilizando el factor de corrección de la temperatura ( $T_C$ ) según sea necesario.

El microcontrolador está dispuesto para producir un valor ajustado " $BG_{corregido}$ " del nivel de glucosa en plasma sanguíneo obtenido de la siguiente manera:

$$BG_{corregido} = f(BG_{bruto} > HCT) \quad \text{Ecuación (5)}$$

donde  $f(BG_{bruto}, HCT)$  es una función correctora predeterminada del valor de hematocrito HCT, medido en la muestra de la primera zona de muestras, y del  $BG_{bruto}$ , que es un valor de glucosa en plasma sanguíneo sin corregir medido en la muestra de sangre en la segunda zona de muestras. El usuario puede seleccionar la forma de la función  $f(BG_{bruto}, HCT)$  de la función correctora predeterminada.

Un ejemplo es la forma:

$$f(BG_{bruto}, HCT) = BG_{bruto} - [m \times (HCT) + c]$$

donde "m" es una constante positiva o negativa y "c" es una constante positiva o negativa. Estos valores se pueden evaluar mediante calibración frente a las muestras de sangre de calibración disponible comercialmente, que contienen niveles de HCT y glucosa conocidos. Esta forma funcional aprovecha el hallazgo de que los errores en las mediciones de glucosa sin corregir suelen ser lineales con respecto a una primera aproximación, en función del HCT, y que también lo es la función correctora. Por supuesto, se pueden utilizar otras formas funcionales correctoras más precisas, como será evidente para los expertos en la materia de este campo.

La unidad controladora (91) del ASIC controla el tiempo y la coordinación de los componentes formados sobre el ASIC bajo el control principal del microcontrolador, a través de una interfaz (SPI) del microcontrolador, con la que está comunicada la unidad de control del ASIC. De esta manera, los valores de corriente y tensión necesarios se pueden aplicar en y ser recibidos desde la primera zona de muestras que contiene el primer grupo de electrodos (3a, 4a, 5a, 6a) de la placa de muestreo (30A) a través del ASIC para permitir que el microcontrolador lleve a cabo las mediciones del HCT y de glucosa en sangre, tal y como se ha descrito anteriormente, utilizando la ecuación (3).

El microcontrolador emplea este valor del HCT para calcular un valor ajustado de la glucosa en sangre de la muestra de sangre utilizando el valor de glucosa en sangre determinado a partir de la segunda zona de muestreo que contiene el segundo grupo de electrodos (100, 101).

En la tabla 1 se proporcionan los ejemplos del valor de HCT determinados por el microcontrolador utilizando el ASIC y el primer grupo de electrodos (3a, 4a, 5a, 6a) en la primera zona de muestreo, tal y como se han descrito

ES 2 783 001 T3

anteriormente con respecto a las figuras 1, 3 y 6 y como se emplea en la ecuación (3).

Tabla 1

<b>TIRA N.º</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	<b>HCT MEDIDO</b>	<b>HCT REAL</b>
1	318,2	232,3	58	51,7049034	52
2	320,1	234,7	59	51,9084503	
3	318,7	232,9	58	51,6905695	
4	320,2	233	58	51,751151	
5	318,2	232,1	58	51,7171343	
6	318,3	232,2	58	51,7154794	
7	318,4	232,2	58	51,7199399	
8	317,5	230,5	57	51,5145174	
9	319,2	232,6	58	51,7311329	
10	320,05	232,8	58	51,7566914	
<b>Tira n.º</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	<b>HCT medido</b>	<b>HCT real</b>
1	240	190,3	35	42,7028225	42
2	240,3	190,5	35	42,7056454	
3	240,7	190,4	35	42,7367189	
4	241	190,8	35,5	42,9444675	
5	240,7	190,5	35	42,7292629	
6	240,9	190,9	35,5	42,9311337	
7	240,7	190,8	35	42,7069183	
8	241	191	36	43,1463773	
9	241,3	191,2	35	42,7125328	
10	240	190,2	35	42,7102863	
<b>Tira n.º</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>X<sub>3</sub></b>	<b>HCT medido</b>	<b>HCT real</b>
1	195,3	165,8	18	31,4260775	31
2	193,1	163,8	18	31,4375429	
3	194,7	165,2	18	31,4338656	
4	194,3	165,3	18	31,3960694	
5	193,1	163,7	18	31,4462147	
6	193,1	163,8	18	31,4375429	
7	193,1	163,7	18	31,4462147	
8	192,5	163,6	18	31,4107008	
9	192,7	163,6	18	31,4254464	
10	192,8	163,5	18	31,4414958	

## REIVINDICACIONES

1. Un aparato de muestreo (15) para su uso en la ejecución de mediciones eléctricas en una muestra líquida que contiene sangre, comprendiendo el aparato:

- 5 dos o más terminales de salida de corriente (16, 17) para emitir una señal de corriente alterna aplicada entre ellos;  
 una unidad de corriente eléctrica alterna (18) en comunicación eléctrica con los dos o más terminales de salida de corriente, adaptada para aplicar en estos una corriente eléctrica alterna de una amplitud y frecuencia determinadas cuando dicha muestra líquida esté en conexión eléctrica entre los dos o más terminales de salida de corriente;  
 10 una unidad de tensión, en comunicación eléctrica con los dos o más terminales de salida de corriente, adaptada para aplicar entre ellos una diferencia de potencial eléctrico continuo (CC) de una magnitud determinada;  
 un primer terminal de entrada de tensión (19), adaptado para recibir una primera entrada externa de señal eléctrica, y un segundo terminal de entrada de tensión (20) diferente, adaptado para recibir una segunda entrada externa de señal eléctrica, cuando dicha muestra líquida esté en conexión eléctrica entre el primer y el segundo terminales de entrada de tensión;  
 15 al menos un detector de tensión (21), adaptado para medir una primera tensión y una segunda tensión utilizando dichas primera y segunda señales eléctricas, respectivamente;  
 una unidad de control (55), dispuesta para controlar la unidad de corriente eléctrica alterna para aplicar dicha corriente eléctrica alterna de dicha frecuencia determinada y, de manera simultánea, controlar la unidad de tensión y dicho, al menos, un detector de tensión para medir dichas primera y segunda tensiones, ambas cuando se aplica dicha diferencia de potencial eléctrico continuo y cuando no se aplica dicha diferencia de potencial eléctrico continuo;  
 25 una unidad de cálculo, dispuesta para calcular un primer valor de reactancia eléctrica ( $X_1$ ) utilizando la primera y segunda tensiones medidas cuando se aplica dicha diferencia de potencial eléctrico continuo, y para calcular un segundo valor de reactancia eléctrica ( $X_2$ ) medido cuando no se aplica dicha diferencia de potencial eléctrico continuo;  
 en donde la unidad de cálculo está dispuesta para generar un valor que representa la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la muestra líquida según el primer valor de reactancia eléctrica ( $X_1$ ), el segundo valor de reactancia eléctrica ( $X_2$ ) y un valor que representa el volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito).

35 2. Un aparato de muestreo según la reivindicación 1, en el que la frecuencia determinada tiene un valor en el intervalo de 500 KHz a 1,5 MHz.

3. Un aparato de muestreo según la reivindicación 1, en el que la frecuencia determinada tiene un valor en el intervalo de 750 KHz a 1,25 MHz.

40 4. Un aparato de muestreo según cualquier reivindicación anterior, en el que la diferencia de potencial eléctrico continuo (CC) tiene una magnitud en el intervalo de 0,01 voltios a 1,0 voltios.

5. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:

- 45 el primer terminal de entrada de tensión está dispuesto, además, para recibir una primera señal eléctrica adicional, introducida de forma externa en este, y el segundo terminal de entrada de tensión distinto está dispuesto, además, para recibir una segunda señal eléctrica adicional, introducida de forma externa en este, cuando dicha muestra líquida está conectada de forma eléctrica entre el primer y el segundo terminales de entrada de tensión;  
 50 dicho al menos un detector de tensión está dispuesto para medir una primera tensión adicional y una segunda tensión adicional utilizando dichas primera y segunda señales eléctricas adicionales, respectivamente;  
 la unidad de control está dispuesta para controlar que la unidad de corriente eléctrica alterna aplique dicha corriente eléctrica alterna a una primera frecuencia y, de forma simultánea, para controlar que dicho al menos un detector de tensión mida dichas primera y segunda tensiones adicionales, y para controlar además que la unidad de corriente eléctrica alterna aplique dicha corriente eléctrica alterna a una segunda frecuencia que sobrepase la primera frecuencia y, de forma simultánea, para controlar que dicho al menos un detector de tensión mida dichas primera y segunda tensiones adicionales;  
 55 la unidad de cálculo está dispuesta para calcular un primer valor de resistencia eléctrica ( $R_1$ ) usando la primera y segunda tensiones medidas a dicha primera frecuencia, y un segundo valor de resistencia eléctrica ( $R_2$ ) y otro valor de reactancia ( $X_3$ ) utilizando dichas primera y segunda tensiones medidas a dicha segunda frecuencia;  
 60 en donde la unidad de cálculo está dispuesta para generar un valor que representa el volumen relativo de los eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito) según el primer y segundo valores de resistencia eléctrica y el valor de reactancia eléctrica adicional, y para generar dicho valor que representa la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en una muestra líquida usando dicho valor de hematocrito.

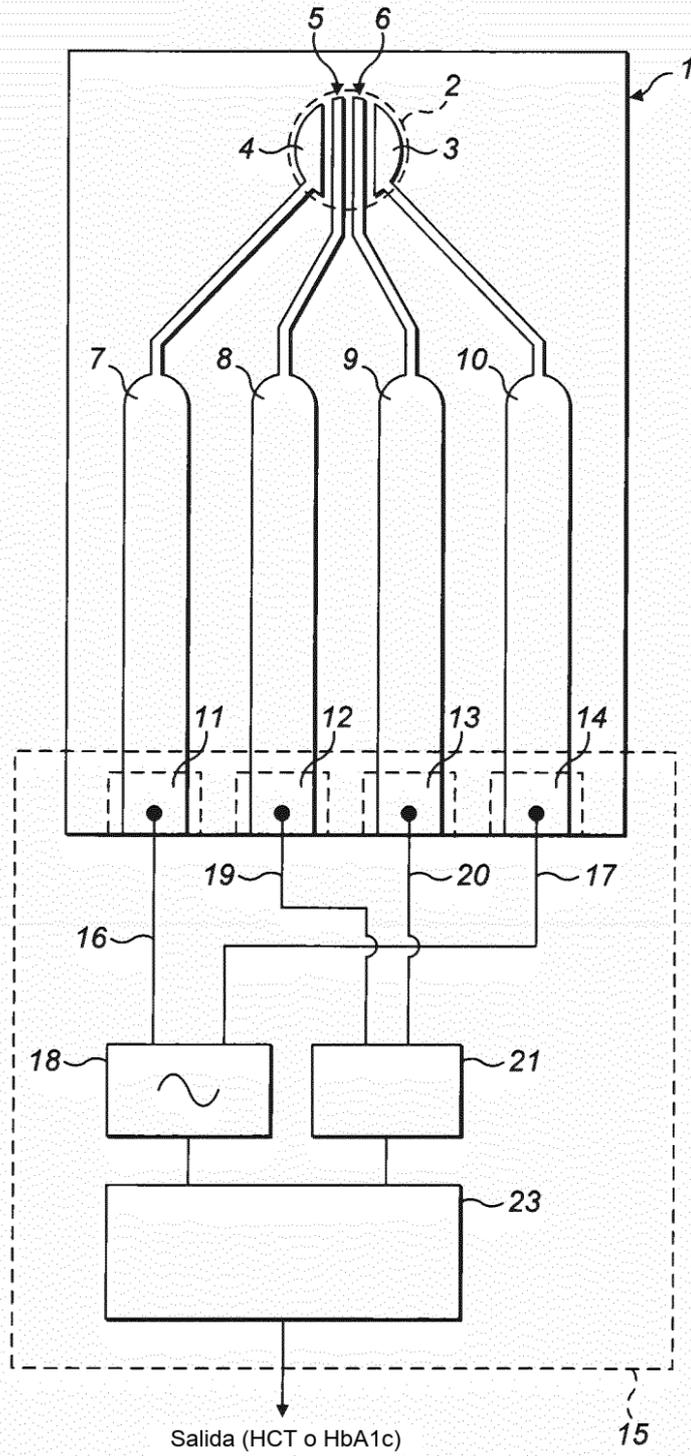
65 6. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que incluye una placa de muestreo que

- comprende una zona de muestras (2) para recibir una muestra líquida, dos electrodos de transmisión (3, 4) con unos respectivos terminales de electrodo distintos separados por un hueco para recibir una muestra líquida dentro de la zona de muestras, para su uso en la transmisión de una señal eléctrica a través de la muestra, y dos electrodos de detección (5, 6) con unos respectivos terminales de electrodo distintos separados entre los terminales de electrodo de los dos electrodos de transmisión, para su uso en la detección de una señal eléctrica generada por los electrodos de transmisión dentro de dicha muestra, en el que cada uno de dichos dos electrodos de transmisión de la placa de muestreo está adaptado para conectarse de forma eléctrica a uno respectivo de dichos al menos dos terminales de salida de corriente, de manera simultánea, y en el que cada uno de dichos dos electrodos de detección está adaptado para conectarse de forma eléctrica a uno respectivo del primer terminal de entrada de tensión y el segundo terminal de entrada de tensión, de manera simultánea, conectando así los dos electrodos de transmisión y los dos electrodos de detección al aparato de muestreo, de manera simultánea, para que exista la comunicación eléctrica entre ellos.
- 5
7. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende un circuito integrado, dispuesto para medir dicha primera tensión y dicha segunda tensión, y que responde a que la unidad de control aplique de manera consecuyente dicha corriente alterna.
- 15
8. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la primera frecuencia tiene un valor en el intervalo de 1 KHz a 150 KHz.
- 20
9. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 5, o reivindicaciones 6 a 8, cuando dependen de la reivindicación 5, en el que la primera frecuencia tiene un valor en el intervalo de 25 KHz a 125 KHz.
10. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 5, o reivindicaciones 6 a 9, cuando dependen de la reivindicación 5, en el que la segunda frecuencia tiene un valor en el intervalo de 500 KHz a 1,5 MHz.
- 25
11. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 5, o reivindicaciones 6 a 10, cuando dependen de la reivindicación 5, en el que la segunda frecuencia tiene un valor en el intervalo de 750 KHz a 1,25 MHz.
- 30
12. Un aparato de muestreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha tensión continua (CC) es un valor sustancialmente constante.
13. Un método de medición de muestras para llevar a cabo las mediciones eléctricas sobre una muestra líquida que contiene sangre, comprendiendo el método:
- 35
- recibir la muestra líquida sobre una placa de muestras que comprende terminales de electrodo, que están separados por un hueco adaptado para que la sangre de la muestra líquida cree un puente en este, y que comprende un reactivo que reacciona con la glucosa libre de la muestra líquida; y
- 40
- caracterizado por** aplicar en los electrodos una corriente eléctrica alterna que tiene una frecuencia determinada para generar una primera diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo; aplicar entre los terminales de electrodo una diferencia de potencial eléctrico continuo (CC) de una magnitud determinada; determinar un valor de una primera reactancia eléctrica ( $X_1$ ) de la muestra líquida que crea un puente en dicho hueco durante dicha frecuencia determinada;
- 45
- eliminar la diferencia de potencial eléctrico sustancialmente continuo (CC) de entre los dos terminales de electrodo; aplicar en los electrodos la corriente eléctrica alterna que tiene dicha frecuencia determinada para generar una segunda diferencia de potencial alterno en el hueco entre los terminales de electrodo; determinar un valor de una segunda reactancia eléctrica ( $X_2$ ) de la muestra líquida que crea un puente en dicho hueco durante dicha frecuencia determinada;
- 50
- generar un valor que represente la concentración de glucohemoglobina (HbA1c) en la sangre de la muestra según el primer valor de reactancia eléctrica ( $X_1$ ), el segundo valor de reactancia eléctrica ( $X_2$ ) y un valor del volumen relativo de eritrocitos en la muestra líquida (hematocrito).
14. Un método de medición de muestras según la reivindicación 13, que incluye recibir la muestra líquida sobre una placa de muestras que comprende terminales de electrodo que están separados por un hueco adaptado para que la sangre de la muestra líquida cree un puente en este; y
- 55
- aplicar en los electrodos una corriente eléctrica alterna que tiene una primera frecuencia de señal para generar una primera diferencia de potencial alterno adicional en el hueco entre los terminales de electrodo; determinar un valor de una primera resistencia eléctrica ( $R_1$ ) de la muestra líquida que crea un puente en dicho hueco durante dicha primera frecuencia determinada;
- 60
- aplicar en los electrodos una corriente eléctrica alterna que tiene una segunda frecuencia de señal que sobrepasa dicha primera frecuencia de señal para generar una segunda diferencia de potencial alterno adicional en el hueco entre los terminales de electrodo;
- determinar un valor de una segunda resistencia eléctrica ( $R_2$ ) y un valor de otra reactancia ( $X_3$ ) de la muestra líquida que crea un puente en dicho hueco durante dicha segunda frecuencia de señal;
- 65
- generar dicho valor del volumen relativo de eritrocitos (hematocrito) en la muestra líquida según el primer valor de resistencia eléctrica ( $R_1$ ) y el segundo valor de resistencia eléctrica ( $R_2$ ) y el valor adicional de reactancia eléctrica

(X<sub>3</sub>).

15. Un método de medición de muestras según cualquiera de las reivindicaciones 13 o 14, en el que dicha tensión continua (CC) es un valor sustancialmente constante.

5 16. Un portador de datos que contiene un programa informático que se puede ejecutar para hacer funcionar el aparato de muestreo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 cuando se implementa el método de medición de muestras de las reivindicaciones 13 a 15.



**FIG. 1**

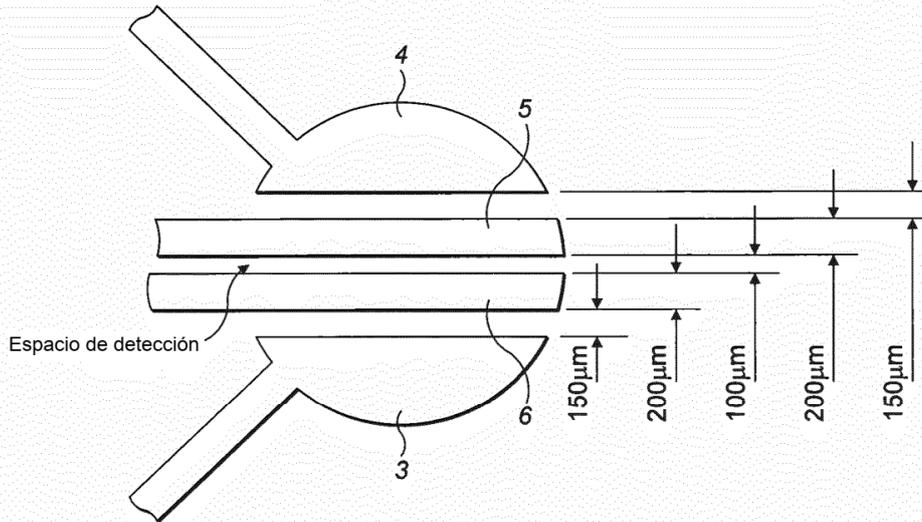


FIG. 2

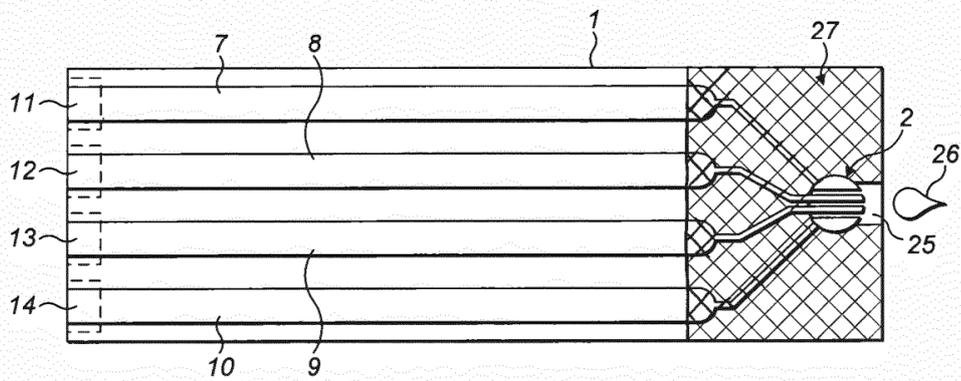
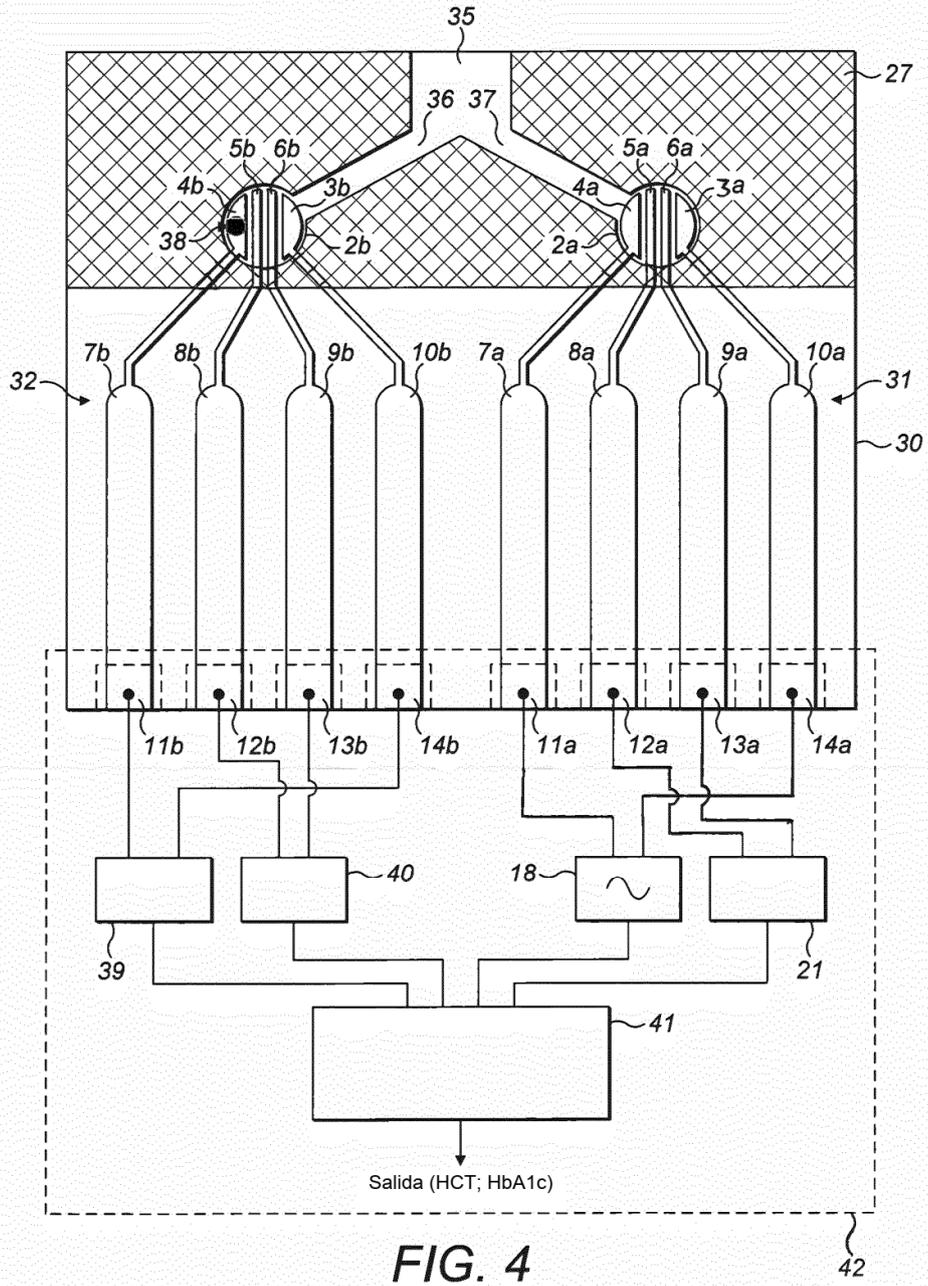
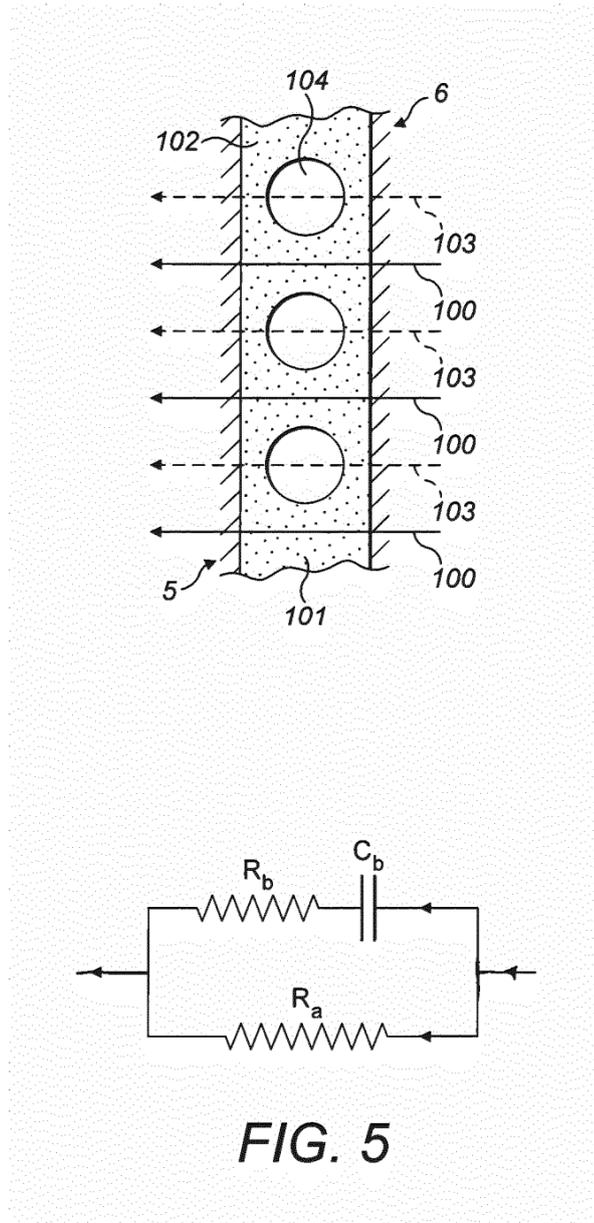


FIG. 3





**FIG. 5**

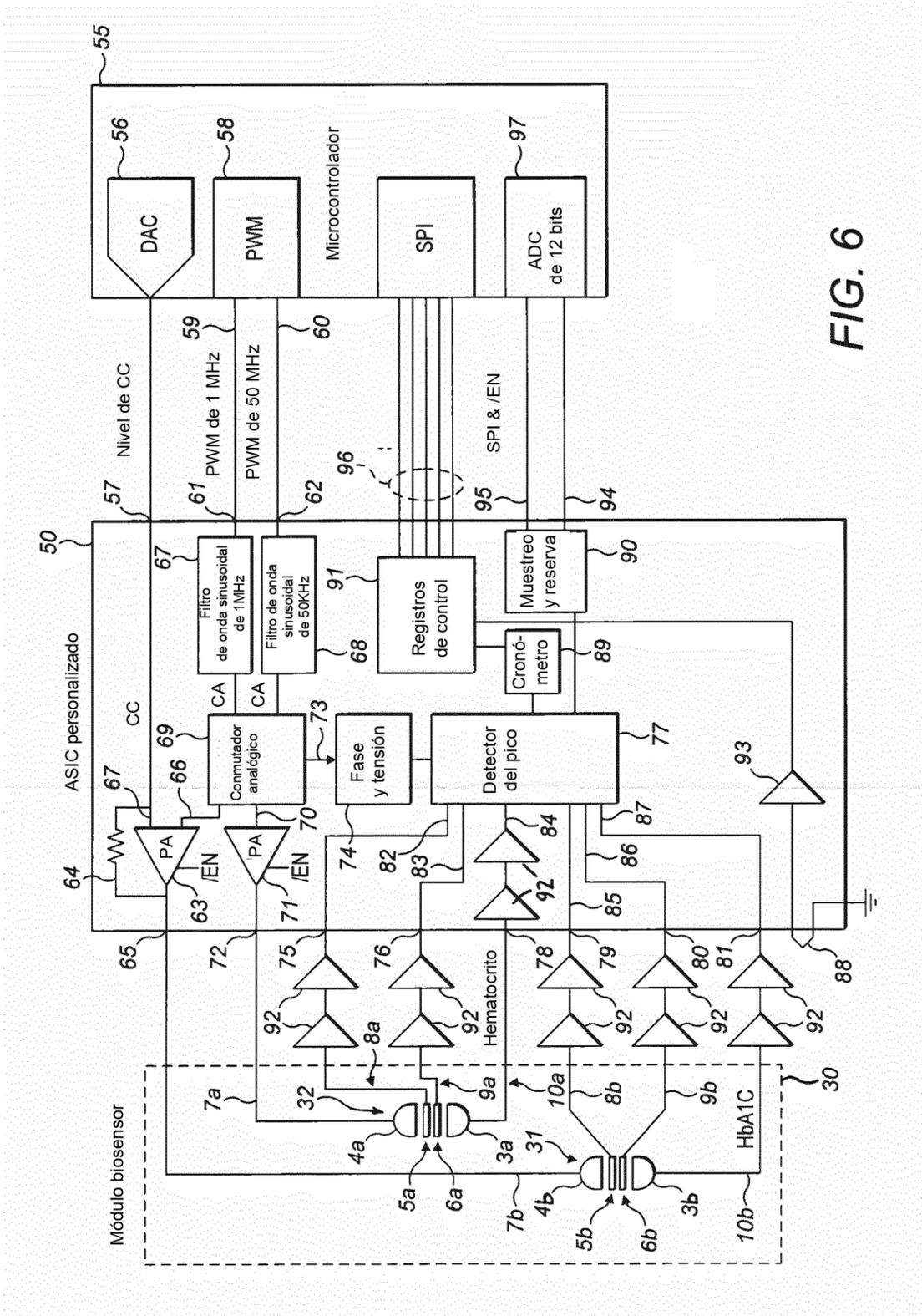


FIG. 6

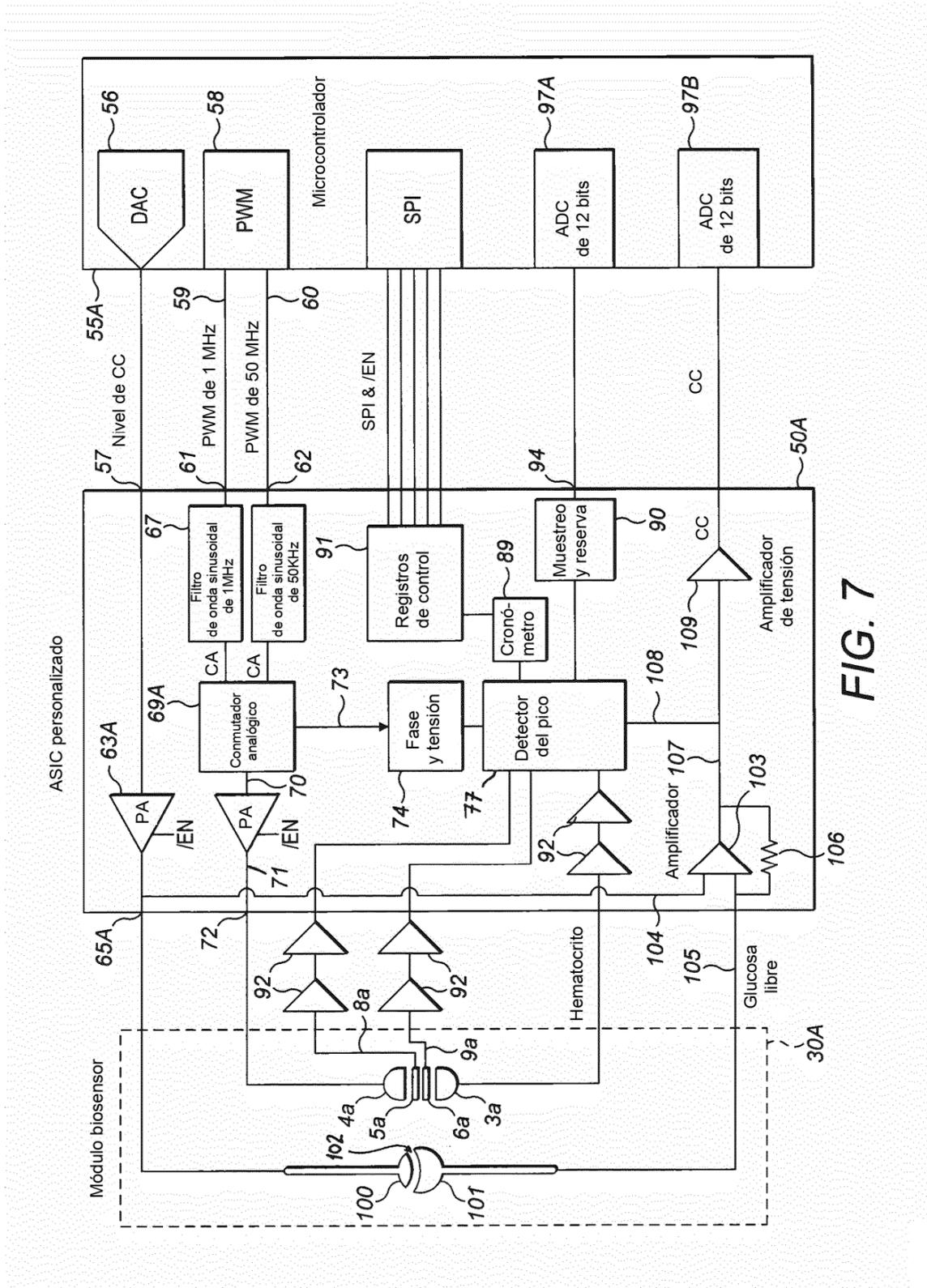


FIG. 7