(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3730355号
(P3730355)
(45)発行日　平成18年1月5日(2006.1.5)　(24)登録日　平成17年10月14日(2005.10.14)

(51)Int.Cl.		F I		
G01N 33/96	(2006.01)	G01N	33/96	
G01N 1/00	(2006.01)	G01N	1/00	102C
G01N 33/483	(2006.01)	G01N	33/483	F
G01N 27/327	(2006.01)	G01N	27/30	353R
G01N 27/416	(2006.01)	G01N	27/46	336M

請求項の数 14　(全 12 頁)

(21)出願番号　特願平9-76941
(22)出願日　平成9年3月28日(1997.3.28)
(65)公開番号　特開平10-10130
(43)公開日　平成10年1月16日(1998.1.16)
審査請求日　平成15年12月17日(2003.12.17)
(31)優先権主張番号　08/625132
(32)優先日　平成8年4月1日(1996.4.1)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　391007079
バイエルコーポレーション
アメリカ合衆国、インデイアナ州、４６５１４、エルクハート、マイルス・アベニュー　１８８４
(74)代理人　100078662
弁理士　津国　肇
(74)代理人　100072279
弁理士　渡邊　睦雄
(72)発明者　リン・イー
アメリカ合衆国、インデイアナ州、４６５４５、ミシャワカ、ナンバー２ビー、コベントリー・レーン　３９０４

審査官　山村　祥子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】電気化学的感知装置の性能を試験するための対照溶液および方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
血液試料中の分析対象物の濃度を測定するのに有用である電気化学的感知装置の性能を試験するための対照水溶液であって、電気化学的感知装置が作用電極および参照電極を含み、作用電極が、その表面に、分析対象物に対して特異的な酵素と、分析対象物と酵素との反応に応答して還元される種である媒介物とを含む組成物を有し、流体試験試料中の分析対象物の濃度が、作用電極を流れる電流の関数として測定され、
ａ）血液に似た流体力学的性質を有するポリマー物質；
ｂ）所定量の分析対象物；
ｃ）緩衝系；ならびに
ｄ）有機溶剤および／または酸化剤
を含む、対照水溶液。
【請求項２】
血液に似た流体力学的性質を有するポリマー物質が、ポリエチレンオキシド、ポリ（ヒドロキシエチル メタクリレート）および／またはポリビニルピロリドンである、請求項１記載の対照水溶液。
【請求項３】
緩衝系が、クエン酸／クエン酸ナトリウムまたはリン酸／リン酸ナトリウムからなる、請求項１または２記載の対照水溶液。
【請求項４】

対照溶液がセンサに適用されたとき、有機溶剤が、血液の場合よりも遅い媒介物の溶解および／または拡散をもたらす、請求項１～３のいずれか１項記載の対照水溶液。
【請求項５】
媒介物がフェリシアン化物であり、有機溶剤がエチレングリコール、Ｎ－メチルピロリドンまたはｎ－プロパノールである、請求項１～４のいずれか１項記載の対照水溶液。
【請求項６】
対照水溶液が動的な電流プロフィールを提供するものであり、動的なプロフィールが、電極間に初期電位を印加して、還元を受けた媒介物の少なくとも一部を酸化させ、電極間を流れる電流を測定してバーン（ｂｕｒｎ）電流を得、一定の遅延期間だけ系を開回路に切り換えたのち、電極間に第二の電位を印加して、それらの間を流れる電流を測定してリード（ｒｅａｄ）電流を得ることによって分析対象物の濃度を測定することにより測定され、この動的な電流プロフィールがバーン電流に対するリード電流の比である、請求項１～５のいずれか１項記載の対照水溶液。
【請求項７】
酸化剤を含む、請求項１～６のいずれか１項記載の対照水溶液。
【請求項８】
酸化剤が過マンガン酸カリウム、過クロム酸カリウム、重クロム酸カリウム、過塩素酸ナトリウムまたは過ヨウ素酸ナトリウムである、請求項７記載の対照水溶液。
【請求項９】
血液試料中の分析対象物の濃度を測定するための、計器および電気化学的感知手段を含む電気化学的感知装置の性能を試験する方法であって、
ａ）作用電極および参照電極を含み、作用電極が、分析対象物に対して特異的な酵素と、分析対象物と酵素との反応に応答して還元される種である部分的に還元された媒介物とを含む組成物を表面に有するものである感知手段を有する電気化学的感知装置を提供する工程；
ｂ）感知手段の作用電極と参照電極との間に、それらの電極どうしを電気的に接続することができる、請求項１～８のいずれか１項記載の対照溶液を配置する工程；
ｃ）電極間に電位を印加して媒介物の少なくとも一部をその酸化形態に戻して測定可能なバーン電流を得、その電流を測定する工程；
ｄ）電極に印加されている電位を断って、一定の遅延期間だけ開回路とする工程；
ｅ）電極間に第二の電圧を印加し、対照溶液中の電流を測定してリード電流を発生させ、そのリード電流を測定する工程；および
ｆ）血液試料を用いて得られるであろう動的な電流プロフィールとは明確に異なる対照溶液の動的な電流プロフィールを、バーン電流に対するリード電流の比として測定する工程を含むことを特徴とする方法。
【請求項１０】
対照溶液が感知手段に適用されたとき、有機溶剤が、血液の場合よりも遅い媒介物の溶解および／または拡散をもたらす、請求項９記載の方法。
【請求項１１】
媒介物がフェリシアン化物であり、有機溶剤がエチレングリコール、Ｎ－メチルピロリドンまたはｎ－プロパノールである、請求項９または１０記載の方法。
【請求項１２】
対照溶液が酸化剤を含む、請求項９～１１のいずれか１項記載の方法。
【請求項１３】
酸化剤が過マンガン酸カリウム、過クロム酸カリウム、重クロム酸カリウム、過塩素酸ナトリウムまたは過ヨウ素酸ナトリウムである、請求項１２記載の方法。
【請求項１４】
電気化学的感知装置が、試験結果を保存するための記憶装置およびマイクロプロセッサを有し、マイクロプロセッサが、血液を用いて得られるであろうものに相当する、バーン電流に対するリード電流の一定範囲の比を含み、マイクロプロセッサが、試験から得られ

たバーン電流に対するリード電流の比としての電流プロフィールを、マイクロプロセッサ中に記憶された血液に関するバーン電流に対するリード電流の比の範囲に比較したとき、対照溶液について決定した場合に、その試験結果を記憶装置に保存しないよう除外する、請求項９～１３のいずれか１項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【従来の技術】

臨床化学の分野は、体液中の種々の物質の検出および定量に関する。この分野の一つの重要な側面において、個体の血液中に自然に生じる物質、例えばコレステロールまたはグルコースの濃度が測定される。臨床化学において血液試料に対してもっともよく使用される分析装置の一つが試験ストリップである。試験ストリップを血液試料と接触させると、試験ストリップに組み込まれた特定の試薬が、測定される分析対象物と反応して、検出可能な信号を発する。信号は、比色センサの場合のように色の変化であってもよいし、電気化学系を使用して分析対象物と試薬系との反応から生じる電子の量を測定する場合のように、試験される血液試料中の分析対象物の濃度に比例する電流の変化であってもよい。試薬系に酵素を使用するような系は、酵素（生物学的物質）と分析対象物との相互作用に依存して検出可能な応答を得るため、「バイオセンサ」と言うこともできる。例えば、グルコースが分析対象物である場合、グルコースオキシダーゼと酸素との反応は、式（Ａ）によって示される。

【０００２】

【化１】

$$\text{グルコース} + O_2 \xrightarrow{\text{グルコースオキシダーゼ(GO)}} \text{グルコノラクトン} + H_2O_2 \qquad (A)$$

【０００３】

比色検定においては、放出された過酸化水素が、ペルオキシダーゼの存在下で、試験流体中のグルコース濃度に比例する、酸化還元指示薬の変色を生じさせる。比色試験は、酸化還元指示薬の変色を、既知のグルコース濃度の試験流体を用いて得られた変色と比較するためのカラーチャートの使用によって半定量的にすることができ、また、分光光度計を用いて結果を読み取ることによってさらに定量的にすることもできるが、その結果は、概して、電気化学的応答に基づいて分析対象物の濃度を測定するバイオセンサの使用によって得ることができる結果ほど正確でもないし速やかなものでもない。より高い精度は別として、電気化学的バイオセンサは、直接測定することができる電気信号を発することにより、簡略化された計器設計を容易にする。この種の電気化学的バイオセンサは、本明細書に引用例として含める同時継続中の出願第０８／４０４，３０３号に詳細に記載されている。

【０００４】

上記式（Ａ）を参照すると、適当な電極が、式（Ｂ）に示す、電極面におけるその電気酸化によるH_2O_2の生成を測定することができる。

【０００５】

$$H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2e^- \qquad (B)$$

【０００６】

電極で測定される酸化電流は、試験される血液試料中のグルコースの濃度に正比例する。

【０００７】

式（Ａ）によって示される反応の初期段階では、試験試料中に存在するグルコースが、酵素の酸化フラビンアデニンジヌクレオチド（ＦＡＤ）中心をその還元形態（$FADH_2$)に変換する。これらの酸化還元中心は本質的に酵素のグリコシル化タンパク質シェルによっ

て電気絶縁されているため、従来の電極の表面への直接的な電子移動は、許容不可能に高い槽電圧を用いない限り、測定可能な程度には起こらない。この系に対する改良は、電極と酵素との間の非生理的な酸化還元カップリングを利用して、（ＦＡＤＨ$_2$)と電極との間で電子をシャトルすることを含む。これを次式によって示す。式中、通常は媒介物と呼ばれる酸化還元カップリング剤をＭで示す。

【０００８】

グルコース＋ＧＯ（ＦＡＤ）→グルコノラクトン＋ＧＯ（ＦＡＤＨ$_2$）

ＧＯ（ＦＡＤＨ$_2$)＋２Ｍ$_{ox}$→ＧＯ（ＦＡＤ）＋２Ｍ$_{red}$ ＋２Ｈ$^+$

２Ｍ$_{red}$ →２Ｍ$_{ox}$＋２ｅ$^-$ （電極において）

【０００９】

式中、ＧＯ（ＦＡＤ）はグルコースオキシダーゼの酸化形態を表し、ＧＯ（ＦＡＤＨ$_2$)はその還元形態を示す。媒介種Ｍ$_{ox}$／Ｍ$_{red}$ は、電子を還元された酵素から電極にシャトルし、それにより酵素を酸化させて、その場でそれを再生させる。

【００１０】

多くの化合物が、還元された酵素から電子を受容し、その電子を電極に移すそれらの能力により、媒介物として有用である。分析測定における電子移動剤として有用であることが知られる媒介物には、米国特許第４，７４６，６０７号明細書に開示された置換ベンソーおよびナフトキノン類；欧州特許第０３５４４４１号公報に具体的に開示された窒素酸化物、ニトロソ化合物、ヒドロキシルアミン類およびオキシン類；欧州特許第０３３５１７号公報に開示されたフラビン類、フェナジン類、フェノチアジン類、インドフェノール類、置換１，４－ベンゾキノン類およびインダミン類ならびに米国特許第３，７９１，９８８号明細書に記載されたフェナジニウム／フェノキサジニウム塩がある。生物学的酸化還元系の電気化学的媒介物の包括的考察は、Analytica Clinica Acta. 140 （1982）の１～１８頁に見ることができる。

【００１１】

比較的有意義な媒介物には、Schlapfer らにより、Clinica Chimica Acta., 57 （1974）の２８３～２８９頁に論じられている、フェリシアン化物としても知られるヘキサシアノ鉄（III)酸塩がある。米国特許第４，９２９，５４５号明細書には、可溶性フェリシアン化化合物を可溶性の第二鉄化合物と組み合わせた組成物を使用して、試料中の分析対象物を酵素的に測定することが開示されている。式（Ａ）において、フェリシアン化物で酸素を置換すると、フェリシアン化物がグルコースオキシダーゼ酵素から電子を受容することによってフェロシアン化物に還元される。これを次式に示す。

【００１２】

【化２】

$$\text{グルコース} + 2\,Fe^{+++}(CN)^{3-}_6 \xrightarrow{(GO)} \text{グルコノラクトン} + 2\,Fe^{++}(CN)^{4-}_6$$

【００１３】

この反応を表すもう一つの方法は、以下の式（Ｃ）の使用による。

【００１４】

$$\text{グルコース}+GO\,(FAD) \rightarrow \text{グルコノラクトン}+GO\,(FADH_2)$$

$$GO\,(FADH_2)+2Fe\,(CN_3)^{3-}_6 \rightarrow GO\,(FAD)+2Fe\,(CN)_6^{4-}+2H^+$$

$$2Fe\,(CN)_6^{4-} \rightarrow 2Fe\,(CN)_6^{3-}+2e^- \quad (\text{電極において})$$

(C)

【００１５】
放出される電子は、血液試料中のグルコースの量に直接的に等しく、電位を流体に印加したときその中に発生する電流を測定することにより、そのグルコースの量に相関させることができる。
【００１６】
上記から明らかであるように、媒介物に必要な属性は、電気化学的センサの使用の前に電極面に存在する条件のもとで酸化状態にとどまる能力である。媒介物の還元は、バックグラウンド電流を増し、その結果、バイオセンサの読取り値を偏らせる。これらの媒介物には、特に負荷条件下で時間とともに還元され、それにより、それらが適用されるセンサの有用性を減らす傾向がある。媒介物のこの還元は、媒介物を担持する電極に正電位パルスを印加することによって逆転させて、少なくとも一部をその酸化形態に戻すことができる。以下「バーンオフ（burn-off）」と言う、このパルスの電極への印加が、測定することができる電流を電極間に生じさせる。バーンオフパルスを所定期間、通常は数秒間維持したのち、系をオフに切り換えて、一定の遅延期間だけ開回路とし、その間に、第二の電位を電極間に印加し、得られる電流を測定してリード電流を得ることにより、分析対象物の濃度を測定する。この技術は、本明細書に引用例として含める同時継続中の出願第０８／４３５，９９３号に詳細に記載されている。動的な電流プロフィール、すなわち、時間とともに起こる電流の変化は、感知系および試験試料ごとに特徴的である。バーン電流に対するリード電流の比（Ｒ／Ｂ）が、動的な電流プロフィールの特徴を表す方法を提供する。
【００１７】
上述したタイプの臨床分析は正確でなければならない。使用者対照溶液を使用して、試験計器および／または感知装置のセンサが正しく作動するかどうかを判断することにより、この精度を立証することができる。使用者対照溶液は、品質管理のために試験されるが、較正には使用されない。既存の市販使用者対照溶液には、ＷＯ９３／２１９２８－Ａに開示されている、水と、所定量のグルコースと、キサンタンと、反応速度調節剤としてのホスフェートと、固定したヒトまたはウシ赤血球とを含むものがある。
【００１８】
ＷＯ９５／１３５３５には、水と、所定量のグルコースと、５個を超える炭素原子を有するジヒドロキシアルコール、好ましくはジプロピレングリコールとを含む非血清ベースの対照試薬が開示されている。
【００１９】
ＷＯ９５／１３５３６には、グルコース測定に用いるための、所定量のグルコースと、水と、粘土鉱物と、緩衝剤と、防腐剤と、界面活性剤と、着色または色形成化合物との混合物を含む無血清対照試薬が開示されている。
【００２０】
既存の市販対照溶液は、グルコース測定系が正しく作動しているかどうかをチェックする目的には役立つが、計器は、試験される試料が対照溶液であるのか本物の血液試料であるのかを判断することができない。これは、一定期間の血中グルコースプロフィールをデータ記憶装置からダウンロードし、解析し、医療目的に使用することができるよう、試験結果を自動的に記憶装置に記憶する自動記憶機能を有する計器を使用する場合に問題となる。系は、対照溶液と血液とを区別することができないため、両方の値が記憶装置に記録され、対照溶液から得られた結果が、削除されないならば、記憶装置に含まれるグルコースプロフィールを歪曲してしまう。試験が完了したならば、対照溶液を使用して得られた結果を記憶装置から削除することができるような機構を計器に設けることにより、この問題を軽減することができる。いくつかの市販のグルコース計は、マニュアル式の削除プロトコルを提供する。しかし、使用者が対照データをメモリから削除することを忘れたり怠ったりする危険があるため、このマニュアル式削除技術は絶対に安全とはいえない。
【００２１】
【発明が解決しようとする課題】

血液ではなく対照溶液が試験されている場合を感知装置に自動的に検出させる対照溶液および電流測定感知装置試験方法を提供することが望ましく、それが本発明の目的である。

【００２２】

さらなる目的は、感知装置が、対照溶液を用いて生成されたデータを血液データの記憶装置から自動的に除外する記憶装置を有するような方法を提供することである。

【００２３】

これらの目的は、血液試料から生成された電流プロフィールと区別することができる、バーンオフ期間およびリード期間の電流プロフィールを生成する対照溶液の配合によって達成される。

【００２４】

【課題を解決するための手段】

本発明は、血液試料中の分析対象物の濃度を測定するのに有用である電気化学的感知装置の性能を試験するための対照水溶液である。電気化学的感知装置は、作用電極および参照電極を含む。作用電極は、その表面に、分析対象物に対して特異的な酵素と、分析対象物と酵素との反応に応答して還元される種である媒介物とを含む組成物を有している。分析対象物の濃度は、作用電極を流れる電流の関数として測定される。装置を作動させて血液中の分析対象物の濃度を測定する間に動的な電流プロフィールが生じ、このプロフィールを、感知装置と電気的に接続した計器によって測定する。

【００２５】

計器および感知装置の正しい機能を試験するためには、既知の量の分析対象物を含有する対照溶液を使用することができる。本発明は、血液を用いて得られるであろうものとは明確に異なる動的な電流プロフィールを提供するように設計された対照溶液の使用を含む。計器が、それぞれ別個の分析を記録する記憶装置に接続されていると、その記憶装置は、血液試料によって示される動的な電流プロフィールに相当する読取り値だけを受け入れ、対照溶液を用いて得られた読取り値を除外するように設計することができる。このようにして、記憶装置は、分析対象物測定装置の使用者の血液中の分析対象物の濃度を示さない対照溶液を使用して得られる読取り値の包含によって歪曲されずに済む。

【００２６】

同様に本発明の範囲に含まれるものは、上述の対照溶液を使用して電気化学的感知装置の性能を試験する方法である。

【００２７】

【発明の実施の形態】

本発明の要点は、測定装置のマイクロプロセッサによって血液のものとは異なると認めることができ、よって記憶装置から除外することができる動的な電流プロフィールを示す対照溶液の提供である。対照溶液によって示される動的な電流プロフィールを変えることができる種々の技術がある。例えば、酸化還元媒介物にとっては弱い溶剤である有機溶剤を対照水溶液に加えることにより、媒介物の溶解速度が落ちる。すなわち、試験溶液中の媒介物の濃度が試験の初期段階（バーン期間）で下がり、それにより、所与の分析対象物濃度でリード電流に対してバーン電流が減少し、血液のような純粋な水性試験試料によって得られるものとは異なる動的な電流プロフィールが生じる。あるいはまた、バーン電流は、適切な濃度の酸化剤を対照溶液に含めることによって減らすことができる。酸化剤を含有する対照溶液を試験するとき、還元された媒介物は、溶解したのち、酸化剤によってただちに酸化される。換言するならば、酸化剤が、還元された媒介物から電極の表面に流れる電子を短絡させ、その結果、バーン電流の減少を生じさせる。適切な濃度では、酸化剤はバーン期間中に減少し、リード電流が有意に影響される。これもまた、酸化剤を含まない試験試料によって得られるものとは異なる動的な電流プロフィールを生じさせる。

【００２８】

動的な電流プロフィールの特性はいくつかの方法で表すことができる。計器が異なる電流プロフィールを認識し、ひいては異なる試料、すなわち対照か血液かを認識することができるよう、相当する規準関数をマイクロプロセッサ中に設定することができる。例えば、

バーン電流の変化速度を利用して、動的なバーン電流プロフィールの特性または形を表すことができる。血液試料が試験されるとき、センサの試薬は速やかに再水和し、バーン電流は、試験開始ののち数秒で高速で単調な減衰を示して、バーン電流の変化速度が高くなり、負号を有するようにする。しかし、試験試料が、有機溶剤または酸化剤を含有する対照溶液であるとき、バーン電流が減少するだけでなく、バーン電流の変化速度もまた変化して、ゆっくりした増大を示す。すなわち、バーン電流の変化速度が落ち、対照溶液に対して正号を有する。したがって、バーン電流の変化速度は、規準関数として設定することができる。バーン電流中の変化速度が高く、負号を有するとき、試験試料は血液である。バーン電流中の変化速度が低く、正号を有するとき、試験試料は対照溶液である。あるいはまた、バーン電流に対するリード電流の比（Ｒ／Ｂ）を使用して、血液試料および対照溶液の動的な電流プロフィールにおける差を表すことも可能である。上記に論じたように、バーン電流は、対照溶液への有機溶剤または酸化剤の添加によって減少するが、リード電流は有意な影響を受けない。したがって、Ｒ／Ｂ比は、血液試料よりも対照溶液の場合の方が大きい。Ｒ／Ｂ関数は規準として設定することができる。Ｒ／Ｂが一定の値よりも大きいとき、試験物質は対照溶液である。Ｒ／Ｂがその値よりも小さいとき、試験物質は血液試料である。

【００２９】

本発明の好ましい実施態様においては、センサの動的な電流プロフィールは、感知装置の電極に初期電位を印加して、還元を受けた媒介物の少なくとも一部を酸化させ、電極間に流れる電流を測定してバーン電流を得ることによって測定する。この時点で、系が開回路に切り換えられる。すなわち、電極に印加される電位が断たれ、設定された遅延期間中、センサの２個の電極における電子回路の出力インピーダンスが無限に高まり、その後、第二の電位を電極間に印加し、電極間を流れる電流を測定してリード電流を得ることによって分析対象物の濃度が測定される。動的な電流プロフィールの特性は、バーン電流に対するリード電流の比によって表すことができる。

【００３０】

対照溶液は、４種の基本要素を含む水ベースの組成物である。４種の基本要素とは次のものである。

【００３１】

第一の基本成分は、血液に似た流体力学的性質を有する、すなわち、血液中の電解質の拡散挙動および粘性を示すポリマー物質である。適当なポリマーには、ポリエチレンオキシド、ポリ（ヒドロキシエチル　メタクリレート）および／またはポリビニルピロリドンがある。通常、対照溶液は、これらのポリマー成分１種以上を１２～２０％（ｗ／ｖ）含有する。

【００３２】

第二の基本成分は、所定量の分析対象物である。分析対象物の濃度は、分析装置が検出能力を有する濃度限界内にある限り、特に重要ではない。適当な酵素が作用電極に付されているならば、種々の分析対象物、例えばコレステロール、アルコール、グルタメート、ラクテートおよびグルコースを、考慮されるタイプの分析装置によって測定することができる。グルコースを測定するための、酵素がグルコースオキシダーゼである感知装置の場合、対照溶液中のグルコースの濃度は通常３０～４００㎎／dLの範囲である。

【００３３】

センサが最適かつ再現可能な性能を発揮するためには、対照溶液は４．８～７．５のpH範囲に緩衝される。用いる緩衝剤の特定は重要ではない。好ましい緩衝剤には、対照溶液のpHを所望の範囲に維持するのに十分な量のクエン酸／クエン酸ナトリウム、リン酸またはリン酸ナトリウム、あるいはリン酸／リン酸ナトリウムがある。

【００３４】

最後に、対照溶液には、血液のものとは明確に異なる動的な電流プロフィールをセンサに示させるような方法で、センサの酵素には実質的に影響せずセンサに影響する物質が含められる。動的な電流プロフィールの特性を表す一つの方法は、バーン電流に対するリード

電流の比（Ｒ／Ｂ）を利用する方法である。Ｒ／Ｂ比が事前設定範囲に適合する結果だけを受け入れるように分析装置のマイクロプロセッサをプログラムすることにより、その範囲外のＲ／Ｂ比を示す試験を自動的に除外する。前記のセンサを使用する試験の動的な電流プロフィールは、媒介物の機能に影響する成分を対照溶液に加えることにより、非常に好都合に変化させることができる。例えば、エチレングリコールを対照溶液に加えて、対照溶液が完全に水ベースの系である場合よりもゆっくりと溶液に媒介物を溶解させることができる。例えば、フェリシアン化物が媒介物である場合、１５～５０％（ｗ／ｖ）のエチレングリコールの添加が、血液を用いて得られるものとは十分なほど明確に異なる動的な電流プロフィール（ひいてはＲ／Ｂ比）を示す対照溶液を得るのに十分なほど媒介物の溶解を減速させ、これによりマイクロプロセッサは、非血液試料として認識し、記憶装置にそれは入力されない。バーン電流がリード電流よりもはるかに大きく減少するため、媒介物の溶解速度の減少はＲ／Ｂ比を増大させる。媒介物の溶解速度を落とすために対照溶液に加えることができる他の添加物の例には、Ｎ－メチルピロリドンおよびｎ－プロパノールがある。対照溶液に加えるすべての添加物は、当然、試薬中に存在する酵素と適合性でなければならない。

【００３５】

媒介物の溶解速度を落とす以外の方法で、その動的な電流プロフィールを変化させる添加物を対照溶液に加えてもよい。例えば、酸化剤を加えると、媒介物を部分的に酸化させることができる。これが、還元された媒介物から電極に流れる電子の短絡によりバーン電流を減少させ、動的な電流プロフィールに影響する。適当な酸化剤には、過マンガン酸カリウム、過クロム酸カリウム、重クロム酸カリウム、過塩素酸ナトリウムおよび過ヨウ素酸ナトリウムがある。適切な濃度の酸化剤を選択することにより、それはバーン期間中に消滅し、リード電流は有意な影響を受けない。したがって、対照の場合にＲ／Ｂ比が増大する。

【００３６】

【実施例】

本発明を実施する方法を以下の実施例によってさらに説明する。

【００３７】

実施例Ｉ

Ａ．（対照溶液の配合）

グルコースを除いてすべてを含有する対照ストックを二つの主要工程で製造した。

ｉ）第一工程は、ＰＶＰストック（クエン酸緩衝液中のポリビニルピロリドン溶液）の製造工程である。ＰＶＰストックの組成を表１に示す。

【００３８】

【表１】

表１

成　分	量、g/l
ＰＶＰ	220
水素化ホウ素ナトリウム	0.969
クエン酸	9.83
クエン酸ナトリウム	28.00
安息香酸ナトリウム	2.00
ＤＩ水	１Ｌにするための必要量

【００３９】
ＰＶＰを攪拌しながら非常にゆっくりと水に加え、溶解させた。次に、水素化ホウ素ナトリウムを穏やかに攪拌しながら加えて、重合処理から持ち越されたおそれのある酸化性不純物を還元した。反応が完了すると、未反応の水素化ホウ素を分解するため、クエン酸を加えてpHを下げた。最後に、クエン酸ナトリウムを加えてpHを５．０の所望の水準にした。
【００４０】
ii）第二工程は、エチレングリコールおよび赤色染料のＰＶＰストックへの添加工程である。ＰＶＰストック７５容量部をエチレングリコール２５容量部と混合することにより、対照ストックを製造した。ＦＤ＆Ｃ赤染料＃４０を対照ストック１リットルあたり０．４ｇの濃度で加えて、見かけ上血液に似せた濃赤色を対照溶液に与えた。グルコースを以下の三つの濃度で対照溶液に加えた。
低：　９７mg／dL
正常：１５２mg／dL
高：　３７１mg／dL
【００４１】
Ｂ．（Ａの血液試料およびＡの対照溶液を用いる試験）
計器がオンであり、センサが感知位置にある状態、すなわちセンサの電極上の接触パッドが計器の電子回路と接触している状態で、電極に０．４ボルトの電位を付した。試料（血液または対照溶液）を、グルコースの存在下で前記の電子化学的反応に介在して電子を提供するグルコースオキシダーゼおよびフェリシアン化物を担持する作用電極を備えたセンサに付した。試料によって濡れると、計器は電流スパイクを検出し、３０秒間継続する試験のタイミングを開始した。この最初の１０秒間はバーン期間であった。試験開始後１０秒目に、バーン電流（i_{burn}）を記録し、電極に印加される電位を断って電極間を開回路とした。「待機期間」と言う開回路状態を１０秒間維持して、グルコースと試薬との反応を進行させた。試験開始後２０秒目に、０．４ボルトの電位を再び電極に印加して、１０秒間のリード期間を開始させた。試験開始後３０秒目に、リード電流（i_{read}）を記録し、電極に印加される電位を断った。これで試験を完了した。図１は、血液（ＷＢ）および対照に関する試験の電流プロフィールを示す。記録された電流は次のとおりであった。
ＷＢ　　i_{burn}＝１５８６（nA）　　i_{read}＝１１２７（nA）
対照　　i_{burn}＝８６５（nA）　　i_{read}＝９５５（nA）
【００４２】
Ｃ．（計器による対照試料の検出）

図１から、対照溶液を用いて得られる動的な電流プロフィールが血液を用いて得られるものとは明確に異なることを見てとれる。バーン電流は、対象の場合には、時間とともにゆっくりした単調な増加を示すが、血液試料の場合には、試験開始直後を除き、時間とともに速やかな減衰を示す。バーン電流に対するリード電流の比を使用すると、電流プロフィールにおける差を定量化することができる。

【００４３】

試験が完了すると、計器中のマイクロプロセッサが式（１）にしたがってグルコース値を計算する。

【００４４】

$G = (i_{read} - 370.73) / 9.33\ mg/dL$ （１）

【００４５】

そして、式（２）にしたがって、バーン電流に対するリード電流の比を計算する。

【００４６】

$R / B = i_{read} / i_{burn}$ （２）

【００４７】

マイクロプロセッサに記憶されている、バーン電流に対するリード電流の比の規準関数は次のとおりである。

【００４８】

【数１】

if $G \leq 150$ and if $R/B > 0.75 + 0.001*G$

then: この試料は対照溶液であり、血液に関する記憶装置からこのデータを削除する（ここで、『if…then』は論理関数であり、この論理関数により設定された比較の結果にしたがってマイクロプロセッサが選択しうる）

else: この試料は血液であり、血液に関する記憶装置中にこのデータを入力する。

else:

if $G > 150$ and if $R/B > 0.8625 + 0.00025*G$

then: この試料は対照溶液であり、血液に関する記憶装置からこのデータを削除する。

else: この試料は血液であり、血液に関する記憶装置中にこのデータを入力する。

【００４９】

図１に示す試験結果から得られたＧおよびＲ／Ｂの値は次のとおりである。

【００５０】

【数２】

WB: G = (1127 - 370.73)/9.33 = 81 mg/dL

R/B = 1127/1586 = 0.711 <0.75 + 0.001 * 81 = 0.831

対照: G = (955 - 370.73)/9.33 = 63 mg/dL

R/B = 955/865 = 1.104> 0.75 + 0.001 * 63 = 0.813

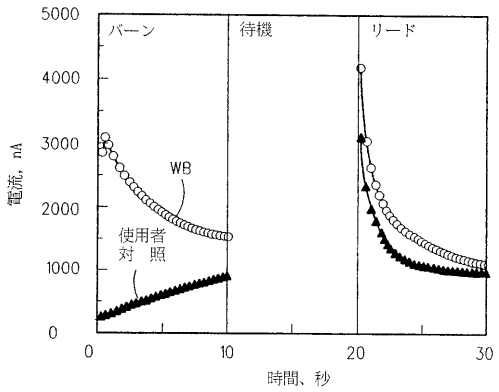
【００５１】

血液および対照の試験から得られたデータを規準関数に照らしてチェックすると、マイクロプロセッサによって試料がそれぞれ血液および対照として判定され、対照のデータが血液用の記憶装置から除外される。

【図面の簡単な説明】

【図１】血液（ＷＢ）および対照に関する試験の電流プロフィールを示すグラフである。

【図１】



フロントページの続き

(56)参考文献 特表平０３－５０５４８２（ＪＰ，Ａ）
特表平０９－５０５１４２（ＪＰ，Ａ）
米国特許第０５３１２５９０（ＵＳ，Ａ）
特開平０８－３０４３４０（ＪＰ，Ａ）
特表２００１－５１１８８１（ＪＰ，Ａ）
米国特許第０４９２９５４５（ＵＳ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
G01N 33/48-98