

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 407**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/72** (2006.01)

**G01N 27/327** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2014** **PCT/US2014/023167**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014** **WO14159354**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2014** **E 14730228 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018** **EP 2972398**

54 Título: **Aproximación progresiva de la concentración de un analito de muestra**

30 Prioridad:

**14.03.2013 US 201361781771 P**

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

**04.06.2019**

73 Titular/es:

**ASCENSIA DIABETES CARE HOLDINGS AG  
(100.0%)  
Peter-Merian Strasse 90  
4052 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**WU, PING**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 715 407 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

Aproximación progresiva de la concentración de un analito de muestra

Referencia a solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de EE.UU. N° US2016/033537, titulada "Aproximación progresiva de la concentración de un analito de muestra", presentada el 14 de marzo de 2013.

Antecedentes

- 10 Los sistemas biosensores proporcionan un análisis de una muestra de fluido biológico, tal como sangre, suero, plasma, orina, saliva, líquido intersticial o intracelular. Típicamente, los sistemas incluyen un dispositivo de medición que analiza una muestra que reside en un sensor de ensayo. La muestra generalmente está en forma líquida y, además de ser un fluido biológico, puede ser el derivado de un fluido biológico, tal como un extracto, una dilución, un filtrado o un precipitado reconstituido. El análisis realizado por el sistema biosensor determina la presencia y/o concentración de uno o más analitos, tales como alcohol, glucosa, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina, ácidos grasos libres, triglicéridos, proteínas, cetonas, fenilalanina o enzimas en el fluido biológico. Por ejemplo, una persona con diabetes puede utilizar un sistema biosensor para determinar el nivel de A1c o de glucosa en sangre para los ajustes a la dieta y/o la medicación.

- 15 En muestras de sangre que incluyen hemoglobina (Hb), se puede determinar la presencia y/o concentración de hemoglobina total (THb) y hemoglobina glicada (HbA1c). La HbA1c (% -A1c) es un reflejo del estado del control de la glucosa en pacientes diabéticos, que proporciona información sobre el control promedio de la glucosa durante los tres meses anteriores al ensayo. Para las personas diabéticas, una medición precisa de %-A1c ayuda a determinar qué tan bien el paciente está controlando los niveles de glucosa en sangre con una dieta y/o medicación a más largo plazo que lo que proporciona una medición instantánea del nivel de glucosa en sangre. Dado que una medición instantánea de la glucosa en la sangre no indica el control de glucosa en sangre que no sea cuando se realiza la medición.

- 20 Los sistemas biosensores pueden diseñarse para analizar uno o más analitos y pueden utilizar diferentes volúmenes de fluidos biológicos. Algunos sistemas pueden analizar una sola gota de sangre, tal como de 0,25-15 microlitros (µL) de volumen. Los sistemas biosensores se pueden implementar utilizando dispositivos de medición de mesa, portátiles y similares. Los dispositivos de medición portátiles pueden ser de mano y permitir la identificación y/o cuantificación de uno o más analitos en una muestra. Ejemplos de sistemas de medición portátiles incluyen los medidores Contour® de Bayer HealthCare en Tarrytown, Nueva York, mientras que ejemplos de sistemas de medición de mesa incluyen la estación de trabajo electroquímica disponible de CH Instruments en Austin, Texas.

- 25 Los sistemas biosensores pueden utilizar métodos ópticos y/o electroquímicos para analizar el fluido biológico. En algunos sistemas ópticos, la concentración del analito se determina midiendo la luz que ha interactuado con o ha sido absorbida por una especie identificable por la luz, tal como el analito o una reacción o producto formado por un indicador químico que reacciona con el analito. En otros sistemas ópticos, un indicador químico emite fluorescencia o emite luz en respuesta al analito cuando es iluminado por un haz de excitación. La luz se puede convertir en una señal de salida eléctrica, tal como corriente o potencial, que puede procesarse de manera similar a la señal de salida de un sistema electroquímico. En cualquier sistema óptico, el sistema mide y correlaciona la luz con la concentración de analito de la muestra.

- 30 En los sistemas ópticos de absorción de luz, el indicador químico produce un producto de reacción que absorbe la luz. Se puede utilizar un indicador químico como el tetrazolio junto con una enzima tal como diaforasa. El tetrazolio forma habitualmente formazan (un cromógeno) en respuesta a la reacción redox del analito. Un haz de entrada incidente desde una fuente de luz se dirige hacia la muestra. La fuente de luz puede ser un láser, un diodo emisor de luz, o similares. El haz incidente puede tener una longitud de onda seleccionada para la absorción por el producto de reacción. A medida que el haz incidente pasa a través de la muestra, el producto de reacción absorbe una parte del haz incidente, atenuando o reduciendo así la intensidad del haz incidente. El haz incidente puede reflejarse o transmitirse a través de la muestra a un detector. El detector recoge y mide el haz incidente atenuado (señal de salida). La cantidad de luz atenuada por el producto de reacción es una indicación de la concentración de analito en la muestra.

- 35 En los sistemas ópticos generados por la luz, el indicador químico produce fluorescencia o emite luz en respuesta a la reacción redox del analito. Un detector recoge y mide la luz generada (señal de salida). La cantidad de luz producida por el indicador químico es una indicación de la concentración de analito en la muestra y se representa como una corriente o potencial del detector.

Un ejemplo de un sistema óptico que utiliza reflectancia es un sistema %-A1c de flujo laminar que determina la concentración de hemoglobina A1c en la sangre. Estos sistemas utilizan química de inmunoensayo, en que la sangre se introduce en el sensor de ensayo del sistema biosensor, en donde reacciona con reactivos y luego fluye a lo largo de una membrana reactiva. Cuando se ponen en contacto con la sangre, perlas de color recubiertas con anticuerpo A1c se liberan y se mueven junto con la sangre a una Zona de detección 1. Debido a la competencia entre la A1c en la muestra de sangre y un péptido A1c presente en la Zona de detección 1 para las perlas de color, las perlas de color no adheridas al anticuerpo A1c se capturan en la Zona 1 y, por lo tanto, se detectan como la señal A1c del cambio en la reflectancia. La hemoglobina total (THb) en la muestra de sangre también está reaccionando con otros reactivos de tratamiento de la sangre y se mueve hacia la Zona de detección 2, en donde se mide en una longitud de onda diferente. Para determinar la concentración de A1c en la muestra de sangre, la señal de reflectancia es proporcional a la concentración de analito A1c (%-A1c), pero se ve afectada por el contenido de THb de la sangre. Sin embargo, para la medición de THb, la reflectancia en la Zona 2 es inversamente proporcional a la THb (mg/mL) de la muestra de sangre, pero no se ve afectada de manera apreciable por el contenido de A1c de la sangre.

En los sistemas electroquímicos, la concentración de analito de la muestra se determina a partir de una señal eléctrica generada por una reacción de oxidación/reducción o redox del analito o una especie medible que responde a la concentración de analito cuando se aplica una señal de entrada a la muestra. La señal de entrada puede ser un potencial o una corriente y puede ser constante, variable o una combinación de las mismas, como cuando se aplica una señal de CA con un desplazamiento de señal de CC. La señal de entrada se puede aplicar como un pulso simple o en múltiples pulsos, secuencias o ciclos. Se puede añadir una enzima o una especie similar a la muestra para potenciar la transferencia de electrones desde el analito durante la reacción redox. La enzima o especie similar puede reaccionar con un analito único, proporcionando así especificidad a una porción de la señal de salida generada. Se puede utilizar un mediador redox como la especie medible para mantener el estado de oxidación de la enzima y/o ayudar en la transferencia de electrones desde el analito a un electrodo. Así, durante la reacción redox, una enzima o especie similar puede transferir electrones entre el analito y el mediador redox, mientras que el mediador redox transfiere electrones entre él mismo y un electrodo del sensor de ensayo.

Los sistemas biosensores electroquímicos habitualmente incluyen un dispositivo de medición que tiene contactos eléctricos que se conectan con los conductores eléctricos del sensor de ensayo. Los conductores pueden estar hechos de materiales conductores, tales como metales sólidos, pastas metálicas, carbono conductor, pastas de carbono conductor, polímeros conductores y similares. Los conductores eléctricos se conectan a los electrodos de trabajo y contraelectrodos, y pueden conectarse a electrodos de referencia y/u otros electrodos que se extienden a un depósito de muestra que depende del diseño del sensor de ensayo. Uno o más conductores eléctricos también pueden extenderse al depósito de muestra para proporcionar una funcionalidad no proporcionada por los electrodos.

En muchos sistemas biosensores, el sensor de ensayo puede adaptarse para uso fuera, dentro o parcialmente dentro de un organismo vivo. Cuando se utiliza fuera de un organismo vivo, una muestra del fluido biológico se puede introducir en un depósito de muestra en el sensor de ensayo. El sensor de ensayo se puede colocar en el dispositivo de medición antes, después o durante la introducción de la muestra para su análisis. Cuando está dentro o parcialmente dentro de un organismo vivo, el sensor de ensayo puede sumergirse continuamente en la muestra o la muestra puede introducirse intermitentemente en el sensor de ensayo. El sensor de ensayo puede incluir un depósito que aisle parcialmente un volumen de la muestra o que esté abierto a la muestra. Cuando está abierto, el sensor de ensayo puede adoptar la forma de una fibra u otra estructura puesta en contacto con el fluido biológico. De manera similar, la muestra puede fluir continuamente a través del sensor de ensayo, tal como para la monitorización continua, o puede ser interrumpida, tal como para la monitorización intermitente, para el análisis.

El dispositivo de medición de un sistema biosensor electroquímico aplica una señal de entrada a través de los contactos eléctricos a los conductores eléctricos del sensor de ensayo. Los conductores eléctricos transmiten la señal de entrada a través de los electrodos a la muestra presente en el depósito de muestra. La reacción redox del analito genera una señal de salida eléctrica en respuesta a la señal de entrada. La señal de salida eléctrica del sensor de ensayo puede ser una corriente (tal como la generada por amperometría o voltimetría), un potencial (tal como el generado por potenciometría/galvanometría), o una carga acumulada (tal como la generada por coulometría). El dispositivo de medición puede tener la capacidad de procesamiento para medir y correlacionar la señal de salida con la presencia y/o concentración de uno o más analitos en la muestra.

En coulometría, se aplica un potencial a la muestra para oxidar o reducir exhaustivamente el analito. Un sistema biosensor que utiliza coulometría se describe en la Patente de EE.UU. Nº 6.120.676. En amperometría, se aplica una señal eléctrica de potencial (voltaje) constante a los conductores eléctricos del sensor de ensayo, mientras que la señal de salida medida es una corriente. Los sistemas biosensores que utilizan amperometría se describen en las patentes de EE.UU Nºs 5.620.579; 5.653.863; 6.153.069; y 6.413.411. En voltimetría, se aplica una señal eléctrica de potencial variable a una muestra de fluido biológico, mientras que la salida medida es la corriente. En una

amperometría cerrada y una voltametría cerrada, se utilizan entradas pulsadas tal como se describe en los documentos WO 2007/013915 y WO 2007/040913, respectivamente.

Las señales de salida primarias responden a la concentración de analito de la muestra y se obtienen a partir de una señal de entrada analítica. Las señales de salida, que son sustancialmente independientes de las señales que responden a la concentración de analito de la muestra, incluyen señales que responden a la temperatura y las señales que responden sustancialmente a los interferentes, tales como el contenido de hematocrito o acetaminofeno de una muestra de sangre cuando el analito es glucosa, por ejemplo. A las señales de salida que no responden sustancialmente a la concentración de analito se las puede aludir como señales de salida secundarias, ya que no son señales de salida primarias que responden a la alteración de la luz por el analito o indicador que responde al analito, o la reacción redox electroquímica del analito que responde al mediador redox sensible al analito. Las señales de salida secundarias responden a las características físicas o del entorno de la muestra biológica. Las señales de salida secundarias pueden surgir de la muestra o de otras fuentes, tales como un termopar que proporciona una estimación de una característica del entorno de la muestra. Por lo tanto, las señales de salida secundarias se pueden determinar a partir de la señal de entrada analítica o de otra señal de entrada.

Cuando surgen de la muestra, las señales de salida secundarias pueden determinarse a partir de los electrodos utilizados para determinar la concentración de analito de la muestra, o de electrodos adicionales. Los electrodos adicionales pueden incluir la misma composición de reactivo que los electrodos utilizados para determinar la concentración de analito de la muestra, una composición de reactivo diferente o ninguna composición de reactivo. Por ejemplo, se puede utilizar una composición de reactivo que reacciona con una composición de reactivo interferente o una composición de reactivo que carece de electrodo para estudiar una o más características físicas de la muestra, tal como el hematocrito de sangre entera.

El rendimiento de medición de un sistema biosensor se define en términos de exactitud y precisión. La exactitud refleja los efectos combinados de componentes de error sistemático y aleatorio. Error sistemático, o veracidad, es la diferencia entre el valor medio determinado a partir del sistema biosensor y uno o más valores de referencia aceptados para la concentración de analito del fluido biológico. La veracidad se puede expresar en términos de desviación media, con valores de desviación media más grandes que representan una veracidad más baja y, con ello, contribuyen a una menor exactitud. La precisión es la proximidad de la coincidencia entre las lecturas de múltiples analitos en relación con una media. Uno o más errores en el análisis contribuyen a la desviación y/o la imprecisión de la concentración de analito determinada por el sistema biosensor. Una reducción en el error de análisis de un sistema biosensor conduce, por lo tanto, a un aumento en la exactitud y/o precisión y, por lo tanto, una mejora en el rendimiento de la medición.

La desviación se puede expresar en términos de "desviación absoluta" o "desviación porcentual". La desviación absoluta es la diferencia entre la concentración determinada y la concentración de referencia, y puede expresarse en las unidades de la medición, tales como mg/dL, mientras que la desviación porcentual puede expresarse como un porcentaje de la desviación absoluta sobre la concentración de referencia, o puede expresarse como un porcentaje de la desviación absoluta sobre el valor de concentración de corte o la concentración de referencia de la muestra. Por ejemplo, si el valor de la concentración de corte es de 100 mg/dL, entonces para concentraciones de glucosa inferiores a 100 mg/dL, la desviación porcentual se define como (la desviación absoluta sobre 100 mg/dL) \* 100; para concentraciones de glucosa de 100 mg/dL y mayores, la desviación porcentual se define como la desviación absoluta sobre el valor de referencia aceptado de la concentración de analito \* 100.

Los valores de referencia aceptados para el analito glucosa en muestras de sangre se obtienen preferiblemente con un instrumento de referencia, tal como el YSI 2300 STAT PLUS™ disponible de YSI Inc., Yellow Springs, Ohio. Se pueden utilizar otros instrumentos de referencia y formas de determinar la desviación porcentual para otros analitos. Para las mediciones de %A1c, el error se puede expresar como desviación absoluta o desviación porcentual frente al valor de referencia de %A1c para el intervalo terapéutico de 4 - 12%. Los valores de referencia aceptados para el %A1c en muestras de sangre se pueden obtener con un instrumento de referencia, tal como el instrumento Tosoh G7 disponible de Tosoh Corp, Japón.

Los sistemas biosensores pueden proporcionar una señal de salida durante el análisis del fluido biológico, incluido el error de múltiples fuentes de error. Estas fuentes de error contribuyen al error total, que puede reflejarse en una señal de salida anormal, tal como cuando una o más partes o la señal de salida completa no responden o responden de manera incorrecta a la concentración de analito de la muestra.

El error total en la señal de salida puede proceder de uno o más contribuyentes de error, tales como las características físicas de la muestra, los aspectos del entorno de la muestra, las condiciones operativas de la muestra, la variación de fabricación entre los lotes de sensores de ensayo y similares. Las características físicas de la muestra incluyen la concentración de hematocrito (glóbulos rojos), sustancias interferentes, tales como lípidos y

proteínas, y similares. Las sustancias interferentes para los análisis de glucosa también pueden incluir ácido ascórbico, ácido úrico, acetaminofeno y similares. Los aspectos del entorno de la muestra incluyen la temperatura, el contenido de oxígeno del aire y similares. Las condiciones operativas del sistema incluyen condiciones de llenado insuficiente cuando el tamaño de la muestra no es lo suficientemente grande, el llenado lento del sensor de ensayo por la muestra, el contacto eléctrico intermitente entre la muestra y uno o más electrodos del sensor de ensayo, la degradación de los reactivos que interactúan con el analito después de que se fabricó el sensor de prueba, y similares. Las variaciones de fabricación entre los lotes de sensores de ensayo incluyen cambios en la cantidad y/o actividad de los reactivos, los cambios en el área y/o espaciado del electrodo, cambios en la conductividad eléctrica de los conductores y electrodos, y similares. Un lote de sensores de ensayo se fabrica preferiblemente en una única operación de fabricación en la que la variación de fabricación de lote a lote se reduce o elimina sustancialmente. Puede haber otros contribuyentes o una combinación de contribuyentes de errores que provocan errores en el análisis.

La desviación porcentual, la desviación porcentual media, la desviación estándar (SD) de la desviación porcentual, el porcentaje de coeficiente de varianza (%-CV) y la sensibilidad al hematocrito son formas independientes de expresar el rendimiento de medición de un sistema biosensor. Se pueden utilizar formas adicionales para expresar el rendimiento de medición de un sistema biosensor.

La desviación porcentual es una representación de la precisión del sistema biosensor en relación con una concentración de analito de referencia, mientras que la desviación estándar de la desviación porcentual refleja la exactitud de múltiples análisis con respecto al error que surge de las características físicas de la muestra, los aspectos del entorno de la muestra, las condiciones operativas del sistema y las variaciones de fabricación entre los sensores de ensayo. Por lo tanto, una disminución en la desviación estándar de la desviación porcentual representa un aumento en el rendimiento de medición del sistema biosensor a través de múltiples análisis. El porcentaje del coeficiente de varianza se puede expresar como  $100\% \times (\text{SD de un conjunto de muestras}) / (\text{la media de lecturas múltiples tomadas del mismo conjunto de muestras})$  y refleja la precisión de múltiples análisis. Así, una disminución en la desviación estándar de la desviación porcentual representa un incremento en el comportamiento de medición del sistema biosensor a través de múltiples análisis.

La media puede determinarse para las desviaciones porcentuales determinadas a partir de múltiples análisis utilizando sensores de ensayo de un solo lote para proporcionar una "desviación porcentual media" para los análisis múltiples. La desviación porcentual media se puede determinar para un solo lote de sensores de ensayo utilizando un subconjunto del lote, tal como los sensores de ensayo 80-140, para analizar múltiples muestras de sangre.

El error relativo es una expresión general de error que puede expresarse como  $\Delta A/A_{\text{ref}}$  (error relativo) =  $(A_{\text{calculado}} - A_{\text{ref}})/A_{\text{ref}} = A_{\text{calculado}}/A_{\text{ref}} - 1$ ; en donde  $\Delta A$  es el error presente en el análisis de la concentración de analito determinada en relación con la concentración de analito de referencia;  $A_{\text{calculado}}$  es la concentración de analito determinada a partir de la muestra durante el análisis con un dispositivo de medición; y  $A_{\text{ref}}$  es la concentración de analito de referencia de la muestra.

El aumento del rendimiento de la medición del sistema biosensor mediante la reducción del error de estas u otras fuentes significa que la mayor parte de las concentraciones de analito determinadas por el sistema biosensor pueden utilizarse para una terapia precisa por parte del paciente cuando la glucosa en sangre está siendo monitorizada, por ejemplo. Adicionalmente, también puede reducirse la necesidad de descartar los sensores de ensayo y repetir el análisis por parte del paciente.

Los sistemas de biosensores pueden tener una fuente única de señales de salida no compensadas que responden a una reacción redox o basada en la luz del analito, tales como los electrodos de contador y de trabajo de un sistema electroquímico. Los sistemas biosensores también pueden tener más de una fuente de salida no compensada sensible o no sensible a la concentración de analito de la muestra. Por ejemplo, en un biosensor A1c puede haber una o más señales de salida que responden a la concentración de analito de la muestra, pero también puede haber una o más señales de salida que responden a la hemoglobina total (THb) que no responden a la concentración de analito de la muestra, pero que afectan a la o las señales sensibles del analito.

Muchos sistemas biosensores incluyen uno o más métodos para compensar el error asociado con un análisis, intentando así mejorar el rendimiento de medición del sistema biosensor. Los métodos de compensación pueden aumentar el rendimiento de la medición de un sistema biosensor al proporcionar al sistema biosensor la capacidad de compensar los análisis no precisos, aumentando así la exactitud y/o precisión de los valores de concentración obtenidos a partir del sistema. Sin embargo, estos métodos han tenido dificultades para compensar los errores en el análisis atribuibles a los errores introducidos por el propio sistema biosensor (error del sistema) y los errores que proceden del análisis (error de señal de salida). La presente invención evita o mejora al menos algunas de las

desventajas de los sistemas de determinación de la concentración de analito que no compensaron los errores del sistema y de la señal de salida.

## Sumario

5 En un aspecto, la invención proporciona un método para determinar una concentración de analito en una muestra, que incluye la generación de al menos dos señales de salida de una muestra; medir al menos dos señales de salida sensibles a analitos de la muestra; determinar al menos dos concentraciones iniciales de analito a partir de al menos dos señales de salida sensibles al analito; determinar una primera concentración de pseudo-referencia a partir de al menos dos señales de salida sensibles al analito, en que la primera concentración de pseudo-referencia es un primer sustituto del verdadero error relativo; determinar al menos un primer parámetro de anclaje en respuesta a la  
10 primera concentración de pseudo-referencia, en que el al menos un primer parámetro de anclaje compensa el error del sistema; incorporar el al menos un primer parámetro de anclaje en al menos dos primeras relaciones de compensación; determinar al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas de anclaje en respuesta a las al menos dos concentraciones de analito iniciales, los al menos dos primeros parámetros de anclaje y las al menos dos primeras relaciones de compensación; determinar una segunda concentración de pseudo-referencia promediando las al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas de anclaje, en que la segunda concentración de pseudo-referencia es un segundo sustituto del verdadero error relativo; e informar la segunda concentración de pseudo-referencia como una concentración final de analito compensado de la muestra.

En otro aspecto de la invención, existe un dispositivo de medición de analito que incluye un circuito eléctrico conectado a una interfaz de sensor, en que el circuito eléctrico incluye un procesador conectado a un generador de  
20 señales y un medio de almacenamiento; en que el procesador es capaz de medir al menos dos señales de salida sensibles a analitos de la muestra; en que el procesador es capaz de determinar al menos dos concentraciones de analito iniciales a partir de al menos dos señales de salida sensibles al analito; en que el procesador es capaz de determinar una primera concentración de pseudo-referencia a partir de las al menos dos señales de salida sensibles al analito, en que la primera concentración de pseudo-referencia es un primer sustituto del verdadero error relativo; en que el procesador es capaz de determinar al menos un primer parámetro de anclaje en respuesta a la primera  
25 concentración de pseudo-referencia, en que el al menos un primer parámetro de anclaje compensa el error del sistema; en que el procesador es capaz de incorporar el al menos un primer parámetro de anclaje en al menos dos primeras relaciones de compensación; en que el procesador es capaz de determinar al menos dos primeras concentraciones de analito compensado de anclaje en respuesta a las al menos dos concentraciones de analito iniciales, los al menos dos primeros parámetros de anclaje y las al menos dos primeras relaciones de compensación; en que el procesador es capaz de determinar una segunda concentración de pseudo-referencia promediando las al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas en el anclaje, en que la segunda concentración de pseudo-referencia es un segundo sustituto del verdadero error relativo; y en que el procesador es capaz de informar la segunda concentración de pseudo-referencia como una concentración de analito compensada final de la muestra.

35 En otro aspecto de la invención, existe un sistema biosensor para determinar una concentración de analito en una muestra, que incluye un sensor de ensayo que tiene una interfaz de muestra adyacente a un depósito formado por una base, en que el sensor de ensayo es capaz de generar al menos dos señales de salida de una muestra; y un dispositivo de medición que tiene un procesador conectado a una interfaz de sensor, teniendo la interfaz de sensor comunicación eléctrica con la interfaz de muestra y teniendo el procesador comunicación eléctrica con un medio de almacenamiento; en que el procesador es capaz de medir al menos dos señales de salida sensibles a analitos de la muestra; en que el procesador es capaz de determinar al menos dos concentraciones de analitos iniciales a partir de las al menos dos señales de salida sensibles a analitos; en que el procesador es capaz de determinar una primera concentración de pseudo-referencia a partir de las al menos dos señales de salida sensibles a analitos, en que la primera concentración de pseudo-referencia es un primer sustituto del verdadero error relativo; en que el procesador es capaz de determinar al menos un primer parámetro de anclaje en respuesta a la primera concentración de pseudo-referencia, en que el al menos un primer parámetro de anclaje compensa el error del sistema; en que el procesador es capaz de incorporar el al menos un primer parámetro de anclaje en al menos dos primeras relaciones de compensación; en que el procesador es capaz de determinar al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas en respuesta a las al menos dos concentraciones iniciales de analito, los al menos dos primeros  
45 parámetros de anclaje y las al menos dos primeras relaciones de compensación; en que el procesador es capaz de determinar una segunda concentración de pseudo-referencia promediando las al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas de anclaje, en que la segunda concentración de pseudo-referencia es un segundo sustituto del verdadero error relativo; y en que el procesador es capaz de informar la segunda concentración de pseudo-referencia como una concentración de analito compensada final de la muestra.

Breve descripción de los dibujos

La invención puede entenderse mejor con referencia a los siguientes dibujos y descripciones. Los componentes de las figuras no son necesariamente a escala, sino que se hace hincapié en la ilustración de los principios de la invención.

- 5 La FIG. 1A es una representación gráfica de esta aproximación progresiva, en que la referencia o la concentración de analito "real" de la muestra ( $A_{Ref}$ ) está en el extremo izquierdo y la concentración de analito inicialmente determinada del dispositivo de medición ( $A_{init}$ ) está en el extremo derecho.
- La FIG. 1B representa un método de análisis tal como se implementaría en el dispositivo de medición de un sistema biosensor.
- 10 La FIG. 1C representa las señales de salida registradas desde los cuatro canales de salida de un sistema biosensor de análisis de A1c.
- La FIG. 1D representa un método de calibración de fábrica para determinar la información de calibración a través de un proceso de normalización.
- 15 La FIG. 1D-1 muestra las señales de reflectancia de A1c individuales registradas desde el o los detectores de la Zona 1 del dispositivo de medición separados para las cuatro concentraciones de THb diferentes en muestras de sangre.
- La FIG. 1D-2 representa la correlación de referencia normalizada determinada **172** expresada como una curva de calibración normalizada.
- 20 La FIG. 1E representa un método de calibración de fábrica opcional que también considera un segundo estímulo extraño con la información de calibración.
- La FIG. 1E-1 proporciona un ejemplo de la determinación de una segunda relación de normalización en un sistema de análisis de glucosa.
- La FIG. 1E-2 proporciona un ejemplo para determinar segundas señales de salida que responden al analito normalizadas en un sistema de análisis de glucosa.
- 25 La FIG. 1E-3 proporciona un ejemplo para determinar una segunda correlación de referencia normalizada en un sistema de análisis de glucosa.
- La FIG. 1F representa un método basado en señales para determinar los parámetros de anclaje.
- La FIG. 1G representa un método basado en la concentración para determinar los parámetros de anclaje.
- 30 La FIG. 1H representa la combinación a través de regresión multivariable de parámetros de anclaje con parámetros de SSP para determinar una relación de compensación.
- La FIG. 2A y la FIG. 2B representan dos ejemplos de aproximación de las concentraciones de pseudo-referencia para un conjunto de muestras de sangre de referencia que incluyen 5% o 9% del analito A1c.
- 35 La FIG. 2C y la FIG. 2D muestran las regresiones para las aproximaciones progresivas de orden 0 y 4<sup>a</sup> para los detectores de Ch1 y Ch3 de la Zona 1 (las señales de salida primarias) para los datos de análisis obtenidos con los sensores de ensayo del Lote 2 y el dispositivo de medición del sistema biosensor.
- La FIG. 2E y la FIG. 2F muestran las regresiones por separado para concentraciones de 5% y 9% de A1c para los datos de Ch1 para las aproximaciones progresivas de orden 0 y 4<sup>a</sup>.
- La FIG. 2G y la FIG. 2H muestran los valores de correlación  $R^2$  para la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia para los análisis múltiples para los dos canales separados.
- 40 la fig. 3 muestra una representación esquemática de un sistema biosensor **300** que determina una concentración de analito en una muestra de un fluido biológico.

## Descripción detallada

Durante el análisis de analitos pueden introducirse errores en el análisis tanto por el sistema biosensor utilizado para realizar el análisis como por errores en la señal de salida medida por el dispositivo de medición del biosensor. Los errores del sistema biosensor pueden producirse desde múltiples fuentes, estando una fuente de error en la correlación de referencia almacenada en el dispositivo de medición del sistema biosensor. Por lo tanto, el laboratorio determinó la información de calibración utilizada para convertir las señales de salida medidas por el dispositivo de medición durante un análisis de una muestra de ensayo en la concentración de analito determinada de la muestra, incluido el error.

Si bien es de esperar que errores del sistema introducidos por la información de calibración del dispositivo de medición sean los mismos para todos los análisis y, por lo tanto, sean fáciles de eliminar antes de utilizar el dispositivo de medición, esto no es cierto para todos los tipos de errores del sistema. Algunos errores en la información de calibración solo surgen bajo las condiciones de un análisis específico y, por lo tanto, no se pueden eliminar de la información de calibración sin un cambio que podría resultar en un error del sistema para otro análisis específico. Por lo tanto, es difícil reducir el error del sistema para las condiciones de un análisis específico sin afectar de forma potencialmente negativa al error del sistema para un análisis específico diferente cuando el error del sistema surge de la información de calibración. Los errores de la señal de salida surgen de uno o más contribuyentes a los errores, tales como las características físicas de la muestra, los aspectos ambientales de la muestra, las condiciones operativas del sistema y la variación de manufactura entre los lotes de sensores de ensayo. Estos errores de señal de salida se pueden amplificar o complicar cuando la información de calibración de calibración convierte la señal a una concentración.

Para una muestra de referencia, el error del sistema se puede determinar a través de la determinación del error relativo al restar la concentración de analito de la muestra de referencia del dispositivo de medición determinada y dividir por la concentración de analito de la muestra de referencia ( $A_{caic}-A_{ref}/A_{ref}$ ). La concentración de analito de la muestra de referencia de las muestras de referencia puede determinarse utilizando un instrumento de referencia, mezclando o alterando las concentraciones de analito de muestra conocidas, y similares.

Sin embargo, durante un análisis de una muestra de ensayo con el dispositivo de medición del sistema biosensor no se conoce la concentración del analito de la muestra de referencia. En su lugar, el sistema biosensor realiza el análisis para determinar la concentración de analito en la muestra de acuerdo con el diseño y la implementación del dispositivo de medición. Por lo tanto, el dispositivo de medición no puede determinar el "error relativo verdadero" durante un análisis, ya que no se conoce la concentración verdadera del analito en la muestra.

Se puede utilizar una concentración de pseudo-referencia determinada durante el análisis por el dispositivo de medición como sustituto del verdadero error relativo. A partir de la concentración de pseudo-referencia determinada por el análisis, se puede determinar y utilizar un parámetro de anclaje para compensar el error del sistema en la concentración de pseudo-referencia determinada por el análisis. Sin embargo, cuanto más cerca esté la concentración de analito de pseudo-referencia determinada por el análisis de la concentración de analito de referencia de la muestra de ensayo, más exacta y/o precisa será la concentración de analito determinada por el dispositivo de medición que utiliza un parámetro de anclaje durante la compensación. La presente invención proporciona una mejora en la exactitud y/o precisión del análisis determinado por la concentración de pseudo-referencia a través de una aproximación progresiva.

Los métodos, dispositivos y sistemas descritos pueden proporcionar una mejora en el rendimiento de la medición al considerar tanto los errores del sistema como de la señal de salida cuando se determina la concentración de analito final de la muestra mediante el uso de un parámetro de anclaje determinado con una concentración de pseudo-referencia progresivamente aproximada. Tanto los errores del sistema como de la señal pueden estar "enlazados" en la compensación utilizada para determinar la concentración final de analito de la muestra cuando se utiliza un parámetro de anclaje basado en la señal. Preferiblemente, tanto los errores del sistema como de la señal de salida se consideran por la compensación utilizada para determinar la concentración final de analito de la muestra.

La medición de %-A1c en muestras de sangre, por lo tanto la concentración de hemoglobina glicada (%-A1c) en el contenido total de hemoglobina (THb) de una muestra de sangre, se puede lograr mediante un método de inmunoensayo que utiliza un análisis de flujo de laminar. Convencionalmente, en el análisis de flujo laminar se miden dos señales independientes, señales de salida primarias para A1c y señales de salida secundarias para THb. En este tipo de sistema A1c, los detectores de la Zona 1 proporcionan la señal de salida primaria, mientras que los detectores de la Zona 2 proporcionan la señal de salida secundaria. Las señales de salida primarias del o de los detectores de la Zona 1 dependen de la concentración de A1c de la muestra, pero también de la concentración de THb de la muestra. Las señales de salida secundarias del o de los detectores de la Zona 2 dependen de la concentración de THb de la muestra, pero son sustancialmente independientes de la concentración de A1c de la



muestra. Las señales de salida secundarias medidas durante el análisis por el dispositivo de medición responden a un estímulo extraño. En el sistema biosensor de análisis de %-A1c, el analito es A1c y los estímulos extraños son la temperatura y el THb.

Aunque se aplica una sola muestra al sensor de ensayo, el sistema de análisis de %-A1c descrito tiene dos canales que realizan dos análisis independientes de la muestra. Por lo tanto, para el primer análisis, el detector de la Zona 1 Canal 1 (Ch1) y el de Zona 2 Canal 2 (Ch2) proporcionan las señales de salida primaria y secundaria, respectivamente. Para el segundo análisis, el detector de la Zona 1 Canal 3 (Ch3) y el detector de la Zona 2 Canal 4 (Ch4) proporcionan las señales de salida primaria y secundaria, respectivamente. Dado que la muestra se analiza dos veces utilizando el mismo método general, la concentración determinada para el primer análisis se puede promediar con la concentración determinada para el segundo análisis. También, las diferentes señales Ch1/Ch2 y Ch3/Ch4 pueden promediarse o manipularse de otra manera en el nivel de la señal para la compensación.

Para un dispositivo de medición de análisis de %-A1c que tiene dos canales de señal de salida primaria de los detectores Ch1 y Ch3 de la Zona 1, el error relativo determinado en el laboratorio en Ch1 puede expresarse como Error Relativo Ch1 =  $(A_{init} - A_{Ref})/A_{Ref}$  o  $dA1/A_{Ref}$ , en que  $A_{init}$  es la concentración de %-A1c de la muestra de referencia según se determina por el dispositivo de medición del sistema biosensor y  $A_{Ref}$  es la concentración de analito conocida de la muestra de referencia. El error relativo para Ch3 del dispositivo de medición se puede determinar de manera similar y expresar como  $dA3/A_{Ref}$ .

Dado que este error relativo no se puede determinar durante un análisis de la muestra de ensayo con el dispositivo de medición del sistema biosensor, se determina una concentración de pseudo-referencia como un sustituto del error relativo. La aproximación progresiva se utiliza para mover la concentración determinada para la pseudo-referencia más cercana a la concentración real de analito de la muestra de ensayo que debe ser.

La FIG. 1A es una representación gráfica de esta aproximación progresiva, en que la referencia o la concentración de analito "real" de la muestra ( $A_{Ref}$ ) se encuentra en el extremo izquierdo y la concentración de analito inicialmente determinada a partir del dispositivo de medición ( $A_{init}$ ) está en el extremo derecho. La concentración de pseudo-referencia determinada por el dispositivo de medición comienza más cerca de  $A_{init}$  que de  $A_{Ref}$ , pero se acerca más a  $A_{Ref}$  por la aproximación progresiva de la presente invención. Después de determinar la concentración de analito compensada y un parámetro de anclaje utilizando una primera concentración de pseudo-referencia para los canales Ch1 y Ch3, se determina un promedio de las concentraciones de Ch1 y Ch3 y se utiliza como una segunda concentración de pseudo referencia. Un segundo parámetro de anclaje se determina a partir de esta segunda concentración de pseudo-referencia y una tercera concentración de pseudo-referencia se determina compensando la concentración inicial utilizando el segundo parámetro de anclaje de la segunda concentración de pseudo-referencia. La tercera pseudo-referencia podría ser utilizada entonces para determinar un tercer parámetro de anclaje y una cuarta concentración de pseudo-referencia determinada. Se determinaron concentraciones de pseudo-referencia adicionales y parámetros de anclaje correspondientes para continuar con la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia.

Después de determinar un cierto número de concentraciones de pseudo-referencia, se alcanza un punto de retornos de disminución. Dependiendo de la mejora en la compensación que se obtiene de cada uno de los parámetros de anclaje determinados, se pueden detener las aproximaciones progresivas y la concentración de pseudo-referencia seleccionada se reporta como la concentración de analito final compensada de la muestra. Cada uno de los parámetros de anclaje determinados progresivamente tiene preferiblemente una mejor correlación con el error del sistema en la concentración de pseudo-referencia. Por lo tanto, cuando un parámetro de anclaje determinado a partir de una concentración de pseudo-referencia ya no puede eliminar un error del sistema suficiente a la vista de los requisitos de rendimiento de medición del sistema biosensor, la aproximación progresiva puede detenerse. La segunda, tercera o posterior concentración de pseudo-referencia determinada puede reseñarse como la concentración de analito final compensada de la muestra.

La FIG. 1B representa un método de análisis **400** tal como se implementaría en el dispositivo de medición de un sistema biosensor. La compensación del método **400** utiliza un parámetro de anclaje determinado a través de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia para compensar el error del sistema en la concentración final de analito compensado de una muestra. El método **400** puede utilizarse en cualquier sistema biosensor en el que se puedan determinar al menos dos concentraciones de analito para la misma muestra de ensayo. El al menos un parámetro de anclaje se puede utilizar en un método de compensación de errores en que la relación de conversión internaliza la reducción del error que surge de los contribuyentes de errores principales, en que el error de los contribuyentes de errores principales se reduce a través de la compensación primaria distinta de la relación de conversión, en que la compensación residual se utiliza con la relación de conversión, o en que la compensación residual se utiliza con la compensación primaria y la relación de conversión. Los principales contribuyentes de errores para análisis de %-A1c son la temperatura y la hemoglobina total, mientras que en los

análisis de glucosa los principales contribuyentes de errores son la temperatura y el hematocrito. Los principales contribuyentes de errores pueden ser diferentes para diferentes tipos de análisis de analitos.

En la medición de la señal de salida de análisis **410** se miden al menos dos señales de salida sensibles a analitos **412, 414** a partir de la muestra de ensayo con el dispositivo de medición del sistema biosensor. Las al menos dos señales de salida sensibles a analitos **412, 414** son preferiblemente señales de salida independientes sensibles a analitos, tales como señales de salida generadas a partir de porciones separadas de la muestra, las señales de salida independientes de detectores de múltiples zonas, y similares. En un sistema biosensor de %-A1c, las al menos dos señales de salida sensibles a analitos **412, 414** son independientes, debido a que se miden a partir de diferentes porciones de la muestra de ensayo por diferentes canales de detección. Las al menos dos señales de salida sensibles a analitos se generan a partir de una muestra de un fluido biológico en respuesta a una especie identificable por la luz o una reacción de oxidación/reducción (redox) del analito. Dependiendo del sistema biosensor, estas señales de salida primarias pueden o no incluir el efecto de un estímulo extraño.

La FIG. 1C representa las señales de salida registradas desde los cuatro canales de salida de un sistema biosensor de análisis de A1c. Las señales independientes de los dos detectores de la Zona 1 (detectores Ch1 y Ch3) dependen de la concentración de A1c de la muestra, pero también del contenido de THb de la muestra. Las señales independientes de los dos detectores de la Zona 2 (detectores Ch2 y Ch4) son independientes de la concentración de A1c de la muestra, pero dependen de la concentración de THb de la muestra. La figura muestra las salidas para Ch1 y Ch2. En este tipo de sistema A1c, los detectores de la Zona 1 proporcionan las señales de salida principales, mientras que los detectores de la Zona 2 proporcionan las señales de salida secundarias. Las señales de salida primarias que responden al analito (p. ej., A1c) y las señales de salida secundarias que responden el estímulo extraño (p. ej., THb) se pueden utilizar en la medición de la señal de salida de análisis **410** sensible al analito.

En el análisis de la determinación de la concentración inicial del analito **415**, se determinan al menos dos concentraciones iniciales de analito para la muestra de ensayo. Las al menos dos señales de salida que responden al analito **412, 414** (señales de salida primarias) se utilizan para determinar una concentración inicial de analito para cada una de las señales. Se pueden utilizar los mismos o diferentes métodos para determinar la concentración de analito inicial para cada una de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412, 414**. La información de calibración utilizada por el dispositivo de medición para determinar las al menos dos concentraciones de analito iniciales puede o no proporcionar una reducción en el efecto de uno o más estímulos extraños en las señales de salida primarias, tal como a través del uso de información de calibración normalizada. Por lo tanto, las concentraciones de analito iniciales pueden determinarse con información de calibración que incluya una correlación de referencia convencional y señales de salida medidas por el dispositivo de medición que carece de una reducción en el efecto de estímulo extraño, una correlación de referencia normalizada y señales de salida normalizadas que proporcionan una reducción en el efecto de estímulo extraño, o cualquiera tipo de información de calibración en combinación con la compensación primaria proporciona una reducción en el efecto de estímulo extraño. La información de calibración que incluye la relación de normalización y la correlación de referencia normalizada se comenta con más detalle con respecto a la FIG. 1D y la FIG. 1E.

La compensación primaria internalizada en una relación de conversión puede ser de naturaleza algebraica, por lo tanto, se pueden utilizar ecuaciones algebraicas lineales o no lineales para expresar la relación entre la concentración de analito determinada de la muestra y la señal de salida no compensada y los parámetros de error. Por ejemplo, en un sistema biosensor %-A1c, la temperatura (T) y la hemoglobina total (THb) son los principales contribuyentes de errores. De manera similar al error de hematocrito en el análisis de glucosa en sangre, los diferentes contenidos de hemoglobina total de las muestras de sangre pueden dar como resultado a que se determinen diferentes señales de A1c que conduzcan erróneamente a diferentes concentraciones de A1c para la misma concentración de A1c subyacente. Por lo tanto, una ecuación algebraica para compensar estos errores puede ser  $A1c = a_1 \cdot S_{A1c} + a_2 / S_{A1c} + a_3 \cdot THb + a_4 \cdot THb^2$ , en que A1c es la concentración de analito después de la conversión de los valores de salida no compensados y la compensación primaria para la hemoglobina total,  $S_{A1c}$  son los valores de salida compensados por temperatura (p. ej., reflectancia o adsorción) que representan A1c, y THb es el valor de hemoglobina total calculado por  $THb = d_0 + d_1 / S_{THb} + d_2 / S_{THb}^2 + d_3 / S_{THb}^3$ , en que  $S_{THb}$  es la señal de reflectancia THb corregida por temperatura obtenida del sensor de ensayo. Los efectos de la temperatura para  $S_{A1c}$  y  $S_{THb}$  se pueden corregir con la relación algebraica  $S_{A1c} = S_{A1c}(T) + [b_0 + b_1 \cdot (T - T_{ref}) + b_2 \cdot (T - T_{ref})^2]$  y  $S_{THb} = [S_{THb}(T) \cdot C_0 + c_1 \cdot (T - T_{ref})] / [c_2 \cdot (T - T_{ref})^2]$ . Por sustitución algebraica, la concentración de analito compensado primario A puede calcularse con la conversión de los valores de salida no compensados y la compensación primaria para los principales contribuyentes de errores de temperatura y hemoglobina total que se integran en una sola ecuación algebraica. Más detalles sobre la compensación primaria también se pueden encontrar en la Patente de EE.UU. Pub. 2011/0231105, titulada "Residual Compensation including Underfill Error", presentada el 22 de marzo de 2011 o en la Patente de EE.UU. Pub. 2013/0071869, titulada "Analysis Compensation Including Segmented Signals", presentada el 20 de septiembre de 2012.

En el análisis de la primera determinación de concentración de pseudo-referencia **430**, se determina una primera concentración de pseudo-referencia **435**. La primera concentración de pseudo-referencia **435** se determina determinando una concentración de analito de muestra que para múltiples análisis está, en promedio, más cerca de la concentración real de analito de la muestra que la que se determinaría a partir de cualquiera de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414**. Por lo tanto, la pseudo-referencia es una aproximación de la concentración de analito de la muestra que está más cerca de la concentración de referencia en promedio que una concentración determinada a partir de una señal de salida primaria individual del dispositivo de medición.

La primera concentración de pseudo-referencia **435** puede determinarse promediando las dos o más concentraciones de analito iniciales. La primera concentración de pseudo-referencia **435** también puede determinarse promediando al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** independientes y luego determinando la primera pseudo-referencia **435** a partir de la señal promediada. En este caso, no se requiere la determinación real de las al menos dos concentraciones iniciales de muestra de analito para la determinación de la primera concentración de pseudo-referencia, ya que las señales de salida primarias pueden promediarse y utilizarse para determinar la concentración de pseudo-referencia **435** en oposición a concentraciones determinadas. El método de determinación de la primera concentración de pseudo-referencia **435** y cualquier relación asociada se determina preferiblemente en el laboratorio y se almacena en el medio de almacenamiento del dispositivo de medición del sistema biosensor para su uso durante el análisis de la muestra de ensayo.

En el análisis de la determinación del valor del primer parámetro de anclaje **440**, se determina un parámetro de anclaje para los al menos dos canales utilizando la primera concentración de pseudo-referencia **435** y las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** o las concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de al menos dos señales de salida primarias. Se determina un parámetro de anclaje basado en la señal para los al menos dos canales utilizando la primera concentración de pseudo-referencia **435** y las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414**. Un parámetro de anclaje basado en la concentración se determina para los al menos dos canales utilizando la primera concentración de pseudo-referencia **435** y las concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414**.

Cuando las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** se utilizan para determinar la primera concentración de pseudo-referencia **435**, el dispositivo de medición incluye preferiblemente información de calibración que incluye una relación de normalización y una correlación de referencia normalizada, tal como se comentó con más detalle con respecto a la FIG. 1D y la FIG. 1E. En este caso, la relación general para determinar un parámetro de anclaje basado en la señal **442** para la señal de salida **412** puede representarse como el Primer Parámetro de Anclaje Basado en la Señal del Canal =  $(NR_{OSV1} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}(dNRCh1/NR_{Pseudo})$ , en que  $NR_{OSV1}$  es un primer valor de señal de salida normalizado determinado a partir de la primera señal de salida sensible al analito y una relación de normalización, y  $NR_{Pseudo}$  es una señal de pseudo-referencia determinada a partir de la primera concentración de pseudo-referencia **435** con una correlación de referencia normalizada. De manera similar, la relación general para determinar un parámetro de anclaje basado en la señal **444** para la señal de salida **414** puede representarse como el Segundo Parámetro de Anclaje Basado en la Señal del Canal =  $(NR_{OSV2} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}(dNRCh3/NR_{Pseudo})$ , en que  $NR_{OSV2}$  es un segundo valor de señal de salida normalizado determinado a partir de la segunda señal de salida sensible al analito y la relación de normalización, y  $NR_{Pseudo}$  es una señal de pseudo-referencia determinada a partir de la primera concentración de pseudo-referencia **435** con una correlación de referencia normalizada. Este método basado en la señal para determinar los parámetros de anclaje se comenta adicionalmente con respecto a la FIG. 1F.

Cuando las concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** se utilizan para determinar la primera concentración de pseudo-referencia **435**, el dispositivo de medición puede incluir información de calibración que incluye una correlación de referencia convencional o la relación de normalización y la correlación de referencia normalizada, tal como se discute adicionalmente con respecto a la FIG. 1D y la FIG. 1E. En este caso, la relación general para determinar un parámetro de anclaje basado en la concentración **444** para la señal de salida **412** se puede representar como el Primer Parámetro de Anclaje Basado en la Concentración del Canal = (concentración de analito inicial determinada a partir de la primera señal de salida **412** - primera concentración de pseudo-referencia **435**)/primera concentración de pseudo-referencia **435**. De manera similar, la relación general para determinar un parámetro de anclaje basado en la concentración **446** para la señal de salida **414** puede representarse como Parámetro de Anclaje Basado en la Concentración del Segundo Canal = (concentración de analito inicial determinada a partir de la segunda señal de salida **414** - primera concentración de pseudo-referencia **435**)/primera concentración de pseudo-referencia **435**. Este método basado en la concentración para determinar los parámetros de anclaje se comenta con más detalle con respecto a la FIG. 1G. Preferiblemente, la primera concentración de pseudo-referencia determinada está más cerca de la concentración real de analito de la muestra que cualquiera de las concentraciones de analito inicialmente determinadas.

En el análisis de la primera determinación de compensación **450**, dos o más de los parámetros de anclaje determinados (por lo tanto, el parámetro de anclaje **442** y **444** o los parámetros de anclaje **444** y **446**) están incorporados en al menos dos primeras relaciones de compensación **452**, **453** para los al menos dos canales para determinar la compensación independiente de los al menos dos canales. Las al menos dos primeras relaciones de compensación **452**, **453** determinan al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas mediante el uso de los al menos dos primeros parámetros de anclaje para proporcionar una compensación de las al menos dos concentraciones de analito iniciales para el error del sistema.

El error del sistema se puede compensar utilizando una técnica de compensación de error residual. El error residual puede expresarse generalmente por Error Residual = error total observado - error corregido de la función primaria. Del error total en los valores de salida medidos, la compensación primaria elimina al menos el 40% del error, preferiblemente al menos el 50%. Por lo tanto, en la concentración de analito compensada para cada uno de los canales, la compensación primaria elimina del 40% al 75% del error total, y más preferiblemente del 50% al 85%. Aunque la compensación del error proporcionada por el o los parámetros de anclaje se puede utilizar sola, preferiblemente los parámetros de anclaje se utilizan en combinación con SSP y otros parámetros de error.

Las relaciones de compensación **452**, **453** para los al menos dos canales puede determinarse utilizando una regresión multi-variante o una técnica de regresión más simple utilizando una regresión lineal o polinómica. Preferiblemente, la regresión multi-variante se utiliza para determinar las relaciones de compensación **452**, **453** para los al menos dos canales en la primera determinación de compensación **450** del análisis. Para las técnicas de regresión multi-variantes o más simples, las relaciones de compensación **452**, **453** pueden expresarse como una relación del parámetro de anclaje solo o el parámetro de anclaje y otros parámetros de error. En cualquier caso, las al menos dos primeras relaciones de compensación **452**, **453** proporcionan una compensación de las al menos dos concentraciones iniciales de analito a través del uso de al menos un primer parámetro de anclaje. Las relaciones de compensación **452**, **453** pueden expresarse a través de las relaciones generales  $Ach1\_comp = Ach1_{inicial}/(1 + RECh1)$  y  $Ach3\_comp = Ach3_{inicial}/(1 + RECh3)$ , respectivamente, en que Ch1 es el canal 1, Ach1\_inicial es la concentración de analito compensada del parámetro de anclaje determinada para Ch1, Ach1\_inicial es la concentración de analito inicial determinada para Ch1, y RECh1 es la relación de compensación **452** tal como se determina para Ch1, y en que Ch3 es el canal 3, Ach3\_comp es la concentración de analito compensada del parámetro de anclaje determinada para Ch3, Ach3\_inicial es la concentración inicial de analito determinada para Ch3, y RECh3 es la relación de compensación **453** determinada para Ch3, tal como se comenta más adelante.

Cuando las relaciones de compensación **452**, **453** se determinan a partir de una regresión multi-variante o una técnica matemática similar, las relaciones de compensación **452**, **453** pueden compensar un error distinto del error del sistema descrito por los parámetros de anclaje y pueden incorporar una compensación primaria con una compensación residual. En estas técnicas, los parámetros de anclaje, que representan un error del sistema, pueden combinarse con parámetros de procesamiento de señales segmentadas (SSP) y otros parámetros que incluyen términos cruzados y parámetros de relación, por ejemplo, para determinar las relaciones de compensación **452**, **453**. Por lo tanto, la relación de compensación **452** para Ch1 se puede representar como  $RECh1 = f(dNRCh1/NR_{Pseudo}, \text{parámetros de SSP y otros parámetros})$  y la relación de compensación **453** para Ch3 puede representarse como  $RECh3 = f(dNRCh3/NR_{Pseudo}, \text{parámetros de SSP y otros parámetros})$ , tal como se comentó previamente. La determinación de las relaciones de compensación **452**, **453** utilizando regresión multi-variante se comenta adicionalmente con respecto a la FIG. 1H.

De manera similar, se puede utilizar una técnica de regresión más simple, tal como la regresión lineal, para determinar las relaciones de compensación **452**, **453**. Por lo tanto, la relación de compensación **452** para Ch1 se puede representar como  $RECh1 = m1 \cdot (dNRCh1/NR_{Pseudo}) + b1$ . De manera similar, la relación de compensación **453** para Ch3 se puede representar como  $RECh3 = m3 \cdot (dNRCh3/NR_{Pseudo}) + b3$ . En estas relaciones, m1, b1 y m3, b3 son constantes de regresión lineal para Ch1 y Ch3, respectivamente.

En el análisis de la segunda determinación de concentración de pseudo-referencia **454**, se determina una segunda concentración de pseudo-referencia **455** promediando un parámetro de anclaje compensado con la concentración de analito determinada de cada uno de los al menos dos canales del dispositivo de medición. Las concentraciones de analito compensadas del parámetro de anclaje determinadas para los al menos dos canales se determinan utilizando las relaciones de compensación **452**, **453** con las concentraciones de analito iniciales de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** medidas a partir de la muestra de ensayo, respectivamente.

Una expresión general que se puede utilizar para determinar las concentraciones de los canales individuales de la muestra se puede expresar como Concentración de Ch1 =  $(Ch1A_{init})/(1 + RECh1)$ , en que Ch1 es el canal 1, Ch1A\_init es la concentración de analito inicial de la señal de salida medida por el canal 1 y determinada sin la compensación de parámetros de anclaje, y RECh1 es la relación de compensación **452** que incluye el parámetro del anclaje Ch1. La relación de compensación **453** para Ch3 puede representarse de manera similar como Concentración de Ch3 =

( $\text{Ch3A}_{\text{init}}/(1 + \text{RECh3})$ ), en que Ch3 es el canal 3,  $\text{Ch3A}_{\text{init}}$  es la concentración de analito inicial de la señal de salida medida por el canal 3 y determinada sin compensación de parámetros de anclaje, y RECh3 es la relación de compensación **453** que incluye el parámetro de anclaje Ch3. La concentración de analito determinada para los al menos dos canales del dispositivo de medición se promedia entonces para proporcionar la segunda concentración de pseudo-referencia **455**.

En el análisis de determinación del valor del segundo parámetro de anclaje **460**, los segundos parámetros de anclaje se determinan para los al menos dos canales utilizando la segunda concentración de pseudo-referencia **455**. La determinación **460** se puede realizar de manera similar a la descrita previamente en la determinación del valor del primer parámetro de anclaje **440**, excepto en que la primera concentración de pseudo-referencia **435** se reemplaza por la segunda concentración de pseudo-referencia **455**. Preferiblemente, una correlación mejorada entre el error relativo verdadero de la concentración de analito ( $\text{dA/A1c\_Ref}$ ), que se desconoce, y el segundo parámetro de anclaje ( $\text{dNR/NR}_{\text{Pseudo2}}$ ) se produce después de cada aproximación progresiva de la concentración de pseudo-referencia tal como se representa en la FIG. 1A.

En la segunda determinación de compensación **470** del análisis, los dos o más parámetros de anclaje determinados en **460** se incorporan en las relaciones de compensación para los al menos dos canales **472**, **473** para determinar la compensación independiente para los al menos dos canales. La segunda determinación de compensación de análisis **470** es similar a la primera determinación de compensación de análisis **450**, excepto que la segunda concentración de pseudo-referencia **455** y los segundos parámetros de anclaje se utilizan para determinar las segundas relaciones de compensación **472**, **473** para los al menos dos canales. Las relaciones de compensación **472**, **473** para los al menos dos canales pueden determinarse utilizando una regresión multi-variante o una técnica de regresión más simple utilizando una regresión lineal o polinómica. Preferiblemente, se utiliza una técnica de regresión más simple para determinar las relaciones de compensación **472**, **473** para los al menos dos canales, segunda determinación de compensación de análisis **470**.

En la tercera determinación de la concentración de pseudo-referencia **480** del análisis, se determina una tercera concentración de pseudo-referencia **485** promediando la concentración de analito compensada con los segundos parámetros de anclaje determinada a partir de los al menos dos canales del dispositivo de medición. La concentración de analito determinada para los al menos dos canales se determina utilizando las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** medidas a partir de la muestra de ensayo utilizando las relaciones de compensación **472**, **473**, respectivamente.

Una expresión general que se puede utilizar para determinar las concentraciones de canales individuales de la muestra se puede expresar como Concentración de Ch1 = ( $\text{Ch1A}_{\text{init}}/(1 + \text{RE2Ch1})$ ), en que Ch1 es el canal 1,  $\text{Ch1A}_{\text{init}}$  es la concentración de analito inicial de la señal de salida medida por el canal 1 y determinada sin la compensación del parámetro de anclaje, y en que RE2Ch1 es la relación de compensación **462** que incluye el segundo parámetro de anclaje de Ch1. La relación de compensación **473** para Ch3 puede representarse de manera similar como Concentración de Ch3 = ( $\text{Ch3A}_{\text{init}}/(1 + \text{RE2Ch3})$ ), en que Ch3 es el canal 3,  $\text{Ch3A}_{\text{init}}$  es la concentración de analito inicial de la señal de salida medida por el canal 3 y determinada sin compensación del parámetro de anclaje y RE2Ch3 es la relación de compensación **473** que incluye el segundo parámetro de anclaje Ch3. La concentración de analito determinada para los al menos dos canales del dispositivo de medición se promedia entonces para proporcionar la tercera concentración de pseudo-referencia **485**.

Si se desea, se puede determinar un tercer parámetro de anclaje para los al menos dos canales utilizando la tercera concentración de pseudo-referencia **485**. También se pueden determinar terceras relaciones de compensación y una cuarta concentración de pseudo-referencia se puede determinar de manera similar, tal como se comentó anteriormente. Este proceso puede repetirse hasta que la cantidad deseada de error del sistema haya sido compensada en la concentración de pseudo-referencia.

En **490**, la segunda, tercera, cuarta o pseudo-concentración adicional puede reseñarse como la concentración de analito final compensada de la muestra y puede mostrarse, almacenarse para una referencia futura y/o utilizarse para cálculos adicionales. Preferiblemente, una correlación mejorada entre el verdadero error relativo de la determinación de la concentración de analito, que es desconocida, y cada uno de los parámetros de anclaje progresivo se produce después de cada una de las aproximaciones progresivas de la concentración de pseudo-referencia tal como se representa en la FIG. 1A. Sin embargo, se puede alcanzar un punto de disminución de los retornos después de determinar dos o más concentraciones de pseudo-referencias.

Dependiendo de la mejora en la compensación que se obtiene de cada uno de los parámetros de anclaje determinados, las aproximaciones progresivas pueden detenerse y la concentración de pseudo-referencia seleccionada en ese punto en la aproximación puede reseñarse como la concentración de analito final compensada de la muestra. Cada uno de los parámetros de anclaje determinados progresivamente tiene preferiblemente una

mejor correlación con el error del sistema en la concentración de pseudo-referencia. Por lo tanto, cuando un parámetro de anclaje determinado a partir de una concentración de pseudo-referencia ya no puede eliminar suficiente error del sistema a la vista de los requisitos de rendimiento de medición del sistema biosensor, la aproximación progresiva puede detenerse y la concentración de pseudo-referencia seleccionada en ese punto en la aproximación puede reseñarse como la concentración de analito final compensada de la muestra.

La FIG. 1D representa un método de calibración de fábrica **100** para determinar la información de calibración mediante un procedimiento de normalización. El método de calibración de fábrica **100** se realiza preferiblemente durante la calibración de fábrica del dispositivo de medición del sistema biosensor.

En la medición de la señal de salida sensible al analito **110**, las señales de salida sensibles al analito se miden a partir de una muestra de referencia, en que las señales de salida sensibles al analito se ven afectadas por un estímulo extraño que resulta de una característica física, un aspecto del entorno y/o un error de variación de fabricación que se incorpora a las señales de salida sensibles al analito. Se miden al menos dos señales de salida sensibles al analito. Preferiblemente, se miden al menos cuatro, y más preferiblemente al menos 6 señales de salida sensibles al analito a partir de la muestra de referencia. Se pueden utilizar métodos ópticos y/o electroquímicos para analizar las muestras de referencia.

En la cuantificación de estímulos extraños **130**, una o más señales de salida sensibles a estímulos extraños se miden a partir de las muestras de referencia o el entorno de muestra de las muestras de referencia y el estímulo extraño se cuantifica para proporcionar al menos dos valores de estímulos extraños cuantificados **132**. Las señales de salida sensibles a estímulos extraños pueden medirse simultáneamente con las señales de salida sensibles al analito o en diferentes momentos. Preferiblemente, las señales de salida sensibles a estímulos se miden simultáneamente con las señales de salida sensibles al analito.

El estímulo extraño se puede cuantificar directamente, tal como cuando un detector óptico o un electrodo producen una tensión y/o un amperaje específicos. El estímulo extraño puede cuantificarse indirectamente, tal como cuando un termistor proporciona una tensión y/o amperaje específicos que se reseña como una temperatura en grados Celsius, por ejemplo. Las señales de estímulo extrañas también pueden cuantificarse indirectamente, tal como cuando la concentración de Hct de una muestra se determina a partir de un voltaje y/o amperaje específicos medidos desde un electrodo de Hct, por ejemplo. El estímulo extraño puede cuantificarse directa o indirectamente y luego modificarse para proporcionar los valores de estímulo extraños cuantificados **132**, tal como cuando el valor de estímulo extraño cuantificado directa o indirectamente se transforma en una concentración. Los valores de estímulo extraños cuantificados **132** se pueden determinar promediando múltiples valores, tales como múltiples lecturas de temperatura registradas a la misma temperatura objetivo. El estímulo extraño se puede cuantificar a través de otras técnicas.

En la determinación de relación de normalización **140** se determina una relación de normalización **142** utilizando una técnica de regresión a partir de las señales de salida sensibles al analito a una única concentración de analito seleccionada y los valores de estímulo extraños cuantificados **132**. La FIG. 1D-1 proporciona un ejemplo de cómo se seleccionó una concentración de analito simple en un sistema de análisis A1c y se utilizó para determinar señales de salida sensibles a estímulos extraños sintetizados a la concentración de analito seleccionada única que son sensibles a las señales de estímulo extrañas cuantificadas para THb.

La FIG. 1D-1 muestra las señales de reflectancia A1c individuales registradas desde el o los detectores de la Zona 1 del dispositivo de medición separados para las cuatro concentraciones de THb diferentes en muestras de sangre. Esto permite seleccionar una concentración de analito de muestra única a partir de la cual se pueden determinar valores de señal de salida sensibles a estímulos extraños sintetizados a partir de las señales de salida primarias. En este ejemplo, se determinaron líneas de regresión lineal en cada una de las 4 concentraciones de muestra de THb utilizando la relación general ( $R_{A1c} = \text{Pendiente} \% - A1c + \text{Int}$ , en que  $R_{A1c}$  es la señal de salida del dispositivo de medición, Pendiente e Int son la pendiente y la intercepción, respectivamente, de las líneas de regresión lineal en cada una de las concentraciones de muestra de THb, y %-A1c es la concentración de analito de muestra). Se pueden utilizar otras técnicas de regresión.

Las ecuaciones de regresión determinadas a los 85 THb mg/mL y 230 THb mg/mL se muestran en la figura, pero también se determinaron las ecuaciones de regresión a 127 y 175 mg/mL de THb. En este ejemplo, se seleccionó la concentración de analito de muestra única seleccionada de 9%-A1c para determinar los valores de la señal de salida sensibles a estímulos extraños sintetizados a partir de las señales de salida primarias. Por lo tanto, en este ejemplo, la concentración de analito de muestra de referencia del 9% proporcionó un valor de la señal de salida sensible al estímulo extraño sintetizado a  $\sim 0,36$  A1c para las muestras de 85 mg/mL de THb de la línea de regresión de 85 mg/mL de THb y un valor de la señal de salida sensible al estímulo extraño externo sintetizado de  $\sim 0,44$  A1c para las muestras de 230 mg/mL de THb de la línea de regresión de 230 mg/mL de THb.

Los valores de la señal de salida sensible a los estímulos extraños sintetizados se pueden determinar de otras maneras que determinando las líneas de regresión y de "retrodeterminar" un valor de señal de salida primaria a partir de una concentración de analito de muestra de referencia seleccionada. Por ejemplo, valores de señal de salida sensibles a estímulos extraños sintetizados pueden seleccionarse de los valores de señal de salida primaria medidos a una concentración %-A1c de muestra de referencia para todos los cuatro niveles de THb. Una única señal de reflectancia de THb medida simultáneamente se combinó con la señal de reflectancia A1c para formar los cuatro pares de datos A1c y THb y para construir la gráfica de reflectancia A1c frente a la reflectancia THb, lo que también conducirá a la relación de normalización.

De este modo, se determinó una señal de salida sensible a estímulos extraños sintetizada a una única concentración de analito de muestra seleccionada. La señal de salida sensible a estímulos extraños sintetizada se puede considerar como la señal de salida sensible a estímulos extraños extraída de la señal de salida combinada del dispositivo de medición que incluye tanto el estímulo primario como el extraño. De manera similar, la relación de normalización **142** puede considerarse como una correlación de referencia para el estímulo extraño.

Se pueden utilizar técnicas de regresión lineal o no lineal (tales como de polinomio) para determinar la relación de normalización **142**. Las técnicas de regresión lineal o no lineal incluyen aquellas disponibles en los paquetes estadísticos de la versión 14 MINITAB® o versión 16 (MINTAB, INC., State College, PA), Microsoft Excel u otros paquetes de análisis estadístico que proporcionan técnicas de regresión. Preferiblemente, la regresión polinómica se utiliza para determinar la relación de normalización **142**. Por ejemplo, en la versión 2010 de MS Excel, se puede seleccionar la Opción Línea de la Línea Tendencia accesible a través de la Herramienta de Gráfico de Diseño de la Línea de Tendencia para realizar la regresión lineal, mientras que la Opción de la Línea de Tendencia Polinómica puede elegirse para realizar una regresión polinómica no lineal. Se pueden utilizar otras técnicas de regresión para determinar la relación de normalización **142**. La relación de normalización **142** se almacena preferiblemente en el dispositivo de medición como una parte de la información de calibración.

Cuando se utiliza la regresión lineal, la relación de normalización **142** estará en la forma de  $Y = mX + b$ , en donde  $m$  es la pendiente y  $b$  es la intersección de la línea de regresión. Cuando se utiliza una regresión no lineal, la relación de normalización **142** estará en una forma de  $Y = b_2 \cdot X^2 + b_1 \cdot X + b_0$ , y similares, en que  $b_2$ ,  $b_1$  y  $b_0$  son los coeficientes del polinomio. En ambas ecuaciones de regresión lineal o polinómica,  $Y$  es la señal de salida sensible a estímulos extraños sintetizados calculada que responde al estímulo extraño en una sola concentración de analito seleccionado y  $X$  son las señales/valores extraños cuantificados del estímulo. Cuando se introduce un valor de  $X$  (el valor de la señal de estímulo extraño cuantificada) en una de las relaciones (ecuaciones lineales o polinómicas), se genera un valor de salida  $Y$ , que representa el valor de normalización (NV) a partir de la relación de normalización.

Si un segundo estímulo extraño está afectando adversamente a las señales de salida sensibles al analito y será abordado por la información de calibración, la determinación de la relación de normalización **140** se repite para un segundo estímulo extraño.

En la determinación del valor de normalización **150** se determina un valor de normalización **152** a partir de la relación de normalización **142** introduciendo los valores de los estímulos extraños cuantificados **132** en la relación de normalización **142** y resolviendo el valor de normalización **152**.

En la determinación de señal de salida normalizada **160**, las señales de salida sensibles al analito se dividen por el valor de normalización **152** para proporcionar señales **162** de salida sensibles al analito normalizadas. Esto reduce preferiblemente el efecto del estímulo extraño en las señales de salida sensibles al analito.

En la determinación de correlación de referencia normalizada **170** se determina una correlación de referencia normalizada **172** entre las señales **162** de salida sensibles al analito normalizadas y las concentraciones de analito de muestra de referencia mediante una técnica de regresión. Se pueden utilizar técnicas de regresión lineal o no lineal (tales como de polinomio), tales como las disponibles en los paquetes estadísticos de la versión 14 MINITAB® o versión 16 (MINTAB, INC., State College, PA), Microsoft Excel u otros paquetes de análisis estadístico que proporcionan técnicas de regresión. Preferiblemente, la regresión polinómica se utiliza para determinar la correlación de referencia normalizada **172**. Por ejemplo, en la versión 2010 de MS Excel, se puede seleccionar la Opción Línea de la Línea Tendencia accesible a través de la Herramienta de Gráfico de Diseño de la Línea de Tendencia para realizar la regresión lineal, mientras que la Opción de la Línea de Tendencia Polinómica puede elegirse para realizar un análisis polinómico no lineal. Se pueden utilizar otras técnicas de regresión para determinar la correlación de referencia normalizada **172**. La FIG. 1D-2 representa la correlación de referencia normalizada **172** determinada expresada como una curva de calibración normalizada.

Cuando se utiliza la regresión lineal, la correlación de referencia normalizada **172** tendrá la forma de  $Y = mX + b$ , en que  $m$  es la pendiente y  $b$  es una intersección de la línea de regresión. Cuando se utiliza una regresión no lineal, tal

como un polinomio, la correlación de referencia normalizada **172** puede estar en forma de  $Y = b_2 \cdot X^2 + b_1 \cdot X + b_0$ , y similares, en que  $b_2$ ,  $b_1$  y  $b_0$  son los coeficientes del polinomio. La correlación de referencia normalizada **172** se almacena preferiblemente en el dispositivo de medición como una parte de la información de calibración para su uso posterior durante el análisis de una muestra. En el dispositivo de medición, Y es el valor de la señal de salida sensible al analito normalizada determinado durante el análisis y X es la concentración de analito de la muestra según se determina a partir de la correlación de referencia normalizada **172**. Tal como se comenta más adelante, para la correlación de referencia lineal normalizada, un valor X (la concentración del analito de la muestra) se puede resolver cuando se introduce un valor Y (un valor de la señal de salida normalizada) en la ecuación. Para una correlación de referencia normalizada en forma de un polinomio de 2º orden, la correlación de referencia normalizada **172** se puede expresar en forma de una curva de calibración normalizada como  $X = c_2 \cdot Y^2 + c_1 \cdot Y + c_0$ , en que donde  $c_2$ ,  $c_1$  y  $c_0$  son coeficientes para la ecuación. Una entrada de señal de salida normalizada a esta relación generará una concentración de analito.

La FIG. 1E representa un método opcional de calibración de fábrica **102** que también considera un segundo estímulo extraño con la información de calibración. Así, la FIG. 1D y la FIG. 1E pueden combinarse al determinar la información de calibración para el dispositivo de medición del sistema biosensor. Si se considera un segundo estímulo extraño que afecta adversamente a las señales de salida sensibles al analito, tales como la concentración de hematocrito de la muestra cuando el primer estímulo extraño es la temperatura, al menos dos segundos valores **134** de estímulos extraños cuantificados pueden determinarse de acuerdo con la cuantificación **130** del estímulo extraño.

Después se puede determinar una segunda relación de normalización **147** de acuerdo con la determinación de la relación de normalización **140**, pero cuando la segunda relación de normalización **147** se determina entre las señales **162** de salida sensibles al analito normalizadas y el segundo estímulo extraño cuantificado en una única concentración del analito de muestra seleccionada. La segunda relación de normalización **147** se almacena preferiblemente en el dispositivo de medición como una parte de la información de calibración. La FIG. 1E-1 proporciona un ejemplo de la determinación de una segunda relación de normalización **147** en un sistema de análisis de glucosa.

En el caso del segundo estímulo extraño, se realiza una segunda determinación **155** del valor de normalización. Un segundo valor de normalización **157** se determina a partir de la segunda relación de normalización **147** introduciendo los segundos valores **134** de estímulos extraños cuantificados en la segunda relación de normalización **147** y resolviendo el segundo valor de normalización **157**.

En el caso del segundo estímulo extraño, se realiza una segunda determinación **165** de la señal de salida normalizada. Las segundas señales de salida con respuesta de analito normalizadas **167** se determinan dividiendo las señales de salida con respuesta de analito normalizadas **162** por el segundo valor de normalización **157**. Se puede pensar que esto hace que las segundas señales de salida sensibles al analito normalizadas **167** sean más sensibles a las concentraciones de analito de la muestra de referencia de la muestra en relación con las concentraciones de analito que se obtendrían del dispositivo de medición si las señales de salida sensibles al analito normalizadas **162** fueran transformadas por la correlación de referencia normalizada **172**. La FIG. 1E-2 proporciona un ejemplo de determinar segundas señales de salida sensibles al analito normalizadas **167** en un sistema de análisis de glucosa.

En el caso del segundo estímulo extraño, se realiza una segunda determinación de correlación de referencia normalizada **175**. Una segunda correlación de referencia normalizada **177** se determina entre la segunda señal de salida sensible al analito normalizada **167** y las concentraciones de analito de muestra de referencia mediante una técnica de regresión, tal como se describió previamente. La FIG. 1E-3 proporciona un ejemplo de determinar una segunda correlación de referencia normalizada **177** en un sistema de análisis de glucosa.

La segunda correlación de referencia normalizada **177** se almacena preferiblemente en el dispositivo de medición como una porción de la información de calibración. En este caso, la correlación de referencia normalizada **172** no necesita almacenarse en el dispositivo de medición y preferiblemente no se utiliza durante el análisis. De manera similar, tres o más estímulos extraños pueden ser considerados por la información de calibración, en que cada uno de los estímulos extraños está representado por una relación de normalización individual almacenada en el dispositivo de medición además de una única correlación de referencia normalizada preparada para los estímulos extraños combinados representados por las relaciones de normalización individual.

La FIG. 1F representa un método **600** basado en señales para determinar los parámetros de anclaje. Los parámetros de anclaje se determinan cuando la información de calibración de fábrica se desarrolla para las señales de salida deseadas del dispositivo de medición o las señales de salida normalizadas deseadas. Un parámetro de anclaje también se determina durante el análisis por parte del dispositivo de medición para la compensación. El



dispositivo de medición incluye información de calibración de normalización, ya que los parámetros de anclaje basados en señales se determinan a partir de las señales de salida. Preferiblemente, la información de calibración normalizada incluye al menos una relación de normalización utilizada para normalizar las señales de salida medidas por el dispositivo de medición y al menos una correlación de referencia normalizada para determinar la concentración de analito de la muestra a partir de los valores de señal de salida normalizados.

En **605**, al menos una señal de salida normalizada ( $NR_{act}$ ) se determina utilizando la relación de normalización tal como se discutió previamente con respecto a la FIG. B. La muestra genera una o más señales de salida utilizando un análisis óptico y/o electroquímico. Cada una de las señales de salida normalizada ( $NR_{act}$ ) se determina transformando una señal de salida con la relación de normalización. Por lo tanto, esto se realiza en el laboratorio para determinar la relación de compensación **452** tal como se describió previamente, y durante el análisis.

En **610** se determina un valor de concentración de pseudo-referencia **635** para la muestra promediando al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra. Las al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra se pueden determinar a partir de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414**. "Promediar al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra" también puede incluir promediar las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** y luego determinar la pseudo-referencia a partir de las señales de salida promediadas. Se pueden usar otras señales de salida para determinar las al menos dos concentraciones iniciales de analito. Las al menos dos concentraciones iniciales de analito pueden determinarse de la misma manera para cada una de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** o la concentración inicial de analito determinada para cada una de al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** puede determinarse de diferentes maneras.

Señales de salida medidas por el dispositivo de medición y una correlación de referencia convencional, las señales de salida normalizadas y una correlación de referencia normalizada, u otro método, pueden utilizarse para determinar la concentración de pseudo-referencia. La compensación puede o no utilizarse para determinar las concentraciones iniciales de analito que se promedian para proporcionar la pseudo-referencia.

En **615** las "señales de salida normalizadas correspondientes" ( $NR_{ref}$ ) se determinan seleccionando una concentración de analito de muestra de referencia a partir de las concentraciones de analito de muestra de referencia disponibles (Eje X horizontal) y determinando el valor de señal de salida normalizado correspondiente (Eje Y vertical) a través de la correlación de referencia normalizada. Esto es similar al "proceso" utilizado previamente para determinar las señales de salida sintetizadas con respecto a la FIG. 1D, sin embargo, en lugar de utilizar las líneas de regresión para convertir las concentraciones de analito de la muestra de referencia en valores de señal de salida normalizados, se está utilizando la correlación de referencia normalizada. Si bien este procedimiento se describe en el contexto de una gráfica, en la práctica solo se puede utilizar la correlación de referencia y la concentración de analito de muestra de referencia seleccionada. Este procedimiento se realiza en el laboratorio para las concentraciones de analito de la muestra de referencia deseada.

En **620**, el error del sistema se determina para cada una de las señales de salida o grupo de valores de señales de salida que subyacen a las al menos dos concentraciones de analito iniciales en las concentraciones de analito de muestra de referencia. El error del sistema se puede determinar para cada una de las al menos dos concentraciones iniciales de analito restando la concentración de analito de muestra de referencia de una concentración de analito inicial determinada con el dispositivo de medición, y luego dividiendo por la concentración de analito de muestra de referencia. Dado que las concentraciones de analito de muestra de referencia se utilizan para determinar el error del sistema, esta es una medida del error relativo. Este proceso puede proporcionar un valor de error del sistema para cada una de las concentraciones de analito de muestra de referencia analizadas en el laboratorio.

Los valores de error del sistema que surgen de las concentraciones de analito de la muestra de referencia se utilizan entonces preferiblemente como valores de error del sistema objetivo para determinar la relación de compensación **452** establecida a partir de la regresión multi-variantes. La relación de compensación **452** se almacena preferiblemente en el medio de almacenamiento del dispositivo de medición para uso en el análisis de una muestra.

En **630** al menos un parámetro de anclaje basado en la señal se determina para una o más señales de salida sensibles al analito primario. Los parámetros de anclaje basados en señales se determinan restando una señal de pseudo-referencia ( $NR_{Pseudo}$ ) de la señal de salida normalizada ( $NR_{medida}$ ) y dividiendo por  $NR_{Pseudo}$ , por lo tanto  $\text{Parámetro de Anclaje de Señal} = (NR_{medida} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}$ .  $NR_{Pseudo}$  se determina de manera similar a las "señales de salida normalizadas correspondientes", excepto que en este caso la concentración de pseudo-referencia se selecciona de las concentraciones de analito de muestra de referencia disponibles (Eje X horizontal) y se utiliza

para determinar el valor de la señal de salida normalizada correspondiente (Eje Y vertical) a través de la correlación de referencia normalizada. Aunque este procedimiento se describe en el contexto de una gráfica, en la práctica se pueden utilizar solo la correlación de referencia y la concentración del analito de muestra de referencia. Este procedimiento se realiza en el laboratorio para determinar la relación de compensación **452** como se describe con más detalle. Este procedimiento también se realiza en el dispositivo de medición utilizando el valor de concentración de pseudo-referencia **635**, ya que al menos un parámetro de anclaje se utiliza en la relación de compensación **452**.

La FIG. 1G representa un método **700** basado en la concentración para determinar los parámetros de anclaje tal como se abordó anteriormente en **440**. Los parámetros de anclaje se determinan durante el análisis por el dispositivo de medición. Aunque que el dispositivo de medición puede incluir información de calibración normalizada, esto no se requiere, ya que los parámetros de anclaje basados en la concentración se determinan a partir de concentraciones de analito de muestra determinadas inicialmente, no a partir de las señales de salida.

En **710** se puede determinar un valor de concentración de pseudo-referencia **735** para la muestra promediando al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra descrita previamente para el método **600**. Una o más señales de salida son generadas por la muestra utilizando un análisis óptico y/o electroquímico. Las al menos dos concentraciones de analito iniciales se determinan a partir de las una o más señales de salida de la muestra. Por lo tanto, las al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra pueden determinarse a partir de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414**. El "promedio de al menos dos concentraciones de analito iniciales determinadas a partir de la misma muestra" también puede incluir un promedio inicial de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** y luego determinar la pseudo-referencia a partir de las señales de salida promediadas. Se pueden utilizar otras señales de salida para determinar las al menos dos concentraciones iniciales de analito. Las al menos dos concentraciones iniciales de analito pueden determinarse de la misma manera para cada una de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** o la concentración de analito inicial determinada para cada una de las al menos dos señales de salida sensibles al analito **412**, **414** puede determinarse de diferentes maneras.

Las señales de salida medidas por el dispositivo de medición y una correlación de referencia convencional, señales de salida normalizadas y una correlación de referencia normalizada, u otro método pueden utilizarse para determinar la concentración de pseudo-referencia. La compensación puede o no utilizarse para determinar las concentraciones iniciales de analito que se promedian para proporcionar la pseudo-referencia.

Sin embargo, en **710**, el valor de concentración de pseudo-referencia también puede determinarse cuando no se determinan dos concentraciones de analito iniciales y se utiliza para determinar un valor promedio más exacto de la concentración de analito de muestra. En esta implementación, la información de calibración normalizada o la compensación primaria se pueden utilizar para determinar el valor de concentración de pseudo-referencia **735**.

En **720**, el error del sistema se determina para cada una de las señales de salida o grupo de valores de señal de salida que subyacen a las al menos dos concentraciones de analito iniciales en las concentraciones de analito de muestra de referencia. El error del sistema se determinó para cada una de las al menos dos concentraciones iniciales de analito restando la concentración de analito de muestra de referencia de una concentración de analito inicial determinada con el dispositivo de medición, y luego dividiendo por la concentración del analito de muestra de referencia. Dado que las concentraciones de analito de muestra de referencia se utilizan para determinar el error del sistema, esta es una medida del error relativo. Este proceso puede proporcionar un valor de error del sistema para cada una de las concentraciones de analito de muestra de referencia analizadas en el laboratorio.

Los valores de error del sistema que surgen a partir de las concentraciones de analito de la muestra de referencia se utilizan preferiblemente como los valores de error del sistema objetivo para determinar la relación de compensación **452** establecida a partir de la regresión multi-variantes. La relación de compensación **452** se almacena preferiblemente en el medio de almacenamiento del dispositivo de medición para uso en el análisis de una muestra.

En **730**, se determina un parámetro de anclaje basado en la concentración en el dispositivo de medición para cada una de las al menos dos concentraciones iniciales de analito restando la concentración de pseudo-referencia de una concentración de analito inicial determinada con el dispositivo de medición, y luego dividiendo por la concentración de pseudo-referencia. Esto proporciona un parámetro de anclaje para cada una de las concentraciones iniciales de analito determinadas por el dispositivo de medición durante el análisis. Uno o más de estos parámetros de anclaje se proporcionan luego a la relación de compensación **452** determinada previamente, tal como se utiliza para proporcionar la concentración final de analito de la muestra.

En este caso, la relación general para determinar un primer parámetro de anclaje **444** puede representarse como Primer Parámetro de Anclaje de Concentración = (concentración inicial de analito determinada a partir de la primera señal de salida **412** – valor de concentración de pseudo-referencia **435**)/valor de concentración de pseudo-referencia **435**. De manera similar, la relación general para determinar un segundo parámetro de anclaje **446** se puede representar como Segundo Parámetro de Anclaje de Concentración = (concentración inicial de analito determinada a partir de la segunda señal de salida **414** – valor de concentración de pseudo-referencia **435**)/valor de concentración de pseudo-referencia **435**.

La FIG. 1H representa la combinación de la regresión multi-variante aproximada de los parámetros de anclaje con parámetros de procesamiento de señales segmentadas (SSP) para determinar una relación de compensación entre el error del sistema y la concentración del analito. La relación de compensación se almacena en los medios de almacenamiento del dispositivo de medición del sistema biosensor.

En **852**, se seleccionan múltiples parámetros de SSP y uno o más parámetros de anclaje como términos para la inclusión potencial en la relación de compensación de la relación de compensación. Además de los parámetros SSP y uno o más parámetros de anclaje, otros parámetros de error también pueden incluirse en la función, tales como los términos cruzados, las señales de salida medidas y el estímulo externo cuantificado. Al igual que con los parámetros SSP, otros parámetros de error pueden obtenerse a partir de una señal de salida primaria que responde a una especie identificable por la luz o de la reacción redox de un analito en una muestra de un fluido biológico. Los parámetros de error también pueden obtenerse a partir de una señal de salida secundaria independiente de la señal de salida primaria, tal como por ejemplo de un termopar o un electrodo Hct. Los parámetros de anclaje son diferentes de estos tipos de parámetros de error, ya que los parámetros de anclaje describen el error del sistema en lugar del error de señal. Los términos de la relación de compensación pueden incluir valores distintos de los parámetros de SSP y de anclaje, incluidos valores que representan la concentración no compensada del analito en la muestra y similares.

Preferiblemente, la compensación primaria se proporciona mediante una función de índice determinada utilizando parámetros de error del análisis del analito, tales como las señales intermedias de la señal de salida sensible al analito, o de fuentes independientes de la señal de salida sensible del analito, tales como termopares, electrodos adicionales, y similares. Los parámetros de error pueden responder a uno o más contribuyentes de error que afectan a la señal de salida. Por lo tanto, los parámetros de error pueden extraerse directa o indirectamente de la señal de salida del análisis y/o obtenerse independientemente de la señal de salida analítica. Se pueden determinar otros parámetros de error a partir de estas u otras señales de salida analíticas o secundarias. Se puede utilizar cualquier parámetro de error para formar el término o los términos que conforman la función de índice, tales como los descritos en la Pub. Internacional N° WO 2009/108239, presentada el 6 de diciembre de 2008, titulada "Slope-Based Compensation", y similares.

Una función de índice responde al menos a un parámetro de error. Una función de índice puede generar un número calculado que correlaciona el error de análisis total con un parámetro de error, tal como el hematocrito o la temperatura, y representa la influencia de este parámetro de error en la desviación. Las funciones de índice pueden determinarse experimentalmente como una regresión u otra ecuación que relacione la desviación de determinadas concentraciones de analito de una pendiente de referencia al parámetro de error. Por lo tanto, la función de índice representa la influencia del parámetro de error en la desviación de la pendiente, la desviación de la pendiente normalizada o la desviación porcentual que surge del error total en el análisis.

Las funciones de índice son complejas cuando incluyen combinaciones de términos modificados por los coeficientes de ponderación de términos. Una función de índice complejo tiene al menos dos términos, cada uno modificado por un coeficiente de ponderación de términos. La combinación es preferiblemente una combinación lineal, pero se pueden utilizar otros métodos de combinación que proporcionen coeficientes de ponderación para los términos. Por ejemplo, una función de índice complejo puede tener una combinación lineal de términos con coeficientes de ponderación de la siguiente manera:  $f(\text{Índice Complejo}) = a_1 + (a_2)(R_3/2) + (a_3)(R_4/3) + (a_4)(R_5/4) + (a_5)(R_3/2)(G) + (a_6)(R_4/3)(G) + (a_7)(R_3/2)(\text{Temp}) + (a_8)(R_4/3)(\text{Temp}) + (a_9)(\text{Temp}) + (a_{10})(G) + \dots$ , en que  $a_1$  es una constante y no un coeficiente de ponderación,  $a_2 - a_{10}$  son independientemente coeficientes de ponderación, G es la concentración de analito determinada de la muestra sin compensación y Temp es la temperatura. Cada uno de los coeficientes de ponderación ( $a_2 - a_{10}$ ) está seguido por su término asociado -  $(R_3/2)$ ,  $(R_4/3)$ ,  $(R_5/4)$ ,  $(R_3/2)(G)$ ,  $(R_4/3)(G)$ ,  $(R_3/2)(\text{Temp})$ ,  $(R_4/3)(\text{Temp})$ ,  $(\text{Temp})$ , y  $(G)$ . Se pueden utilizar otras funciones de índice complejas que incluyen combinaciones no lineales y otras combinaciones de términos con coeficientes de ponderación.

Cada uno de los términos en una función de índice complejo puede incluir uno o más parámetros de error. Los términos pueden seleccionarse con uno o más ensayos de exclusión. Más preferiblemente, las funciones primarias son funciones de índice complejas, tales como las descritas en la Patente de EE.UU. Pub.2011/0297554, titulada "Complex Index Functions", presentada el 6 de junio de 2011. Se pueden utilizar otras técnicas de compensación primarias.

Los parámetros de SSP se calculan a partir de los perfiles de señal basados en el tiempo, tales como los perfiles de reflectancia A1c o los perfiles actuales. Brevemente, el error de análisis y la desviación resultante en las concentraciones de analito determinadas a partir del punto final de una señal de salida previamente continua pueden reducirse mediante el procesamiento de señal segmentado (SSP) de la señal de salida previamente continua. Al dividir la señal de salida continua en segmentos y al convertir uno o más de los segmentos en un parámetro SSP, se puede determinar una función SSP. Adicionalmente, incluso en sistemas perturbados, tales como los basados en amperometría o voltametría cerrada, la compensación de señal segmentada puede implementar una compensación que no depende de las perturbaciones que surgen de la señal de entrada cerrada.

Los términos cruzados se forman multiplicando los parámetros de error individuales. Por ejemplo, un valor de concentración de analito de muestra inicial no compensado y un valor de temperatura. Los parámetros de relación se forman dividiendo los parámetros de error individuales. Por ejemplo, un valor de concentración de analito de muestra inicial no compensado y un valor de temperatura. Las corrientes intermedias obtenidas de la señal de salida primaria en diferentes momentos durante el análisis también se pueden dividir para formar parámetros de relación. Detalles adicionales con respecto a los términos cruzados se pueden encontrar en la Patente de EE.UU. Pub. 2013/0071869, titulada "Analysis Compensation Including Segmented Signals", presentada el 20 de septiembre de 2012. Se pueden encontrar detalles adicionales sobre los parámetros de relación en la patente de EE.UU. Pub. 2011/0231105, titulada "Residual Compensation Including Underfill Error", presentada el 22 de marzo de 2011.

En **854**, se utilizan una o más técnicas matemáticas para determinar los primeros valores de exclusión para cada uno de los términos seleccionados o potenciales. Las técnicas matemáticas pueden incluir técnicas de regresión, preferiblemente regresión multi-variantes, y similares. Los valores de exclusión pueden ser valores de p o similares. Las técnicas matemáticas también pueden proporcionar coeficientes de ponderación, constantes y otros valores relacionados con los términos seleccionados. La regresión de multi-variantes es un tipo de técnica de regresión estadística que puede evaluar el efecto de múltiples términos en un valor y proporcionar información que aborde el grado en que cada término afecta el valor. Así, la regresión multi-variantes puede proporcionar tanto coeficientes de ponderación como abordar la contribución de cada uno de los términos y los valores de p que abordan los términos que proporcionan la contribución estadísticamente más significativa al valor.

El software MINITAB versión 14 o 16 puede utilizarse con la opción Regresión de Multi-Variantes de Combinaciones Lineales de Variables Múltiples elegida para realizar la regresión de multi-variantes. Se pueden utilizar otras opciones de análisis estadístico o de regresión para determinar los coeficientes de ponderación de los términos. Detalles adicionales con respecto a la regresión de multi-variantes se pueden encontrar en la Patente de EE.UU. Pub. 2013/0071869, titulado "Analysis Compensation Including Segmented Signals", presentada el 20 de septiembre de 2012 y en la Patente de EE.UU. Pub. 2011/0231105, titulada "Residual Compensation Including Underfill Error", presentada el 22 de marzo de 2011.

En **856**, uno o más ensayos de exclusión se aplican a los valores de exclusión para identificar uno o más términos a excluir de la relación de compensación. Al menos un término está excluido bajo el ensayo. Preferiblemente, los uno o más ensayos de exclusión se utilizan para eliminar términos en potencia estadísticamente insignificantes de la relación de compensación hasta obtener los términos deseados para la función. En **857**, la una o más técnicas matemáticas se repiten para identificar segundos valores de exclusión para los términos restantes. En **858**, si los segundos valores de exclusión no identifican los términos restantes para la exclusión de la relación de compensación en uno o más ensayos de exclusión, los términos restantes se incluyen en la relación de compensación. En **859**, si los segundos valores de exclusión identifican términos restantes a excluir de la relación de compensación bajo los uno o más ensayos de exclusión, la una o más técnicas matemáticas de **857** se pueden repetir para identificar valores de la tercera exclusión para los términos restantes. Estos términos restantes pueden incluirse en la relación de compensación como en **858** o el procedimiento puede repetirse iterativamente como en **859** hasta que el ensayo de exclusión no identifique uno o más términos a excluir. Se puede encontrar información adicional sobre el uso de ensayos de exclusión para determinar los términos y los coeficientes de ponderación para las relaciones de compensación en la Patente de EE.UU. Pub. 2011/0231105, presentado el 22 de marzo de 2011, titulada "Residual Compensation Including Underfill Error".

**Ejemplo 1:** Un ejemplo de cómo se determinaron las relaciones de compensación de canal que incluían parámetros de anclaje basados en señales y otros parámetros es el siguiente:

Los parámetros de anclaje se utilizaron en combinación con la señal segmentada (SSP) y otros parámetros para proporcionar la relación de compensación para los canales de señal de salida primarios Ch1 y Ch3. La regresión multi-variantes se utilizó para determinar una relación de compensación que incluye la compensación de errores del sistema proporcionada por un parámetro de anclaje basado en la señal (y los términos cruzados asociados) para Ch1 y Ch3 de un sistema biosensor de %-A1c, como sigue:

Para Ch1 (D-NA1\_9)  $= -0,7729 + 0,8349 \cdot C2MV' + 0,6484 \cdot MR1' - 0,005598 \cdot Mt1' + 0,7585 \cdot D1-3' + 53,16 \cdot D1-5' + 16,632 \cdot D2-4' + 288,14 \cdot D2-5' + 53,16 \cdot D2-20' + 0,12334 \cdot D-C2 \cdot A1' + 4,7018 \cdot DNR1 \cdot C2MV' + 2,5883 \cdot DNR1 \cdot D1-1' - 0,019564 \cdot D1-2/1' + 0,17053 \cdot D1-2/1a' + 3,737 \cdot D1-4/1a' + 1,6629 \cdot D1-5/3a' + 155,92 \cdot DNR1 \cdot D1-4/1' + 10,458 \cdot DNR1 \cdot D1-4/3'$ .

Para Ch3 (D-NA3\_9)  $= -0,7167 + 0,8591 \cdot C4MV' + 0,6088 \cdot MR3' - 1,3598 \cdot D3-3' + 115,73 \cdot D3-5' + 20,958 \cdot D4-4' + 204,24 \cdot D4-5' + 72,19 \cdot D4-20' + 0,27735 \cdot DNR3 \cdot A3' - 0,3709 \cdot D-C4 \cdot A3' - 1,453 \cdot DNR3 \cdot D3-1' - 503,4 \cdot D-C4 \cdot D4-4' + 4469 \cdot D-C4 \cdot D4-20' + 0,0916 \cdot D3-2/1a' + 1,0911 \cdot D3-4/1' - 2,984 \cdot D3-5/3' + 1,1017 \cdot D3-5/3a'$ .

Para ambas relaciones de compensación, términos tales como C4MV se miden como reflectancia; MR1 es la reflectancia de A1c mínima medida para un perfil de reflectancia de A1c; Mt1 es el tiempo de análisis requerido para alcanzar MR1; términos tales como D1-3 son parámetros SSP; DNR1 es el parámetro de anclaje para Ch1 y DNR3 es el parámetro de anclaje para Ch3; y términos tales como D1-2/1 y D1-2/1a son parámetros de relación SSP. La constante es -0,7729 para la ecuación de Ch1 y -0,7167 para la ecuación de Ch3. También se muestran los coeficientes de ponderación para cada uno de los términos. La constante, los coeficientes de ponderación y los términos serían diferentes para un análisis diferente. Aunque se considerara que ambos canales del dispositivo de medición son "iguales", según los términos de la ecuación determinados a través del proceso de exclusión, tal como se explicó anteriormente, la relación de compensación es diferente para cada uno de los canales.

La salida de regresión de la regresión de multi-variantes, tal como se realiza con el software MINITAB versión 16 utilizando la opción de Regresión de Multi-Variantes de Combinaciones Lineales de Múltiples Variables, es como sigue en la Tabla 1. Los valores en la fila "Constante" de la salida de regresión no son coeficientes de ponderación, sino una constante para la ecuación de regresión de multi-variantes.

Tabla 1A: Ch1 Ejemplo de Salida de Regresión Multi-variantes con Anclaje y Otros Parámetros.

Análisis de Ch1 - 727s				
Predictor	Coef	Coef SE	T	P
Constante	-0,7729	0,1194	-6,47	0,000
C2MV	0,8349	0,1434	5,82	0,000
MR1	0,6484	0,1978	3,28	0,001
Mt1	-0,005598	0,001916	-2,92	0,004
D1-3	0,7585	0,3392	2,24	0,026
D1-5	53,16	27,27	1,95	0,052
D2-4	16,632	2,484	6,70	0,000
D2-5	288,14	43,60	6,61	0,000
D2-20	53,22	11,15	4,77	0,000
D-C2*A1	0,12334	0,06338	1,95	0,052
DNR1*C2MV	4,7018	0,5796	8,11	0,000
DNR1*D1-1	2,5883	0,8588	3,01	0,003
D1-2/1	-0,019564	0,005439	-3,60	0,000
D1-2/1a	0,17053	0,02668	6,39	0,000
D1-4/1a	3,737	1,060	3,52	0,000
D1-5/3a	1,6629	0,5260	3,16	0,002
DNR1*D1-4/1	155,92	36,32	4,29	0,000
DNR1*D1-4/3	10,458	5,344	1,96	0,051
S = 0,0390445; R-Sq = 54,0%; R-Sq(adj) = 52,9%				

Tabla 1B: Ch3 Ejemplo de Salida de Regresión Multi-variantes con Anclaje y Otros Parámetros.

Análisis de Ch3 – 727				
Predictor	Coef	Coef SE	T	P
Constante	-0,7167	0,1173	-6,11	0,000
C4MV	0,8591	0,1547	5,55	0,000
MR3	0,6088	0,1866	3,26	0,001
D3-3	-1,3598	0,7734	-1,76	0,079
D3-5	115,73	45,47	2,55	0,011
D4-4	20,958	2,761	7,59	0,000
D4-5	204,24	43,78	4,66	0,000
D4-20	72,19	12,49	5,78	0,000
DNR3*A3	0,27735	0,03963	7,00	0,000
D-C4*A3	-0,3709	0,1163	-3,19	0,001
DNR3*D3-1	-1,4530	0,5336	-2,72	0,007
D-C4*D4-4	-503,4	221,3	-2,28	0,023
D-C4*D4-20	4469	2452	1,82	0,069
D3-2/1a	0,09160	0,01080	8,48	0,000
D3-4/1	1,0911	0,2548	4,28	0,000
D3-5/3	-2,984	1,310	-2,28	0,023
D3-5/3a	1,1017	0,3882	2,84	0,005
S = 0,0395936;				
R-Sq = 55,7%; R-Sq(adj)= 54,8%				

**Ejemplo 2:** Un ejemplo de cómo se determinaron las relaciones de compensación de canal que incluían parámetros de anclaje basados en la concentración y otros parámetros es el siguiente:

- 5 En este ejemplo, el error del sistema se expresó en general para cada uno de los canales al escribir el error relativo ( $dA/A1cRef$  o  $dA3/A1cRef$ ) como una función de un parámetro de anclaje de concentración combinado con SSP y otros parámetros como sigue:  $DAr1 = dA1/A1cRef = f(DA1 = \text{parámetro de anclaje } (dA1/A1cAvg), \text{ parámetros de SSP y otros parámetros de error para Ch1})$ ;  $DAr3 = dA3/A1cRef = f(DA3 = \text{parámetro de anclaje } (dA3/A1cAvg), \text{ parámetros de SSP y otros parámetros de error para Ch3})$ . Estas expresiones se determinaron en el laboratorio para múltiples muestras que tienen concentraciones de analito de muestra de referencia conocidas según lo determinado con un instrumento de referencia Tosoh G7.

- 15 Un ejemplo de este método para proporcionar una relación de compensación basada en parámetros de anclaje en combinación con SSP y otros parámetros es el siguiente. La Tabla 2A y la Tabla 2B muestran los resultados de regresión multi-variable obtenidos al incluir el parámetro de anclaje basado en la concentración y sus términos cruzados con el SSP y otros parámetros para Ch1 y Ch3. Los valores en la fila "Constante" de la salida de regresión no son coeficientes de ponderación, sino una constante para la ecuación de regresión de multi-variantes.

Tabla 2A: Resultados de Regresión Multi-variantes de Ch1 de Anclaje, SSP y otros Parámetros.

Análisis de Regresión de Ch1: DAr1 frente a C2MV, D1-5, ...				
Parámetro de anclaje DA1 y términos cruzados asociados con SSP y otros parámetros				
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constante	-0,3422	0,1034	-3,31	0,001
C2MV	0,3060	0,1398	2,19	0,029
D1-5	159,82	21,50	7,43	0,000
DA1*C2MV	1,7524	0,8266	2,12	0,034
DA1*D1-3a	70,04	18,04	3,88	0,000
DA1*D1-3	-53,73	14,30	-3,76	0,000
D1-2/1	-0,020109	0,004088	-4,92	0,000
DA1*D1-4/1a	255,82	46,75	5,47	0,000
DA1*D1-4/3	15,856	3,538	4,48	0,000
DA1*D1-5/3	-156,14	31,87	-4,90	0,000
DA1*D1-5/3a	98,25	25,06	3,92	0,000
MR1*D1-2/1a	0,54276	0,07503	7,23	0,000

Mt1*D1-4/3a	-0,017550	0,006175	-2,84	0,005
S = 0,0438916 R-Sq = 42,8%				
<b>R-Sq(adj) = 41,8%</b>				

Tabla 2B: Resultados de Regresión Multi-variantes de Ch3 de Anclaje, SSP y otros Parámetros.

<b>Análisis de Regresión de Ch3: Dar3 frente a DA3, MR3, ...</b>				
Parámetro de anclaje DA3 y términos cruzados asociados con SSP y otros parámetros				
Predictor	Coef	Coef SE	T	P
Constante	-0,28165	0,04108	-6,86	0,000
DA3	5,151	2,469	2,09	0,037
MR3	0,9509	0,1917	4,96	0,000
D3-2	-0,08559	0,01792	-4,78	0,000
D3-5	135,87	21,10	6,44	0,000
DA3*C4MV	-5,699	3,401	-1,68	0,094
D3-4/1a	4,513	1,453	3,11	0,002
D3-4/2a	0,11812	0,05092	2,32	0,021
D3-4/2	-1,4066	0,6425	-2,19	0,029
DA3*D3-4/1	-9,629	5,368	-1,79	0,073
MR3*D3-4/2a	-0,5884	0,2514	-2,34	0,020
Mt3*D3-3/1a	-0,0020053	0,0009756	-2,06	0,040
Mt3*D3-3/2	0,009898	0,004138	2,39	0,017
S = 0,0436156 R-Sq = 46,6%				
<b>R-Sq(adj) = 45,7 %</b>				

## %A1c Análisis de Sangre

- 5 Se determinaron concentraciones de analito para múltiples muestras de referencia para el Canal 1 (Ch1) y para el Canal 3 (Ch3) con el dispositivo de medición para proporcionar dos concentraciones iniciales de analito % -A1c. Así, para cada una de las muestras se determinó una concentración de analito inicial Ch1 (Ch1A1c<sub>init</sub>) y una concentración de analito inicial Ch3 (Ch3A1c<sub>init</sub>). Luego se determinó una primera pseudo-referencia (Pseudo1) promediando las concentraciones de analito iniciales % -A1c de Ch1 y Ch3. Los parámetros de anclaje se
- 10 determinaron mediante el uso de regresión de múltiples variantes utilizando SSP y otros parámetros para determinar concentraciones de analito compensado de parámetro de anclaje para Ch1 y Ch3, tal como se comentó previamente. Tal como se describió previamente, se realizaron entonces aproximaciones progresivas de la concentración de pseudo-referencia para reducir adicionalmente el error en la concentración de pseudo-referencia seleccionada como la concentración de analito final compensada de la muestra.
- 15 La FIG. 2A y la FIG. 2B representan dos ejemplos de aproximación progresiva de concentraciones de pseudo-referencia para un conjunto de muestras de referencia de sangre que incluyen el 5% o el 9% del analito A1c. En cada nivel de % -A1c, el análisis se repitió aproximadamente 50 veces para tres lotes de sensores de ensayo. Estos dos conjuntos de gráficas establecen que después de la compensación del parámetro de anclaje inicial (relaciones de compensación para Ch1 y Ch3 incluyendo el parámetro de anclaje, SSP y otros parámetros en la regresión multi-variables), los valores de %-CV continuaron mejorando en las posteriores aproximaciones progresivas de la
- 20 concentración de pseudo-referencia. El Eje X horizontal de las gráficas muestra el %-CV en concentraciones de analito de muestra determinadas sin la compensación del parámetro de anclaje (error del sistema) (LCD), una primera concentración de pseudo-referencia (orden 0), una segunda concentración de pseudo-referencia (1ª aproximación progresiva), una tercera concentración de pseudo-referencia (2ª aproximación progresiva), una cuarta concentración de pseudo-referencia (3ª aproximación progresiva) y una quinta concentración de pseudo-referencia (4ª aproximación progresiva).
- 25

En la FIG. 2A, en el 5%-A1c, la concentración de la muestra %-CV se redujo de aproximadamente 3,7 para las concentraciones compensadas de parámetros sin anclaje a aproximadamente 2 para la 4ª aproximación que utiliza la aproximación progresiva de la concentración de pseudo-referencia. Por lo tanto, se observó una mejora del 50% para %-CV que se traduciría en un rendimiento de medición significativamente mejorado para el sistema biosensor.

30 En la Fig. 2B, en el 9%-A1c, la concentración de la muestra %-CV se redujo de aproximadamente 3,7 para las concentraciones compensadas de parámetros sin anclaje a aproximadamente 3,5 para la 4ª aproximación que utiliza

la aproximación progresiva de la concentración de pseudo-referencia. La mejora escalonada de %-CV continuó después de la aproximación de orden 0.

La FIG. 2C y la FIG. 2D muestran las regresiones para el orden 0 y las 4ª aproximaciones progresivas para los detectores de Ch1 y Ch3 de la Zona 1 (las señales de salida primarias) para los datos de análisis obtenidos con los sensores de ensayo del Lote 2 y el dispositivo de medición del sistema biosensor. Se observó una mejora significativa de aproximadamente el 27% ( $0,85-0,67/0,67*100$ ) para los valores de correlación  $R^2$  después de la 4ª aproximación progresiva, lo que demuestra la capacidad incrementada de la compensación de aproximación progresiva para describir el error en las concentraciones de analito determinadas.

La FIG. 2E y la FIG. 2F muestran las regresiones por separado para las concentraciones de A1c del 5% y 9% para los datos Ch1 para el orden 0 y la 4ª aproximación progresiva. Aquí, la capacidad de la compensación de aproximación progresiva permitió un aumento casi el doble de la capacidad del sistema biosensor para describir el error en los análisis a una concentración de analito de muestra inferior al 5%.

La FIG. 2G y la FIG. 2H muestran los valores de correlación  $R^2$  para la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia para los análisis múltiples para los dos canales separados. A medida que aumentaron los valores de  $R^2$ , los valores de %-CV (que representan la precisión) también mejoraron, especialmente en la concentración de la muestra de A1c del 5%. Por lo tanto, se observó una mejora en el rendimiento de medición para el sistema biosensor.

La FIG. 3 ilustra una representación esquemática de un sistema biosensor **300** que determina una concentración de analito en una muestra de un fluido biológico. El sistema biosensor **300** incluye un dispositivo de medición **302** y un sensor de ensayo **304**. El dispositivo de medición **302** puede implementarse en un instrumento analítico, que incluye un dispositivo de sobremesa, un dispositivo portátil o de mano, o similar. Preferiblemente, el dispositivo de medición **302** se implementa en un dispositivo de mano. El dispositivo de medición **302** y el sensor de prueba **304** pueden adaptarse para implementar un sistema de sensor electroquímico, un sistema de sensor óptico, una combinación de los mismos, o similares.

El sistema biosensor **300** determina la concentración de analito de la muestra utilizando información de calibración convencional o la información de calibración desarrollada de acuerdo con las técnicas de normalización descritas previamente y la información de compensación de parámetros de anclaje almacenada en el dispositivo de medición **302**. La información de calibración de uno o ambos métodos de calibración **100** y **102** puede almacenarse en el dispositivo de medición **302**. El método de análisis **400** puede almacenarse en el dispositivo de medición para ser implementado por el sistema biosensor **300**.

Cuando el sistema biosensor **300** implementa la compensación, la información de compensación del parámetro de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia puede mejorar el rendimiento de medición del sistema biosensor **300** al determinar la concentración de analito de la muestra. El sistema biosensor **300** puede utilizarse para determinar las concentraciones de analito, incluidas las de glucosa, A1c, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina y similares. Aunque se muestra una configuración particular, el sistema biosensor **300** puede tener otras configuraciones, incluidas aquellas con componentes adicionales.

El sensor de ensayo **304** tiene una base **306** que forma un depósito **308** y un canal **310** con una abertura **312**. El depósito **308** y el canal **310** pueden estar cubiertos por una tapa con un orificio de ventilación. El depósito **308** define un volumen parcialmente cerrado. El depósito **308** puede contener una composición que ayuda a retener una muestra líquida tal como polímeros expandibles en agua o matrices de polímeros porosas. Los reactivos pueden depositarse en el depósito **308** y/o el canal **310**. Los reactivos pueden incluir una o más enzimas, aglutinantes, mediadores y especies similares. Los reactivos pueden incluir un indicador químico para un sistema óptico. El sensor de ensayo **304** tiene una interfaz de muestra **314** adyacente al depósito **308**. El sensor de ensayo **304** puede tener otras configuraciones.

En un sistema de sensor óptico, la interfaz de muestra **314** tiene un portal óptico o abertura para ver la muestra. El portal óptico puede estar cubierto por un material esencialmente transparente. La interfaz de muestra **314** puede tener portales ópticos en lados opuestos del depósito **308**.

En un sistema electroquímico, la interfaz de muestra **314** tiene conductores conectados a un electrodo de trabajo **332** y un contraelectrodo **334** desde el cual se puede medir la señal de salida analítica. La interfaz de muestra **314**



también puede incluir conductores conectados a uno o más electrodos adicionales **336** desde los cuales se pueden medir las señales de salida secundarias. Los electrodos pueden estar sustancialmente en el mismo plano o en más de un plano. Los electrodos pueden estar dispuestos sobre una superficie de la base **306** que forma el depósito **308**. Los electrodos pueden extenderse o proyectarse en el depósito **308**. Una capa dieléctrica puede cubrir parcialmente los conductores y/o los electrodos. La interfaz de muestra **314** puede tener otros electrodos y conductores.

El dispositivo de medición **302** incluye un circuito eléctrico **316** conectado a una interfaz de sensor **318** y una pantalla opcional **320**. El circuito eléctrico **316** incluye un procesador **322** conectado a un generador de señales **324**, un sensor de temperatura opcional **326** y un medio de almacenamiento **328**.

El generador de señales **324** es capaz de proporcionar una señal de entrada eléctrica a la interfaz del sensor **318** en respuesta al procesador **322**. En los sistemas ópticos, la señal de entrada eléctrica se puede utilizar para operar o controlar el detector y la fuente de luz en la interfaz de sensor **318**. En los sistemas electroquímicos, la señal de entrada eléctrica puede ser transmitida por la interfaz del sensor **318** a la interfaz de muestra **314** para aplicar la señal de entrada eléctrica a la muestra del fluido biológico. La señal de entrada eléctrica puede ser un potencial o una corriente y puede ser constante, variable o una combinación de los mismos, tal como cuando se aplica una señal de CA con un desplazamiento de señal de CC. La señal de entrada eléctrica se puede aplicar de forma continua o como múltiples excitaciones, secuencias o ciclos. El generador de señales **324** también puede ser capaz de registrar una señal de salida desde la interfaz del sensor como un generador-registrador.

El sensor de temperatura opcional **326** es capaz de determinar la temperatura ambiente del dispositivo de medición **302**. La temperatura de la muestra puede estimarse a partir de la temperatura ambiente del dispositivo de medición **302**, calculada a partir de la señal de salida, o se presume que es igual o similar a la temperatura ambiente del dispositivo de medición **302**. La temperatura se puede medir utilizando un termistor, un termómetro u otro dispositivo sensor de la temperatura. Se pueden utilizar otras técnicas para determinar la temperatura de la muestra.

El medio de almacenamiento **328** puede ser una memoria magnética, óptica o de semiconductor, otro dispositivo de almacenamiento, o similar. El medio de almacenamiento **328** puede ser un dispositivo de memoria fija, un dispositivo de memoria extraíble, tal como una tarjeta de memoria, accesible de forma remota, o similar.

El procesador **322** es capaz de implementar el método de análisis de analito utilizando un código de software legible por ordenador y la información de calibración y la información de compensación de parámetros de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia almacenadas en el medio de almacenamiento **328**. El procesador **322** puede iniciar el análisis del analito en respuesta a la presencia del sensor de ensayo **304** en la interfaz de sensor **318**, la aplicación de una muestra al sensor de ensayo **304**, en respuesta a la entrada del usuario, o similar. El procesador **322** es capaz de dirigir el generador de señales **324** para proporcionar la señal de entrada eléctrica a la interfaz de sensor **318**. El procesador **322** es capaz de recibir la temperatura de la muestra desde el sensor de temperatura **326**. El procesador **322** es capaz de recibir las señales de salida desde la interfaz de sensor **318**.

En los sistemas electroquímicos, la señal de salida primaria sensible al analito se genera a partir de los electrodos de trabajo y contador **332**, **334** en respuesta a la reacción del analito en la muestra. Las señales de salida secundarias también pueden generarse a partir de electrodos adicionales **336**. En los sistemas ópticos, el detector o los detectores de la interfaz de sensor **318** reciben las señales de salida primarias y cualquier secundaria. Las señales de salida pueden generarse utilizando un sistema óptico, un sistema electroquímico, o similar. El procesador **322** es capaz de determinar las concentraciones de analito a partir de las señales de salida utilizando la información de calibración y la información de compensación del parámetro de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia almacenadas en el medio de almacenamiento **328**. Los resultados del análisis del analito pueden enviarse a la pantalla **320**, un receptor remoto (no mostrado) y/o se puede almacenar en el medio de almacenamiento **328**.

La información de calibración que se refiere a las concentraciones de analito de la muestra de referencia y las señales de salida del dispositivo de medición **302** y la información de compensación del parámetro de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de concentraciones de pseudo-referencia puede representarse gráficamente, matemáticamente, una combinación de los mismos, o similares. La información de calibración y la información de compensación de los parámetros de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia se representan preferiblemente como ecuaciones de correlación, que se pueden representar mediante una tabla de número de programa (PNA), otra tabla de consulta o similar que se almacena en el medio de almacenamiento **328**.

El código de software legible por ordenador almacenado en el medio de almacenamiento **328** también puede proporcionar instrucciones con respecto a la implementación del análisis del analito que incluye la calibración y la información de compensación de parámetros de anclaje determinada a partir de la aproximación progresiva de las concentraciones de pseudo-referencia. El código puede ser un código de objeto o cualquier otro código que describa o controle la funcionalidad descrita. Los datos del análisis del analito pueden someterse a uno o más tratamientos de datos, incluida la determinación de tasas de decaimiento, constantes K, relaciones, funciones y similares en el procesador **322**.

En los sistemas electroquímicos, la interfaz de sensor **318** tiene contactos que se conectan o se comunican eléctricamente con los conductores en la interfaz de muestra **314** del sensor de ensayo **304**. La interfaz de sensor **318** es capaz de transmitir la señal de entrada eléctrica desde el generador de señales **324** a través de los contactos a los conectores en la interfaz de muestra **314**. La interfaz de sensor **318** también es capaz de transmitir la señal de salida de la muestra a través de los contactos al procesador **322** y/o al generador de señales **324**.

En los sistemas ópticos de absorción de luz y generados por luz, la interfaz de sensor **318** incluye un detector que recoge y mide la luz. El detector recibe luz del sensor de ensayo **304** a través del portal óptico en la interfaz de muestra **314**. En un sistema óptico de absorción de la luz, la interfaz de sensor **318** también incluye una fuente de luz tal como un láser, un diodo emisor de luz, o similares. El haz incidente puede tener una longitud de onda seleccionada para la absorción por el producto de reacción. La interfaz de sensor **318** dirige un haz incidente desde la fuente de luz a través del portal óptico en la interfaz de muestra **314**. El detector puede colocarse en un ángulo tal como de 45° con respecto al portal óptico para recibir la luz reflejada desde la muestra. El detector puede colocarse junto a un portal óptico en el otro lado de la muestra de la fuente de luz para recibir la luz transmitida a través de la muestra. El detector puede colocarse en otra ubicación para recibir la luz reflejada y/o transmitida.

La pantalla opcional **320** puede ser analógica o digital. La pantalla **320** puede incluir una pantalla LCD, LED, OLED, una pantalla fluorescente de vacío (VFD), u otra pantalla adaptada para mostrar una lectura numérica. Se pueden utilizar otras tecnologías de visualización. La pantalla **320** se comunica eléctricamente con el procesador **322**. La pantalla **320** puede estar separada del dispositivo de medición **302**, tal como cuando está en comunicación inalámbrica con el procesador **322**. Alternativamente, la pantalla **320** puede retirarse del dispositivo de medición **302**, tal como cuando el dispositivo de medición **302** se comunica eléctricamente con un dispositivo computador remoto, una bomba dosificadora de medicamentos y similares.

En uso, una muestra líquida para análisis se transfiere al depósito **308** introduciendo el líquido en la abertura **312**. La muestra líquida fluye a través del canal **310**, llenando el depósito **308** mientras expulsa el aire que contenía previamente. La muestra líquida reacciona químicamente con los reactivos depositados en el canal **310** y/o el depósito **308**.

El sensor de ensayo **302** está dispuesto en relación con el dispositivo de medición **302**, de manera que la interfaz de muestra **314** está en comunicación eléctrica y/u óptica con la interfaz del sensor **318**. La comunicación eléctrica incluye la transferencia de señales de entrada y/o salida entre los contactos en la interfaz de sensor **318** y los conductores en la interfaz de muestra **314**. La comunicación óptica incluye la transferencia de luz entre un portal óptico en la interfaz de muestra **314** y un detector en la interfaz de sensor **318**. La comunicación óptica también incluye la transferencia de luz entre un portal óptico en la interfaz de muestra **314** y una fuente de luz en la interfaz del sensor **318**.

El procesador **322** es capaz de dirigir el generador de señales **324** para proporcionar una señal de entrada a la interfaz de sensor **318** del sensor de ensayo **304**. En un sistema óptico, la interfaz de sensor **318** es capaz de hacer funcionar el detector y la fuente de luz en respuesta a la señal de entrada. En un sistema electroquímico, la interfaz de sensor **318** es capaz de proporcionar la señal de entrada a la muestra a través de la interfaz de muestra **314**. El sensor de ensayo **304** es capaz de generar una o más señales de salida en respuesta a la señal de entrada. El procesador **322** es capaz de recibir las señales de salida generadas en respuesta a la reacción redox del analito en la muestra tal como se comentó previamente.

El procesador **322** es capaz de transformar la señal de salida utilizando el método de análisis y la información de calibración almacenada en el medio de almacenamiento **328** para determinar una concentración de analito inicial de la muestra. El procesador **322** puede entonces informar de esta concentración de analito inicial. El procesador **322** es capaz de implementar una compensación de parámetros de anclaje que incluye la aproximación progresiva de concentraciones de pseudo-referencia para determinar la concentración final de analito de la muestra. El procesador **322** también puede implementar más de una compensación y/u otra función.

Para proporcionar una comprensión clara y más coherente de la memoria descriptiva y las reivindicaciones de esta solicitud, se proporcionan las siguientes definiciones.

"Promedio" o "Promediado" o "Promediar" incluye la combinación de dos o más variables para formar una variable promedio. Una variable puede ser un valor numérico, una expresión algebraica o científica, o similar. Por ejemplo, el promedio se puede realizar añadiendo las variables y dividiendo la suma por el número de variables; tal como en la ecuación  $AVG = (a + b + c)/3$ , en que AVG es la variable promedio y a, b y c son las variables. En otro ejemplo, el promedio incluye modificar cada una de las variables por un coeficiente de promedio y luego añadir las variables modificadas para formar un promedio ponderado; tal como en la ecuación

$W_{AVG} = 0,2*a + 0,4*b + 0,4*c$ , en que  $W_{AVG}$  es el promedio ponderado, 0,2, 0,4 y 0,4 son los coeficientes de promediado, y a, b, y c son las variables. Los coeficientes de promediado son números entre 0 y 1; y si se añaden, proporcionarán una suma de 1 o sustancialmente 1. Se pueden utilizar otros métodos de promediado.

Los "coeficientes de ponderación" distribuyen la contribución de cada uno de los términos a la relación. Los coeficientes de ponderación son números entre 0 y 1, pero excluyendo 0 y 1, y si se añaden, proporcionarán una suma de 1 o sustancialmente 1. Un coeficiente de ponderación no puede ser 1, ya que no distribuye la contribución del término a la relación, y un coeficiente de ponderación no puede ser 0, ya que resulta en la exclusión del término de la relación. Por lo tanto, los coeficientes de ponderación son bajos para que cada uno de los términos tenga una distribución diferente de la relación. Dos o más de los coeficientes de ponderación de términos pueden ser iguales o, de manera similar, distribuir la contribución de sus términos respectivos a la función. Sin embargo, al menos dos coeficientes de ponderación son diferentes o distribuyen de manera diferente la contribución de sus respectivos términos a la relación. De esta manera, la expresión coeficientes de ponderación puede seleccionarse para permitir el efecto de un término en otro término en relación con la función general, reduciendo o eliminando así el error de las interacciones de los términos cuando se utiliza una función de índice complejo. La expresión coeficientes de ponderación no es un valor único o constante que pueda aplicarse por disposición algebraica a todos los términos. Los coeficientes de ponderación para los términos pueden determinarse mediante una técnica matemática, tal como el procesamiento estadístico de los datos recopilados a partir de una combinación de múltiples concentraciones de analito, diferentes niveles de hematocrito, diferentes niveles de hemoglobina total, diferentes temperaturas y similares. Los coeficientes de ponderación para los términos pueden determinarse a través de otras técnicas matemáticas, incluyendo diferentes métodos de procesamiento estadístico. Preferiblemente, se utilizan técnicas de regresión multi-variantes que incluyen uno o más ensayos de exclusión para determinar coeficientes de ponderación para los términos.

Una "función de índice complejo" es una función de índice que tiene términos modificados por los coeficientes de ponderación. Una función de índice complejo preferiblemente no es "compleja" en un sentido matemático, por lo que no requiere ni implica el uso de un número imaginario (un número con la raíz cuadrada de uno negativo). Sin embargo, una función de índice complejo puede incluir uno o más números imaginarios, pero no está limitada o restringida a tener un número imaginario.

"Especies medibles" se dirige a una especie, cuyo sistema biosensor está diseñado para determinar la presencia y/o concentración de la muestra y puede ser el analito de interés o un mediador, cuya concentración en la muestra responde al analito de interés.

Si bien se han descrito diversas realizaciones de la invención, resultará evidente para los expertos en la técnica que son posibles otras realizaciones e implementaciones dentro del alcance de la invención.

## REIVINDICACIONES

1. Un método (400) para determinar una concentración de analito en una muestra, que comprende:  
 generar al menos dos señales de salida de una muestra;  
 medir (410) al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito de la muestra;  
 5 determinar (415) al menos dos concentraciones iniciales de analito a partir de las al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito;  
 determinar (430) una primera concentración de pseudo-referencia (435) a partir de las al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito, siendo la primera concentración de pseudo-referencia (435) un primer sustituto del verdadero error relativo;  
 10 determinar (440) al menos dos primeros parámetros de anclaje (445) en respuesta a la primera concentración de pseudo-referencia (435), compensando los al menos dos primeros parámetros de anclaje (445) el error del sistema, siendo al menos uno de los dos primeros parámetros de anclaje (445) un primer parámetro de anclaje basado en la señal (442) del canal, determinado en respuesta a una primera señal de salida normalizada y una señal de pseudo-referencia, siendo el primer parámetro de anclaje basado en la señal (442) del canal =  $(NR_{OSV1} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}$ ,  
 15 siendo  $NR_{OSV1}$  un primer valor de señal de salida normalizado y siendo  $NR_{Pseudo}$  una señal de pseudo-referencia;  
 incorporar (450) los dos primeros parámetros de anclaje (445) en al menos dos primeras relaciones de compensación (452), incluyendo al menos una de las dos primeras relaciones de compensación (452)  $Ach1_{comp} = Ach1_{inicial}/(1 + RECh1)$ , siendo Ch1 canal 1, siendo  $Ach1_{comp}$  la concentración de analito compensada del parámetro de anclaje determinada para el canal 1, siendo  $Ach1_{inicial}$  la concentración de analito inicial determinada para el canal 1,  
 20 determinar al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas de anclaje en respuesta a las al menos dos concentraciones de analito iniciales, los dos primeros parámetros de anclaje (445) y las dos primeras relaciones de compensación (452);  
 determinar (454) una segunda concentración de pseudo-referencia (455) promediando las al menos dos concentraciones de analito compensadas del primer anclaje, siendo la segunda concentración de pseudo-referencia (455) un segundo sustituto del verdadero error relativo; e  
 25 informar (490) la segunda concentración de pseudo-referencia (455) como una concentración final de analito compensado de la muestra.
2. El método de la reivindicación 1, que comprende, además:  
 30 determinar al menos dos segundos parámetros de anclaje en respuesta a la segunda concentración de pseudo-referencia, compensando los dos segundos parámetros de anclaje el error del sistema;  
 incorporar los dos segundos parámetros de anclaje en al menos dos segundas relaciones de compensación;  
 determinar al menos dos segundas concentraciones de analito compensado de anclaje en respuesta a las dos concentraciones de analito iniciales, los dos segundos parámetros de anclaje y las dos segundas relaciones de compensación;  
 35 determinar una tercera concentración de pseudo-referencia promediando las dos segundas concentraciones de analito compensadas de anclaje, siendo la tercera concentración de pseudo-referencia un tercer sustituto del verdadero error relativo; e  
 informar la tercera concentración de pseudo-referencia como la concentración final de analito compensada de la muestra.  
 40
3. El método de la reivindicación 2, que comprende, además:  
 determinar al menos dos terceros parámetros de anclaje en respuesta a la tercera concentración de pseudo-referencia, compensando los dos terceros parámetros de anclaje el error del sistema;  
 incorporar los al menos dos terceros parámetros de anclaje en al menos dos terceras relaciones de compensación;  
 45 determinar al menos dos terceras concentraciones de analito compensado de anclaje en respuesta a las dos concentraciones de analito iniciales, los dos terceros parámetros de anclaje y las dos terceras relaciones de compensación;  
 determinar una cuarta concentración de pseudo-referencia promediando las dos terceras concentraciones de analito compensadas de anclaje, siendo la cuarta concentración de pseudo-referencia un cuarto sustituto del verdadero error relativo; e  
 50 informar la cuarta concentración de pseudo-referencia como la concentración final de analito compensado de la muestra.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la determinación de una primera concentración de pseudo-referencia incluye promediar las al menos dos señales de salida sensibles al analito.
- 55 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la determinación de una primera concentración de pseudo-referencia incluye promediar las dos señales de salida sensibles al analito; y

convertir una señal promediada de las dos señales de salida sensibles al analito iniciales en la segunda concentración de pseudo-referencia.

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los dos primeros parámetros de anclaje incluyen al menos un parámetro de anclaje basado en la concentración.

5 7. El método de la reivindicación 6, que comprende, además, determinar el parámetro de anclaje basado en la concentración restando la primera concentración de pseudo-referencia de una de las dos concentraciones de analito iniciales y dividiendo por la primera concentración de pseudo-referencia.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la determinación de los dos primeros parámetros de anclaje incluye:

10 determinar un segundo parámetro de anclaje basado en la señal del canal en respuesta a un segundo valor de señal de salida normalizado y la señal de pseudo-referencia.

9. El método de la reivindicación 8, en el que el segundo parámetro de anclaje basado en la señal del canal incluye un segundo parámetro de anclaje de la señal =  $(NR_{OSV2} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}$ , siendo  $NR_{OSV2}$  el segundo valor de señal de salida normalizado y siendo  $NR_{Pseudo}$  el valor de la señal de pseudo-referencia.

15 10. El método de la reivindicación 8, que comprende, además:  
determinar el primer valor de la señal de salida normalizada en respuesta a una primera señal de salida sensible al analito y una relación de normalización,  
determinar el segundo valor de la señal de salida normalizada en respuesta a una segunda señal de salida sensible al analito y la relación de normalización; y  
20 determinar la señal de pseudo-referencia en respuesta a la concentración de pseudo-referencia y una correlación de referencia normalizada.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las dos primeras relaciones de compensación incluyen

25  $Ach3_{comp} = Ach3_{inicial}/(1 + RECh3)$ , siendo Ch3 el canal 3, siendo  $Ach3_{comp}$  la concentración de analito compensada del parámetro de anclaje determinada para el canal 3, siendo  $Ach3_{inicial}$  la concentración de analito inicial determinada para el canal 3; y siendo  $RECh3$  la relación de compensación determinada para el canal 3.

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la concentración final de analito compensado comprende al menos uno de hemoglobina glicada y glucosa, incluyendo la muestra sangre.

13. Un sistema biosensor (300) para determinar una concentración de un analito en una muestra, que comprende:  
30 un sensor de ensayo (304) que tiene una interfaz de muestra (314) adyacente a un depósito (308) formado por una base (306), en que el sensor de ensayo (304) es capaz de generar al menos dos señales de salida de una muestra;

y  
un dispositivo de medición (302) que tiene un procesador (322) conectado a una interfaz de sensor (318), teniendo la interfaz de sensor (318) una comunicación eléctrica con la interfaz de la muestra (314) estando el procesador (322) en comunicación eléctrica con un medio de almacenamiento (328) y estando adaptado para medir (410) al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito de la muestra,  
35 determinar (415) al menos dos concentraciones de analito iniciales a partir de las al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito,

determinar (430) una primera concentración de pseudo-referencia (435) a partir de las al menos dos señales de salida (412, 414) sensibles al analito, siendo la primera concentración de pseudo-referencia (435) un primer sustituto del verdadero error relativo;

determinar (440) al menos dos primeros parámetros de anclaje (445) en respuesta a la primera concentración de pseudo-referencia (435), compensando los dos primeros parámetros de anclaje (445) el error del sistema, siendo al menos uno de los dos primeros parámetros de anclaje (445) un primer parámetro de anclaje basado en la señal (442) del canal, determinado en respuesta a una primera señal de salida normalizada y una señal de pseudo-referencia, siendo el primer parámetro de anclaje basado en la señal del canal =  $(NR_{OSV1} - NR_{Pseudo})/NR_{Pseudo}$ , siendo  $NR_{OSV1}$  un primer valor de señal de salida normalizado y siendo  $NR_{Pseudo}$  una señal de pseudo-referencia;

40 incorporar (450) los dos primeros parámetros de anclaje (445) en al menos dos primeras relaciones de compensación (452), incluyendo al menos una de las dos primeras relaciones de compensación (452)  $Ach1_{comp} = Ach1_{inicial}/(1 + RECh1)$ , siendo Ch1 canal 1, siendo  $Ach1_{comp}$  la concentración de analito compensada del parámetro de anclaje determinada para el canal 1, siendo  $Ach1_{inicial}$  la concentración de analito inicial determinada para el canal 1,  
45

determinar al menos dos primeras concentraciones de analito compensadas de anclaje en respuesta a las al menos dos concentraciones de analito iniciales, los dos primeros parámetros de anclaje (445) y las dos primeras relaciones de compensación (452),

- 5 determinar (454) una segunda concentración de pseudo-referencia (455) promediando las al menos dos concentraciones de analito compensadas del primer anclaje, siendo la segunda concentración de pseudo-referencia (455) un segundo sustituto del verdadero error relativo; e  
informar (490) la segunda concentración de pseudo-referencia (455) como una concentración final de analito compensado de la muestra.

- 10 14. El sistema biosensor de la reivindicación 13, en donde el procesador está adaptado adicionalmente para almacenar la compensación de analito compensado final en el medio de almacenamiento.

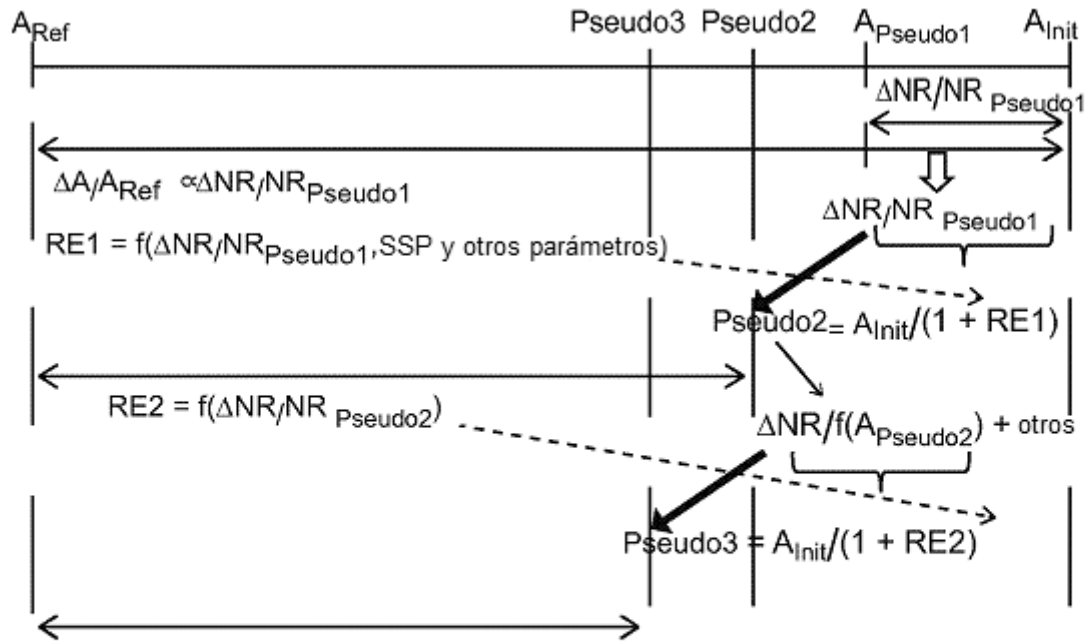


FIG.1A

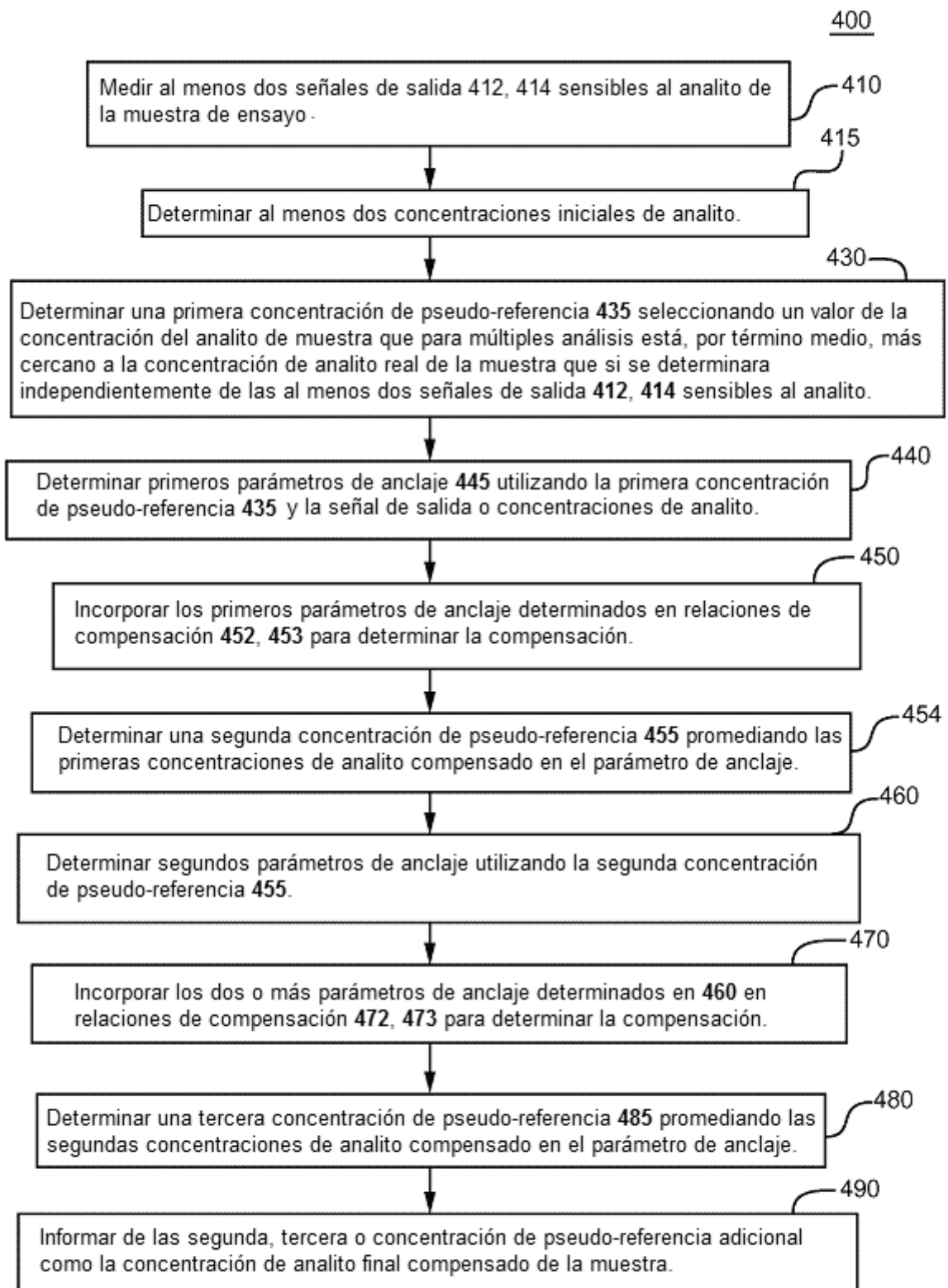


FIG.1B



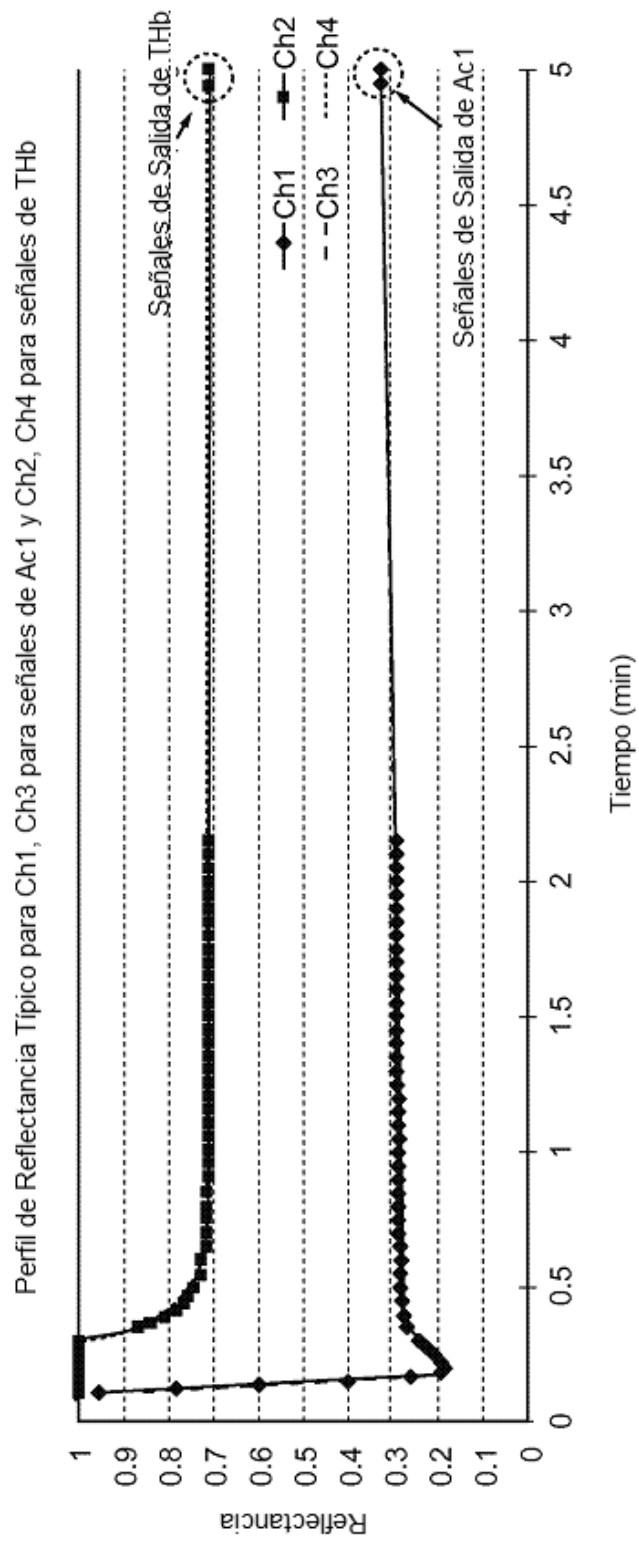


FIG.1C

100

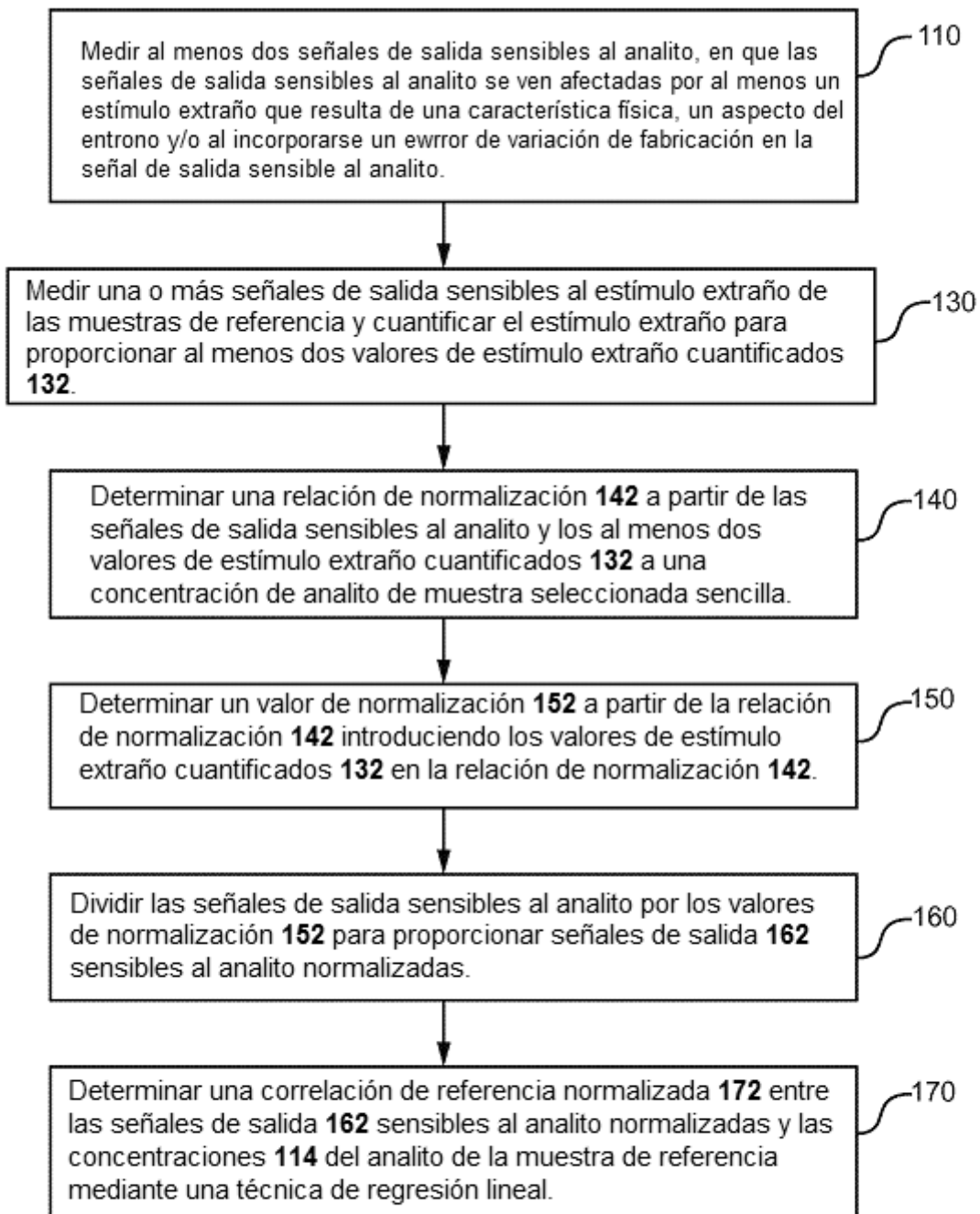


FIG.1D

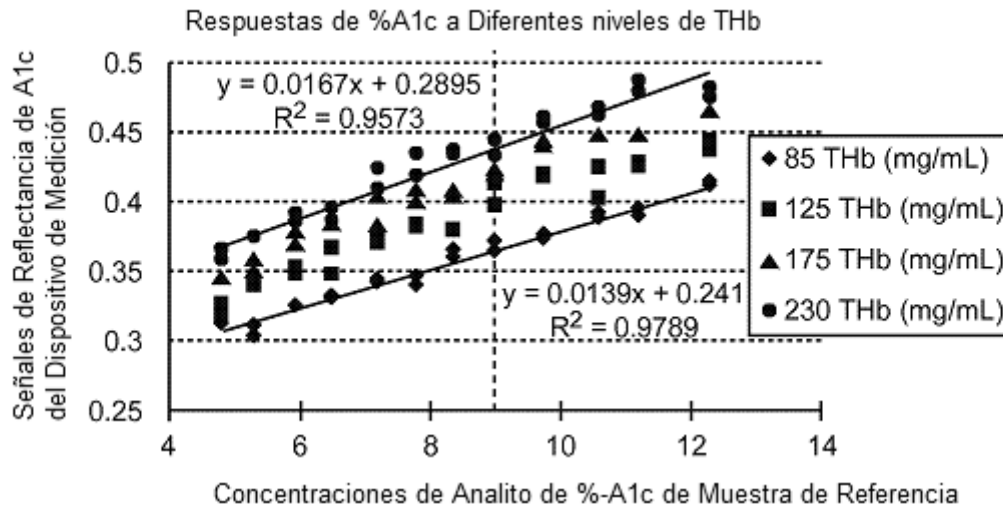


FIG.1D-1

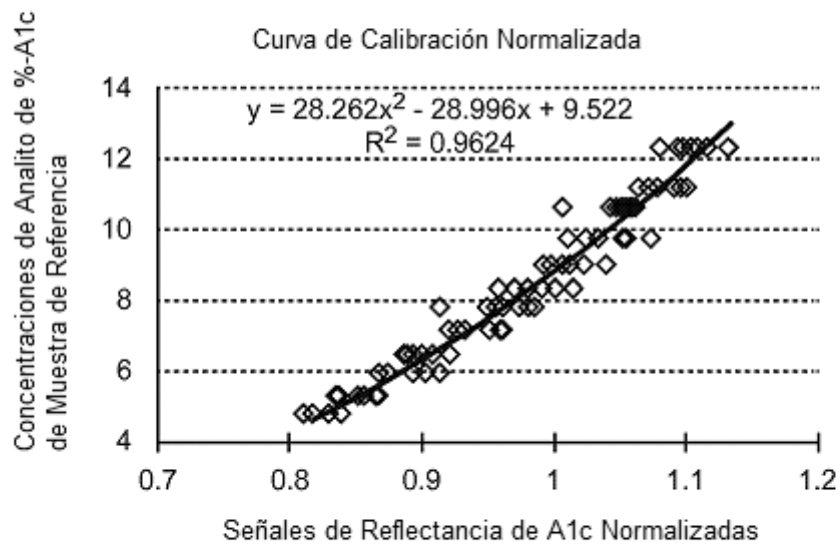


FIG.1D-2

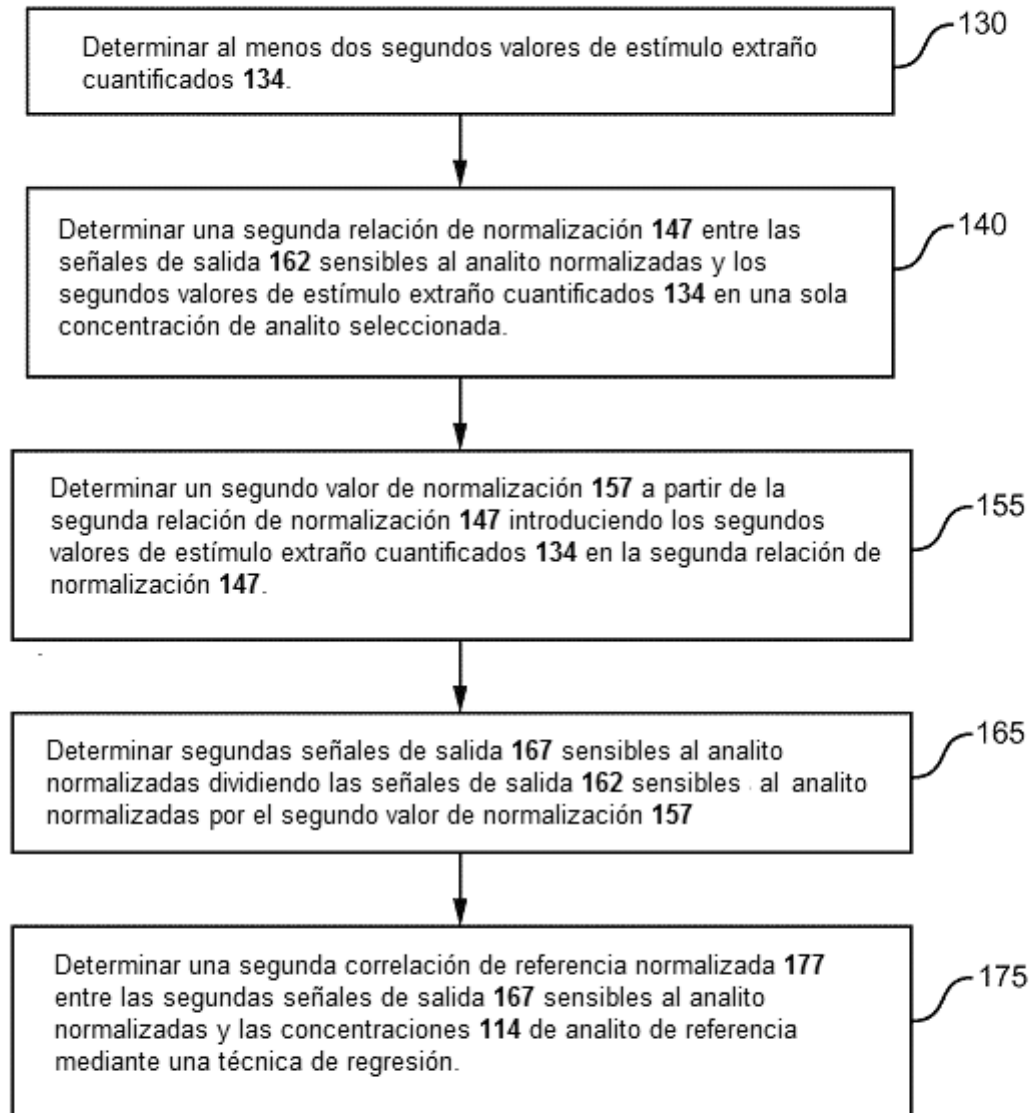
102

FIG.1E

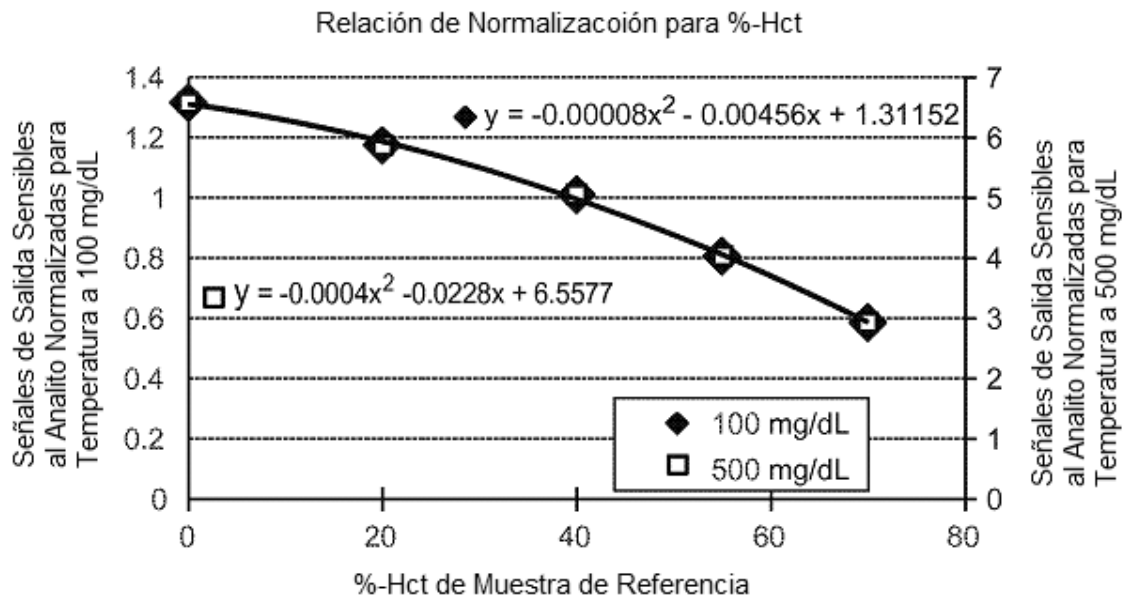


FIG.1E-1

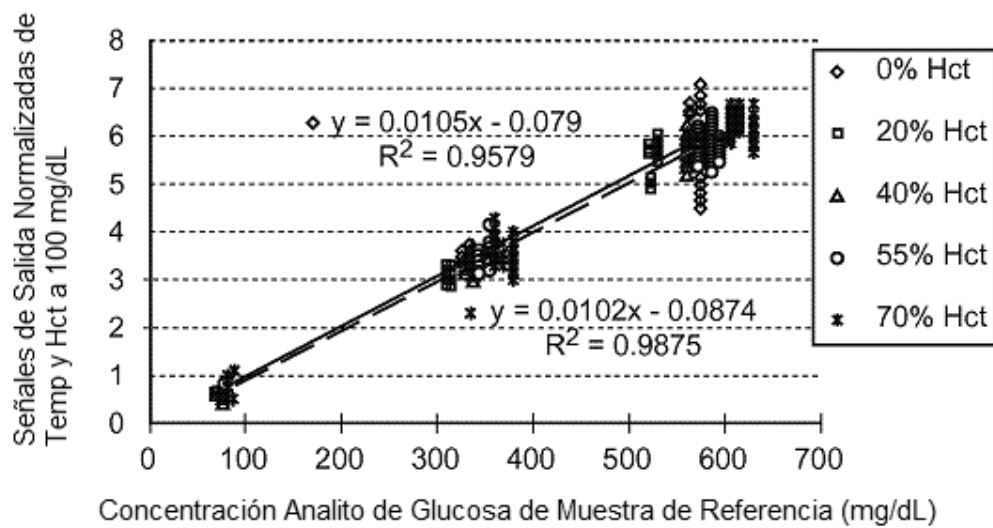


FIG.1E-2

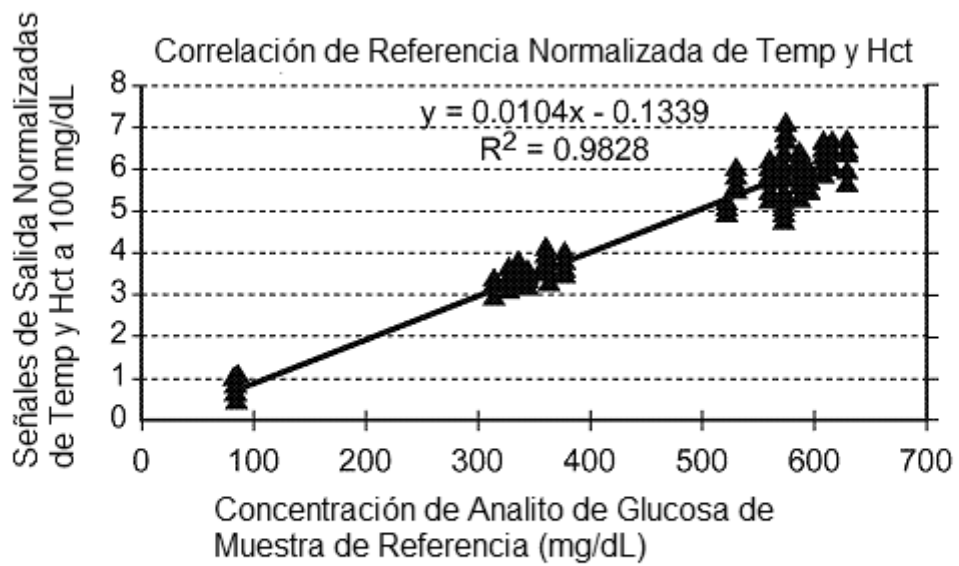


FIG. 1E-3

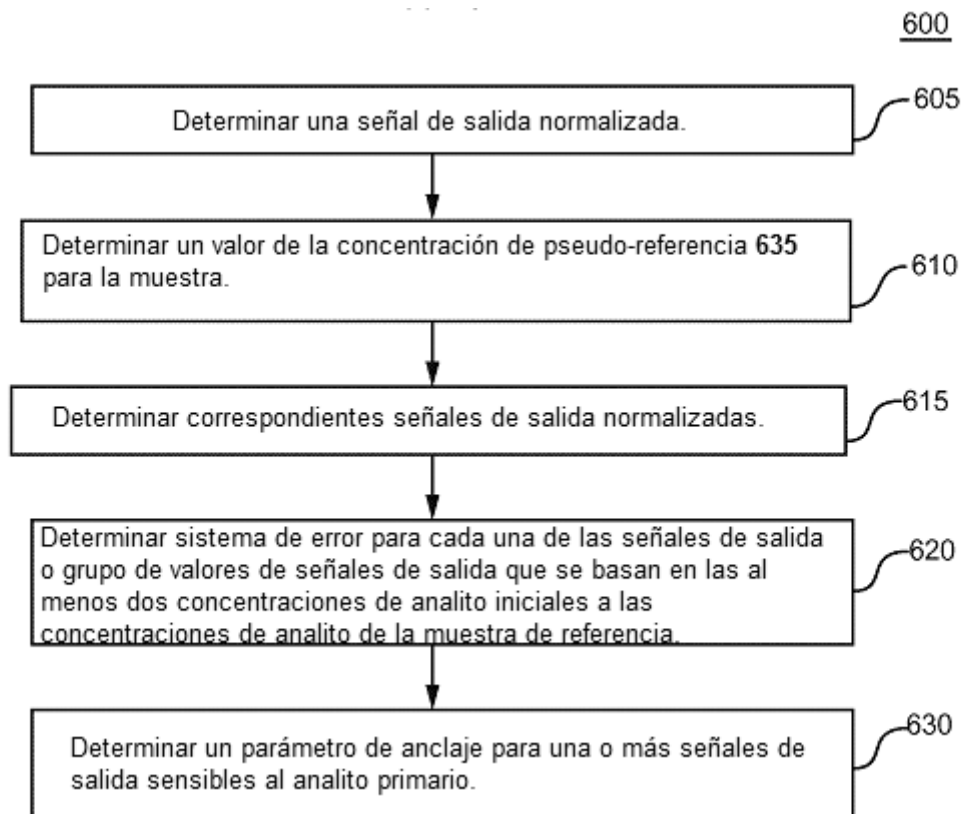


FIG.1F

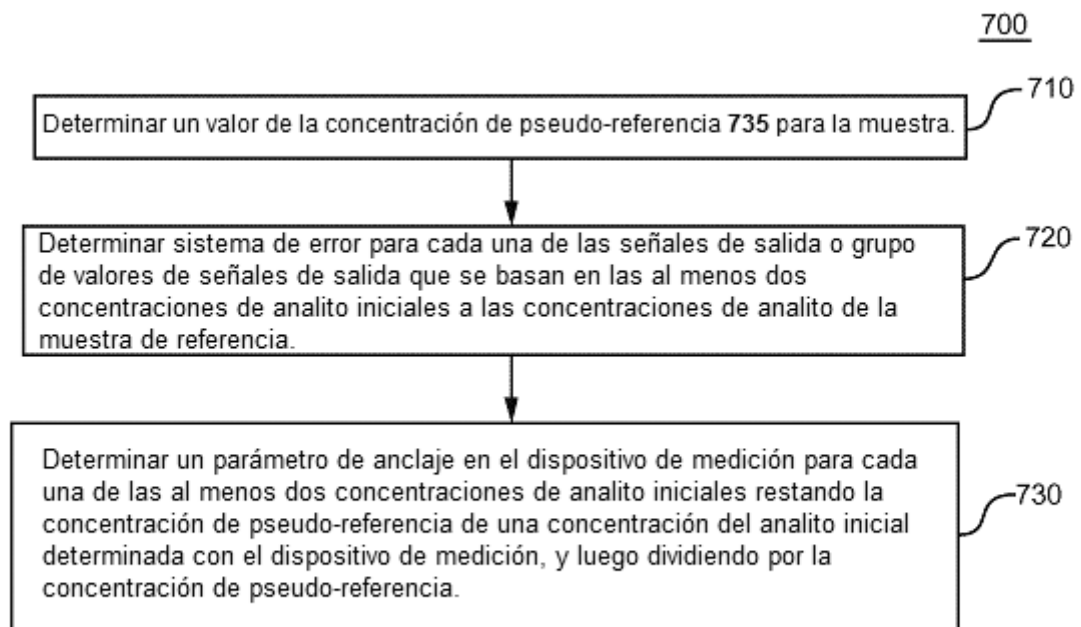


FIG.1G

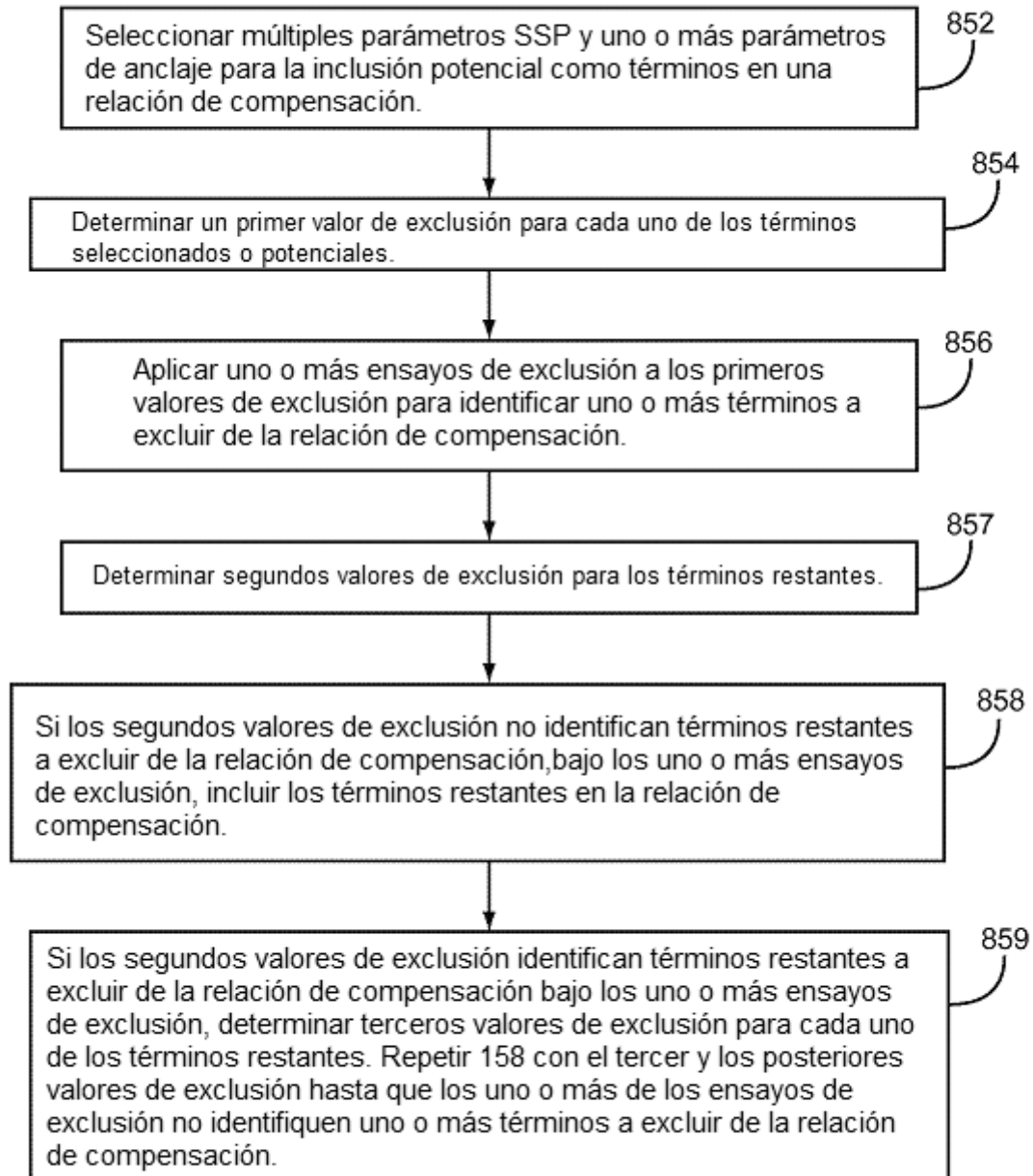
800

FIG.1H



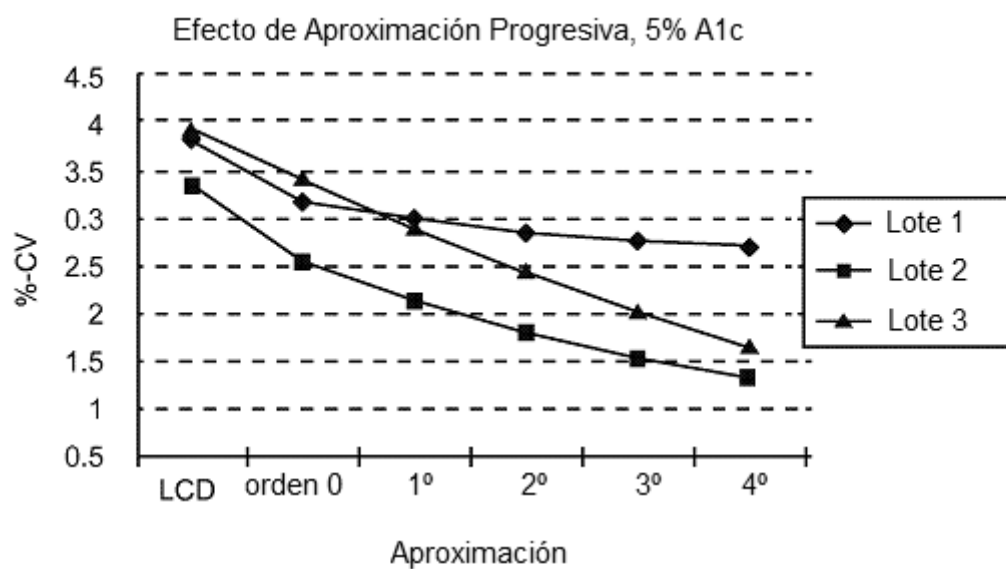


FIG.2A

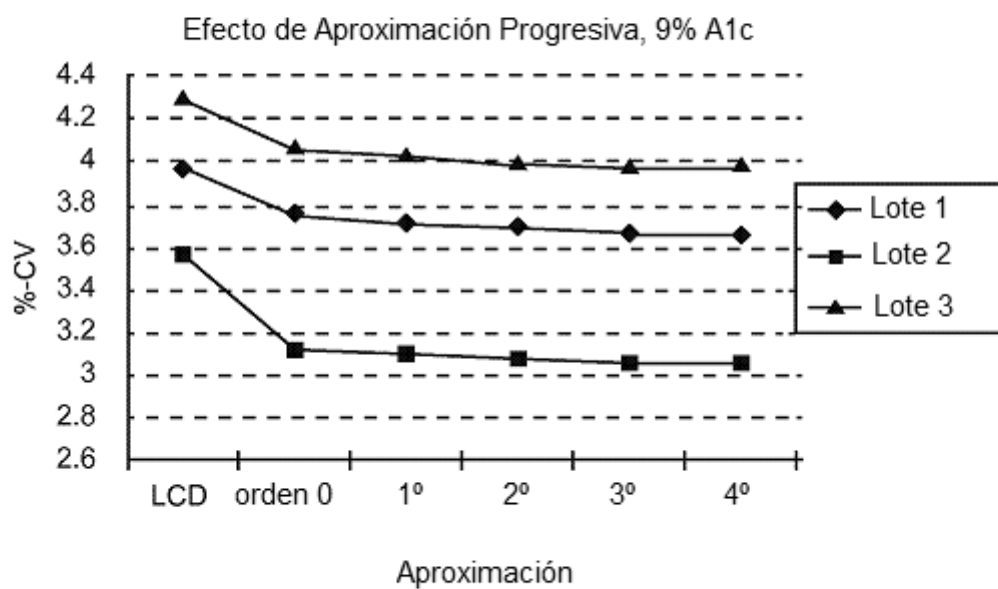


FIG.2B

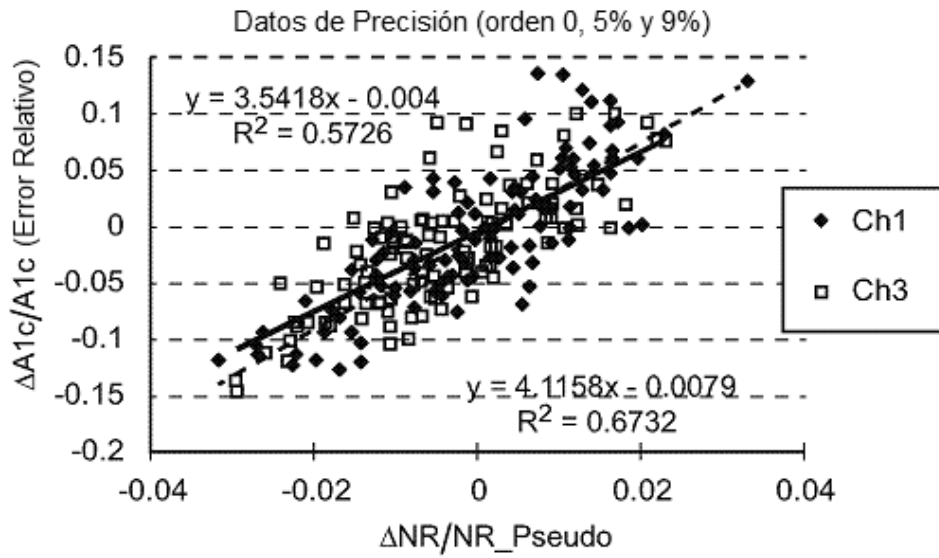


FIG.2C

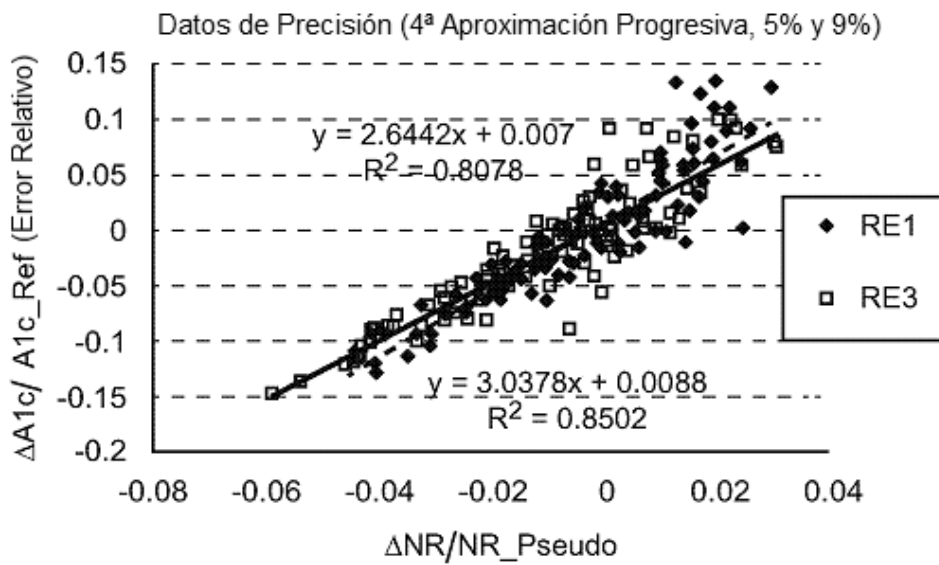


FIG.2D

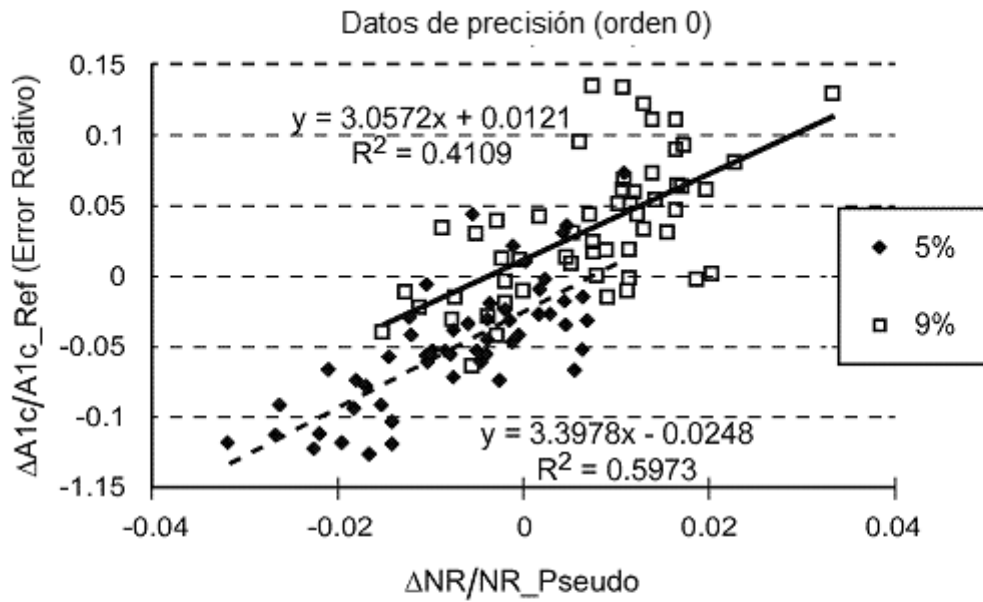


FIG.2E

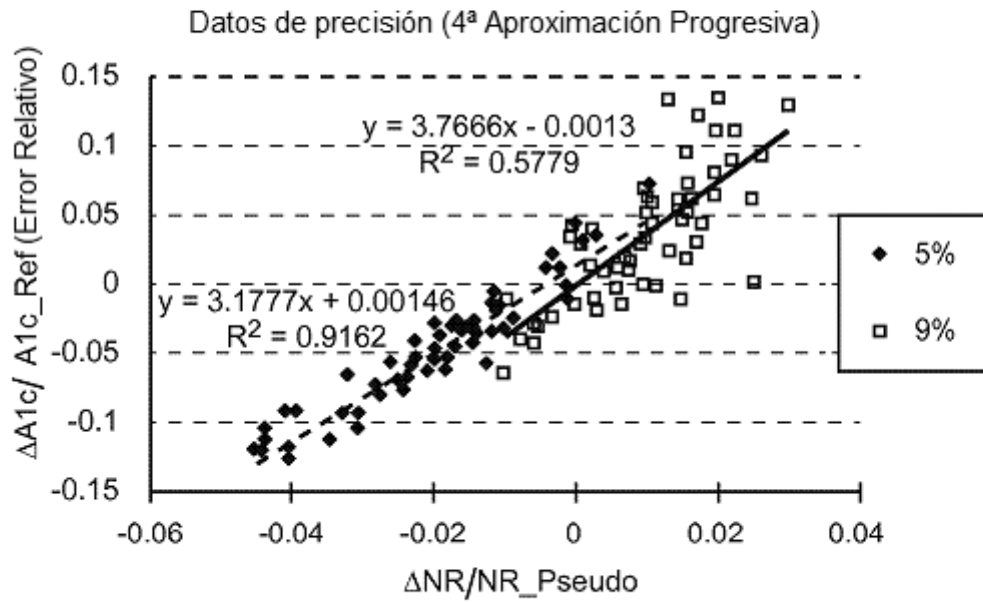


FIG.2F

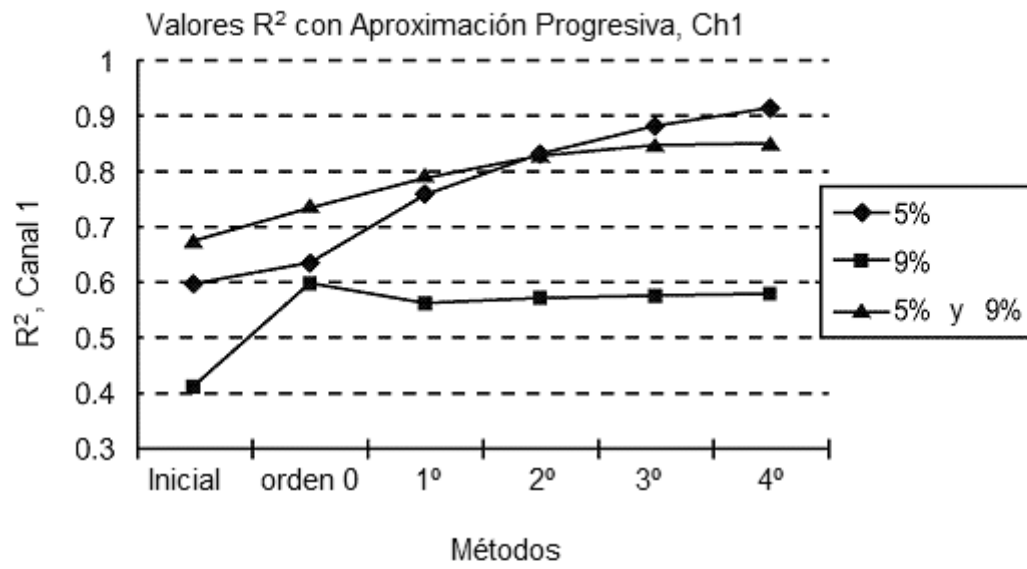


FIG.2G

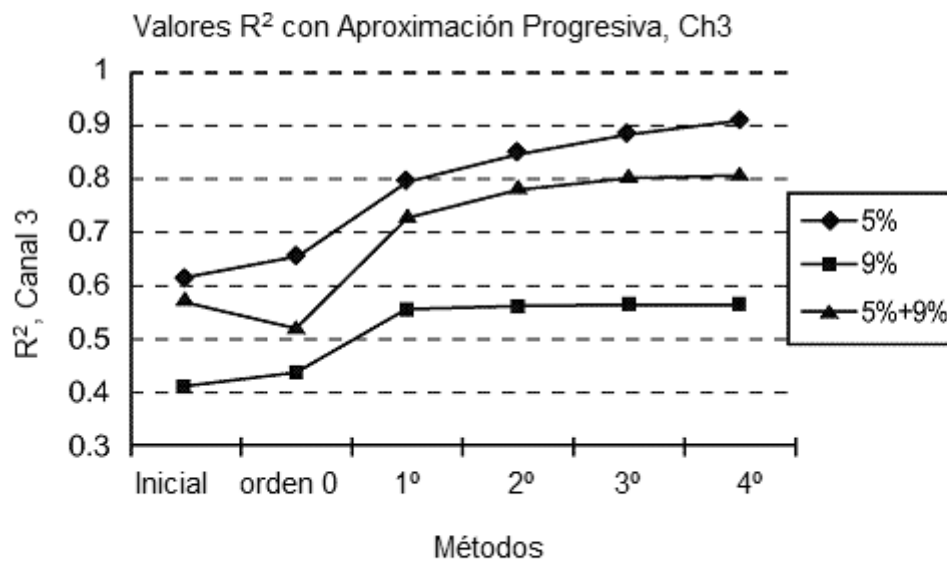


FIG.2H

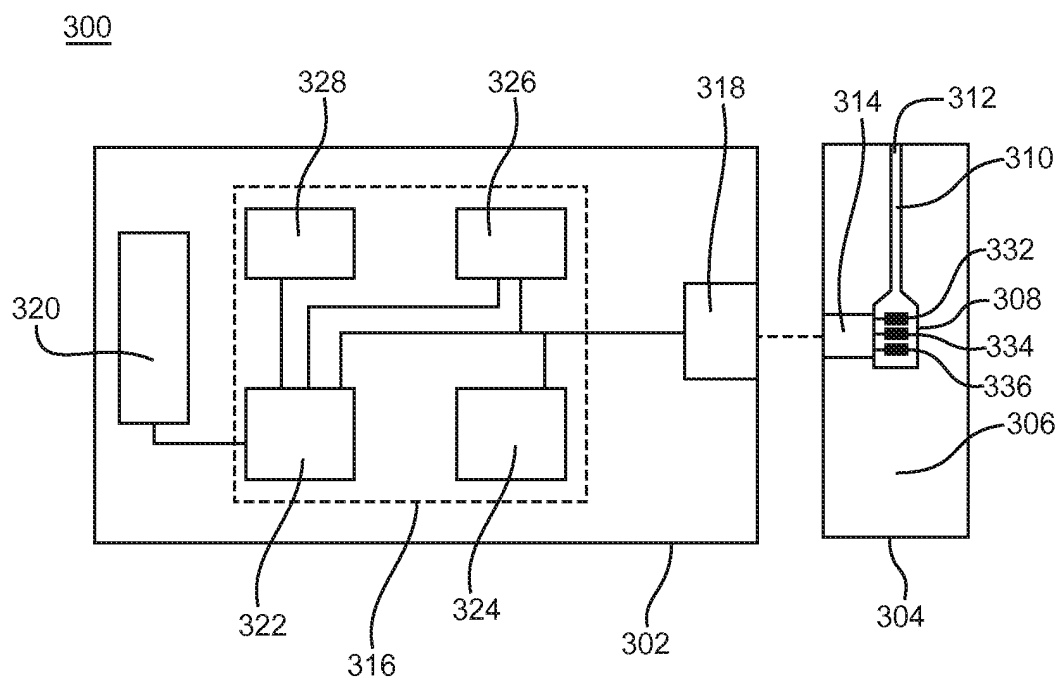


FIG.3