



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 293 493**

51 Int. Cl.:
G01N 27/49 (2006.01)
C12Q 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Número de solicitud europea: **05251284 .5**
86 Fecha de presentación : **03.03.2005**
87 Número de publicación de la solicitud: **1698891**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Un método para reducir la desviación de medición de biosensores amperimétricos.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

73 Titular/es: **Apex Biotechnology Corporation**
No. 7, Li-Hsin Road
Hsinchu Science Park, Hsinchu, TW

72 Inventor/es: **Lin, Yueh-Hui;**
Huang, Ying-Che;
Huang, Bin;
Shen, Benjamin Cheng;
Chin, Li-Te y
Shen, Thomas Y.S.

74 Agente: **Ungría López, Javier**

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

Un método para reducir la desviación de medición de biosensores amperimétricos.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para reducir la desviación de medición en biosensores amperimétricos, caracterizado porque al mismo tiempo que se aplica un analito a un sensor a cuyo sistema de electrodo se ha aplicado un potencial predeterminado, la corriente de fondo resultante de las principales interferencias en la etapa inicial de la reacción del biosensor es eliminada disminuyendo gradualmente el nivel del potencial predeterminado.

Antecedentes de la invención

A menudo se utilizan métodos para medir ciertos analitos en muestras de prueba líquidas con biosensores amperimétricos al supervisar anomalías fisiológicas clínicas, tales como métodos enzimáticos amperimétricos de medición de lactato y azúcar en sangre, y métodos no enzimáticos de medición de hemoglobina y ácido úrico. Independientemente del sistema enzimático o no enzimático, se utiliza un mediador eléctrico como un mediador de transmisión de señales eléctricas de la reacción redox del analito.

Como se ha indicado en la figura 1-1, dado que el analito en la muestra de prueba lleva a cabo reacción de oxidación, se incrementa gradualmente (13) la tendencia del mediador eléctrico a reducirse (es decir, la señal eléctrica es transmitida al mediador eléctrico). Después de un tiempo de reacción suficiente, también se aplica un potencial fijo (12) al sistema de electrodo, para permitir la conmutación de señales eléctricas entre el mediador eléctrico y el electrodo, a saber una reacción redox electroquímica. Por lo tanto, mediante la correlación de concentración y corriente Cottrell como resultado de la reacción redox electroquímica, a saber la relatividad positiva de la corriente Cottrell y la concentración del analito, la concentración de analito puede ser obtenida midiendo la corriente del electrodo de trabajo (Patente de Estados Unidos número Re 36268).

Durante el período de almacenamiento antes de ser aplicado, el mediador eléctrico u otros componentes del biosensor amperimétrico (por ejemplo, estabilizadores de enzimas o surfactantes que tienen equivalentes oxidantes o reductores) pueden experimentar reacciones de oxidación o reducción debidas a influencia medioambiental (tal como energía luminosa, energía térmica o humedad). Si el sensor conteniendo componentes reaccionados se usa para medir un analito en una muestra de prueba, los componentes reaccionado serán interferencia de fondo, y afectarán al valor de medición de corriente del sistema de electrodo del sensor, a saber formando el valor de desviación. Por lo tanto, al usar un biosensor amperimétrico, la interferencia resultante de influencia medioambiental debe ser reducida o eliminada con el fin de determinar exactamente la concentración de analito en la muestra de prueba.

Actualmente, el método común para eliminar el ruido de fondo es activar el circuito del sistema de electrodo y eliminar simultáneamente la interferencia de fondo, cuando la muestra de prueba líquida es aplicada al sensor a cuyo sistema de electrodo se ha aplicado un potencial predeterminado, con el fin de reducir el valor de desviación.

Las figuras 1-2 y 1-3 respectivamente ilustran dos

modos de operación del potencial de la técnica anterior. La figura 1-2 representa el modo de operación posible del método de determinación de azúcar en sangre descrito en la Patente de Estados Unidos número 4.224.125 (utilizando un biosensor amperimétrico), en el que al mismo tiempo (10) que se aplica una muestra de prueba líquida a un sensor a cuyo sistema de electrodo se ha aplicado un potencial predeterminado (11), la correlación de corriente de régimen/concentración se mide con alimentación. La figura 1-3 representa el modo de operación de potencial del método de determinación de azúcar en sangre (utilizando un biosensor amperimétrico) fabricado por Bayer (Patente de Estados Unidos número 5.653.836 y 5.620.579), en el que al mismo tiempo (10) que se aplica la muestra de prueba líquida al sensor a cuyo sistema de electrodo se ha aplicado un potencial predeterminado, el potencial fijo predeterminado (11) se usa para eliminar la interferencia de fondo durante un cierto período de tiempo, y después se apaga. Después de un tiempo de reacción suficiente para el analito en la muestra de prueba, se vuelve a aplicar un potencial de activación (12) para medir la correlación de corriente y concentración.

Sin embargo, mientras que el primero, que usa el modo de alimentación, puede reducir la corriente de fondo, no puede acumular la intensidad de reacción del analito en un tiempo corto (10 a 20 segundos) y así reduce la intensidad de la señal, pero aumenta el consumo de potencia. Por otra parte, mientras que el último corta la potencia después de usar un potencial fijo para eliminar las principales interferencias de fondo con el fin de reducir el consumo de potencia, también elimina la señal convertida en el mediador eléctrico a través de proceso redox en la etapa inicial después de aplicar el analito a la ranura de medición, y así la señal durante el primer período de la reacción no puede ser acumulada. Como resultado, en operaciones de la técnica anterior, la eficiencia económica y la exactitud de la correlación entre la corriente y la concentración del analito en la muestra de prueba siguen precisando mejora.

El objeto principal de esta invención es proporcionar un método mejorado para reducir la desviación de medición en biosensores amperimétricos.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona un nuevo método para reducir la desviación de medición en biosensores amperimétricos, incluyendo los pasos siguientes:

(a) montar un biosensor amperimétrico, que incluye al menos un sistema de electrodo y un mediador eléctrico para reacciones redox, y aplicar un potencial predeterminado a dicho sistema de electrodo;

(b) aplicar una muestra de prueba al biosensor y disminuir inmediatamente gradualmente el potencial predeterminado a un valor incapaz de activar la reacción redox electroquímica del mediador eléctrico;

(c) después de un tiempo de reacción suficiente, aplicar un segundo potencial al sistema de electrodo del biosensor para activar la reacción redox electroquímica del mediador eléctrico; y

(d) medir la corriente electroquímica del sistema de electrodo y determinar la concentración del analito.

El método para medir la concentración del analito en la muestra de prueba proporcionado por la presente invención se caracteriza porque, al mismo tiempo que

la muestra de prueba es aplicada al biosensor amperimétrico a cuyo sistema de electrodo se ha aplicado un potencial predeterminado para activar el circuito del sistema de electrodo, se disminuye gradualmente el potencial predeterminado a un valor incapaz de promover una reacción redox electroquímica.

El método según la invención no solamente puede eliminar la corriente de fondo de la interferencia principal en la etapa inicial de la reacción, sino que también puede retener lo más posible el mediador eléctrico reaccionado del analito en la muestra de prueba en la etapa inicial de la reacción redox, y así la señal eléctrica en la etapa inicial de la reacción puede ser acumulada. La presente invención no solamente puede eliminar el ruido de interferencia, sino que también puede retener lo más posible un alto valor de señal (a saber, para aumentar la relación de señal/ruido (S/N)), y así mejorar la precisión y exactitud de la correlación entre la corriente y la concentración. Además, dado que el suministro de potencial predeterminado se disminuye gradualmente, al interrumpir la redox electroquímica para esperar la acumulación de señal de mediadores eléctricos, también se puede reducir al mismo tiempo el consumo de potencia.

Los expertos en la técnica son conscientes de que se puede usar un módulo de control de conversión analógica o digital y de captura de la señal de corriente para controlar el potencial suministrado al sistema de electrodo del biosensor amperimétrico y para capturar la corriente generada por la reacción redox electroquímica. Así, la operación de disminuir gradualmente el potencial en la invención puede ser realizada de manera digital o analógica, dependiendo del tipo del módulo de control de conversión y de captura de señal de corriente usado.

Las figuras 2-1 y 2-2 respectivamente ilustran los dos modos de operación del potencial de la invención. La figura 2-1 representa la realización de la invención en la que el potencial es bajado gradualmente de forma analógica. Primero, se aplica un potencial predeterminado (16) al sistema de electrodo de un biosensor amperimétrico. A continuación, al mismo tiempo (10) que se aplica una muestra de prueba líquida al sensor, el potencial se baja gradualmente de forma analógica (14) mientras se elimina la interferencia de fondo. Después de un tiempo de reacción suficiente del analito en la muestra de prueba, se aplica un potencial de excitación (12) para medir la correlación entre la corriente y la concentración.

La figura 2-2 representa el mismo modo de operación de potencial que el representado en la figura 2-1, a excepción de que después de que la muestra de prueba ha sido aplicada al sistema de electrodo del sensor, el potencial se baja gradualmente de forma digital (15).

El valor del potencial predeterminado aplicado al sistema de electrodo del sensor antes de la aplicación de la muestra de prueba usada en el método de la invención se refiere al grado de interferencia de factores medioambientales, y generalmente es del rango de aproximadamente 0,1 voltio a 0,9 voltio, preferiblemente de 0,3 voltio a 0,7 voltio, que es familiar a los expertos en la técnica.

El paso de disminuir gradualmente el potencial predeterminado en el método según la invención tarda aproximadamente de 1 a 15 segundos, preferiblemente de 4 a 10 segundos. El tiempo de reacción de la muestra de prueba y el valor del segundo potencial

usado para activar el mediador eléctrico para realizar una reacción redox electroquímica no son críticos para la invención, y pueden ser determinados por los expertos en la técnica según los tipos de muestras de prueba y sensores realmente usados en la operación, donde el segundo potencial puede ser mayor, igual o menor que el potencial predeterminado.

El método según la invención es aplicable a biosensores amperimétricos enzimáticos o no enzimáticos. Las estructuras de los biosensores amperimétricos enzimáticos o no enzimáticos son familiares a los expertos en la técnica. El método según la invención no se limita a ningún tipo particular de biosensor amperimétrico. Generalmente, el biosensor amperimétrico enzimático incluye típicamente un sistema de electrodo, una enzima redox específico para análisis particular, un mediador eléctrico para redox, un soporte y agente tampón que constan de ácido y base conjugados; y el biosensor amperimétrico no enzimático incluye típicamente un sistema de electrodo, un mediador eléctrico para redox y un soporte. El soporte incluye generalmente polímeros altos solubles en agua, y opcionalmente incluye surfactantes. El mediador eléctrico para redox es generalmente ferricianuro de potasio.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1-1, 1-2 y 1-3 muestran tres modos de operación de potencial en la técnica.

La figura 2 representa el modo de operación de disminuir gradualmente el potencial según la invención, donde la figura 2-1 representa la disminución gradual del potencial de forma analógica, mientras que la figura 2-2 representa la disminución gradual del potencial de forma digital.

La figura 3 representa la mejora en el grado analítico de la correlación entre la corriente y la concentración de glucosa medida con el método según la invención.

Descripción detallada de la invención

La tira biosensora de prueba de glucosa que se puede obtener de la implementación de la Patente número 416005 de ROC (Taiwán) se usa para mostrar mejor las ventajas del método según la invención.

La tira biosensora de prueba de glucosa es de los componentes estructurales y la combinación representados en la figura 1 y figura 2, y es de la formulación post-modificación de la capa de reacción de glucosa ilustrada en el Ejemplo 1. La formulación incluye una glucosa oxidasa, ferricianuro de potasio, un surfactante, un polímero alto soluble en agua y una sal tampón.

La interferencia medioambiental se incrementa por la estimulación de envejecimiento acelerado (entorno de almacenamiento de la tira de prueba a 50°C, con una duración de 1 semana y ocho semanas, respectivamente). Se usa un módulo de control de conversión digital y de captura de señal de corriente para controlar el potencial suministrado al sistema de electrodo del biosensor amperimétrico de glucosa y para capturar la corriente generada de la reacción redox electroquímica. Finalmente, la lectura de corriente adquirida es convertida a la concentración de glucosa.

Los ejemplos siguientes se usan para ilustrar mejor la invención, pero no se ha previsto que limiten el alcance de la invención. Todos los expertos en la técnica pueden hacer fácilmente modificaciones y cambios sin apartarse del alcance de la invención.

Ejemplo

Se establecieron dos grupos de modos de suministro de potencia, uno como el suministro de potencial inicial de 300 mV, que se redujo a 0 mV inmediatamente después de aplicar la muestra de prueba al sistema de electrodo como en la técnica anterior (figura 1-1), el otro como el potencial de suministro inicial de 300 mV, que se bajó gradualmente a 0 mV 4 segundos después de aplicar la muestra de prueba al sistema de electrodo (es decir, interrumpiéndose la reacción redox electroquímica) según la idea de la invención (figura 2-2).

Dichos dos grupos de modos de establecimiento de suministro de potencia y sangre con diferente concentración de glucosa (inferior, media y superior) se aplicaron al mismo lote de tiras biosensoras de prueba de glucosa que se procesaron con envejecimiento acelerado. La reacción se mantuvo durante 16 segundos. Entonces, se aplicó un potencial de excitación de 300 mV, y se midió la corriente redox en correlación positiva con la concentración de glucosa. El resultado se representa en la figura 3.

Al aplicar el modo de suministro de potencia de la técnica anterior a la tira biosensora de prueba de glu-

cosa, la interceptación de la ecuación lineal trazada con la lectura del sensor (que duró una semana = 1W-O, y 8 semanas = 8W-O) y el método de referencia (medidor bioquímico de azúcar en sangre por electroquímica YSI) se incrementó (de 3,95 a 25,75), lo que representa la obvia existencia de interferencia de fondo generada por la condición de aceleración. Sin embargo, al aplicar el modo de suministro de potencia según la idea de la invención a la tira biosensora de prueba de glucosa (que duró 1 semana = 1 W-N, y 8 semanas = 8W-N), la interceptación de la ecuación lineal no presenta diferencia significativa (1,51 y -0,08), que representa la evidente reducción de la interferencia de fondo.

Además, el método según la invención adopta el modo de disminuir gradualmente el potencial suministrado a 0 mV, que interrumpe la reacción redox electroquímica. Por lo tanto, durante el período de espera de la acumulación de señal del mediador eléctrico, se puede reducir el consumo de potencia. En conclusión, el método según la invención es de hecho un método efectivo para reducir el valor de desviación latente producido por interferencia de fondo para biosensores amperimétricos.

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar la concentración de un analito en una muestra de prueba, incluyendo los pasos siguientes:

(a) montar un biosensor amperimétrico que incluye al menos un sistema de electrodo y un mediador eléctrico para reacciones redox, y aplicar un potencial predeterminado al sistema de electrodo;

(b) aplicar una muestra de prueba al biosensor y disminuir inmediatamente gradualmente el potencial predeterminado a un valor incapaz de activar la reacción redox electroquímica del mediador eléctrico;

(c) después de un tiempo de reacción suficiente, aplicar un segundo potencial al sistema de electrodo del biosensor para activar la reacción redox electroquímica del mediador eléctrico; y

(d) medir la corriente electroquímica del sistema de electrodo y determinar la concentración del analito.

2. El método de la reivindicación 1, donde dicho paso de disminuir gradualmente el potencial predeterminado se realiza de forma digital.

3. El método de la reivindicación 1, donde dicho paso de disminuir gradualmente el potencial predeterminado se realiza de forma analógica.

4. El método de la reivindicación 1, donde dicho sensor es un biosensor amperimétrico enzimático.

5. El método de la reivindicación 1, donde dicho sensor es un biosensor amperimétrico no enzimático.

6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde dicho potencial predeterminado está dentro del rango de 0,1 voltio a 0,9 voltio.

7. El método de la reivindicación 6, donde dicho potencial predeterminado está dentro del rango de 0,3 voltio a 0,7 voltio.

8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde dicho paso de disminuir gradualmente el potencial predeterminado tarda de uno a quince segundos.

9. El método de la reivindicación 8 donde dicho paso de disminuir gradualmente el potencial predeterminado tarda de cuatro a diez segundos.

10. El método cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde dicho segundo potencial puede ser mayor, igual o menor que el potencial predeterminado.

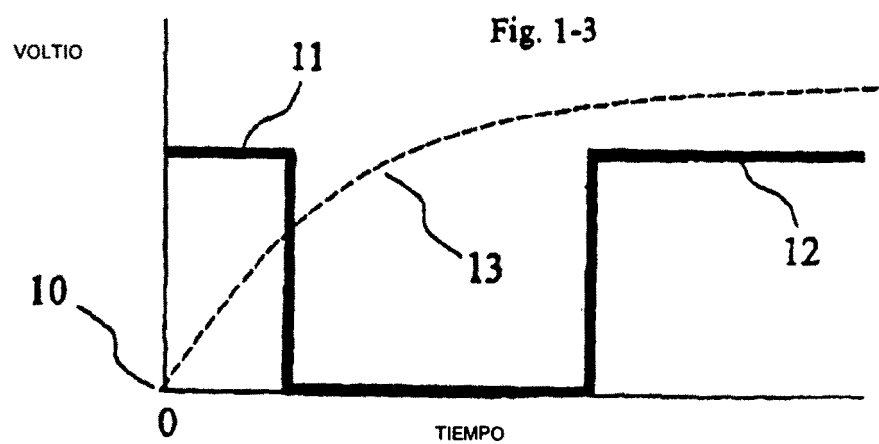
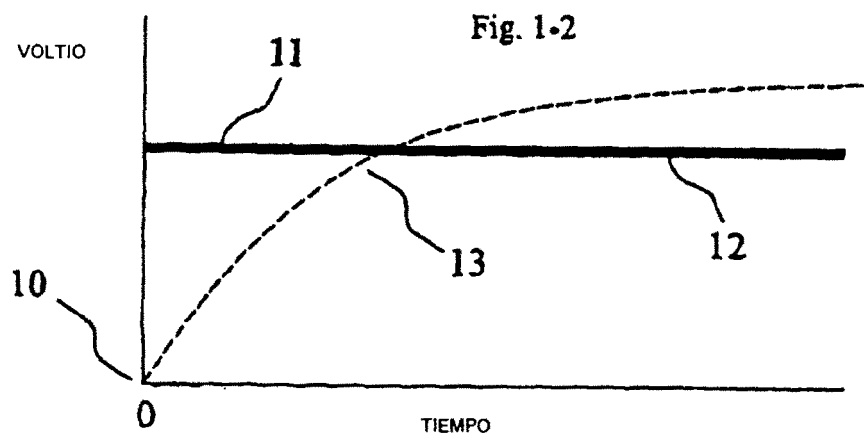
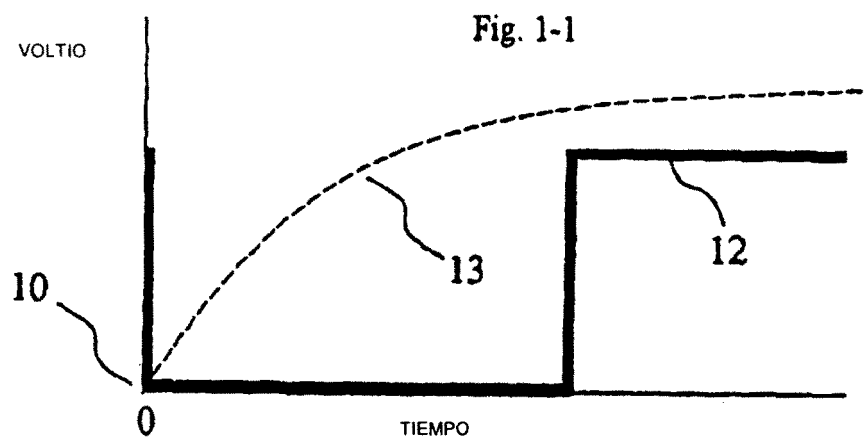


Fig. 2-1

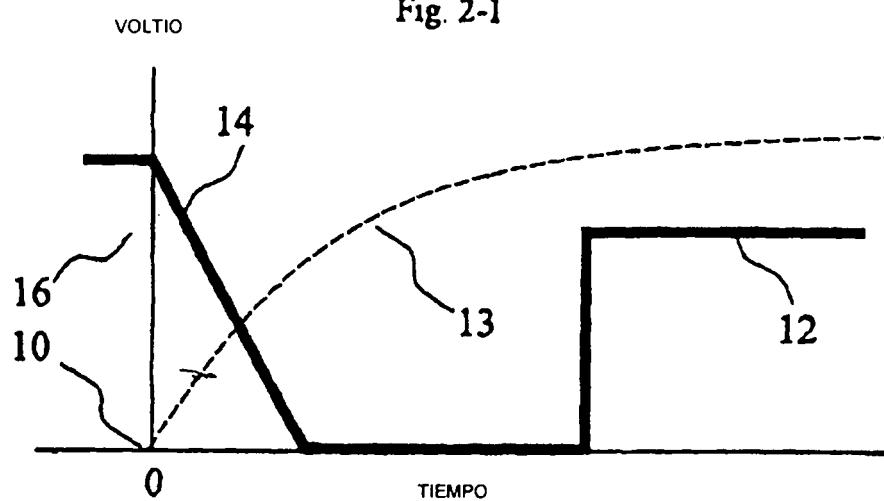


Fig. 2-2

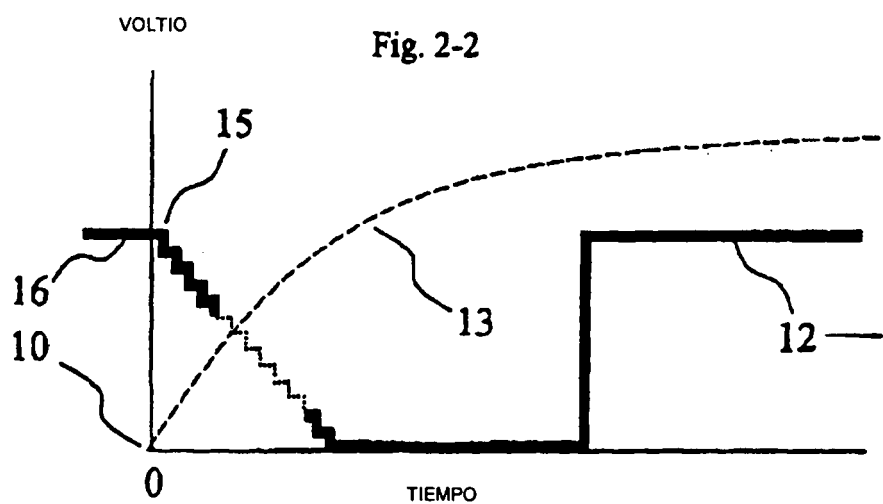


Fig. 3

