



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 536**

51 Int. Cl.:  
**G01N 27/32** (2006.01)  
**C12Q 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04791611 .9**  
86 Fecha de presentación : **29.10.2004**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1678489**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **12.07.2006**

54 Título: **Método para reducir el efecto de una corriente de interferencia directa en una tira de ensayo electroquímica.**

30 Prioridad: **31.10.2003 US 516252 P**  
**31.03.2004 US 558424 P**  
**31.03.2004 US 558728 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.11.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.11.2007**

73 Titular/es: **Lifescan Scotland Ltd.**  
**Beechwood Business Park North**  
**Inverness IV2 3ED, GB**

72 Inventor/es: **Davies, Oliver William Hardwicke;**  
**Marshall, Robert;**  
**Baskeyfield, Damian Edward Haydon;**  
**Whyte, Lynsey y**  
**Leiper, Elaine**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 285 536 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

Método para reducir el efecto de una corriente de interferencia directa en una tira de ensayo electroquímica.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere, en general, a métodos para reducir el efecto de compuestos interferentes sobre las medidas tomadas mediante sistemas de medida de analito y, más en particular, a un método para reducir los efectos de las corrientes de interferencia directa en un sistema de control de glucosa en el que la tira electroquímica tiene 10 electrodos con regiones no recubiertas.

**Antecedentes de la invención**

En muchos casos, un sistema de medida de glucosa electroquímico puede tener una elevada corriente de oxidación 15 debido a la oxidación de compuestos interferentes encontrados habitualmente en fluidos fisiológicos tales como por ejemplo acetaminofeno, ácido ascórbico, bilirrubina, dopamina, ácido gálico, glutatión, levodopa, metildopa, tola-zimida, tolbutamida, y ácido úrico. La precisión de los medidores de glucosa puede mejorarse por lo tanto reduciendo o eliminando la parte de la corriente de oxidación generada por los compuestos interferentes. Idealmente, no habría corriente de oxidación generada a partir de cualquiera de los compuestos interferentes de manera que toda la corriente 20 de oxidación dependería únicamente de la concentración de glucosa.

Por lo tanto, es deseable mejorar la precisión de los detectores electroquímicos en presencia de compuestos po- tencialmente interferentes tales como, por ejemplo, ascorbato, urato y acetaminofeno encontrados habitualmente en fluidos fisiológicos. Los ejemplos de analitos para dichos detectores electroquímicos pueden incluir glucosa, lactato y 25 fructosamina. Aunque la glucosa será el analito principal analizado, será obvio para un especialista en la técnica que la invención mostrada en este documento puede usarse también para otros analitos.

La corriente de oxidación puede generarse de diversas maneras. En particular, la corriente de oxidación deseable resulta de la interacción del mediador rédox con el analito de interés (por ejemplo glucosa) mientras que la corriente 30 de oxidación indeseable generalmente está compuesta por compuestos interferentes que se oxidan en la superficie del electrodo y por la interacción con el mediador rédox. Por ejemplo, algunos compuestos interferentes (por ejemplo, acetaminofeno) se oxidan en las superficies del electrodo. Otros compuestos interferentes (por ejemplo, ácido ascór- bico) se oxidan por reacción química con el mediador rédox. Esta oxidación del compuesto interferente en un sistema de medida de glucosa provoca que la corriente de oxidación medida dependa de la concentración de glucosa y de 35 cualquier compuesto interferente. Por lo tanto, en la situación en la que la concentración de compuesto interferente se oxida tan eficazmente como la glucosa y la concentración de interferente es relativamente alta respecto a la concentra- ción de glucosa, la medida de la concentración de glucosa mejoraría reduciendo o eliminando la contribución de los compuestos interferentes a la corriente de oxidación total.

Una estrategia conocida que puede usarse para disminuir los efectos de los compuestos interferentes es usar una membrana cargada negativamente para cubrir el electrodo de trabajo. Como ejemplo, puede usarse un fluoropolímero sulfatado tal como NAFION™ para repeler todos los compuestos químicos cargados negativamente. En general, la 40 mayor parte de compuestos interferentes tales como ascorbato y urato tienen una carga negativa, es decir, la mem- brana cargada negativamente evita que los compuestos interferentes cargados negativamente alcance la superficie el electrodo y se oxiden en su superficie. Sin embargo, está técnica no siempre es exitosa ya que algunos compuestos interferentes tales como acetaminofeno no tienen una carga negativa neta y por lo tanto pueden pasar a través de una membrana cargada negativamente. Esta técnica no reduciría la corriente de oxidación resultante de la interacción de 45 los compuestos interferentes con algunos mediadores rédox. El uso de una membrana cargada negativamente sobre el electrodo de trabajo podría evitar también que algunos mediadores rédox usados habitualmente tales como ferricianu- ro, pasen a través de la membrana cargada negativamente para intercambiar electrones con el electrodo. 50

Otra estrategia conocida que puede usarse para disminuir los efectos de los compuestos interferentes es usar una membrana de tamaño selectivo encima del electrodo de trabajo. Como ejemplo, una membrana de exclusión de 100 55 Daltons tal como acetato de celulosa puede usarse para cubrir el electrodo de trabajo para excluir todos los compuestos químicos con un peso molecular mayor de 100 Daltons. En general, la mayor parte de compuestos interferentes tienen un peso molecular mayor de 100 Daltons y de esta manera se excluyen de ser oxidados en la superficie del electrodo. Sin embargo, dichas membranas selectivas típicamente hacen a la tira de ensayo más complicada de fabricar y aumentan el tiempo de ensayo porque la glucosa oxidada debe difundirse a través de la membrana selectiva para alcanzar el electrodo. 60

Otra estrategia que puede usarse para disminuir los efectos de los compuestos interferentes es usar un mediador rédox con un bajo potencial rédox, por ejemplo entre aproximadamente -300 mV y +100 mV (cuando se mide con respecto a un electrodo de calomelano saturado). Como el mediador rédox tiene un bajo potencial rédox, la tensión aplicada al electrodo de trabajo puede ser relativamente baja también, lo que a su vez hace disminuir la velocidad a la 65 que los compuestos interferentes se oxidan en el electrodo de trabajo. Los ejemplos de mediadores rédox que tienen un potencial rédox relativamente bajo incluyen complejos de bipyridil osmio, derivados de ferroceno y derivados de quinona. Una desventaja de esta estrategia es que los mediadores rédox que tienen un potencial relativamente bajo a menudo son difíciles de sintetizar, inestables y tienen una baja solubilidad en agua.

Otra estrategia conocida que puede usarse para disminuir los efectos de los compuestos interferentes es usar un electrodo de simulación que está recubierto con un mediador rédox. En algunos casos el electrodo de simulación puede estar recubierto también con una proteína inerte o enzima rédox desactivada. El propósito del electrodo de simulación es oxidar el compuesto interferente en la superficie del electrodo y/o oxidar el mediador rédox reducido por el compuesto interferente. En esta estrategia, la corriente medida en el electrodo de simulación se resta de la corriente oxidante total medida en el electrodo de trabajo para eliminar el efecto de la interferencia. Una desventaja de esta estrategia es que requiere que la tira de ensayo incluya un electrodo adicional y una conexión eléctrica (es decir, el electrodo de simulación) que no puede usarse para medir glucosa. La inclusión del electrodo de simulación es un uso ineficaz de un electrodo en un sistema de medida de glucosa. Véase por ejemplo, el documento US 6540891. Otros ejemplos de tiras de ensayo con dos electrodos de trabajo diferentes pueden encontrarse en los documentos US 6258229 y US 6287451.

### Sumario de la invención

La invención descrita en este documento se refiere a un método para reducir los efectos de las interferencias cuando se usa un detector electroquímico para detectar analitos. Un detector electroquímico que podría usarse en el método de acuerdo con la presente invención incluye un sustrato, al menos un primer y segundo electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. Una capa de reactivo se dispone sobre los electrodos de manera que cubre completamente todo el primer electrodo de trabajo y sólo cubre parcialmente el segundo electrodo de trabajo. En un método de acuerdo con la presente invención, la corriente de oxidación generada en la parte del segundo electrodo de trabajo no cubierta por la capa de reactivo se usa para corregir el efecto de las sustancias interferentes sobre la medida de glucosa.

La invención descrita en este documento incluye un método para reducir interferencias en un detector electroquímico, que incluye las etapas de medir una primera corriente de oxidación en un primer electrodo de trabajo, donde el primer electrodo de trabajo está cubierto por una capa de reactivo; medir una segunda corriente de oxidación en un segundo electrodo de trabajo, donde la capa de reactivo solo cubre parcialmente el segundo electrodo de trabajo; y calcular un valor de corriente de oxidación corregido representativo de una concentración de un analito pre-seleccionado (por ejemplo, glucosa). En este cálculo, se usa una proporción del área no recubierta al área recubierta del segundo electrodo de trabajo para retirar los efectos de las interferencias sobre la corriente de oxidación de las interferencias. Más en particular, el valor de corriente corregido puede calcularse usando la siguiente ecuación:

$$G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{A_{cov}}{A_{unc}} \right) X (WE_2 - WE_1) \right\}$$

donde G es la densidad de corriente corregida,  $WE_1$  es la densidad de corriente no corregida en el primer electrodo de trabajo,  $WE_2$  es la densidad de corriente no corregida en el segundo electrodo de trabajo,  $A_{cov}$  es el área recubierta del segundo electrodo de trabajo y  $A_{unc}$  es el área no recubierta del segundo electrodo de trabajo.

En una realización de una tira de ensayo electroquímica utilizable en la presente invención, la tira de ensayo de glucosa electroquímica incluye un primer y segundo electrodo de trabajo, donde el primer electrodo de trabajo está cubierto completamente con una capa de reactivo y el segundo electrodo de trabajo está cubierto sólo parcialmente con una capa de reactivo. De esta manera, el segundo electrodo de trabajo tiene un área recubierta con reactivo y un área no recubierta. La capa de reactivo puede incluir, por ejemplo, una enzima rédox tal como glucosa oxidasa y un mediador rédox tal como, por ejemplo, ferricianuro. El primer electrodo de trabajo tendrá una superposición de dos fuentes de corriente de oxidación, una de glucosa y una segunda de interferentes. De manera similar, el segundo electrodo de trabajo tendrá una superposición de tres fuentes de corriente de oxidación a partir de glucosa, interferentes en la parte recubierta con reactivo e interferentes en la parte no recubierta. La parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo oxidará únicamente los interferentes y no oxidará la glucosa porque no hay reactivo en esta zona. La corriente de oxidación medida en la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo puede usarse después para estimar la corriente de oxidación interferente total y calcular una corriente de oxidación corregida que elimina los efectos de las interferencias.

En una realización alternativa de tira utilizable en el método de acuerdo con la presente invención, la tira de ensayo de glucosa electroquímica incluye un primer y segundo electrodos de trabajo, donde el primer y segundo electrodos de trabajo están cubiertos sólo parcialmente con la capa de reactivo. De esta manera, en esta realización tanto el primer como el segundo electrodo de trabajo tienen una parte recubierta con reactivo y una parte no recubierta. La primera área no recubierta del primer electrodo de trabajo y la segunda área no recubierta del segundo electrodo de trabajo son diferentes. La corriente de oxidación medida en la parte no recubierta del primer y segundo electrodos de trabajo sólo se usan para estimar la corriente de oxidación interferente para la parte no cubierta y para calcular una corriente de glucosa corregida.

La invención descrita en este documento incluye adicionalmente un método para reducir las interferencias en un detector electroquímico, que incluye las etapas de medir una primera corriente de oxidación en un primer electrodo de trabajo, donde el primer electrodo de trabajo está parcialmente cubierto por una capa de reactivo; medir una segunda corriente de oxidación en un segundo electrodo de trabajo, donde la capa de reactivo cubre solo parcialmente el segun-

do electrodo de trabajo; y calcular un valor de la corriente de oxidación corregido representativo de una concentración de un analito pre-seleccionado (por ejemplo, glucosa). En este cálculo, se usa una proporción del área recubierta al área no recubierta del primer y segundo electrodos de trabajo para retirar los efectos de las interferencias sobre la corriente de oxidación de las interferencias. Más en particular, el valor de corriente corregido puede calcularse usando la siguiente ecuación

$$G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{f_1 + f_2}{f_2 - 1} \right) \times (WE_2 - WE_1) \right\}$$

donde  $f_1$  es igual a  $\frac{A_{cov1}}{A_{unc1}}$ ;  $f_2$  es igual a  $\frac{A_{cov2}}{A_{unc2}}$ ;  $A_{unc1}$  es el área no recubierta del primer electrodo de trabajo,  $A_{unc2}$  es el área no recubierta del segundo electrodo de trabajo,  $A_{cov1}$  es el área cubierta del primer electrodo de trabajo;  $A_{cov2}$  es el área cubierta del segundo electrodo de trabajo;  $G$  es el valor de corriente corregido;  $WE_1$  es la densidad de corriente no corregida en el primer electrodo de trabajo; y  $WE_2$  es la densidad de corriente no corregida en el segundo electrodo de trabajo.

### Breve descripción de los dibujos

Se obtendrá una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención con referencia a la siguiente descripción detallada que presenta realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención y los dibujos adjuntos de los cuales:

la Figura 1 es una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo de acuerdo con una realización de la presente invención;

la Figura 2 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 1 que incluye una capa conductora y una capa aislante;

la Figura 3 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 1 en la que la posición de una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora y la capa aislante;

la Figura 4 es una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo de acuerdo con otra realización de la presente invención;

la Figura 5 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 4 que incluye una capa conductora y una capa aislante; y

la Figura 6 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 4 en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora y la capa aislante;

la Figura 7 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 4 en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora.

la Figura 8 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con otra realización de la presente invención en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora que ayuda a reducir el efecto de caída de IR.

la Figura 9 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con otra realización más de la presente invención en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora y la capa aislante de manera que hay dos electrodos de trabajo que tienen una parte no recubierta.

la Figura 10 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con otra realización más de la presente invención en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora y la capa aislante de manera que dos electrodos de trabajo que tienen una parte no recubierta.

la Figura 11 es un gráfico que muestra la corriente en un primer electrodo de trabajo de una tira diseñada de acuerdo con la presente invención ensayada con muestras de 70 mg/dl de glucosa en sangre con adiciones a niveles variables de ácido úrico,

la Figura 12 es un gráfico que muestra la corriente en un primer electrodo de trabajo en una tira diseñada de acuerdo con la presente invención ensayada con muestras de 240 mg/dl de glucosa en sangre con adiciones a niveles variables de ácido úrico,

la Figura 13 es una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo que tiene una lanceta integrada,

la Figura 14 es un esquema simplificado que muestra un medidor interrelacionado con una tira de ensayo que tiene un primer contacto, segundo contacto y contacto de referencia dispuestos sobre un sustrato.

### Descripción detallada de la invención

Esta invención descrita en este documento incluye una tira de ensayo y un método para mejorar la selectividad de un sistema de medida de glucosa electromecánico.

La Figura 1 es una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo de acuerdo con una primera realización de la presente invención. En la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 1, una tira de ensayo electroquímica 62, que puede usarse para medir la concentración de glucosa en fluidos corporales tales como sangre o fluido intersticial, incluye un primer electrodo de trabajo 10 y un segundo electrodo de trabajo 12, en el que el primer electrodo 10 está completo cubiertamente con una capa de reactivo 22 y un segundo electrodo de trabajo 12 que está cubierto sólo parcialmente con la capa de reactivo 22. De esta manera, el segundo electrodo de trabajo tiene una parte recubierta con reactivo y una parte no recubierta. La capa de reactivo 22 puede incluir, por ejemplo una enzima rédox, por ejemplo glucosa oxidasa y un mediador rédox tal como, por ejemplo, ferricianuro. Como el ferricianuro tiene un potencial rédox de aproximadamente 400 mV (cuando se mide con respecto a un electrodo de calomelano saturado) en un electrodo de carbono, la introducción de un fluido corporal, por ejemplo sangre, puede generar una oxidación significativa de interferentes por el mediador rédox y/o el electrodo de trabajo generar una corriente de oxidación deseable significativa. Por lo tanto, la corriente de oxidación medida en el primer electrodo de trabajo 10 será una superposición de las fuentes de corriente de oxidación: una primera corriente de oxidación deseable generada por la oxidación de glucosa y una segunda corriente de oxidación indeseable generada por los interferentes. La corriente de oxidación medida en el segundo electrodo de trabajo 12 será también una superposición de fuentes de corriente de oxidación: una primera corriente de oxidación deseable generada por la oxidación de glucosa y una segunda corriente de oxidación indeseable generada por interferentes en la parte recubierta del electrodo de trabajo 12 y una tercera corriente de oxidación generada por los interferentes en la parte no recubierta del electrodo de trabajo 12. La parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo 12 únicamente oxidará los interferentes y no oxidará la glucosa porque no hay un reactivo sobre la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo. Como la corriente de oxidación medida en la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo 12 no depende de glucosa y el área no recubierta del segundo electrodo de trabajo 12 se conoce, es posible calcular la corriente de oxidación interferente para la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo 12. A su vez, usando la corriente de oxidación interferente calculada para la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo 12 y conociendo el área del primer electrodo de trabajo 10 y el área de la parte recubierta del segundo electrodo de trabajo 12 es posible calcular una corriente de glucosa correcta que tiene en cuenta los efectos de los compuestos interferentes oxidados en el electrodo.

La Figura 1 es una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo 62 de acuerdo con una primera realización de la presente invención. La tira de ensayo 62, como se ilustra en la Figura 1, puede fabricarse mediante una serie de 6 etapas de impresión consecutivas que depositan 6 capas de material sobre el sustrato 50. Las seis capas pueden depositarse por ejemplo mediante serigrafía sobre el sustrato 50. En una realización de esta invención, las 6 capas pueden incluir una capa conductora 64, una capa aislante 16, una capa de reactivo 22, una capa adhesiva 66, una capa hidrófila 68 y una capa superior 40. La capa conductora 64 puede incluir adicionalmente un primer electrodo de trabajo 10, un segundo electrodo de trabajo 12, un electrodo de referencia 14, un primer contacto 11, un segundo contacto 13, un contacto de referencia 15 y una barra de detección de tira 17. La capa aislante 16 puede incluir adicionalmente el corte 18. La capa adhesiva 66 puede incluir adicionalmente un primer relleno adhesivo 24, un segundo relleno adhesivo 26 y un tercer relleno adhesivo 28. La capa hidrófila 68 puede incluir adicionalmente la primera película hidrófila 32, y la segunda película hidrófila 34. La capa superior 40 puede incluir adicionalmente una parte transparente 36 y una parte opaca 38. La tira de ensayo 62 tiene un primer lado 54 y un segundo lado 56, un lado de electrodo distal 58 y un lado de electrodo proximal 60 como se ilustra en la Figura 1. Las siguientes secciones describirán las capas respectivas de la tira de ensayo 62 con más detalle.

En una realización de la presente invención el sustrato 50 es un material eléctricamente aislante tal como plástico, vidrio, cerámico, y similares. En una realización preferida de esta invención el sustrato 50 puede ser un plástico tal como, por ejemplo, nylon, policarbonato, poliimida, policloruro de vinilo, polietileno, polipropileno, PETG o poliéster. Más particularmente el poliéster puede ser por ejemplo Melinex<sup>®</sup> ST328 que lo fabrica DuPont Teijin Films. El sustrato puede incluir también un recubrimiento acrílico que se aplica a uno o ambos lados para mejorar la adhesión de la tinta.

La primera capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa conductora 64 que incluye el primer electrodo de trabajo 10, el segundo electrodo de trabajo 12 y el electrodo de referencia 14 y la barra de detección de tira 17. De acuerdo con la presente invención, puede usarse un tamiz de malla con un patrón de emulsión para depositar un material tal como, por ejemplo, una tinta de carbono conductora con una geometría definida como se ilustra en la Figura 1. El electrodo de referencia 14 puede ser también un contraelectrodo, un electrodo, un electrodo de referencia-contraelectrodo o un electrodo de cuasi-referencia. La capa conductora 64 puede disponerse sobre el sustrato 50 usando serigrafía, impresión por rotograbado, metalizado, evaporación, metalizado no electrolítico, chorro de tinta, sublimación, deposición química con vapor y similares. Los materiales adecuados que pueden usarse para la capa conductora 64 son Au, Pd, Ir, Pt, Rh, acero inoxidable, óxido de estaño dopado, carbono y similares. En una realización

## ES 2 285 536 T3

de esta invención, la capa de tinta de carbono puede tener una altura entre 1 y 100  $\mu\text{m}$ , más particularmente entre 5 y 25  $\mu\text{m}$  y aún más particularmente a aproximadamente 13  $\mu\text{m}$ . La altura de la capa conductora puede variar dependiendo de la resistencia deseada de la capa conductora y la conductividad del material usado para imprimir la capa conductora.

5 El primer contacto 11, el segundo contacto 13 y el contacto de referencia 15 pueden usarse para interferir eléctricamente con un medidor. Esto permite al medidor comunicarse eléctricamente con el primer electrodo de trabajo 10, el segundo electrodo de trabajo 12 y el electrodo de referencia 14 mediante respectivamente el primer contacto 11, el segundo contacto 13 y el contacto de referencia 15.

10 La segunda capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa aislante 16. La capa aislante 16 se dispone sobre al menos una parte de la capa conductora 64 como se muestra en la Figura 1. La Figura 2 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo 62 que destaca la posición del primer electrodo de trabajo 10, el segundo electrodo de trabajo 12 y el electrodo de referencia 14 con respecto a la capa aislante 16. La capa aislante 16 incluye adicionalmente un corte 18 que puede tener una estructura con forma de T como se muestra en la Figura 1 y 2.  
15 El corte 18 expone una parte del primer electrodo de trabajo 10, el segundo electrodo de trabajo 12 y el electrodo de referencia 14 que puede humedecerse con líquido. El corte 18 incluye adicionalmente una anchura de corte distal W1, una anchura de corte proximal W2, una longitud de corte distal L4 y una longitud de corte proximal L5. La anchura de corte distal W1 corresponde a la anchura del primer electrodo de trabajo 10 y al electrodo de referencia 14 como se ilustra en la Figura 2. La longitud de corte distal L4 corresponde a una longitud que es mayor que ambos primer electrodo de trabajo 10 y electrodo de referencia 14 juntos. La anchura del corte proximal W2 y la longitud del corte proximal L5 forman una sección rectangular que expone la anchura y longitud del segundo electrodo de trabajo 12. De acuerdo con la presente invención, la anchura del corte distal W1, la anchura del corte proximal W2, la longitud del corte distal L4 y la longitud del corte proximal L5 pueden tener una dimensión respectiva de aproximadamente 0,7, 1,9, 3,2 y 0,43 mm. En una realización de la presente invención, el primer electrodo de trabajo 10, el electrodo de referencia 14 y el segundo electrodo de trabajo 12 tienen una longitud respectiva de L1, L2 y L3 que puede ser de aproximadamente 0,8, 1,6 y 0,4 mm. De acuerdo con la presente invención el espaciado del electrodo S1 está una distancia entre el primer electrodo de trabajo 10 y el electrodo de referencia 14; y entre el electrodo de referencia 14 y el segundo electrodo de trabajo 12 que puede ser de aproximadamente 0,4 mm.

30 La tercera capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa de reactivo 22. La capa de reactivo 22 se dispone sobre al menos una parte de la capa conductora 64 y la capa aislante 16 como se muestra en la Figura 1. La Figura 3 es una vista en planta simplificada de una parte distal de la tira de ensayo 62 de acuerdo con la primera realización de la presente invención que destaca la posición de la capa reactiva 22 con respecto al primer electrodo de trabajo 10, el segundo electrodo de trabajo 12, el electrodo de referencia 14 y la capa aislante 16. La capa de reactivo 22 puede tener una forma de rectángulo que tiene una anchura de reactivo W3 y una longitud de reactivo L6 como se ilustra en las Figuras 1 y 3. En una realización de la invención, la anchura de reactivo W3 puede ser de aproximadamente 1,3 mm y la longitud de reactivo L6 puede ser de aproximadamente 4,7 mm. En una realización adicional de la presente invención, la capa de reactivo 22 tiene una anchura W3 suficientemente grande y una longitud L6 de manera que la capa de reactivo 22 cubre completamente el primer electrodo de trabajo 10 y el electrodo de referencia 14. Sin embargo, la capa de reactivo 22 tiene una anchura W3 y una longitud W6 apropiadamente dimensionadas de manera que el segundo electrodo de trabajo no está cubierto completamente con la capa de reactivo 22. En dicha situación, el segundo electrodo de trabajo 12 tiene una parte recubierta 12c y partes no recubiertas 12u como se ilustra en la Figura 3. Las partes no recubiertas 12u pueden tener la forma de dos rectángulos donde las partes no recubiertas 12u tienen una anchura de ala W4 y una longitud que corresponde a la longitud del segundo electrodo de trabajo L3.  
45 Como ejemplo no limitante, la anchura de ala W4 puede ser de aproximadamente 0,3 mm. En una realización de la presente invención, la capa de reactivo 22 puede incluir una enzima redox tal como, por ejemplo, glucosa oxidasa o PQQ glucosa deshidrogenasa (donde PQQ es el acrónimo para pirrolo-quinolin-quinona) y un mediador redox tal como, por ejemplo, ferricianuro.

50 La cuarta capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa adhesiva 66 que incluye un primer relleno adhesivo 24, un segundo relleno adhesivo 26 y un tercer relleno adhesivo 28. El primer relleno adhesivo 24 y el segundo relleno adhesivo 26 forman las paredes de una cámara de recepción de muestra. En una realización de la presente invención, el primer relleno adhesivo 24 y el segundo relleno adhesivo 26 pueden disponerse sobre el sustrato 50 de manera que ninguno de los rellenos adhesivos toque la capa de reactivo 22. En otras realizaciones de la presente invención en las que es necesario reducir el volumen de tira, el primer relleno adhesivo 24 y/o el segundo relleno adhesivo 26 pueden disponerse sobre el sustrato 50 de manera que no solapen con la capa de reactivo 22. En una realización de la presente invención, la capa de adhesivo 66 tiene una altura de aproximadamente 70 a 110 micrómetros. La capa de adhesivo 66 puede incluir un adhesivo sensible a presión de doble cara, un adhesivo curado por UV, un adhesivo activado por calor, un plástico termoestable u otro adhesivo conocido por los especialistas en la técnica. Como ejemplo no limitante, la capa de adhesivo 66 puede formarse por serigrafía de un adhesivo sensible a presión tal como, por ejemplo, un adhesivo sensible a presión de copolímero acrílico basado en agua que está disponible en el mercado en Tape Specialties LTD en Tring, Herts, Reino Unido (parte N° A6435).

65 La quinta capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa hidrófila 68 que incluye una primera película hidrófila 32 y una segunda película hidrófila 34 como se ilustra en la Figura 1. La capa hidrófila 68 forma el "techo" de la cámara de recepción de muestra. Las "paredes laterales" y el "suelo" de la cámara de recepción de muestra están formadas por una parte de la capa adhesiva 66 y el sustrato 50, respectivamente. Como ejemplo no limitante, la capa hidrófila 68 puede ser un poliéster ópticamente transparente con un recubrimiento antiniebla hidrófilo tal como los

## ES 2 285 536 T3

obtenidos comercialmente en 3M. La naturaleza hidrófila del recubrimiento se usa en el diseño de la tira 62 porque facilita el llenado de líquido en la cámara de recepción de muestra.

5 La sexta y capa final depositada sobre el sustrato 50 es una capa superior 40 que incluye una parte transparente 36 y una parte opaca 38 como se ilustra en la Figura 1. De acuerdo con la presente invención, la capa superior 40 incluye un poliéster que está recubierto por un lado con un adhesivo sensible a presión. La capa superior 40 tiene una parte opaca 38 que ayuda al usuario a observar un alto grado de contraste cuando la sangre está bajo la parte transparente 36. Esto permite al usuario confirmar visualmente que la cámara de recepción de muestra está suficientemente llena. Después de que la tira 62 se lamina completamente, se corta a lo largo de la línea de incisión A-A' y en el proceso se crea una entrada de muestra 52 como se ilustra en la Figura 3.

15 La primera realización de la tira de ensayo como se ilustra en las Figuras 1-3 puede tener un posible inconveniente en que la capa de reactivo 22 puede disolverse en una muestra líquida y mover una parte de la capa de reactivo disuelta sobre las partes no recubiertas 12u del segundo electrodo de trabajo 12. Si se diera esta situación, las partes no recubiertas 12u medirían también una corriente de oxidación que es también proporcional a la concentración de glucosa. Esto degradaría la capacidad para usar algoritmos matemáticos para eliminar el efecto de la oxidación interferente. En una realización alternativa de la presente invención, la capa de reactivo 22 debe diseñarse para disolverse de tal manera que no migre a las partes no recubiertas 12u. Por ejemplo, la capa de reactivo 22 puede unirse químicamente al primer electrodo de trabajo 10, al segundo electrodo de trabajo 12 y al electrodo de referencia 14 o puede tener un agente espesante que minimice la migración de la capa de reactivo disuelta 22.

20 Una realización adicional de la presente invención como se ilustra en la Figura 4, la realización ilustrada en la Figura 4 reduce y en ciertas circunstancias minimiza la migración de reactivo disuelto a una parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo. En esta realización, el segundo electrodo de trabajo 102 tiene una geometría con forma de C donde 2 partes discretas del segundo electrodo de trabajo 102 se exponen mediante el corte 108 como se ilustra en la Figura 4. De acuerdo con la presente invención, la capa de reactivo 110 se dispone sobre sólo una parte del segundo electrodo de trabajo 102 para formar una parte no recubierta 102u y una parte recubierta 102c como se ilustra en la Figura 6. La parte no recubierta 102 es adyacente a la entrada de muestra 52. La parte recubierta 102c es adyacente al primer electrodo de trabajo 100. Cuando se aplica líquido a la entrada de muestra 52 de una tira de ensayo ensamblada 162, el líquido fluirá desde la entrada de muestra 52 a la parte recubierta 102c hasta que los electrodos se cubran con líquido. Colocando la parte no recubierta 102c aguas arriba del flujo de líquido, se evita casi totalmente que la capa de reactivo 110 se disuelva y migre a la parte no recubierta 102u. Esto permite al algoritmo matemático eliminar con precisión los defectos de los interferentes de la corriente de oxidación medida.

35 La Figura 4 es una vista en perspectiva de una tira de ensayo 162. La tira de ensayo 162 se fabrica de una manera similar a la tira de ensayo 62 excepto que hay cambios geométricos o posicionales respecto a una capa conductora 164, una capa aislante 106, y una capa de reactivo 110. Para la segunda realización de esta invención, el sustrato 50, la capa adhesiva 66, la capa hidrófila 68 y la capa superior 40 son iguales que en la primera realización. La tira de ensayo 162 tiene un primer lado 54 y un segundo lado 56, un lado de electrodo distal 58, y un lado de electrodo proximal 60. Debe observarse también que la primera y segunda realización de la tira de ensayo de la presente invención pueden tener elementos con estructura similar que se denotan con el mismo número y nombre de elemento. Si los elementos análogos entre las realizaciones de tira de ensayo respectivas son diferentes en estructura, los elementos pueden tener el mismo nombre pero se denotarán con un número de elemento diferente. Las siguientes secciones describirán las capas respectivas de la tira de ensayo 162 con más detalle.

45 Para la realización de tira ilustrada en la Figura 4, la primera capa depositada sobre el sustrato 50 es una capa conductora 164 que incluye un primer electrodo de trabajo 100, un segundo electrodo de trabajo 102, un electrodo de referencia 104, un primer contacto 101, un segundo contacto 103 y un contacto de referencia 105, y una barra de detección de tira 17. De acuerdo con la presente invención, puede usarse un tamiz de malla con un patrón de emulsión para depositar un material tal como, por ejemplo, una tinta de carbono conductora con una geometría definida como se ilustra en la Figura 4. El primer contacto 101, el segundo contacto 103 y el contacto de referencia 105 pueden usarse para interferir eléctricamente con el medidor. Esto permite al medidor comunicarse eléctricamente con un primer electrodo de trabajo 100, un segundo electrodo de trabajo 102 y un electrodo de referencia 104 mediante respectivamente el primer contacto 101, el segundo contacto 103 y el contacto de referencia 105.

55 La segunda capa depositada sobre el sustrato 50 en la Figura 4 es una capa aislante 106. La capa aislante 106 se deposita sobre al menos una parte de la capa conductora 164 como se muestra en la Figura 4. La Figura 5 es una vista en planta simplificada de una parte distal de la tira de ensayo 162 que destaca la posición del primer electrodo de trabajo 100, segundo electrodo de trabajo 102, y electrodo de referencia 104 con respecto a la capa aislante 106.

60 La tercera capa depositada sobre el sustrato 50 en la Figura 4 es una capa de reactivo 110 de manera que la capa de reactivo 110 se deposita sobre al menos una parte de la capa conductora 164 y la capa aislante 106 como se muestra en la Figura 6. La Figura 6 es una vista en planta simplificada de una parte distal de la tira de ensayo 162 de acuerdo con la segunda realización de la presente invención que destaca la posición de la capa de reactivo 110 con respecto al primer electrodo de trabajo 100, segundo electrodo de trabajo 102, electrodo de referencia 104 y capa aislante 106. La capa de reactivo 110 puede tener la misma forma que un rectángulo que tiene una anchura de reactivo W13 y una longitud de reactivo L16. En una realización de esta invención, la anchura de reactivo W13 puede ser de aproximadamente 1,3 mm y la longitud de reactivo L16 puede ser de aproximadamente 3,2 mm. En una realización preferida de la presente

## ES 2 285 536 T3

invención, la capa de reactivo 110 tiene una anchura suficiente W13 y longitud L16 de manera que la capa de reactivo 110 cubre completamente el primer electrodo de trabajo 100, la parte recubierta 102c y el electrodo de referencia 104, pero no cubre la parte no recubierta 102u.

5 La Figura 7 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo de acuerdo con la realización de la presente invención ilustrada en la Figura 4 en la que una capa de reactivo se ilustra con la capa conductora. En contraste con la Figura 6, la Figura 7 no muestra la capa aislante 106. Esto ayuda a demostrar la relación de conducción entre la parte no recubierta 102u y la parte recubierta 102c que estaba oculta bajo el carácter opaco de la capa aislante 106.

10 Para la realización de tira ilustrada de la Figura 4, la capa aislante 106 se usa para definir la anchura del primer electrodo de trabajo 100, el segundo electrodo de trabajo 102 y el electrodo de referencia 104. La capa aislante 106 incluye adicionalmente un corte 108 que puede tener una estructura con forma de T como se muestra en las Figuras 4 a 6. El corte 108 expone una parte del primer electrodo de trabajo 100, el segundo electrodo de trabajo 102 y el electrodo de referencia 104 que puede humedecerse con líquido. El corte 108 incluye adicionalmente una anchura de corte distal W11, una anchura de corte proximal W12 y una longitud de corte distal L14 y una longitud de corte proximal L15 como se ilustra en las Figuras 5 y 6. La anchura de corte distal W11 corresponde a la anchura de la parte no recubierta 112u. La longitud del corte distal L14 es mayor que la longitud de la parte no recubierta 102u. La anchura del corte proximal W12 y la longitud del corte proximal L15 forman una sección rectangular que expone aproximadamente la anchura y la longitud del primer electrodo de trabajo 100, el electrodo de referencia 104 y la parte recubierta 102c.

20 De acuerdo con la presente invención, la anchura del corte distal W11, la anchura del corte proximal W12, la longitud del corte distal L14 y la longitud del corte proximal L15 pueden tener una dimensión respectiva de aproximadamente 1,1, 0,7, 2,5 y 2,6 mm.

25 En la realización de la Figura 4, la parte no recubierta 102u, el electrodo de referencia 104, el primer electrodo de trabajo 100 y la parte recubierta 102c tienen una longitud respectiva de L10, L12, L11 y L13 que puede ser de aproximadamente 0,7, 0,7, 0,4 y 0,4 mm. El espaciado del electrodo S11 es una distancia entre la parte no recubierta 102u y el electrodo de referencia 104 que puede ser entre aproximadamente 0,2 a 0,75 mm, y más preferiblemente entre 0,6 a 0,7 mm. El espaciado del electrodo S10 es una distancia entre el electrodo de referencia 104 y el primer electrodo de trabajo 100; y entre la parte recubierta 102c y el primer electrodo de trabajo 100 que puede ser de aproximadamente 0,2 mm. Debe observarse que el espaciado del electrodo S11 es mayor que S10 para disminuir la posibilidad de que el reactivo se disuelva y migre a la parte no recubierta 102u. Adicionalmente, el espaciado del electrodo S11 es mayor que S10 para disminuir la posibilidad de que la capa de reactivo 110 se disponga sobre la parte no recubierta 102u debido a las variaciones en el proceso de impresión. Las capas cuarta a sexta se disponen sucesivamente sobre la tira 162 de la misma manera que en la primera realización de tira. La posición relativa y la forma de la capa de adhesivo 66, la capa hidrófila 68 y la capa superior 40 se ilustran en la Figura 4.

40 En la realización de la invención ilustrada en la Figura 8, la forma de C del segundo electrodo de trabajo 102 puede alterarse parcialmente de manera que el orden en el que el líquido humedecería los electrodos sería la parte no recubierta 102u, el primer electrodo de trabajo 100, el electrodo de referencia 104 y después la parte recubierta 102c. En el formato alternativo, el primer electrodo de trabajo 100 y la parte recubierta 102c serían equidistantes respecto al electrodo de referencia 104, lo que es deseable desde una perspectiva de caída de IR. En la realización de la segunda tira (es decir, la tira de ensayo 162) ilustrada en la Figura 7, los electrodos se disponen de manera que el orden en el que el líquido humedecería los electrodos sería la parte no recubierta 102u, el electrodo de referencia 104, el primer electrodo de trabajo 100 y después la parte recubierta 102c. Para la tira de ensayo 162, la parte recubierta 102c está más allá del electrodo de referencia 104 que la distancia entre el primer electrodo de trabajo 100 y el electrodo de referencia 104.

50 Por lo tanto, puede usarse un algoritmo para calcular una corriente de glucosa corregida que es independiente de las interferencias. Después de dosificar una muestra sobre una tira de ensayo, se mide una constante para ambos electrodos. En el primer electrodo de trabajo cuando el reactivo cubre toda el área del electrodo, puede usarse la siguiente ecuación para describir los componentes que contribuyen a la corriente de oxidación,

$$55 \quad WE_1 = G + I_{cov} \quad (\text{Ec. 1})$$

60 donde  $WE_1$  es la densidad de corriente en el primer electrodo de trabajo,  $G$  es la densidad de corriente debida a la glucosa que es independiente de interferencias e  $I_{cov}$  es la densidad de corriente debida a las interferencias en la parte de un electrodo de trabajo cubierta con reactivo.

En el segundo electrodo de trabajo que está parcialmente cubierto con reactivo, puede usarse la siguiente ecuación para describir los componentes que contribuyen a la corriente de oxidación,

$$65 \quad WE_2 = G + I_{cov} + I_{unc} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde  $WE_2$  es la densidad de corriente en el segundo electrodo de trabajo e  $I_{unc}$  es la densidad de corriente debida a las interferencias en la parte de un electrodo de trabajo no cubierta con reactivo. Pueden prepararse realizaciones alternativas de la presente invención usando diferentes áreas de reactivo recubiertas para el primer y segundo electrodos de trabajo, aunque entonces las ecuaciones deben tener en cuenta las diferentes áreas no recubiertas.

5 Para reducir los efectos de las interferencias, se formula una ecuación que describe la relación entre la corriente interferente y la parte recubierta del segundo electrodo de trabajo y la parte no recubierta del segundo electrodo de trabajo. Se aproxima que la densidad de corriente de oxidación interferente medida en la parte recubierta es la misma que la densidad de corriente medida en la parte no recubierta. Esta relación se describe adicionalmente mediante la siguiente ecuación,

$$I_{cov} = \frac{A_{cov}}{A_{unc}} \times I_{unc} \quad (\text{Ec. 3a})$$

donde  $A_{cov}$  es el área del segundo electrodo de trabajo cubierta con reactivo y  $A_{unc}$  es el área del segundo electrodo de trabajo no cubierta con reactivo.

20 Debe observarse que las partes no recubiertas 12u y las partes cubiertas 12c pueden tener un área respectiva denotada como  $A_{unc}$  y  $A_{cov}$ . Las partes no recubiertas 12u pueden oxidar los interferentes pero no la glucosa porque no está recubierta con una capa de reactivo 22. En contraste, la parte recubierta 12 puede oxidar la glucosa y los interferentes. Como se descubrió experimentalmente que las partes no recubiertas 12u oxidan los interferentes de una manera proporcional al área de la parte recubierta 12c, es posible predecir la proporción de corriente de interferente medida global en el segundo electrodo de trabajo 12. Esto permite que la corriente global medida en el segundo electrodo de trabajo 12 se corrija restando la contribución de la corriente interferente. En una realización de la presente invención, la proporción  $A_{unc}:A_{cov}$  puede estar entre 0,5:1 a 5:1, y es preferiblemente de aproximadamente 3:1. Se mostrarán más detalles que describen este algoritmo matemático para la corrección de corriente en una sección posterior.

30 En una realización alternativa de la presente invención, la densidad de corriente de oxidación de interferente medida en la parte recubierta puede ser diferente de la densidad de corriente medida en la parte no recubierta. Esto puede atribuirse a una oxidación más o menos eficaz de interferentes en la parte recubierta. En una situación, la presencia de mediadores redox puede potenciar la oxidación de interferencias respecto a la parte no recubierta. En otra situación, la presencia de sustancias que aumentan la viscosidad tales como hidroxietilcelulosa puede disminuir la oxidación de interferencia respecto a la parte no recubierta. Dependiendo de los componentes incluidos en la capa de reactivo que recubre parcialmente el segundo electrodo de trabajo, es posible que la densidad de corriente de oxidación de interferentes medida en la parte recubierta pueda ser mayor o menor que la de la parte no recubierta. Este comportamiento puede modelarse fenomenológicamente reescribiendo la Ecuación 3a de la siguiente forma,

$$I_{cov} = f \times I_{unc} \quad (\text{Ec. 3b})$$

donde  $f$  es un factor de corrección que incorpora los efectos de la eficacia de oxidación de interferentes de la parte recubierta a la no recubierta.

45 En una realización de la presente invención, las Ecuaciones 1, 2 y 3a puede manipularse para derivar una ecuación que da como resultado una densidad de corriente de glucosa corregida independiente de las interferencias. Debe observarse que las tres ecuaciones (Ecuaciones 1, 2 y 3a) en conjunto tienen 3 incógnitas que son  $G$ ,  $I_{cov}$ , e  $I_{unc}$ . La ecuación 1 puede recolocarse en la siguiente forma.

$$G = WE_1 - I_{cov} \quad (\text{Ec. 4})$$

55 A continuación  $I_{cov}$  de la Ecuación 3a puede sustituirse en la Ecuación 4 para dar la Ecuación 5.

$$G = WE_1 - \left[ \frac{A_{cov}}{A_{unc}} \times I_{unc} \right] \quad (\text{Ec. 5})$$

65 A continuación, la Ecuación 1 y la Ecuación 2 pueden combinarse para dar la Ecuación 6.

$$I_{unc} = WE_2 - WE_1 \quad (\text{Ec. 6})$$

A continuación,  $I_{unc}$  de la Ecuación 6 puede sustituirse en la Ecuación 5 para producir la Ecuación 7a.

$$G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{A_{cov}}{A_{unc}} \right) X (WE_2 - WE_1) \right\} \quad (\text{Ec. 7a})$$

La Ecuación 7a da como resultado una densidad de corriente de glucosa corregida  $G$  que retira los efectos de las interferencias que requiere únicamente la salida de densidad de corriente del primer y segundo electrodo de trabajo y una proporción de área recubierta a no recubierta del segundo electrodo de trabajo. En una realización de la presente invención, la proporción  $\frac{A_{cov}}{A_{unc}}$  puede programarse en un medidor de glucosa, por ejemplo en una memoria de sólo lectura. En otra realización de la presente invención, la proporción  $\frac{A_{cov}}{A_{unc}}$  puede transferirse a un medidor mediante un chip de codificación de calibrado que tendría en cuenta las variaciones de fabricación en  $A_{cov}$  o  $A_{unc}$ .

En una realización alternativa de la presente invención las Ecuaciones 1, 2 y 3b pueden usarse cuando la densidad de corriente de oxidación de interferentes para la parte recubierta es diferente de la densidad de corriente de oxidación de interferentes de la parte no recubierta. En dicho caso, se deriva una corrección alternativa a la Ecuación 7b como se muestra a continuación.

$$G = WE_1 - \{ f \times (WE_2 - WE_1) \} \quad (\text{Ec. 7b})$$

En otra realización de la presente invención, la corriente de glucosa corregida, Ecuación 7a o 7b, puede ser usada por el medidor únicamente cuando se supera un cierto umbral. Por ejemplo, si  $WE_2$  es de aproximadamente el 10% o mayor que  $WE_1$ , entonces el medidor usaría la Ecuación 7a o 7b para corregir la salida de corriente. Sin embargo, si  $WE_2$  es de aproximadamente el 10% o menor que  $WE_1$ , el medidor simplemente tomaría un valor de corriente medio entre  $WE_1$  y  $WE_2$  para mejorar la exactitud y precisión de la medida. La estrategia de usar la Ecuación 7a o 7b sólo en ciertas situaciones donde es probable que haya un nivel significativo de interferencias en la muestra mitiga el riesgo de sobrecorregir la corriente de glucosa medida. Debe observarse que cuando  $WE_2$  es suficientemente mayor que  $WE_1$  (por ejemplo aproximadamente el 20% o mayor), es un indicador de que tiene una concentración suficientemente alta de interferentes. En dicho caso, puede ser deseable producir un mensaje de error en lugar de un valor de glucosa porque un nivel muy alto de interferentes puede provocar un fallo en la exactitud de la Ecuación 7a o 7b.

En la realización de la presente invención ilustrada en las Figuras 9 y 10, el primer y segundo electrodos de trabajo están cubiertos parcialmente con una capa de reactivo de manera que las partes no recubiertas del primer y segundo electrodos de trabajo son diferentes. Esto contrasta con la primera y segunda realizaciones de tira de ensayo descritas anteriormente donde el primer electrodo de trabajo está completamente cubierto con la capa de reactivo.

La Figura 9 es una vista en planta simplificada de una parte distal de una tira de ensayo 2000 de acuerdo con otra realización más de la presente invención en la que la capa de reactivo 22 se ilustra con la capa conductora y la capa aislante 2002 de manera que hay dos electrodos de trabajo que tienen una parte no recubierta. La tira de ensayo 2002 se fabrica de una manera similar a la tira de ensayo 62 excepto que hay un cambio geométrico para el corte 18 como se muestra en la Figura 1. La tira de ensayo 2002 tiene el mismo sustrato 50, la capa conductora 64, la capa de reactivo 22, la capa de reactivo 66, la capa hidrófila 68 y la capa superior 40 que la tira de ensayo 62. La tira de ensayo 2002 se modificó para que tuviera un corte 2004 que tuviera forma de pesa como se ilustra en la Figura 9. La forma modificada para el corte 2004 permite que el electrodo de trabajo 2008 incluya una primera parte recubierta 2008c y una primera parte no recubierta 2008u; y el segundo electrodo de trabajo 2006 incluye una segunda parte recubierta 2006c y una segunda parte no recubierta 2006u. Para que la tira de ensayo 2000 reduzca eficazmente los efectos de los interferentes, la primera parte no recubierta 2008u debe tener un área total diferente de la segunda parte no recubierta 2006u.

La Figura 10 es una vista en planta simplificada de una primera parte distal de una tira de ensayo 5000 de acuerdo con otra realización más de la presente invención donde una capa de reactivo 820 se ilustra con la capa conductora de manera que hay dos electrodos de trabajo que tienen una parte no recubierta. La tira de ensayo 5000 se fabrica de una manera similar a la tira de ensayo 162 excepto que hay un cambio geométrico en la capa conductora 164 de manera que ambos, un primer electrodo de trabajo 4002 y un segundo electrodo de trabajo 4004 tienen forma de c. La tira de ensayo 5000 tiene el mismo sustrato 50, la capa aislante 106, la capa de reactivo 110, la capa de adhesivo 66, la capa hidrófila 68 y la capa superior 40 que la tira de ensayo 162. La geometría modificada permite al primer electrodo de trabajo 4002 incluir una primera parte recubierta 4002c y una primera parte no recubierta 4002u; y a un segundo electrodo de trabajo 4004 incluir una segunda parte recubierta 4004c y una segunda parte no recubierta 4004u. Para que la tira de ensayo 2000 reduzca eficazmente los efectos de los interferentes, la primera parte no recubierta 4002u debe tener un área diferente de la segunda parte no recubierta 4004u.

## ES 2 285 536 T3

Las tiras de ensayo 2000 y 5000 tienen la ventaja de que son más fáciles de fabricar respecto a depositar la capa de reactivo con el registro requerido y también cualquier capa depositada posteriormente. Adicionalmente, tanto el primero como el segundo electrodos de trabajo tendrán en algún grado las mismas interacciones químicas y electroquímicas con cualquier sustancia interferente asegurando de esta manera una mayor precisión en el proceso de corrección. Con ambos electrodos de trabajo que tienen algún nivel de área no recubierta las mismas reacciones ocurrirán en ambos electrodos pero en una extensión diferente. Usando una sencilla modificación de la Ecuación 7a, puede usarse la siguiente Ecuación 7c como ecuación de corrección para glucosa,

$$G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{f_1 + f_2}{f_2 - 1} \right) \times (WE_2 - WE_1) \right\} \quad (\text{Ec. 7c})$$

donde,  $f_1 = \frac{A_{cov1}}{A_{unc1}}$ ,  $f_2 = \frac{A_{cov2}}{A_{unc2}}$ ,  $A_{unc1}$  = es un área no recubierta del primer electrodo de trabajo,  $A_{unc2}$  = es un área no recubierta del segundo electrodo de trabajo,  $A_{cov1}$  = es un área cubierta del primer electrodo de trabajo, y  $A_{cov2}$  = es un área cubierta del segundo electrodo de trabajo.

Una ventaja de la presente invención es la capacidad para usar el primer y segundo electrodos de trabajo para determinar que la cámara de recepción de muestra se ha llenado suficientemente con líquido. Es una ventaja de esta invención que el segundo electrodo de trabajo no sólo corrija el efecto interferente sino que también puede medir glucosa. Esto permite unos resultados más precisos porque pueden promediarse juntas dos medidas de glucosa usándose solo una única tira de ensayo.

### Ejemplo 1

Se prepararon tiras de ensayo de acuerdo con la primera realización de la presente invención como se ilustra en las Figuras 1 a 3. Estas tiras de ensayo se ensayaron en sangre que tenía diversas concentraciones de interferentes. Para ensayar estas tiras, se conectaron eléctricamente a un potencióstato que tiene el modo de aplicar un potencial constante de 0,4 voltios entre el primer electrodo de trabajo y el electrodo de referencia; y el segundo electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. Una muestra de sangre se aplica a la entrada de muestra permitiendo que la sangre entre en la cámara de recepción de muestra y humedezca el primer electrodo de trabajo, el segundo electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. La capa de reactivo se hidrata con sangre y después genera ferrocianuro que puede ser proporcional a la cantidad de glucosa y/o concentración interferente presente en la muestra. Después de 5 segundos desde la aplicación de la muestra a la tira de ensayo, se mide una oxidación de ferricianuro como una corriente para ambos primer y segundo electrodos de trabajo.

La Figura 11 muestra las respuestas de corriente del primer electrodo de trabajo ensayado con muestras de 70 mg/dl de glucosa en sangre con adiciones a niveles variables de ácido úrico. La corriente no corregida en el primer electrodo de trabajo (representada mediante cuadrados) muestra un aumento en la corriente que es proporcional a la concentración de ácido úrico. Sin embargo, la corriente corregida (representada con triángulos) que se procesan mediante la Ecuación 7a no muestra efecto a partir del aumento de la concentración de ácido úrico.

La Figura 12 muestra las respuestas de corriente del primer electrodo de trabajo ensayado con muestras de 240 mg/dl de glucosa en sangre con adiciones a niveles variables de ácido úrico. El propósito de las tiras de ensayo a 240 mg/dl de glucosa es mostrar que el algoritmo de corrección de la ecuación 7a también es válido en un intervalo de concentraciones de glucosa. De forma similar a la Figura 11, la corriente no corregida en el primer electrodo de trabajo (representada por cuadrados) muestra un aumento en la corriente que es proporcional a la concentración de ácido úrico. Sin embargo, la corriente corregida (representada por triángulos) no muestra ningún efecto a partir del aumento de la concentración de ácido úrico.

### Ejemplo 2

Para mostrar que el método de corrección de corriente para interferentes se aplica a una amplia variedad de interferentes, se ensayaron tiras construidas de acuerdo con la realización de Figura 1 también con acetaminofeno y ácido genticónico a diversos niveles de concentración, además de ácido úrico. Con propósitos de cuantificar la magnitud de este efecto, un cambio en la salida de glucosa mayor del 10% (para un nivel de glucosa > 70 mg/dl) o de 7 mg/dl (para un nivel de glucosa <= 70 mg/dl) se definió como una interferencia significativa. La Tabla 1 indica que la corriente no corregida en el primer electrodo de trabajo muestra un efecto interferente significativo a una menor concentración de interferente que las tiras ensayadas con una respuesta de corriente corregida usando la Ecuación 7a. Esto muestra que el método de corrección de salida de corriente del primer electrodo de trabajo usando la Ecuación 7a es eficaz para corregir las interferencias. La Tabla 1 muestra que la corrección de la corriente en la Ecuación 7a es eficaz para interferencias con respecto a acetaminofeno, ácido genticónico y ácido úrico. La Tabla 1 muestra también el intervalo de concentración del interferente que se encuentra normalmente en la sangre. Además, la Tabla 1 muestra también que la corrección de corriente en la Ecuación 7a es eficaz a 240 mg/dl de nivel de concentración de glucosa.

## ES 2 285 536 T3

La Figura 13 muestra una vista en perspectiva despiezada de una tira de ensayo 800 que se diseña para abrir con lanceta la capa de piel de un usuario para provocar que se exprese el fluido fisiológico y recogerlo en una tira de ensayo 800 de una manera sin cicatriz. La tira de ensayo 800 incluye un sustrato 50, una capa conductora 802, una capa aislante 804, una capa de reactivo 820, una capa de adhesivo 830 y una capa superior 824. La tira de ensayo 800 incluye finalmente un extremo distal 58 y un extremo proximal 60.

En la tira de ensayo 800, la capa conductora 802 es la primera capa dispuesta sobre el sustrato 50. La capa conductora 802 incluye un segundo electrodo de trabajo 806, un primer electrodo de trabajo 808, un electrodo de referencia 810, un segundo contacto 812, un primer contacto 814, un contacto de referencia 816, y una barra de detección de tira 17, como se muestra en la Figura 13. El material usado para la capa conductora 802 y el proceso para imprimir la capa conductora 802 es el mismo que para ambas tira de ensayo 62 y tira de ensayo 800.

La capa aislante 804 es la segunda capa dispuesta sobre el sustrato 50. La capa aislante 16 incluye un corte 18 que puede tener una estructura con forma rectangular. El corte 18 expone una parte del segundo electrodo de trabajo 806, el primer electrodo de trabajo 808 y el electrodo de referencia 810 que puede humedecerse con un líquido. El material usado para la capa aislante 804 y el proceso para imprimir la capa aislante 804 es el mismo para ambas tira de ensayo 62 y tira de ensayo 800.

La capa de reactivo 820 es la tercera capa dispuesta sobre el sustrato 50, el primer electrodo de trabajo 808 y el electrodo de referencia 810. El material usado para la capa de reactivo 820 y el proceso para imprimir la capa de reactivo 820 es el mismo para ambas tira de ensayo 62 y tira de ensayo 800.

La capa de adhesivo 830 es la cuarta capa dispuesta sobre el sustrato 50. El material usado para la capa de adhesivo 830 y el proceso para imprimir la capa de adhesivo 830 es el mismo que para ambas tira de ensayo 62 y tira de ensayo 800. El propósito de la capa de adhesivo 830 es asegurar la capa superior 824 a la tira de ensayo 800. En una realización de esta invención, la capa superior 824 puede estar en forma de una lanceta integrada como se muestra en la Figura 13. En dicha realización, la capa superior 824 puede incluir una lanceta 826 que se localiza en un extremo distal 58.

La lanceta 826 que puede denominarse también miembro de penetración puede adaptarse para perforar la piel de un usuario y extraer sangre a un tira de ensayo 800 de manera que el segundo electrodo de trabajo 806, el primer electrodo de trabajo 808 y el electrodo de referencia 810 se humedecen. La lanceta 826 incluye una base de lanceta 832 que termina en un extremo distal 58 de la tira de ensayo ensamblada. La lanceta 826 puede hacerse con un material aislante tal como plástico, vidrio y silicio o un material conductor tal como acero inoxidable y oro. Pueden encontrarse descripciones adicionales de dispositivos médicos integrados que usan una lanceta integrada en los documentos WO 02/49507 y US 2002/0168290. Además, la lanceta 826 puede fabricarse por ejemplo mediante una técnica de estampado con troquel progresivo como se describe en los documentos WO 02/45507 y US 2002/0168290 mencionados anteriormente.

La Figura 14 es un esquema simplificado que muestra un medidor 900 que interfiere con una tira de ensayo. En una realización de esta invención las siguientes tiras de ensayo puede ser adecuadas para usar con el medidor 900 que son la tira de ensayo 62, la tira de ensayo 162, la tira de ensayo 800, la tira de ensayo 2000, la tira de ensayo 3000 o la tira de ensayo 5000. El medidor 900 tiene al menos tres contactos eléctricos que forman una conexión eléctrica con el segundo electrodo de trabajo, el primer electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. En particular el segundo contacto (13, 103 u 812) y el contacto de referencia (15, 105 u 816) conectan con una primera fuente de tensión 910; el primer contacto (11, 101 u 814) y el contacto de referencia (15, 105 u 816) conectan con una segunda fuente de tensión 920.

Cuando se realiza un ensayo, la primera fuente de tensión 910 aplica un primer potencial E1 entre el segundo electrodo de trabajo y el electrodo de referencia; y la segunda fuente de tensión 920 aplica un segundo potencial E2 entre el primer electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. En una realización de esta invención, el primer potencial E1 y el segundo potencial E2 pueden ser iguales tal como, por ejemplo, aproximadamente +0,4 voltios. En otra realización de esta invención, el primer potencial E1 y el segundo potencial E2 pueden ser diferentes. Se aplica una muestra de sangre de manera que el segundo electrodo de trabajo, el primer electrodo de trabajo y el electrodo de referencia están cubiertos con sangre. Esto permite que el segundo electrodo de referencia y el primer electrodo de referencia midan una corriente que es proporcional a las fuentes de glucosa y/o enzima no específica. Después de aproximadamente 5 segundos desde la aplicación de la muestra, el medidor 900 mide una corriente de oxidación para ambos el segundo electrodo de trabajo y el primer electrodo de trabajo.

# ES 2 285 536 T3

TABLA 1

*Resumen del Rendimiento de Interferencia Usando Salidas de Corriente No Corregidas y Corregidas*

Modo	Interferente	Concentración de Glucosa (mg/dl)	Concentración de Interferente cuando el efecto es significativo	Intervalo de Concentración Normal de interferente
No corregido	Acetaminofeno	70	11	1-2
No corregido	Ácido Gentísico	70	10	0,05-0,5
No corregido	Ácido Úrico	70	5	2,6 - 7,2
No corregido	Acetaminofeno	240	16	1-2
No corregido	Ácido Gentísico	240	12	0,05-0,5
No corregido	Ácido Úrico	240	8	2,6-7,2
Corregido	Acetaminofeno	70	120	1-2
Corregido	Ácido Gentísico	70	47	0,05-0,5
Corregido	Ácido Úrico	70	33	2,6-7,2
Corregido	Acetaminofeno	240	59	1-2
Corregido	Ácido Gentísico	240	178	0,05-0,5
Corregido	Ácido Úrico	240	29	2,6-7,2

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir interferencias en un detector electroquímico que comprende:

5 medir una primera corriente en un primer electrodo de trabajo (10), estando cubierto dicho primer electrodo de trabajo por una capa de reactivo (22),

10 medir una segunda corriente en un segundo electrodo de trabajo (12), en el que dicha capa de reactivo (22) cubre parcialmente dicho segundo electrodo de trabajo, teniendo dicho segundo electrodo de trabajo un área recubierta (12c) y un área no recubierta (12u); y

15 calcular un valor de corriente corregido representativo de una concentración de glucosa usando una proporción de dicha área recubierta (12c) a dicha área no recubierta (12u) de dicho segundo electrodo de trabajo.

2. El método de la reivindicación 1, en el que dicho valor de corriente corregido se calcula usando la ecuación:

$$20 \quad G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{A_{cov}}{A_{unc}} \right) \times (WE_2 - WE_1) \right\}$$

25 donde G es el valor de corriente corregido,  $WE_1$  es la densidad de corriente no corregida en dicho primer electrodo de trabajo,  $WE_2$  es la densidad de corriente no corregida en dicho segundo electrodo de trabajo,  $A_{cov}$  es el área recubierta de dicho segundo electrodo de trabajo y  $A_{unc}$  es el área no recubierta de dicho segundo electrodo de trabajo.

3. Un método para reducir interferencias en un detector electroquímico que comprende:

30 medir una primera corriente en un primer electrodo de trabajo (2008), en el que una capa de reactivo (22) cubre parcialmente dicho primer electrodo de trabajo, teniendo dicho primer electrodo de trabajo una primera área recubierta (2008c) y una primera área no recubierta (2008u)

35 medir una segunda corriente en un segundo electrodo de trabajo (2006), en el que dicha capa de reactivo (22) cubre parcialmente dicho segundo electrodo de trabajo, teniendo dicho segundo electrodo de trabajo una segunda área recubierta (2006c) y una segunda área no recubierta (2006u); y

40 calcular un valor de corriente corregido representativo de una concentración de glucosa usando una proporción de dicha área recubierta a dicha área no recubierta de dicho primer y dicho segundo electrodos de trabajo.

4. El método de la reivindicación 3, en el que dicho valor de corriente corregido se calcula usando la ecuación:

$$45 \quad G = WE_1 - \left\{ \left( \frac{f_1 + f_2}{f_2 - 1} \right) \times (WE_2 - WE_1) \right\} \quad (\text{Ec. 7c})$$

50 donde

$$55 \quad f1 = \frac{A_{cov1}}{A_{unc1}}$$

$$60 \quad f2 = \frac{A_{cov2}}{A_{unc2}}$$

65  $A_{unc1}$  es un área no recubierta de dicho primer electrodo de trabajo;

$A_{unc2}$  es un área no recubierta de dicho segundo electrodo de trabajo;

## ES 2 285 536 T3

$A_{cov1}$  es un área recubierta de dicho primer electrodo de trabajo;

$A_{cov2}$  es un área recubierta de dicho segundo electrodo de trabajo;

5  $G$  es el valor de corriente corregido;

$WE_1$  es la densidad de corriente no corregida en dicho primer electrodo de trabajo; y

10  $WE_2$  es la densidad de corriente no corregida en dicho segundo electrodo de trabajo.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

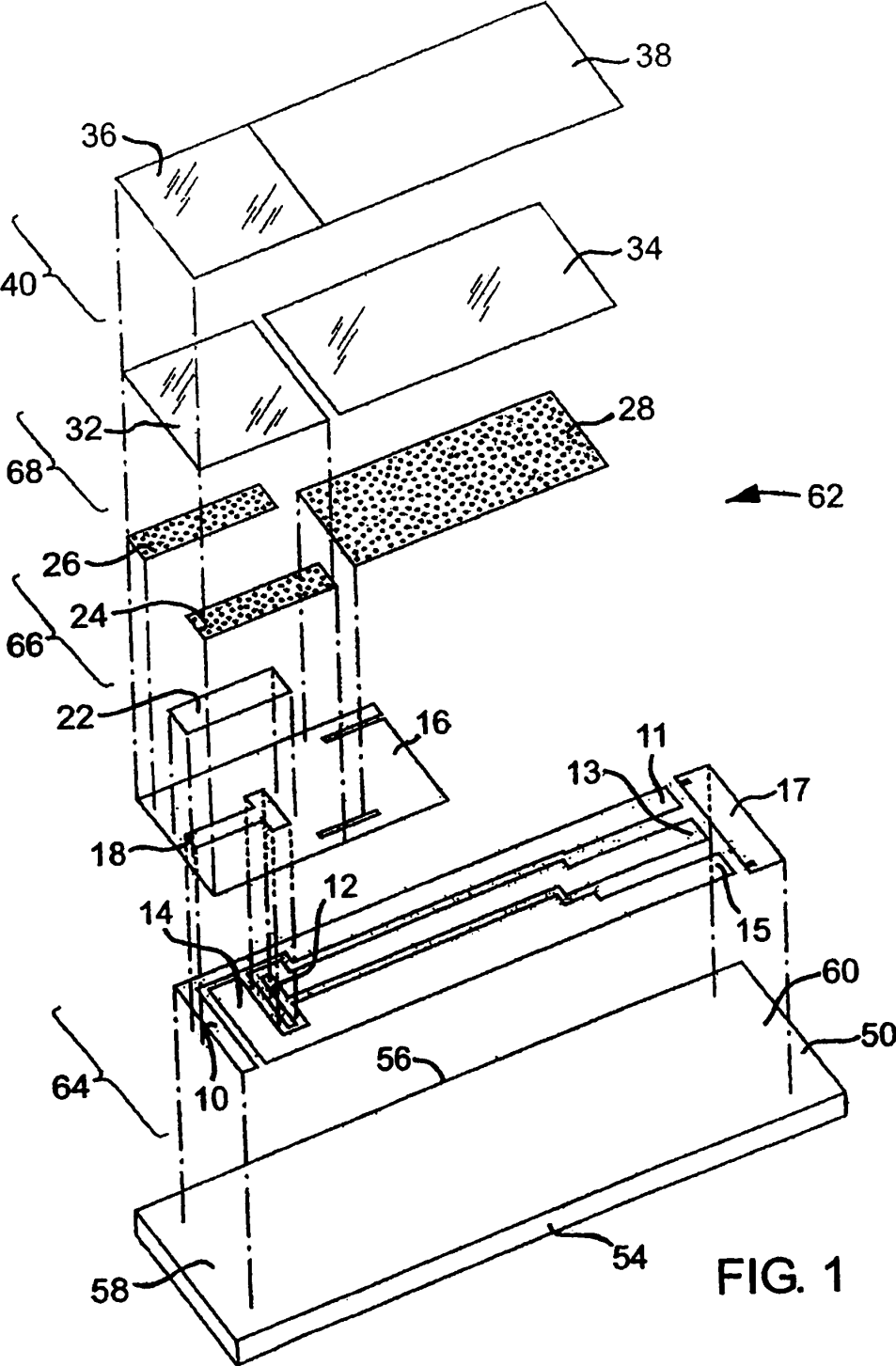


FIG. 1

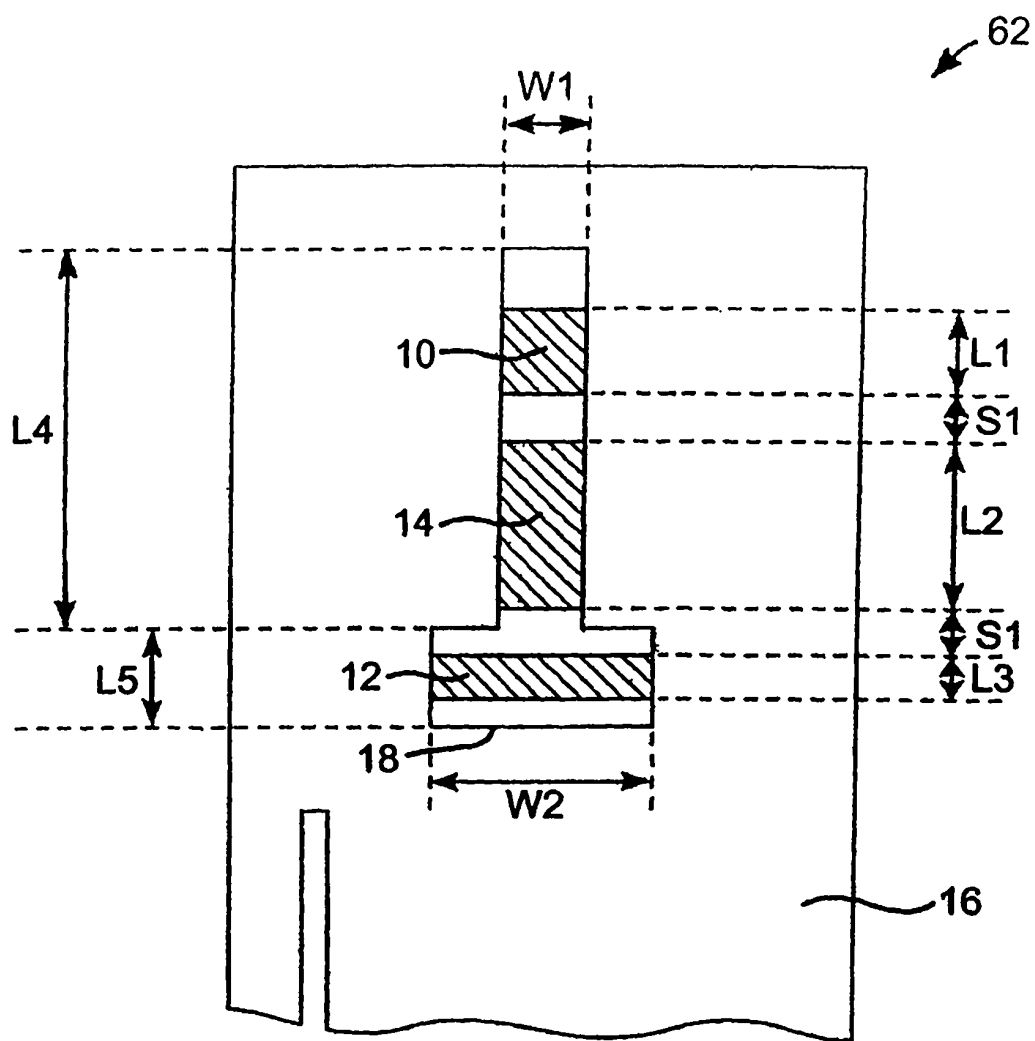


FIG. 2

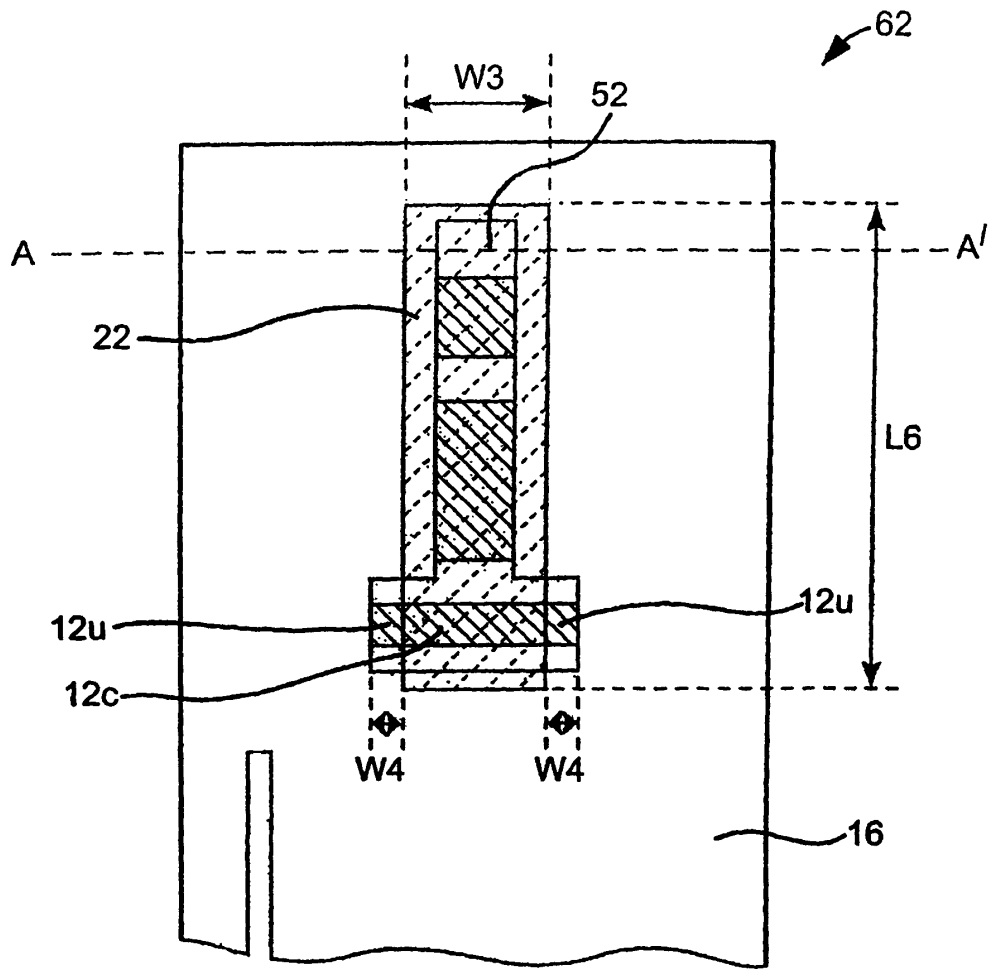


FIG. 3



FIG. 5

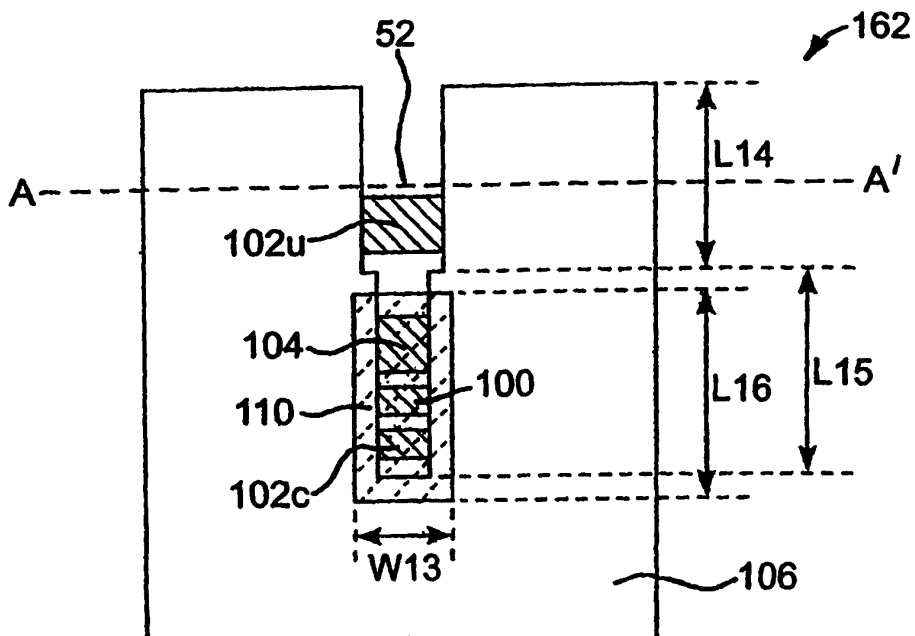
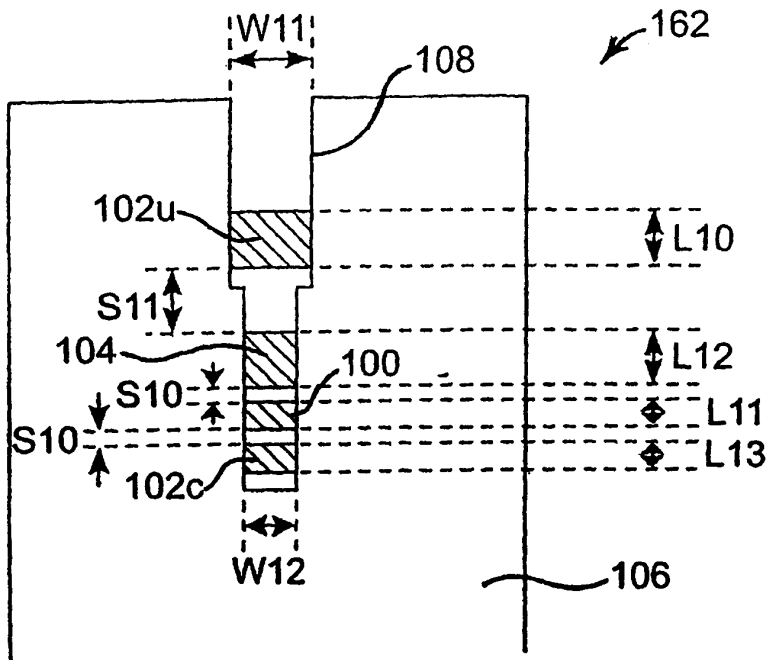


FIG. 6

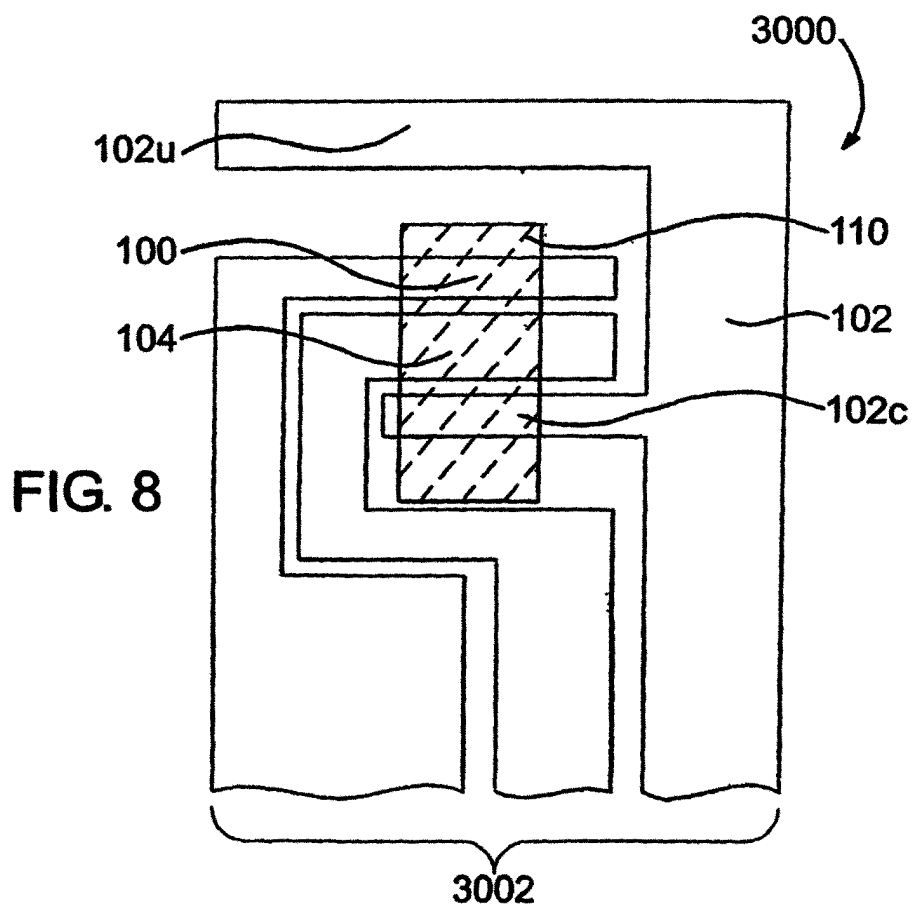
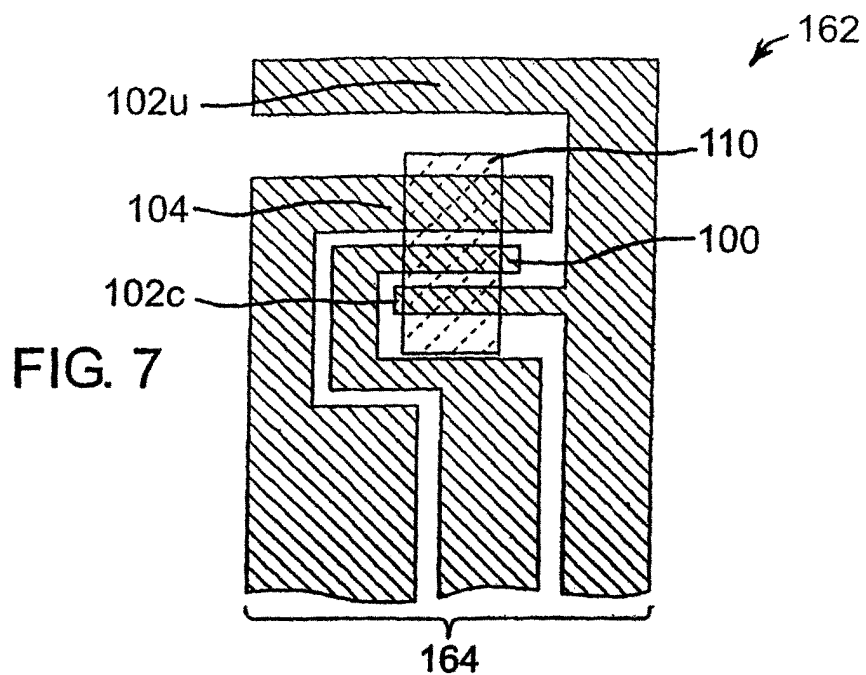


FIG. 9

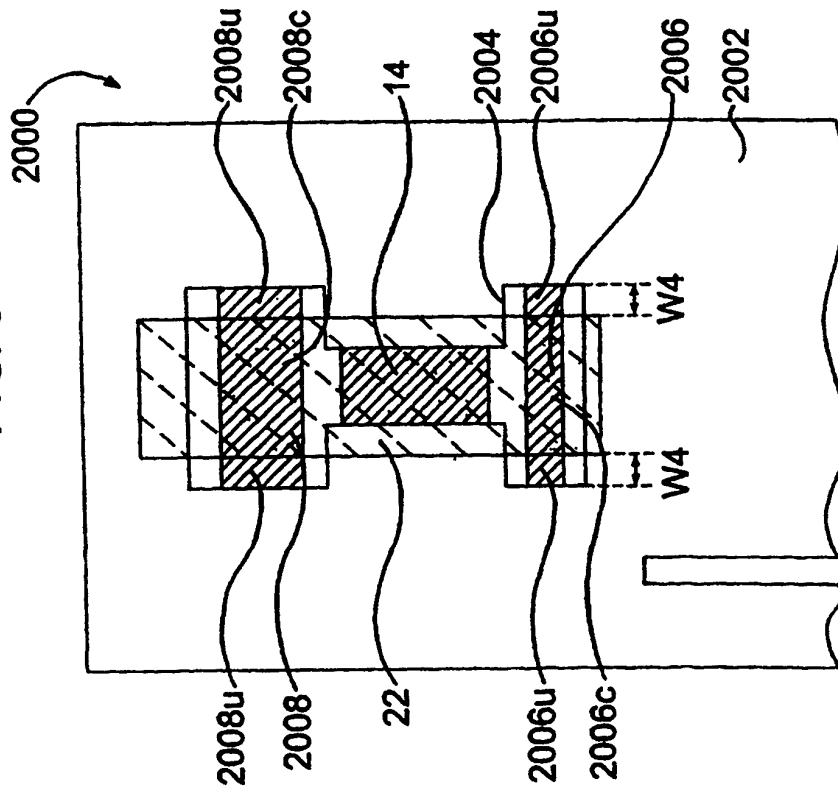


FIG. 10

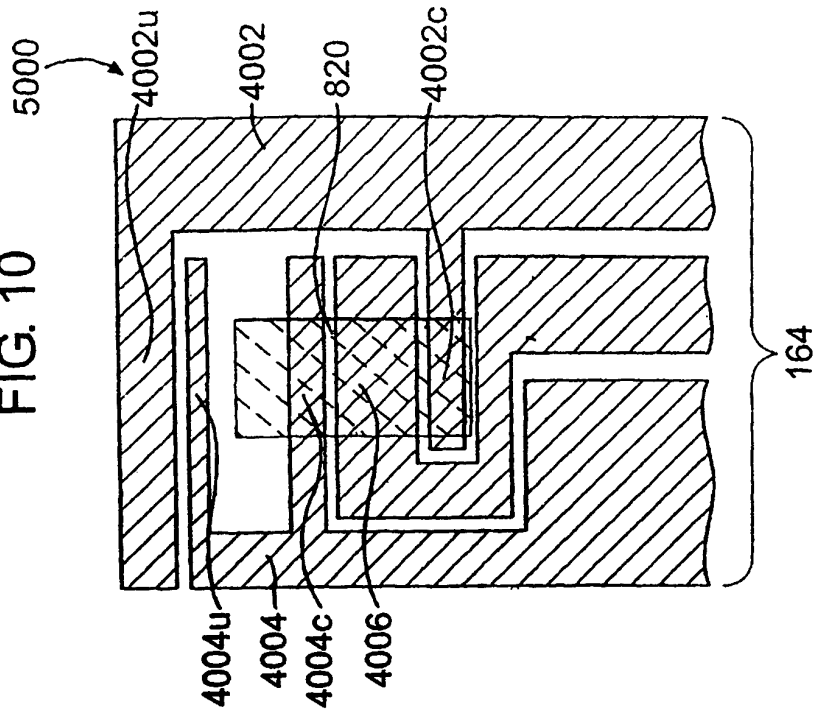


FIG. 11

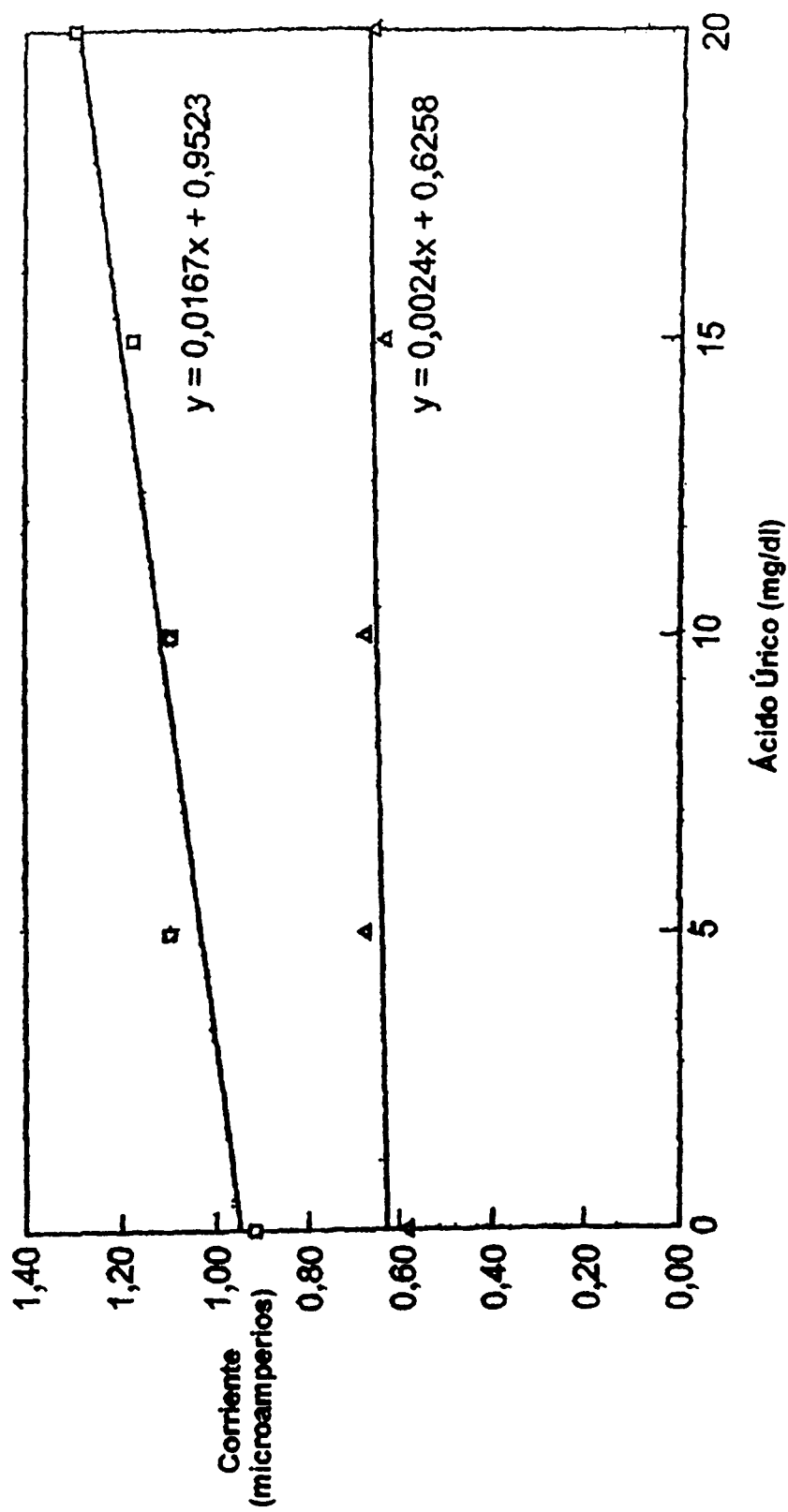


FIG. 12

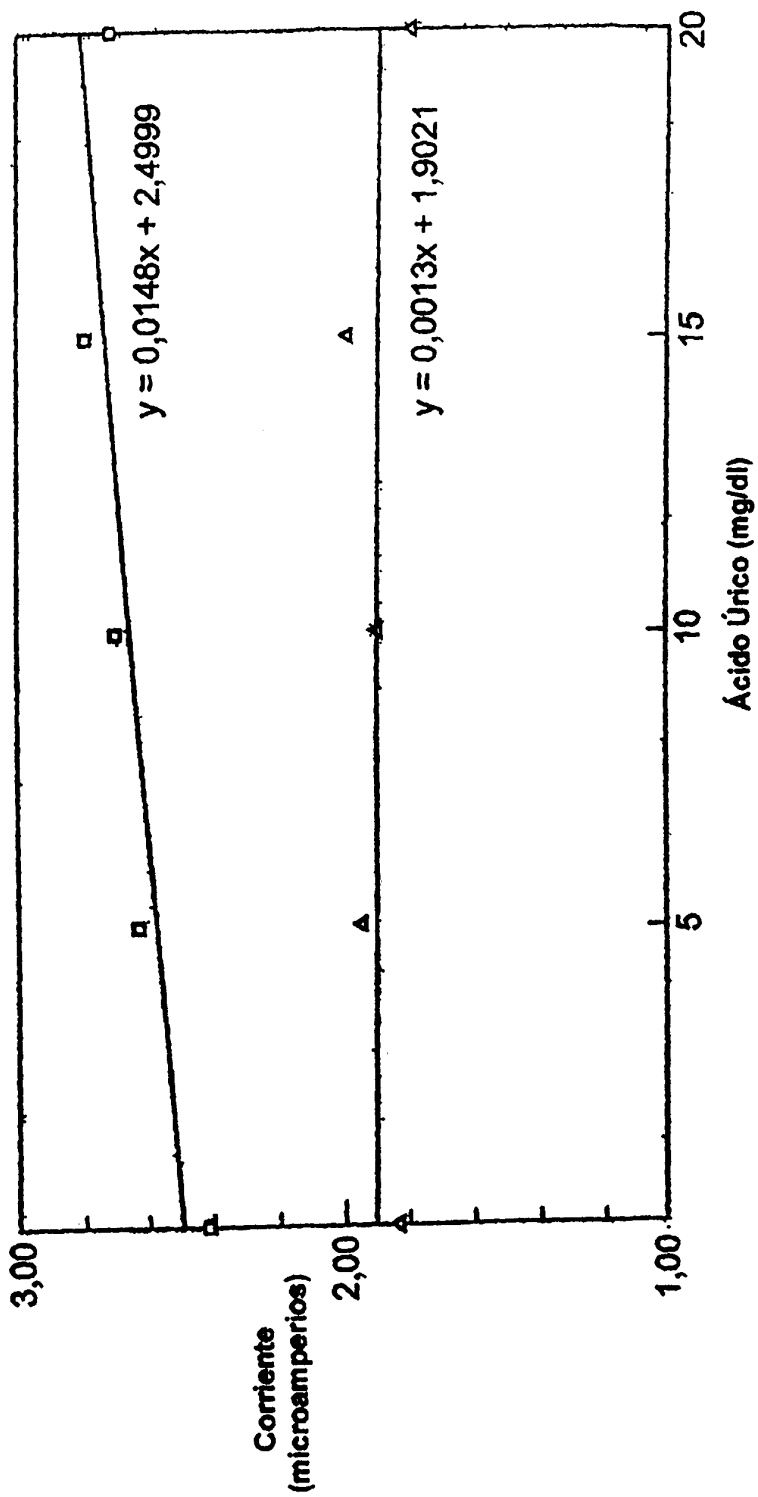


FIG. 13

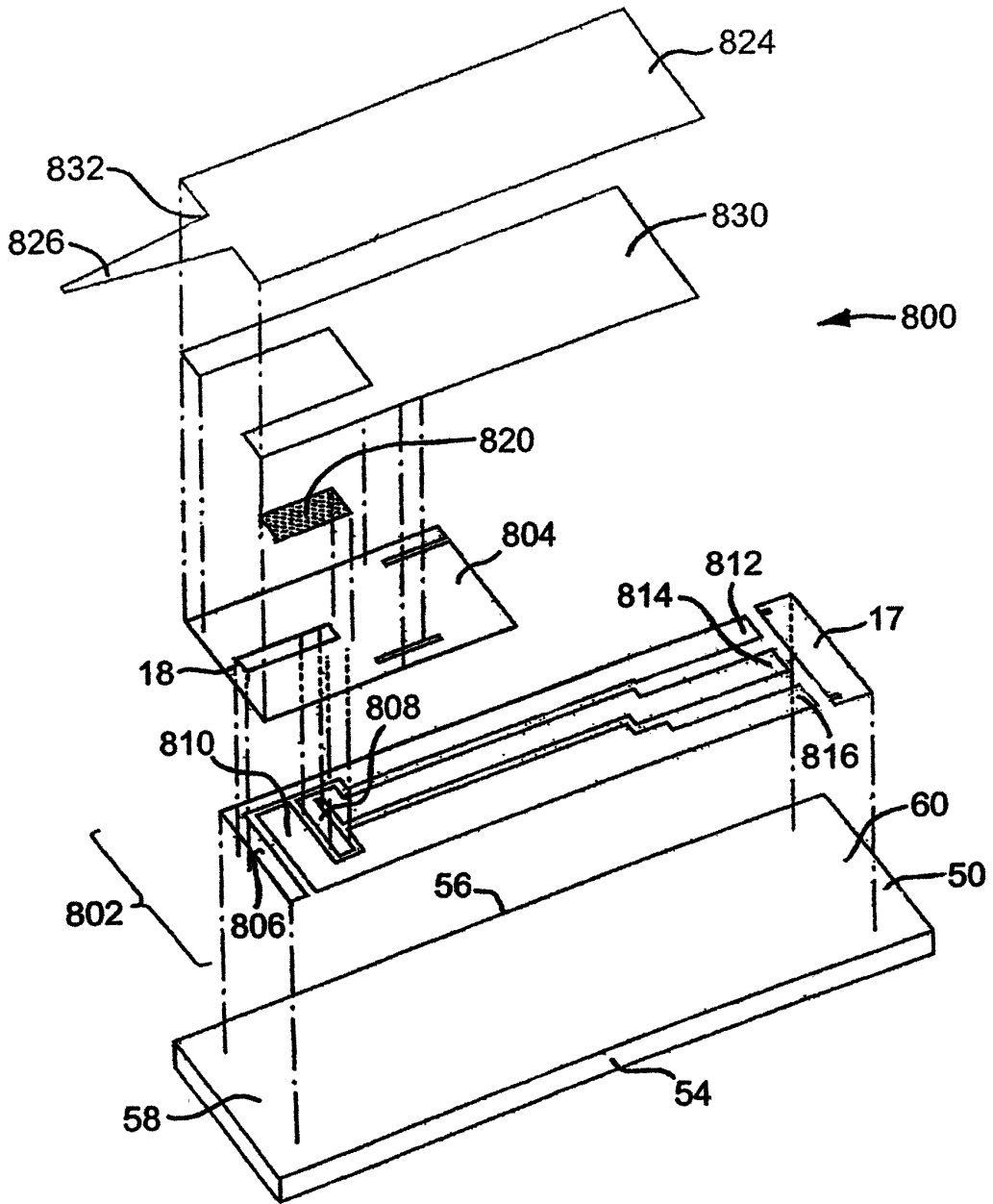


FIG. 14

