



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 326 145**

51 Int. Cl.:

G01N 27/26 (2006.01)

G01N 27/02 (2006.01)

G01N 27/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **98965424 .9**

96 Fecha de presentación : **21.12.1998**

97 Número de publicación de la solicitud: **1042667**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.10.2000**

54 Título: **Aparato medidor.**

30 Prioridad: **22.12.1997 US 996280**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2009

73 Titular/es: **Roche Diagnostics Operations, Inc.**
9115 Hague Road, P.O. Box 50416
Indianapolis, Indiana 46250-0416, US

72 Inventor/es: **Beaty, Terry, Allen;**
Kuhn, Lance, Scott;
Svetnik, Vladimir y
Burke, David, W.

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 326 145 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aparato medidor.

5 **Antecedentes de la invención**

La invención se refiere a métodos y aparatos para mejorar la exactitud de mediciones realizadas con instrumentos del tipo que se describe por ejemplo, en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171. La invención se da a conocer en el contexto de este tipo de instrumento, pero se cree que es útil también en otros instrumentos de este tipo general.

Se conoce una serie de instrumentos para la determinación de la concentración de componentes biológicamente significativos de fluidos corporales, tales como, por ejemplo, la concentración de la glucosa en la sangre. Se conocen, por ejemplo, los instrumentos que se describen en las patentes USA: 3,770,607; 3,838,033; 3,902,970; 3,925,183; 3,937,615; 4,005,002; 4,040,908; 4,086,631; 4,123,701; 4,127,448; 4,214,968; 4,217,196; 4,224,125; 4,225,410; 4,230,537; 4,260,680; 4,263,343; 4,265,250; 4,273,134; 4,301,412; 4,303,887; 4,366,033; 4,407,959; 4,413,628; 4,420,564; 4,431,004; 4,436,094; 4,440,175; 4,477,314; 4,477,575; 4,499,423; 4,517,291; 4,654,197; 4,671,288; 4,679,562; 4,682,602; 4,703,756; 4,711,245; 4,734,184; 4,750,496; 4,759,828; 4,789,804; 4,795,542; 4,805,624; 4,816,224; 4,820,399; 4,897,162; 4,897,173; 4,919,770; 4,927,516; 4,935,106; 4,938,860; 4,940,945; 4,970,145; 4,975,647; 4,999,582; 4,999,632; 5,108,564; 5,128,015; 5,243,516; 5,269,891; 5,288,636; 5,312,762; 5,352,351; 5,385,846; 5,395,504; 5,469,846; 5,508,171; 5,508,203; y 5,509,410; patente alemana: 3,228,542, patentes europeas: 206,218; 230,472; 241,309; 255,291; y 471,986, y solicitudes de patentes japonesas publicadas: JP 63-128,252 y 63-111,453. También se conocen los métodos de aparatos descritos en: Talbott, *et al.*, "A New Microchemical Approach to Amperometric Analysis", *Microchemical Journal*, Vol. 37, pp. 5-12 (1988); Morris, *et al.*, "An Electrochemical Capillary Fill Device for the Analysis of Glucosa Incorporating Glucose Oxidase and Ruthenium (III) Hexamine as Mediator, Electroanalysis", Vol. 4, pp. 1-9 (1992); Cass, *et al.*, "Ferrocene-Mediated Enzyme Electrode for Amperometric Determination of Glucose", *Anal. Chem.*, Vol. 56, pp. 667-671 (1984); Zhao, "Contributions of Suspending Medium to Electrical Impedance of Blood", *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1201, pp. 179-185 (1994); Zhao, "Electrical Impedance and Haematocrit of Human Blood with Various Anticoagulants", *Physiol. Meas.*, Vol. 14, pp. 299-307 (1993); Muller, *et al.*, "Influence of Hematocrit and Platelet Count on Impedance and Reactivity of Whole Blood for Electrical Aggregometry", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, Vol. 34, pp. 17-22 (1995); Preidel, *et al.*, "In Vitro Measurements with Electrochemical Glucose Sensor in Blood", *Biomed. Biochim. Acta*, Vol. 48, pp. 897-903 (1989); Preidel, *et al.*, "Glucose Measurements by Electrochemical Sensor in the Extracorporeal Blood Circulation of a Sheep", *Sensors and Actuators B*, Vol. 2, pp.257-263 (1990); Saeger, *et al.*, "Influence of Urea on the Glucose Measurement by Electrochemical Sensor in the Extracorporeal Blood Circulation of a Sheep", *Biomed. Biochim. Acta*, Vol. 50, pp. 885-891 (1991); Kasapbasioğlu, *et al.*, "An Impedance Based Ultra-Thin Platinum Island Film Glucose Sensor", *Sensors and Actuators B*, Vol. 13-14, pp. 749-751 (1993); Beyer, *et al.*, "Development and Application of a New Enzyme Sensor Type Based on the EIS-Capacitance Structure for Bioprocess Control", *Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 9, pp. 17-21 (1994); Mohri, *et al.*, "Characteristic Response of Electrochemical Nonlinearity to Taste Compounds with a Gold Electrode Modified with 4-Aminobenzenethiol", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, Vol. 66, pp. 1328-1332 (1993); Cardosi, *et al.*, "The Realization of Electron Transfer from Biological Molecules to Electrodes", *Biosensors Fundamentals and Applications*, chapt. 15 (Turner, *et al.*, eds., Oxford University Press, 1987); Mell, *et al.*, "Amperometric Response Enhancement of the Immobilized Glucosa Oxidase Enzyme Electrode", *Analytical Chemistry*, Vol. 48, pp. 1597-1601 (Sept. 1976); Mell, *et al.*, "A Model for the Amperometric Enzyme Electrode Obtained Through Digital Simulation and Applied to the Immobilized Glucosa Oxidase System", *Analytical Chemistry*, Vol. 47, pp. 299-307 (Feb. 1975); Myland, *et al.*, "Membrane-Covered Oxygen Sensors: An Exact Treatment of the Switch-on Transient", *Journal of the Electrochemical Society*, Vol. 131, pp. 1815-1823 (Agosto 1984); Bradley, *et al.*, "Kinetic Analysis of Enzyme Electrode Response", *Anal. Chem.*, Vol. 56, pp. 664-667 (1984); Koichi, "Measurements of Current-Potential Curves, Cottrell Equation and its Analogs. What Can We Know from Chronoamperometry?" *Denki Kagaku oyobi Kogyo Butsuri Kagaku*, Vol. 54, no.6, pp. 471-5 (1986); Williams, *et al.*, "Electrochemical-Enzymatic Analysis of Blood Glucose and Lactate", *Analytical Chemistry*, Vol. 42, no. 1, pp. 118-121 (Enero 1970); y Gebhardt, *et al.*, "Electrocatalytic Glucose Sensor", *Siemens Forsch.-u. Entwickl.-Ber. Bd.*, Vol. 12, pp. 91-95 (1983). Esta lista no está destinada a constituir la declaración de que se ha realizado una búsqueda completa de toda la técnica anterior relevante o que no existen otras referencias mejores que las indicadas. Tampoco se debe deducir ninguna declaración de este sentido.

El documento WO 97/39341 propone mediciones *in vivo* e *in vitro* de la glucosa utilizando frecuencias de radio en el intervalo de 1 MHz a 5 GHz. El método de análisis se basa en la impedancia compleja efectiva de la muestra y/o desplazamiento de fase efectivo entre la señal transmitida y la señal reflejada en la muestra. Utilizando diferentes rangos de frecuencia se posibilita la corrección de la señal de la glucosa eliminando efectos de electrolitos sobre la respuesta global de frecuencia de la muestra.

Características de la invención

65 De acuerdo con un aspecto de la invención, se da a conocer un aparato según la reivindicación 1.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer un método según la reivindicación 4.

De forma ilustrativa, el método y aparato de la invención determina la impedancia a través de las terminales de la celda.

Breve descripción de los dibujos

La invención se podrá comprender mejor haciendo referencia a la siguiente descripción detallada y a los dibujos adjuntos que muestra la invención. En los dibujos:

La figura 1 muestra un diagrama esquemático de un circuito útil para la comprensión de la invención;

La figura 2 muestra un diagrama parcialmente en bloques y parcialmente esquemático de un instrumento construido de acuerdo con la presente invención;

La figura 3 muestra un diagrama parcialmente en bloques y parcialmente esquemático de otro instrumento construido de acuerdo con la presente invención;

La figura 4 muestra un diagrama parcialmente en bloques y parcialmente esquemático de otro instrumento construido de acuerdo con la presente invención;

La figura 5 muestra resultados de concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de cuarenta segundos con soluciones a prueba de glucosa estándar;

La figura 6 muestra resultados de concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de diez segundos con soluciones a prueba de glucosa estándar; y,

La figura 7 muestra resultados de concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de diez segundos con soluciones a prueba de glucosa estándar.

Descripciones detalladas de realizaciones ilustrativas

Se conocen instrumentos que utilizan dispositivos, tales como celdas amperométricas mediadas de un solo uso (a las que se hará referencia en algunos casos a continuación como biosensores) que proporcionan, por ejemplo, impedancias eléctricas características cuando son tratadas con fluidos biológicos, sangre o orina, por ejemplo, teniendo ciertas concentraciones correspondientes de componentes biológicamente significativos, tales como, por ejemplo, glucosa. Estos sistemas de medición son conocidos por ser susceptibles a variaciones en la temperatura de los fluidos biológicos y en la interferencia por la presencia en los fluidos biológicos de otros componentes, conocidos y a los cuales se hará referencia a continuación como interferentes. En muchos casos, estas fuentes de error tienen efectos sobre la señal de salida del biosensor del mismo orden de magnitud que la concentración del componente, cuya medición se pretende. Puede no ser posible desarrollar un biosensor que mida solamente la concentración del componente cuya concentración se pretende conseguir en presencia de estas fuentes de error. Un ejemplo de este fenómeno es la interferencia del hematocrito en un biosensor del tipo que se describe en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846 y 5,508,171, con la concentración de glucosa en sangre completa. Dado que la sangre completa contiene células rojas de la sangre, y dado que el hematocrito puede variar en una gama bastante alta de individuos que pueden desear la prueba con dicho biosensor, resulta clara la utilidad de un biosensor de glucosa compensado con el hematocrito.

Igualmente problemática es la sensibilidad de muchos biosensores disponibles comercialmente con respecto al volumen de fluido biológico dopante. En el caso de concentración de glucosa en sangre completa, por ejemplo, muchos biosensores disponibles en la actualidad son sensibles al volumen de sangre con el que están dopados para determinar la concentración de glucosa. Dado que muchas de las pruebas son llevadas a cabo actualmente utilizando biosensores son realizadas por personas que controlan, por ejemplo, las concentraciones de glucosa de su propia sangre, los volúmenes de las muestras de sangre con las que los biosensores están dopados no son predecibles con elevado grado de certidumbre. Si bien el propio diseño cuidadoso del biosensor puede impedir algunos errores, tales como biosensores sin dopar, los biosensores sustancialmente subdopados y sustancialmente sobredopados, por ejemplo, no se puede tomar prácticamente en consideración todo el rango de variación de volumen de dopado.

Los inventores han descubierto que la medición del componente real o del componente imaginario, o de ambos, de la impedancia en corriente alterna de un biosensor apropiadamente diseñado proporciona una información razonable de la temperatura de la muestra y de las concentraciones de ciertos interferentes físicos y químicos. En biosensores de los tipos generales de las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; 5,508,171; 5,437,999 y USSN 08/985,840 presentado el 5 de diciembre de 1997 y transferida al mismo titular de la presente solicitud, dichos interferentes físicos incluyen, por ejemplo, hematocrito, y los interferentes químicos incluyen, por ejemplo, bilirrubina, ácido úrico y oxígeno. Los inventores han descubierto que la medición del componente real o del componente imaginario, o ambos, de la impedancia de la corriente alterna de un biosensor apropiadamente diseñado proporciona también una información razonable del volumen de una muestra con la que está dopado el biosensor, y la identidad de dicha muestra, es decir, si la identidad es una muestra de sangre o algún otro fluido corporal, o una muestra de algún control utilizado, por ejemplo, el calibrado o solución de averías del instrumento. Los inventores han descubierto que a la temperatura de la muestra, las concentraciones de dichos interferentes físicos y químicos, la identidad de la muestra y

ES 2 326 145 T3

el volumen de la misma pueden ser determinados para frecuencias de corriente alterna cuidadosamente seleccionadas, proporcionando un aislamiento razonable de las determinaciones de los efectos de temperatura de la muestra, concentraciones de interferente y volumen de la muestra, e identificándolas unas con respecto a las otras, incrementando, por lo tanto, la exactitud, por ejemplo, de las determinaciones del efecto del interferente, y su corrección subsiguiente de la concentración indicada de glucosa. Los inventores también han descubierto que las velocidades a las que se obtienen lecturas aceptablemente exactas de concentración corregida de glucosa pueden ser reducidas de modo notable. El biosensor diseñado de forma apropiada, debe ser capaz de tolerar la determinación de estas impedancias de corriente alterna utilizando por ejemplo señales de corriente alterna que tengan amplitudes máximas o pico en el rango de unas pocas decenas de milivoltios, sin comprometer la medición de la concentración de glucosa, cuyo biosensor actuará antes, simultáneamente o después de llevar a cabo la determinación de la impedancia en corriente alterna.

A título de ejemplo solamente, los inventores han determinado que en biosensores del tipo que se describen en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; 5,508,171; 5,437,999; y USSN 08/985,840 es posible utilizar una señal de corriente alterna de baja magnitud, por ejemplo, menos de unos 40 mV, aproximadamente en el rango de menos de 1Hz a 10KHz aproximadamente sin desplazamiento de corriente alterna para compensar la temperatura de la muestra, el hematocrito, la concentración de bilirrubina, concentración de ácido úrico, y concentración de oxígeno, y determinar la identidad de la muestra con la que se ha verificado el biosensor, y la adecuación del volumen de la muestra de sangre dosificada para una prueba para concentración de glucosa. Los inventores han determinado, por ejemplo, que a 1300 Hz aproximadamente, tanto el hematocrito como la concentración de glucosa tienen relativamente poco efecto en la impedancia de corriente alterna, mientras que el volumen de la muestra y la identidad de la misma tienen efectos relativamente sustancialmente mayores, fácilmente definibles sobre la impedancia en corriente alterna. Esto proporciona la forma ideal para determinar la adecuación del volumen de la muestra con el que se ha dosificado el biosensor y la identidad de la muestra. Si se determina que la muestra es sangre, y el volumen de la muestra se determina que no es adecuado para comprobar de manera significativa el hematocrito, concentración de glucosa y otros, la prueba es interrumpida y se notifica al usuario de la interrupción de la prueba.

Los inventores han determinado que el efecto combinado de la temperatura de la muestra y el hematocrito pueden ser bastante efectivamente aislados de otros interferentes físicos y químicos de interés utilizando frecuencias en el rango de unos 2 KHz hasta unos 10 KHz. Por lo tanto, por ejemplo, una vez que se ha establecido la adecuación del volumen de la muestra para la prueba, se puede aplicar una señal de 2 KHz al biosensor y los componentes real e imaginario de impedancia del sistema biosensor/muestra pueden ser determinados. Esta impedancia indicada puede ser ajustada por un factor de escalado determinado experimentalmente, controlado, entre otros factores, por las características del biosensor y el instrumento, y combinado con una concentración indicada de glucosa para llegar a una concentración de glucosa compensada para los efectos combinados de la temperatura de la muestra y el hematocrito.

Estas determinaciones son realizadas ilustrativamente antes de la determinación amperométrica de la concentración de glucosa de la muestra de sangre. El desplazamiento de corriente continua se puede evitar, en caso necesario, para reducir la probabilidad de afectar la determinación amperométrica de la concentración de glucosa que, tal como se debe recordar, se debe llevar a cabo a continuación en las realizaciones mostradas. Se pueden llevar a cabo procedimientos similares, nuevamente en las realizaciones mostradas antes de la determinación amperométrica de la concentración de glucosa, para determinar las concentraciones de otros interferentes con medios químicos para la determinación de la concentración de glucosa, tal como bilirrubina, ácido úrico y oxígeno. Estas determinaciones son realizadas a frecuencias para las que sus efectos mutuos y sobre otros interferentes físicos y químicos, se desacoplarán de forma óptima entre sí. Por ejemplo, si en el sistema químico de la celda amperométrica, la bilirrubina y el ácido úrico son interferentes químicos entre sí, se debe seleccionar una frecuencia o rango de frecuencias para la determinación de la concentración de la bilirrubina, cuya frecuencia o rango de frecuencias, de manera óptima, no quedará afectada por las concentraciones de ácido úrico y de otros interferentes físicos y químicos de la muestra. De manera similar, se debe seleccionar una frecuencia para la determinación de la concentración de ácido úrico que, de manera óptima, no se vea afectada por las concentraciones de bilirrubina ni de cualquier otro interferente físico y químico de la muestra. No obstante, en cada caso, la impedancia determinada es convertida de manera directa o con intermedio de una determinación de concentración que también se puede mostrar al usuario o se puede almacenar en un instrumento para referencia futura, a un factor de corrección para aplicación a la concentración de glucosa indicada a efectos de conseguir una determinación más precisa de la concentración de glucosa.

Los métodos y aparatos se cree que se comprenderán mejor por consideración del circuito equivalente de un sensor amperométrico del tipo que se describe en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; 5,508,171; 5,437,999; y USSN. 08/985,840. Este circuito equivalente se muestra en la figura 1. En la figura 1, una resistencia (20) representa la resistencia no compensada de la celda amperométrica, el condensador (22) representa la capacidad atribuible a la doble capa de carga en la celda dosificada con el potencial aplicado, la resistencia (24) representa la resistencia de transferencia de carga del sistema químico de la celda, y la resistencia (26) y un condensador (28) representan la llamada impedancia "Warburg". Si bien, los modelos de parámetros eléctricos concentrados de otros tipos de sensores amperométricos pueden diferir el modelo mostrado en la figura 1, análisis similares de dichos modelos llegarán a conclusiones similares a los que se han alcanzado en esta descripción, a saber, que los componentes real e imaginario de las impedancias eléctricas de los biosensores de las celdas proporcionan técnicas para determinar cuantitativamente con un grado razonable de exactitud los efectos de concentraciones de interferentes, volumen de muestra e identidad de la muestra en la concentración de un componente biológicamente significativo de una muestra de un fluido corporal. Estas conclusiones proporcionan los instrumentos y técnicas útiles para el diseñador de la celda a efectos de determinar la adecuación del volumen de la muestra aplicada a un biosensor, para determinar la identidad

de la muestra y para corregir la concentración indicada de un componente biológicamente significativo de la muestra para la concentración o concentraciones de dichos interferentes, de manera que los efectos de las concentraciones de dichos interferentes pueden ser reducidos en la concentración indicada del componente biológicamente significativo de interés para proporcionar una información más precisa sobre la concentración del componente biológicamente significativo de interés.

Estudios de muestras de sangre para analizar las magnitudes de los componentes real e imaginario de la impedancia del circuito equivalente de la figura 1, han determinado que en el rango de 1KHz - 10KHz aproximadamente, existe muy poca dependencia de la componente imaginaria de impedancia con respecto a la concentración de glucosa de la muestra, mientras que existe suficiente dependencia de la magnitud de la impedancia con respecto a la combinación de la temperatura de la muestra y el hematocrito para permitir que una muestra sea primero sometida a una señal de corriente alterna de baja magnitud en este rango de frecuencia, la magnitud de la impedancia pendiente de determinar, y el factor de corrección de temperatura/hematocrito de una muestra combinada a combinar con la concentración de glucosa indicada determinando las técnicas de amperometría descritas, por ejemplo, en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; 5,508,171; 5,437,999; y USSN 08/985,840, para conseguir una concentración de glucosa corregida por los efectos combinados de temperatura de la muestra y hematocrito. Se pueden utilizar técnicas similares para determinar el volumen de la muestra y tipo de la muestra. No obstante, la determinación del volumen de la muestra resultará ordinariamente en una determinación positiva-negativa para el resto del ensayo. La determinación del tipo de la muestra determinará ordinariamente si el instrumento procede a una subrutina de concentración de glucosa incluyendo, por ejemplo, la determinación de factores de corrección de interferentes, o a una subrutina de diagnóstico utilizada para ajustar el instrumento para una determinación posterior de la concentración de la glucosa.

Haciendo referencia a la figura 2, un conector de banda (30) del tipo general mostrado en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171, hace contacto entre una celda detectora amperométrica de un solo uso o biosensor (31) del tipo general mostrado en dichas patentes y el instrumento (32). La funcionalidad indicada de la concentración de glucosa del instrumento (32) es en su mayor parte la descrita en dichas patentes. No obstante, otras funciones adicionales, a saber, la corrección de la concentración de glucosa indicada para el volumen de la muestra de sangre y el efecto combinado de la temperatura de la muestra y hematocrito de la muestra de sangre sometida a pruebas, son implementadas en el instrumento (32) de acuerdo con la presente invención. Se ha determinado que ocho potencias de cálculo analógico a digital (A/D) y digital a analógico (D/A) permiten que el instrumento (32) consiga exactitudes en el rango aproximado de un medio por ciento o menos. Un primer terminal (34-1) de un conector (34) está acoplado con intermedio de una resistencia de 10 K Ω a un terminal (36-1) de un interruptor (36). Un terminal (36-2) del interruptor (36) está acoplado al terminal de inversión o terminal de entrada de un amplificador diferencial (38). Un terminal de salida del amplificador (38) está acoplado a un terminal (36-3) del interruptor (36). Un terminal (36-4) del interruptor (36) está acoplado a un terminal (34-2) del conector (34). La excitación en corriente continua a través del biosensor (31) es establecida por la salida del amplificador (38). Para el ajuste preciso de la excitación en corriente continua del biosensor (31), la realimentación procedente del terminal (34-1) es devuelta al terminal de entrada del amplificador (38). Los terminales (34-1) y (34-2) establecen contacto con un electrodo común en el biosensor (31) para conseguir una exactitud mejorada de la excitación.

Un terminal (34-3) del conector (34) está acoplado a un terminal de entrada de un amplificador diferencial (42). Un terminal de salida del amplificador (42) está acoplado con intermedio de una resistencia de 7,5 K Ω (44) al terminal de entrada. El terminal de entrada no inversor o terminal + del amplificador (42) está acoplado a la parte común del suministro de potencia del circuito. Un terminal de salida del amplificador (42) está acoplado a un terminal de entrada de un convertidor de trece bits A/D (46). Un puerto de salida del convertidor A/D (46) está acoplado a un puerto de entrada de un procesador (48) con funciones de soporte que llevan a cabo las funciones indicadas de medición de la glucosa, tal como se describe en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171. Un puerto de salida del procesador (48) está acoplado a un puerto de entrada de un convertidor (50) D/A de ocho bits. Un terminal de salida del convertidor D/A (50) está acoplado al terminal de entrada + del amplificador (38). Las funciones de los componentes (38), (42), (46), (48) y (50) están realizadas de manera ilustrativa, si bien en modo alguno necesario, en un circuito integrado específico de la aplicación (ASIC) (52). Las funciones restantes de compensación del hematocrito y determinación del volumen de la muestra del instrumento (32) están realizadas de forma ilustrativa en un microprocesador NEC μ PD78054 (μ P) (54) que tiene también capacidades de conversión de entrada A/D y salida D/A (56) y (58), respectivamente. En la figura 2, las capacidades de entrada A/D y de salida D/A (56, 58) se han mostrado de forma separada con respecto a las funciones de proceso de μ P (54), a efectos de claridad. El terminal (36-4) del interruptor (36) está acoplado a un terminal de entrada del convertidor A/D (56). El terminal de salida del amplificador (42) está acoplado a un terminal de entrada del convertidor A/D (56). El terminal de salida del convertidor D/A (58) está acoplado con intermedio de un condensador de 1 μ F y una resistencia de 400 K Ω en serie al terminal (36-1) del interruptor (36) para excitación en corriente alterna en este ejemplo. En este caso, una señal de excitación en corriente alterna (CA) se suma a la excitación en corriente continua (CC) proporcionada por el amplificador (38).

Los cálculos de las componentes real e imaginaria de la impedancia en CA de la celda (31) del biosensor acoplada a los terminales (34-1, -2 y -3) son realizados excitando el terminal (34-2) del conector (34) a la frecuencia deseada, por ejemplo, 1300Hz o 10KHz, en la que el parámetro a determinar, tanto si es la identidad de la muestra o el volumen o el hematocrito, o cualquier otro parámetro de interés y que puede ser determinado de este modo, varía en una suficiente magnitud y fase y es desacoplado de manera óptima, es decir, no es objeto de interferencias, de las concentraciones de otros componentes de la sangre en la celda (31).

ES 2 326 145 T3

El cálculo de las componentes real e imaginaria de la impedancia de la celda (31) a partir de la excitación en CA y de la respuesta se consiguen del modo siguiente. En las muestras de excitación de ocho bits son N valores E(0), E(1), E(2),... E(N-1). Estos valores son desarrollados mostrando la excitación por el convertidor A/D (56). Las muestras de respuesta de ocho bits son N valores V(0), V(1), V(2),... V(N-1). Estos valores son convertidos A/D por el convertidor A/D (56) y devueltos a la función de procesador del μP (54). El terminal (34-2) del conector (34) proporciona el terminal común contra el que son referenciados estos valores. Un factor de escala K tiene en cuenta varios factores de ganancia involucrados en excitación y medición. La frecuencia de excitación es F Hz. La velocidad de la muestra es MF, en la que M tiene, de manera ilustrativa, un valor de 5 o más. El periodo entre muestras es, por lo tanto, de 1/MF segundos. Los conjuntos S(n) y C(n) de los valores de seno y coseno son calculados y almacenados en la memoria de programa en μP (54) de acuerdo con las siguientes relaciones:

$$S(n) = \text{sen}(2\pi F(n/MF)), \quad n=0 \text{ a } (N-1)$$

$$C(n) = \text{cos}(2\pi F(n/MF)), \quad n=0 \text{ a } (N-1)$$

Las componentes real e imaginaria de excitación son calculadas del modo siguiente:

$$E_{re} = \sum_{n=0}^{N-1} S(n)E(n)$$

$$E_{im} = \sum_{n=0}^{N-1} C(n)E(n)$$

Las componentes real e imaginaria de respuesta son calculadas del modo siguiente:

$$V_{re} = \sum_{n=0}^{N-1} S(n)V(n)$$

$$V_{im} = \sum_{n=0}^{N-1} C(n)V(n)$$

Las magnitudes de la excitación y de la respuesta son calculadas del modo siguiente:

$$E = (E_{re}^2 + E_{im}^2)^{1/2},$$

$$V = (V_{re}^2 + V_{im}^2)^{1/2}.$$

La magnitud de la impedancia de la banda puede ser calculada a continuación:

$$|Z| = KE/V.$$

La fase de la impedancia de banda puede ser también calculada:

$$\arctan \left(\frac{V_{im}}{V_{re}} \right) - \arctan \left(\frac{E_{im}}{E_{re}} \right) = \angle Z$$

5

Por lo tanto, una medición de una concentración real de glucosa utilizando un instrumento (32) del tipo que se ha mostrado en la figura 2 procede del modo siguiente. Una muestra de sangre es aplicada al biosensor (31). Inmediatamente después de ello, la electrónica del instrumento (32) detecta el depósito de la gotita sobre el biosensor (31), una señal CA que tienen una frecuencia, por ejemplo, de 1300 Hz es aplicada en los terminal (34-2, 34-3) del conector (34) y la corriente resultante es muestreada indirectamente por μP (54) midiendo los voltajes de excitación y de respuesta y utilizando el factor de escala para obtener la corriente. La magnitud de impedancia y el ángulo de fase son calculados. Utilizando estos valores, se consulta una tabla de consulta de la memoria de programa de μP (54) para determinar la naturaleza de la muestra y, si es de sangre, si existe suficiente volumen en la muestra de sangre para proceder con la fase de determinación de la glucosa del ensayo. En caso contrario, el ensayo se da por terminado y este resultado se muestra en la pantalla del instrumento (32). Si existe suficiente volumen para continuar con la determinación de la glucosa, se aplica una señal de CA en otra frecuencia, por ejemplo, 10 KHz, en los terminal (34-2, 34-3) del conector (34) y la corriente resultante es muestreada por μP (54). La impedancia y el ángulo de fase son calculados nuevamente a esta segunda frecuencia. Se consulta una segunda tabla de consulta de la memoria del programa del μP (54) para encontrar un factor de corrección de glucosa indicada-glucosa real. Este factor de corrección puede ser una constante, por ejemplo 0, para indicar concentraciones de glucosa menores de una primera concentración de glucosa indicada, y variable para concentraciones de glucosa indicada superiores a la primera concentración de glucosa indicada, por ejemplo. En cualquier caso, dicha corrección es almacenada, y la determinación de la concentración de glucosa indicada tiene lugar, de modo general, tal como se describe en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171, por ejemplo. Una vez se ha obtenido la concentración de glucosa indicada, la corrección es recuperada y aplicada a la concentración de glucosa indicada para conseguir la concentración de glucosa real que se muestra en la pantalla del instrumento (32) y/o almacenada en la memoria de dicho instrumento (32).

Otra realización de la invención se ha mostrado en forma parcialmente en bloque y parcialmente esquemática en la figura 3. En ella, un instrumento (132) incluye un conector de banda (130) del mismo tipo general que el conector de banda (30) mostrado en la figura 2. El conector de banda (130) está diseñado para hacer contacto con un biosensor (31). Un primer terminal (134-1) de un conector (134) está acoplado con intermedio de una resistencia de 10 K Ω a un terminal (136-1) de un interruptor (136). Un terminal (136-2) del interruptor (136) es acoplado al terminal de entrada de un amplificador diferencial (138). Un terminal de salida del amplificador (138) está acoplado a un terminal (136-3) del interruptor (36). Un terminal (136-4) del interruptor (136) está acoplado a un terminal (134-2) del conector (134). La excitación en CC a través del biosensor (31) se establece por la salida del amplificador (138). Para un ajuste preciso de la excitación en CC del biosensor (31), la realimentación procedente del terminal (134-1) es devuelta al terminal de entrada del amplificador (138). Los terminales (134-1) y (134-2) establecen contacto con un electrodo común en el biosensor (31) para conseguir una exactitud mejorada de la excitación. Un terminal (134-3) del conector (134) es acoplado a un terminal de entrada de un amplificador diferencial (142). Un terminal de salida del amplificador (142) es acoplado con intermedio de una resistencia de 7,5 K Ω (144) a su terminal de entrada. El terminal de entrada + del amplificador (142) es acoplado a la parte común del suministro de potencia del circuito. Un terminal de salida del amplificador (142) es acoplado a un terminal de entrada de un convertidor (146) A/D de trece bits. Un puerto de salida del convertidor A/D (146) está acoplado a un puerto de entrada de un procesador (148) con funciones de soporte que llevan a cabo las funciones indicadas de medición de la glucosa, tal como se describe en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171. Un puerto de salida del procesador (148) está acoplado a un puerto de entrada de un convertidor (150) D/A de ocho bits. Un terminal de salida del convertidor D/A (150) está acoplado al terminal de entrada + del amplificador (138). Las funciones de los componentes (138), (142), (146), (148) y (150), de manera ilustrativa, si bien en modo alguno no necesaria, se incorporan en un ASIC (152).

Las componentes real e imaginaria de la impedancia en CA de la celda (31) del biosensor acoplada a los terminales (134-1, -2 y -3) son calculadas por la excitación aplicada entre los terminales (134-2) y (134-3) del conector (34) a las frecuencias deseadas, por ejemplo, barriendo la fuente de voltaje (150) en CA de baja magnitud a través de una gama de frecuencias adecuada, por ejemplo, de 1Hz - 100Hz o 10Hz - 10 KHz, en la que en una parte o en la totalidad el parámetro a determinar, tanto si es identidad de la muestras, volumen de la muestra, temperatura/hematocrito de la muestra, concentración de oxígeno en la muestra o cualquier otro parámetro de interés que puede ser determinado de este modo, varía con magnitud y fase suficientes y es desacoplado de manera óptima de las concentraciones de otros componentes de la muestra de la celda (31), es decir, independiente de las mismas.

En la realización mostrada en la figura 3, esta excitación de voltaje en CA de baja magnitud se suma en una unión de suma (152) con un desplazamiento opcional en CC (156) que puede ser utilizado si ayuda a la determinación de la concentración del interferente de interés. En la realización mostrada el voltaje en CA y el desplazamiento en CC son generados ambos bajo el control de un microprocesador (μP) (158) que puede ser el mismo μP que controla las funciones del medidor antes mencionado (132), o también puede ser un μP separado. El μP (158) será programado típicamente para barrer la fuente de voltaje en CA (150) y ajustar el desplazamiento en CC, dependiendo que la concentración del interferente está determinando el μP (158). De esta manera, la concentración de cada interferente

65

ES 2 326 145 T3

puede ser determinada de manera fácil en la gama de frecuencia óptima y en el desplazamiento óptimo en CC para el aislamiento de dicha concentración del interferente específica. Si el μ P (158) es utilizado para el barrido de control y desplazamiento, no es necesario disponer de una conexión externa separada (160) desde la unión de suma (152) al μ P (158). Dado que el μ P (158) va a determinar la respuesta de frecuencia de la celda (31), las frecuencias asociadas con la respuesta de frecuencia determinada se pueden almacenar en la memoria del μ P (158) al ser determinada la respuesta de la frecuencia. Si se utiliza algún otro mecanismo en la determinación de la respuesta de la frecuencia, no obstante, puede ser necesario proporcionar la realimentación (160) al μ P (158) de la fuente (150) de la frecuencia de salida, así como el nivel de desplazamiento en CC (156). En cualquier caso, el aislamiento de la unión de suma (152) y cualquier ruta de realimentación (160) desde la celda (31) es proporcionada por un amplificador operativo (164) cuya entrada es acoplada a la unión de suma (152), y cuya salida está acoplada con intermedio de la resistencia de un valor apropiado a la ruta de realimentación del amplificador (138) para activar la celda (31). De manera similar, el aislamiento de la celda (31) con respecto a la entrada de determinación de la respuesta de frecuencia del μ P (158) es proporcionado por un amplificador operativo (166) acoplado a la salida del amplificador (142). La determinación de la respuesta de frecuencia de la celda (31) tiene lugar de forma conocida, por ejemplo, por una transformada rápida de Fourier (FFT) o bien otro mecanismo de determinación de la respuesta de frecuencia de tipo conocido implementado con el μ P (158). La característica de respuesta de frecuencia de la celda (31) es comparada, a continuación, con la característica de respuesta de frecuencia almacenada para el interferente específico cuya concentración está siendo determinada, se determina una concentración del interferente, y se determina un valor de corrección asociado para la concentración indicada de glucosa y es almacenada para su utilización posterior en la corrección de la concentración de glucosa indicada o es combinada inmediatamente con una concentración de glucosa indicada para conseguir una concentración corregida de glucosa.

Nuevamente, de modo habitual, el instrumento (132) determinará en primer lugar las diferentes respuestas de frecuencia de la celda (31) en los diferentes rangos de frecuencia de desacoplamiento óptimo, con las diferentes amplitudes en CA de desacoplamiento óptimo y con los diferentes desplazamientos en CC de desacoplamiento óptimo, seguido por la determinación de la concentración indicada de glucosa, seguido por la corrección de la concentración indicada de glucosa para las concentraciones determinadas, de este modo, de los diferentes interferentes. No obstante, y tal como se ha indicado anteriormente, puede ser deseable en ciertas circunstancias y con ciertos interferentes hacer que el instrumento (132) determine en primer lugar la concentración indicada de glucosa antes de determinar las concentraciones de estos interferentes.

Otra realización de la invención se ha mostrado en forma parcialmente de bloques y parcialmente esquemática en la figura 4. En este caso, un instrumento (232) comprende un conector de banda (230) del mismo tipo general que el conector de banda (30) mostrado en la figura 2. El conector de banda (230) está diseñado para hacer contacto con el biosensor (31). Un primer terminal (234-1) de un conector (234) está acoplado al terminal de entrada de un amplificador diferencial (238). Un terminal de salida del amplificador (238) está acoplado al terminal (234-2) del conector (234). La excitación en CC a través del biosensor (31) se establece por la salida del amplificador (238). Para el ajuste preciso de la excitación en CC del biosensor (31), se devuelve la realimentación desde el terminal (234-1) al terminal de entrada del amplificador (238). Los terminales (234-1) y (234-2) establecen contacto con un electrodo común en el biosensor (31) para conseguir una mayor exactitud de excitación. Un terminal (234-3) del conector (234) está acoplado a un terminal de entrada de un amplificador diferencial (242). Un terminal de salida del amplificador (242) está acoplado con intermedio de una resistencia de 8,25 K Ω (244) a su terminal de entrada. El terminal de entrada + del amplificador (242) está acoplado a una referencia de 1,667V. Un terminal de salida del amplificador (242) está acoplado a un terminal de entrada de un convertidor A/D de catorce bits (246). Un puerto de salida del convertidor A/D (246) está acoplado a un puerto de entrada de un procesador (248) con funciones de soporte que lleva a cabo las funciones indicadas de medición de glucosa, tal como se describen en las patentes USA: 5,243,516; 5,288,636; 5,352,351; 5,385,846; y 5,508,171. Un puerto de salida del procesador (248) está acoplado a un puerto de entrada de un convertidor D/A de trece bits (250). El amplificador (238) y el convertidor D/A (250) están integrados de manera ilustrativa en un dispositivo único. El amplificador (238) tiene una modalidad de cierre de circuito abierto, que permite que los conmutadores (36, 136) de las realizaciones mostradas en la figuras 2-3 sean eliminados simplificando de esta manera el circuito en cierta medida. Por otra parte, el circuito mostrado en la figura 4 funciona principalmente del mismo modo que los circuitos mostrados en las figuras 2-3. Un terminal de salida del convertidor D/A (250) se ha acoplado al terminal de entrada + del amplificador (238). Las funciones de los componentes (238), (242), (246), (248) y (250) están incorporadas, de forma ilustrativa, si bien no necesaria en absoluto, en un ASIC (252). La exactitud y resolución del convertidor D/A (250) y del convertidor A/D (246) posibilitan ambas mediciones de corriente CA y CC y, por lo tanto, una simplificación del circuito.

Igualmente, se debe comprender que las características de diseño físico y químico de una celda específica determinarán, en gran medida, las características eléctricas de la celda. Por lo tanto, dichas características físicas y químicas determinarán, como mínimo en la misma medida, la respuesta de la celda a cada interferente, a los diferentes tipos de muestras y a diferentes volúmenes de las mismas. No es posible predecir, por ejemplo, en qué rango de frecuencia se desacoplará de manera óptima la concentración del hematocrito con respecto al ácido úrico o a la bilirrubina sin referencia a las características específicas físicas y químicas de dicha celda. Ciertas investigaciones serán necesarias para determinar estos rangos de frecuencia óptima. No obstante, la investigación será relativamente rutinaria una vez que se conozcan las características físicas y químicas de la celda.

La reducción de tiempo requerida para conseguir una indicación compensada de la concentración de glucosa en la sangre se puede apreciar mejor haciendo referencia a las figuras 5 a 7. La figura 5 muestra los resultados de la

ES 2 326 145 T3

concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de cuarenta segundos con soluciones de prueba estándar de glucosa. Las pruebas, cuyo resultado se muestra en la figura 5, fueron llevadas a cabo sin determinación de impedancia y compensación para los efectos combinados de temperatura y hematocrito que se han descrito en lo anterior, pero fueron compensadas en cuanto temperatura y hematocrito utilizando técnicas conocidas. La figura 6 muestra los resultados de concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de diez segundos con soluciones de prueba estándar de glucosa. Las pruebas, cuyos resultados se han mostrado en la figura 6 fueron llevadas a cabo sin determinación de impedancia y compensación para los efectos combinados de temperatura y hematocrito que se han descrito anteriormente, pero también fueron compensadas en cuanto a temperatura y hematocrito utilizando técnicas conocidas. La figura 7 muestra los resultados de concentración de glucosa conseguidos en varias determinaciones de concentración de glucosa de diez segundos con soluciones de prueba estándar de glucosa. Las pruebas, cuyos resultados se muestran en la figura 7 fueron llevadas a cabo utilizando determinación de impedancia y compensación para los efectos combinados de temperatura y hematocrito que se han descrito anteriormente. Se observará de la comparación de esas figuras que la utilización de la técnica de determinación de impedancia y de compensación que se ha descrito anteriormente permite una reducción por un factor de cuatro en el tiempo necesario para conseguir una determinación de la concentración de la glucosa comparable en estas soluciones de prueba.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 326 145 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Aparato (31, 32, 132) para determinar la concentración de un componente médicamente significativo de un líquido biológico, cuyo aparato comprende:

una celda (31) para recibir una muestra del líquido, cuya celda comporta

medios químicos que reaccionan con el componente médicamente significativo y

10 un primer y un segundo terminales a través de los cuales se puede evaluar la reacción de los medios químicos con el componente médicamente significativo,

15 un instrumento que tiene primeros terminales (34-2, 134-2) y segundos terminales (34-3, 134-3) complementarios, respectivamente, de los primeros y segundos terminales de la celda, de manera que la colocación de los primeros y segundos terminales de la celda en contacto con el primer y segundo terminales, respectivamente del instrumento, permite que el instrumento evalúe la reacción, cuyo instrumento comprende

un controlador de evaluación (52, 54, 152, 158, 252) para

20 aplicar a través del primer y segundo terminales del instrumento una primera señal que tiene un componente de corriente alterna (CA) en la que la señal de CA tiene una frecuencia dentro del rango de 0,1 Hz a 10 kHz,

25 determinar un primer valor de corrección como respuesta a la celda a la primera señal,

evaluar la reacción del componente médicamente significativo con los medios químicos y combinar el valor de corrección con el resultado de la evaluación de la reacción para producir una indicación de la concentración del componente médicamente significativo de la muestra.

30 2. Aparato, según la reivindicación 1, en el que la reacción del componente médicamente significativo con los medios químicos es evaluada por amperometría.

35 3. Aparato, según la reivindicación 1, en el que la señal de CA es barrida y la característica de respuesta de frecuencia de la celda es comparada con una respuesta de frecuencia almacenada característica para un interferente específico cuya concentración está siendo determinada.

40 4. Método para la determinación de la concentración de un componente médicamente significativo de un líquido biológico, cuyo método comprende

disponer una celda (31) para recibir una muestra del líquido,

dotar a la celda de

45 medios químicos que reaccionan con el componente médicamente significativo y

un primer y un segundo terminales a través de los cuales se puede evaluar la reacción de los medios químicos con el componente médicamente significativo,

50 disponer un instrumento (31, 32, 132) que tiene primeros terminales (34,2, 134-2) y segundos terminales (34-3, 134-3) complementarios, respectivamente, de los primeros y segundos terminales de la celda, de manera que la colocación de los primeros y segundos terminales de la celda en contacto con el primer y segundo terminales, respectivamente del instrumento, permite que el instrumento evalúe la reacción,

55 disponer en el instrumento un controlador de evaluación (52, 54, 152, 158, 252),

hacer que el controlador de evaluación aplique a través del primer y segundo terminales del instrumento una primera señal que tiene un componente de CA en la que la señal de CA tiene una frecuencia dentro del rango de 0,1 Hz a 10 kHz,

60 determinar un primer valor de corrección como respuesta a la celda a la primera señal,

65 evaluar la reacción del componente médicamente significativo con los medios químicos y combinar el valor de corrección con el resultado de la evaluación de la reacción para producir una indicación de la concentración del componente médicamente significativo de la muestra.

5. Método, según la reivindicación 4, en el que la reacción del componente médicamente significativo con los medios químicos es evaluada por amperometría.

ES 2 326 145 T3

6. Método, según la reivindicación 4, en el que la señal de CA es barrida y la característica de la respuesta de frecuencia de la celda es comparada con una característica de respuesta de frecuencia almacenada para un interferente específico cuya concentración está siendo determinada.

5

10

15

20

25

30

35

40

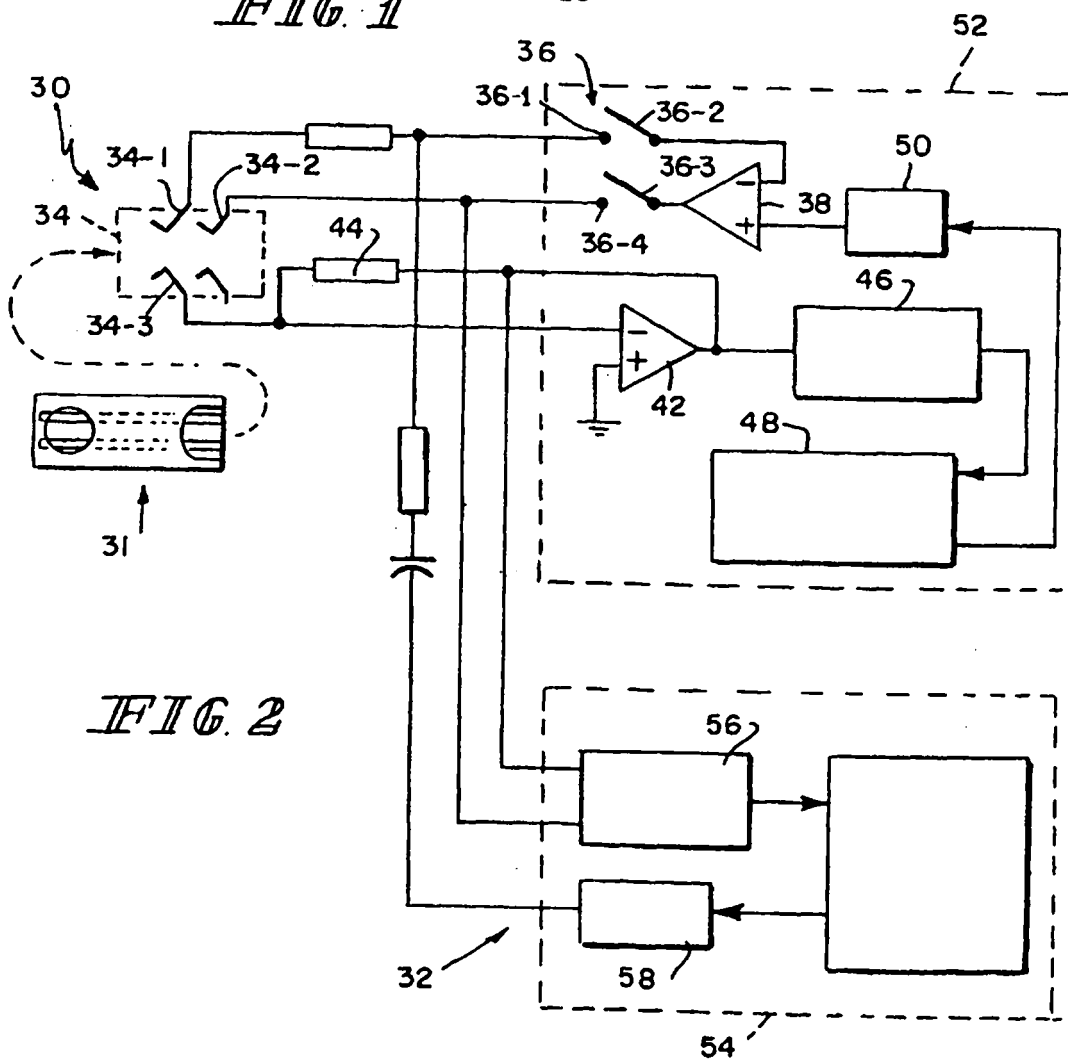
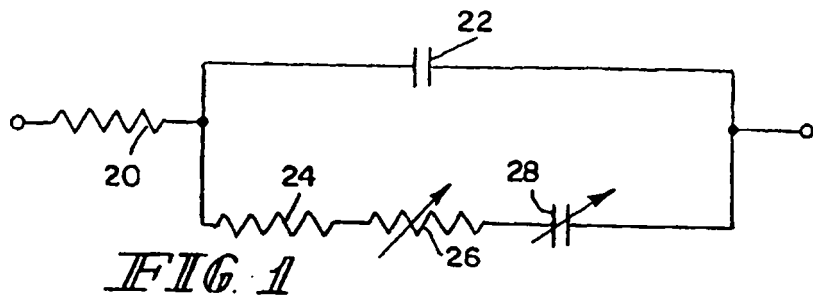
45

50

55

60

65



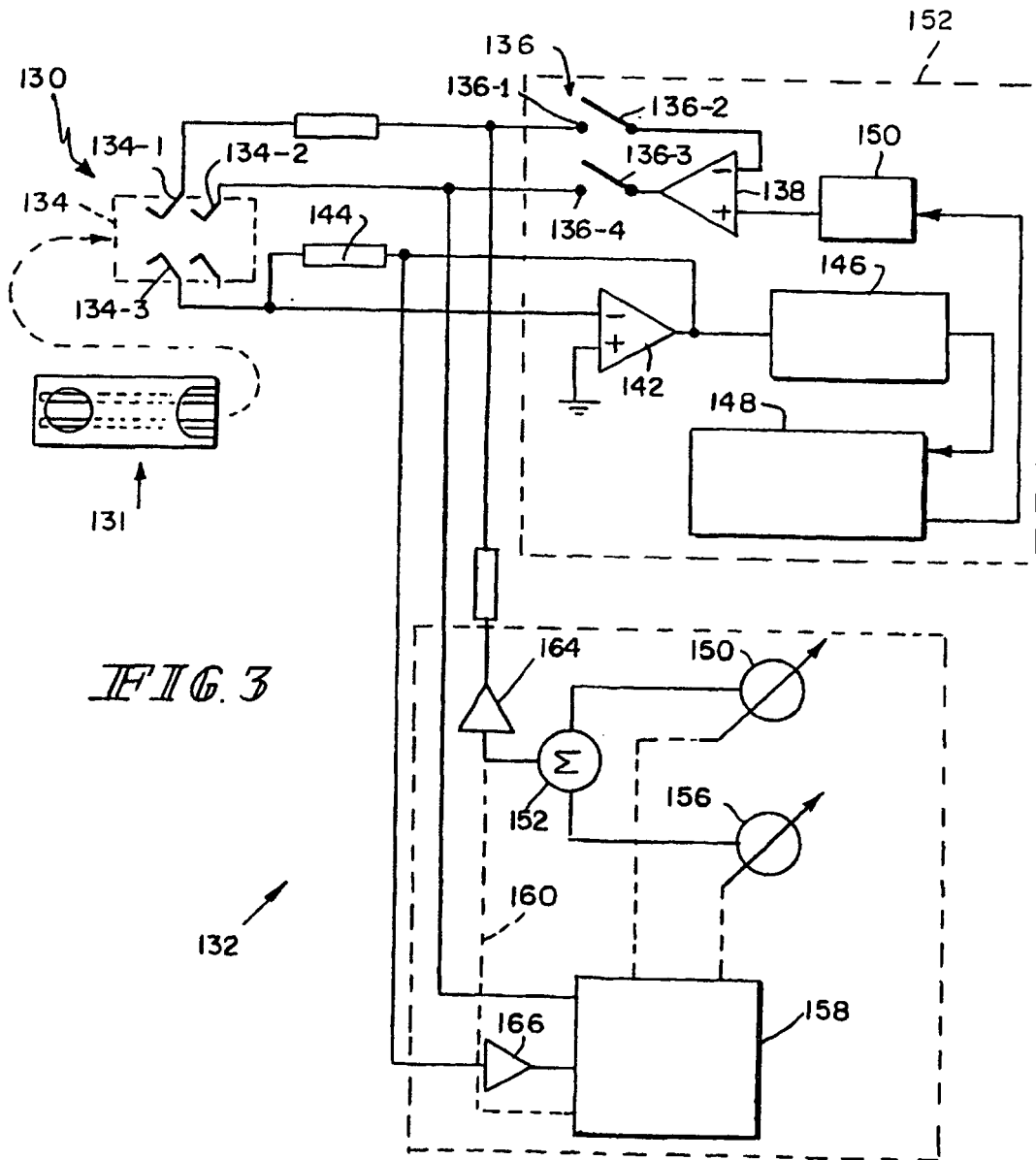


FIG. 3

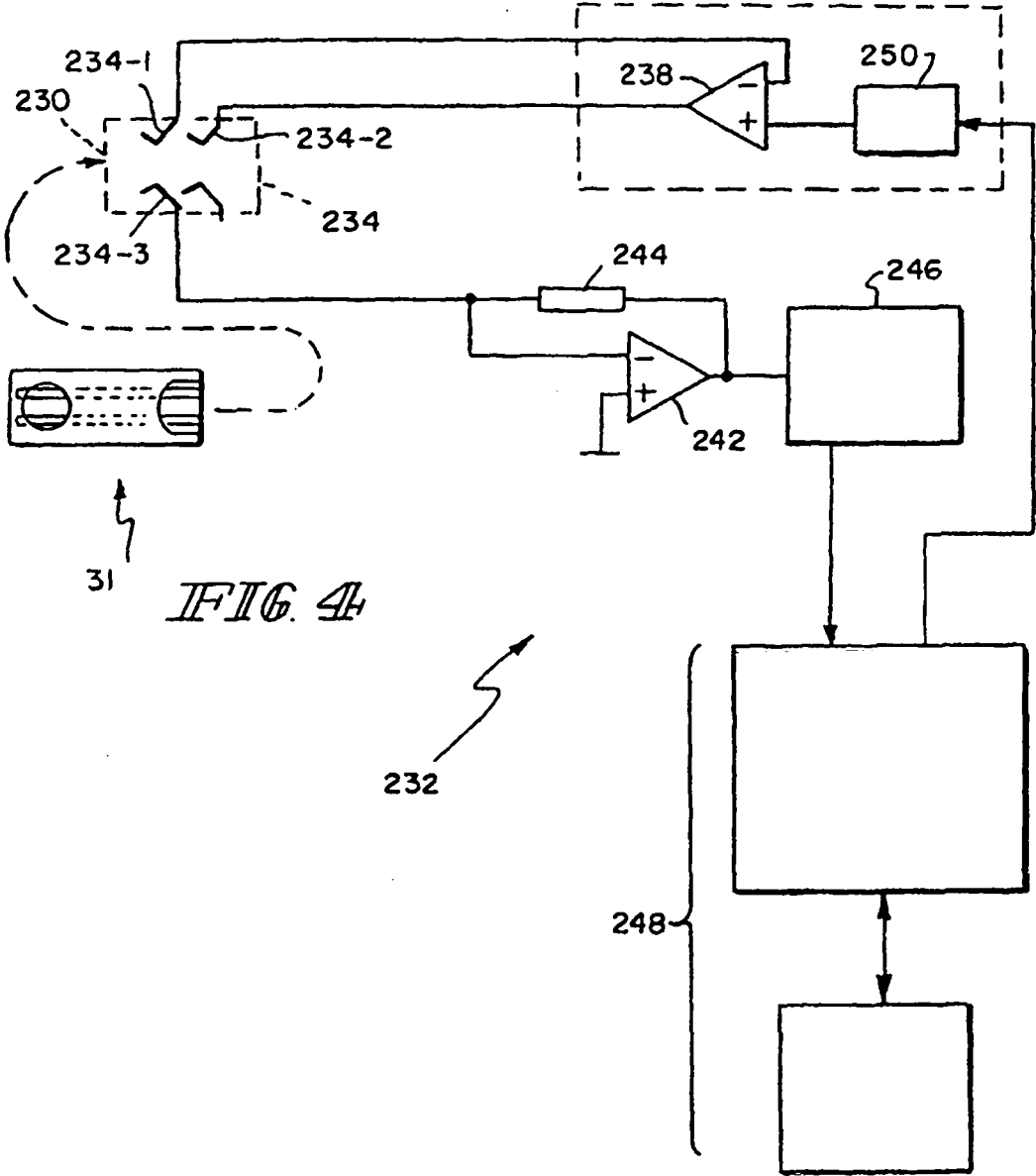


FIG. 4

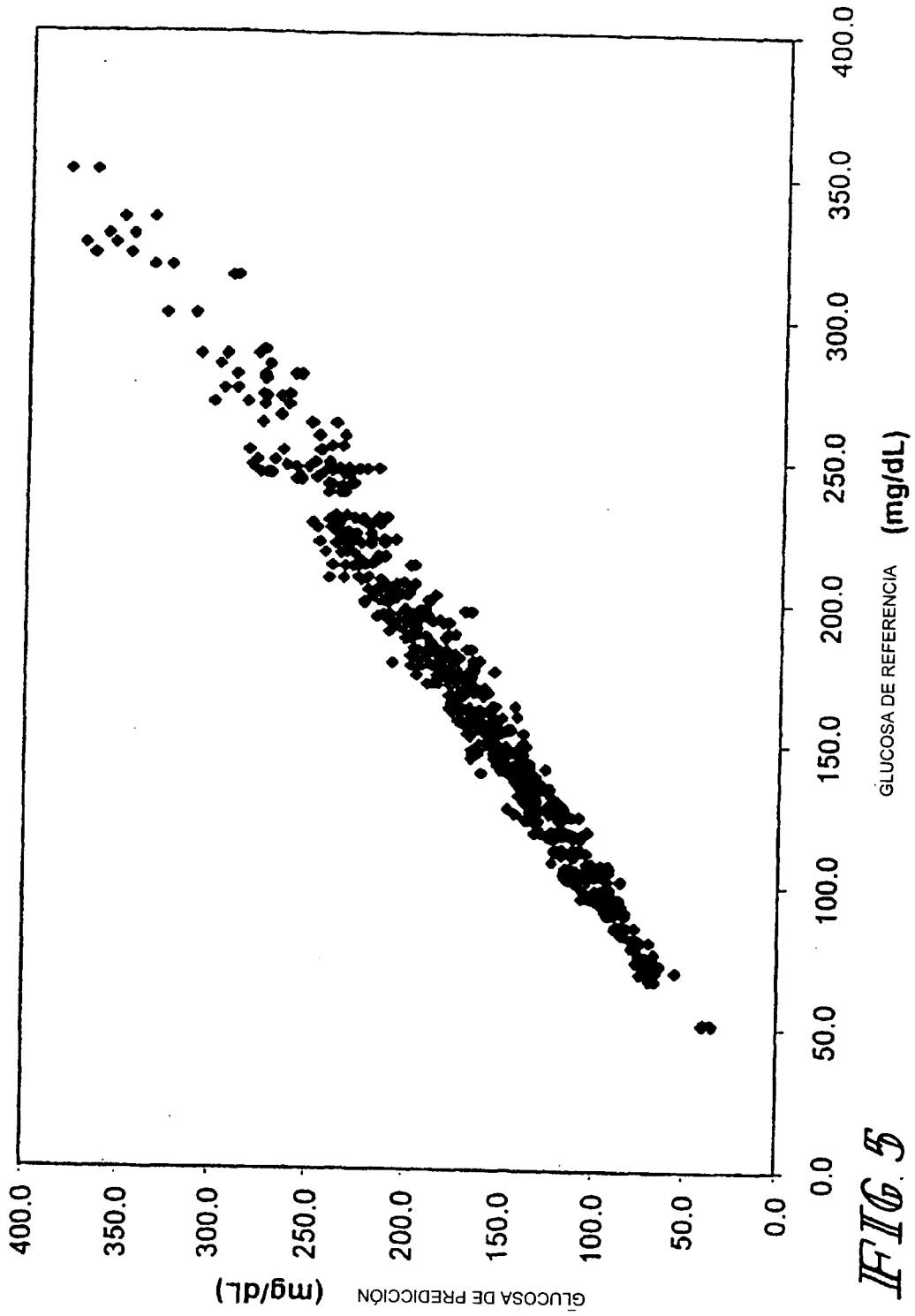


FIG. 5

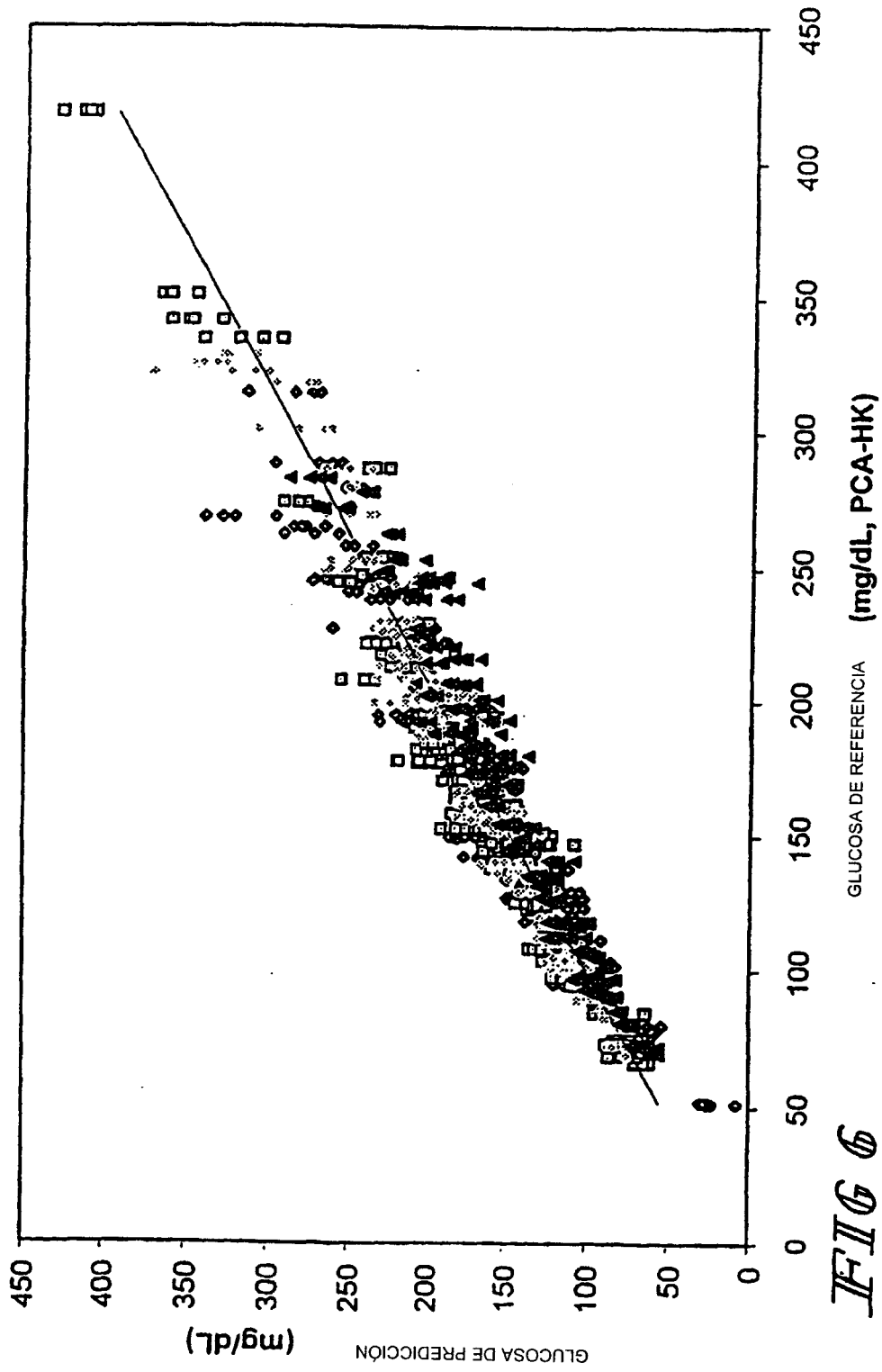


FIG 6

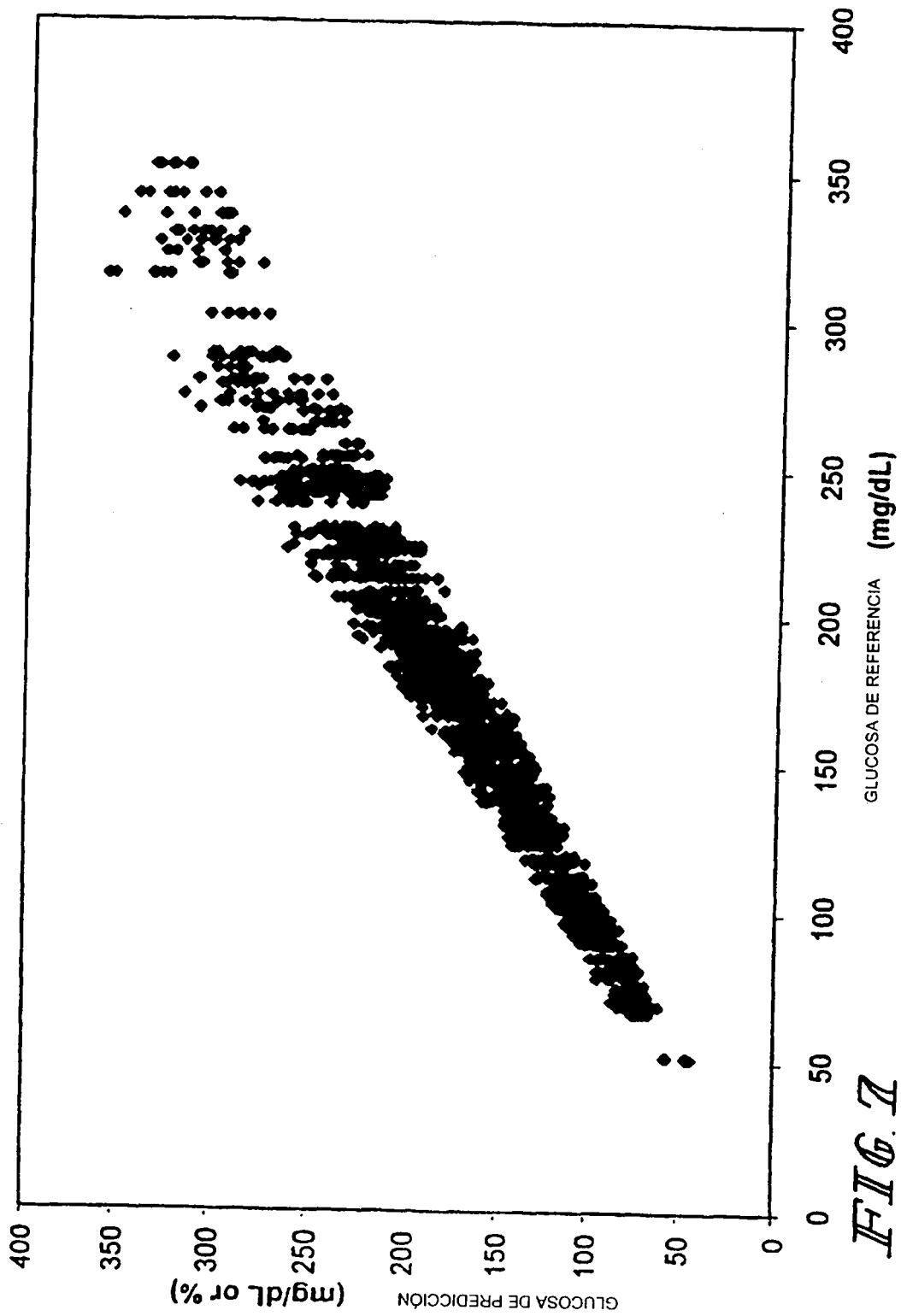


FIG. 7