



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 691 33 252 T2 2004.01.29**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 540 691 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **691 33 252.5**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US91/05071**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **91 915 841.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 92/001928**

(86) PCT-Anmeldetag: **18.07.1991**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **06.02.1992**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **12.05.1993**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **29.01.2004**

(51) Int Cl.7: **G01N 27/30**

**G01N 31/12, G01N 27/02, G01N 27/416,**

**G01N 27/28, G01N 27/00, G01N 31/00,**

**G01F 1/66**

(30) Unionspriorität:

**555976 20.07.1990 US**

(73) Patentinhaber:

**I-Stat Corp., Princeton, N.J., US**

(74) Vertreter:

**Andrae Flach Haug, 81541 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LI, LU, NL, SE**

(72) Erfinder:

**COZZETTE, N., Stephen, Hightown, US; DAVIS, Graham, Plainsboro, US; HOLLERITTER, Ann, Lisa, Oak Ridge, US; LAUKS, R., Imants, Ottawa, US; PIZNIK, Sylvia, Jackson, US; SMIT, J., Nicolaas, Woodlawn, CA; TIRINATO, Ann, Jody, Toms River, US; WIECK, J., Henry, Plainsboro, US; ZELIN, P., Michael, Brooklyn, US**

(54) Bezeichnung: **ANALYTMESSMETHODE MIT SENSOREN WÄHREND DER WET-UP PHASE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

## Beschreibung

[0001] Die vorliegende US-Anmeldung ist mit den früheren mitanhängigen US-Anmeldungen Nr. 07/432,714, die am 7. November 1989 angemeldet wurde, und Nr. 07/245,102 verwandt, die am 15. September 1988 angemeldet wurde.

### 1. GEBIET DER ERFINDUNG

[0002] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Quantifizieren einer vorausgewählten Analytspezies, die in Fluiden vorliegt, das einen Vorteil von den guten Ausgleichseigenschaften beim Befeuchten von trocken gelagerten, im ganzen mikroerzeugten elektrochemischen Sensoren hat. Diese und weitere Leistungscharakteristika werden von einem Herstellungsverfahren erhalten, das in der mitanhängigen US-Anmeldung Nr. 07/432,714 beschrieben ist, die einen höheren Gleichförmigkeitsgrad bezüglich der physikalischen Abmessungen und der sich ergebenden Eigenschaften derartiger elektrochemischer Sensoren erreicht. Die Erfindung erlaubt auch das Erfassen analytischer Daten, während das Signal des fraglichen Sensors noch den Vorgang einer Ausgleichsbefeuchtung durchmacht. Insbesondere umfaßt das vorliegende Verfahren das Ableiten nützlicher Informationen von den mikroerzeugten elektrochemischen Sensoren, welche Sensoren trocken gelagert wurden, sehr viel schneller als zuvor gedacht, praktisch durch Erfassen und Manipulieren ausgewählter Signalmessungen lange bevor die Sensoren eine Antwort in einem befeuchteten Zustand nach dem Ausgleichen (d. h. in einem stationären Zustand) erreicht haben. Höchst bemerkenswert schafft die Erfindung ein Verfahren zum Verbinden der Signalmessungen, die in verschiedenen Fluiden aufgezeichnet wurden, um das Verhältnis der Konzentration einer vorausgewählten Analytspezies in jedem Fluid zu bestimmen. Das vorliegende Verfahren verwendet Berechnungsmittel, die die Signalantwort eines bestimmten elektrochemischen Sensors von Änderungen in der Analytkonzentration unterscheiden können, welche Antwort relativ zu dem langsameren monotonen "Befeuchtungs"-Verhalten des Sensors und seiner zugehörigen Referenzelektrode schnell ist.

### 2. HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0003] Der jüngste Schwerpunkt in der Entwicklung klinischer Chemietechnik wurde auf die Entwicklung von Systemen für "Echtzeit"-Analyse von biologischen Fluiden oder solche Analysen gelegt, die in nächster Nähe des Patienten durchgeführt werden können, z. B. am Bett oder in dem Arztzimmer. Derartige biologische Fluide umfassen Urin, Plasma, Serum und vorzugsweise Vollblut. Klare Vorteile werden erreicht, wenn die chemische Information, die von dem Arzt gefordert wird, während der Patientenvisite erhalten wird, und nicht einige Stunden oder Tage danach. Obwohl ein Fortschritt in Richtung des Erreichens eines derartigen Ziels gemacht wurde, bestehen weiterhin viele Probleme, einschließlich der Beschränkungen etablierter Herstellungsverfahren für elektrochemische Massenproduktvorrichtungen mit hinreichend gleichförmigen Leistungscharakteristika und verlängerten Lagerzeiten. von besonderem Interesse ist das Fehlen adäquater Rechentechniken, die die Zeit minimieren, die erforderlich ist, um eine nützliche Information von derartigen elektrochemischen Vorrichtungen zu erhalten.

[0004] Bis heute wurden Fluidanalysen unter Verwendung vieler Arten elektrochemischer Sensoren ausgeführt, in denen Widerstands-, Strom- oder Leitfähigkeitsmessungen in einem stationären Zustand oder auf eine kinetische Weise (z. B. die Anfangsrate) durchgeführt werden. Elektrochemische Sensoren, die für diese Messungen eingesetzt werden, bestehen üblicherweise aus einer Zwei-Komponenten-Anordnung, bei der eine sensitive Membran zwischen das Fluid und einer darunterliegenden Elektrode zwischengelegt wird. Einige Membranstrukturen haben Fähigkeiten, bestimmte Spezies zu erkennen, was es dem elektrochemischen Sensor ermöglicht, das fragliche Analytspezies zu detektieren und seine Konzentration in einem komplexen biologischen Fluid zu messen. Bis heute haben jedoch Beschränkungen der Größe, der Komplexität und des Preises kombiniert mit einer hohen Fehlerbehaftung, die sowohl von der Qualitätskontrolle des Instruments als auch zufälligen Fehlern von dem Bediener herrühren, eine großflächige Verwendung dieser Technologie an Orten verhindert, wie z. B. dem Operationssaal und dem Arztzimmer, die fern von dem zentralen klinischen Chemielabor sind. Überdies sind die meisten analytischen Testverfahren, die derzeit in Verwendung sind, unhandlich oder komplex. Noch entscheidender kann die Antwort der elektrochemischen Vorrichtung selbst so langsam sein, daß sie eine derartige "Echtzeit"-Analyse sehr schwierig macht. Es sollte erwähnt werden, daß die Konzentration bestimmter Komponenten, wie z. B. Glukose und Kaliumionen in einem biologischen Fluid (z. B. Vollblut) über eine längere Zeitdauer erheblich schwanken können. Die Änderungen stammen wahrscheinlich von Hämolyse verwandter metabolischer Vorgänge.

[0005] Wie zuvor erwähnt, ist ein Haupthindernis gegenüber der erfolgreichen Anwendung klinischer "Echtzeit"-Analyse von Fluiden das Fehlen zuverlässiger Herstellungsverfahren für Sensoren. Gleichmaßen fehlen jedoch Verfahren zur Datenerfassung und -handhabung, die das schnelle Empfangen von Informationen von bestehenden chemischen Meßvorrichtungen ermöglichen, von denen einige im wesentlichen trocken ge-

lagert werden, um die Lagerzeit zu maximieren. Das vorherrschende Standardverfahren diktiert, daß man diese "trocken gelagerten" Vorrichtungen einen voll ausgeglichenen "befeuchteten" Zustand erreichen läßt, bevor man aussagekräftige Sensordaten aufzeichnen kann.

## 2.1. FRÜHERE VORRICHTUNGEN UND VERFAHREN FÜR DIE FLUIDANALYSE

[0006] Einiger Fortschritt wurde bei der Herstellung verbesserter Testvorrichtungen gemacht, einschließlich miniaturisierter chemischer Sensorgeräte. Das US-Patent Nr. 4,734,184, das für Burleigh et al. erteilt ist, offenbart eine Elektrodenanordnung zum Überwachen der Konzentration einer Anzahl von Gasen und Ionen, die in dem Blut vorkommen. Obwohl die Anordnung trocken gelagert wird, um eine verlängerte Lagerzeit zu fördern, werden die Elektroden vor der Verwendung sorgfältig hydriert (befeuchtet). Während des Betriebs sind sie in verlängertem und ausgeglichenem Kontakt mit den vielen eingesetzten Lösungen, einschließlich einer Kalibrierlösung, einer Referenzlösung und intermittierenden Blutproben. Auf diese Weise werden während der ununterbrochenen Überwachung für bis zu 36 Stunden von Gasen, Elektrolyten und Hämatokritwerten des Bluts einer Versuchsperson alle Messungen mit den Sensoren durchgeführt, die die Signalantworten in dem stationären Zustand bereitstellen. Es ist keine Offenbarung für das Ableiten aussagekräftiger analytischer Informationen von Elektroden im festen Zustand enthalten, bevor die Elektroden einen ausgeglichenen "Feucht"-Zustand erreichen.

[0007] Das US-Patent Nr. 4,654,127, das für Baker und Funk erteilt ist, offenbart eine Sensorvorrichtung, die mit speziesspezifischen Sensoren und einem drehbaren Multikammerbehälter ausgestattet ist, in dem Kalibrier- und Probenlösungen enthalten sind, aber in getrennten Kammern. Eine Vielzahl chemischer Spezies kann durch diese Vorrichtung detektiert werden. Jedoch war, weil die eingesetzten Sensoren nicht mikrofabriert sind, nur ein beschränktes Maß an Kontrolle über die Abmessungen der verschiedenen Komponenten des Sensors möglich, was dazu führte, daß sie ein nicht gleichförmiges Antwortverhalten aufweisen und die chargenweise Bestimmung von jeder Antwort des Sensors notwendig war. Der Wert der Antwort, z. B. Intercept und Neigung, wird dann auf einem Strichcode aufgezeichnet, der dann durch einen Tischanalytiker ausgelesen werden muß, bevor die Konzentration der gewünschten chemischen Spezies berechnet werden kann. Überdies schweigt die Offenbarung dieses Patents über die Verfahren, um verwendbare Messungen während des Befeuchtens der Sensorvorrichtung zu machen. Alle Hinweise einschließlich denen von verfügbaren Literaturprodukten, unterstützen die Annahme, daß die Kalibrier- und Probenlösungsmessungen ausgeführt werden, nachdem die Sensorantwort einen stationären Zustandswert erreicht hat. Überdies werden diese kommerziell erhältlichen Sensoren in einer stark feuchten Verpackung gelagert (d. h. im wesentlichen feucht). Dieses Verpackungsverfahren hat den Effekt, daß die Lagerzeit dieser Sensorvorrichtungen verglichen zu konkurrierenden Trockenreagenzsystemen, wie z. B. den unten beschriebenen, erheblich verkürzt wird. Jedoch gewährleistet dieser Kompromiß, daß die Vorrichtung beim Lagern im wesentlichen "befeuchtet" ist, und daß auf diese Weise der Sensor relativ schnell Ergebnisse liefern kann. Unglücklicherweise schränkt dieser Kompromiß die verwendbare Lagerzeit der Vorrichtung sehr stark ein, insbesondere für Sensorvorrichtungen auf Enzymbasis. Die Lagerzeit kann natürlich im gewissen Maß durch das Kühlen der Verpackung verlängert werden. Jedoch addiert sich das Kühlen zu den Kosten der Lagerung und bedeutet auch, daß die Vorrichtung vor der Verwendung wieder auf Raumtemperatur zurückkommen können muß.

[0008] Die US-Patente Nr. 4,708,776 und 4,608,149 offenbaren andererseits verbesserte "trocken betriebene" ionenselektive Elektroden. Die Erfinder beschreiben eine "trocken betriebene" Elektrode als "eine ionenselektive Elektrode, die eine reproduzierbare Widerstandsmessungsbestimmung der Ionenaktivität bereitstellt, die in Beziehung mit der Ionenkonzentration einer wäßrigen Testlösung steht, ohne die Anforderung zur feuchten Lagerung oder der Vorkonditionierung vor der Verwendung" (Spalte 2, Zeilen 10–15 des zweiten oben aufgeführten Patents). Diese Patente offenbaren auch Verfahren zum Verwenden derartiger Elektroden. Insbesondere wird die Widerstandsmessungsbestimmung der Konzentration von Natrium- und Kaliumionen in einer wäßrigen Flüssigkeit beschrieben. Jedoch beruht das Verfahren auf einer Differentialmessung, die das Berühren der ersten von zwei "gleichförmigen" Elektroden umfaßt, d. h. einem Paar identisch geformter kaliumionenselektiver Elektroden, wobei die Probe flüssig ist, und das Berühren der zweiten Elektrode mit einer Referenzflüssigkeit (Kalibriermittel), die eine bekannte Menge des fraglichen Ions enthält, und dann das Bestimmen des sich ergebenden Unterschieds zwischen den beiden Widerstandsauslesungen. Dieses Verfahren erfordert, daß die Proben- und Kalibrierlösung genau gleichzeitig in Kontakt mit der jeweiligen Elektrode gebracht werden, um zuverlässige Messungen der Analytkonzentrationen zu erhalten. Dementsprechend ist es notwendig, eine automatisierte Vorrichtung für die gleichzeitige Anwendung der Kalibrier- und Probenfluide bereitzustellen, um Fehler bei der Messung zu verhindern.

[0009] Pace beschreibt in der europäischen Patentanmeldung Nr. 0 012 035 mehrere selbst-kalibrierende miniaturisierte Sensoren, die auf einem einzelnen Chip fabriert sind. Die Nützlichkeit dieser Offenbarung ist sehr eingeschränkt, weil die genaue Natur der Materialien, die für jede der mehreren Schichten eingesetzt werden, die in den komplexen Sensorstrukturen beschrieben sind, nicht offenbart ist. Paare identischer Elektroden wer-

den eingesetzt, wobei ein erstes Element des Paares mit zumindest zwei unterschiedlichen Elektrolyt-"Schichten" bekannter Zusammensetzung und das andere Element des Paares entweder kein Elektrolyt in seinen entsprechenden Schichten vorliegend oder ein Elektrolyt darin vorliegend mit einer Konzentration hat, die erheblich unterschiedlich zu der von dem ersten Element ist. Eine Diskussion der selbst kalibrierenden Natur dieser Paare übereinstimmender Elektroden liegt vor und macht klar, daß ein differentielles Verfahren der Signalmessung eingesetzt wird, um "irgendwelche Drifts und Offsets bei der Messung zu beseitigen" (Seite 23, Zeilen 30–31). Überdies behauptet diese Referenz desweiteren, daß diese mehreren Schichten, die eine Selbstkalibrierung zur Verfügung stellen, "nicht nur eine eingebaute Zuverlässigkeit und Genauigkeit gewährleisten, sondern die Herstellungstoleranzen lockern" (Seite 26, Zeilen 1–4). Somit wurde keine erfolgreiche Vorrichtung offenbart, um einfachere Strukturen mit höheren Abmessungstoleranzen herzustellen, noch hat es irgendeinen Vorschlag gegeben, daß eine sinnvolle Information von den Signalantwortmessungen vor dem Erreichen einer vollständigen Befeuchtung abgeleitet werden können, noch weniger, daß ein Verfahren formuliert werden kann, bei dem derartige Messungen ausgenutzt werden.

[0010] Dementsprechend bleibt gegenwärtig ein Bedarf für ein Verfahren, das eine Meßvorrichtung integriert, vorzugsweise einen mikrofabrizierten elektrochemischen Sensor, mit der erforderlichen vorhersehbaren reproduzierbaren chemischen Antwort und "Befeuchtungs"-Charakteristika, und eine effektive Berechnungstechnik, welches Verfahren es dem Arzt ermöglicht, einfach präzise genaue Bestimmungen der Konzentration von Analyten von klinischem Interesse zu erhalten. Derartige Bestimmungen werden wünschenswerterweise in fünf Minuten oder weniger gemacht, eher vorzugsweise innerhalb von ungefähr einer Minute.

## 2.2. FRÜHERE VERWENDUNGEN VON POTENTIALIMPULSEN

[0011] Frühere Arbeiter haben Potentialimpulstechniken eingesetzt, um die Empfindlichkeit der elektrochemischen Messung zu erhöhen, oder die Fließabhängigkeit des Elektrodensignals zu vermindern. Jedoch haben diese früheren Anwendungen immer vollkommen befeuchtete Vorrichtungen eingesetzt, die für das ununterbrochene Überwachen von Analytkonzentrationen eingesetzt wurden. Bei derartigen Anwendungen strebten frühere Arbeiter danach, den Signalausgang zu verbessern, indem sie deren Auslesungen unmittelbar nach der Anwendung eines Potentialimpulses quer über die Sensorelektroden abnahmen. Die Kathode liegt zwischen den Impulsen des anliegenden Potentials an offenen Leitungen. Diese und damit verbundene Techniken sind vollständiger in Short, D. L. und Shell, G. S. G. J. Phys. E.: Sci. Instrum. 1985, 18, 79–87 und Lilley, M. D. et al. J. Electroanal. Chem. 1969, 23, 425–429 beschrieben.

[0012] Andererseits existieren Verfahren zum Aktivieren einer katalytischen Oberfläche einschließlich dem Wegpolieren der Oberflächenschicht mit einem inerten abreibenden Material feiner Partikelgröße, wie z. B. Aluminium oder dem Aussetzen der Elektrode einer korrodierenden sauren Lösung, wie z. B. 1-molarer Schwefelsäure und im zyklischen Durchlaufen des anliegenden Potentials für einige Minuten. Es ist klar, daß diese bestehenden Verfahren destruktiv sind und für die Aktivierung einer Elektrodenoberfläche ungeeignet sind, die mit mikrofabrizierten Bioschichten überzogen ist.

## 3. ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0013] Gemäß der vorliegenden Erfindung wird ein Verfahren zum Bestimmen des Verhältnisses (der Verhältnisse) der Konzentrationen vorausgewählter Analytspezies in mehr als einem Fluid offenbart, das zum Teil das Bereitstellen mikrofabrizierter Sensoren mit den erforderlichen Charakteristika, die unten vollständiger beschrieben werden, und das Durchführen von Signalmessungen umfaßt, bevor der ausgeglichene Befeuchtungsvorgang abgeschlossen ist, während die Sensoren und die Referenzelektrode in Kontakt mit einem ersten Fluid sind, und anschließend und getrennt, mit einem zweiten Fluid.

[0014] Bei dem vorliegenden Verfahren ist es unwichtig, welches Fluid zuerst mit dem Sensor in Kontakt gebracht wird, solange eine getrennte Signalmessung gemacht wird, während jedes Fluid in Kontakt mit dem Sensor und der Referenzelektrode ist. Trotz der Tatsache, daß solche Messungen gemacht werden, bevor die Sensoren vollständig "befeuchtet" sind, ein Verfahren, das einige Minuten dauern kann, können nützliche analytische Informationen über eine Vielzahl biologischer Analyte weiterhin überraschenderweise erhalten werden. Die Berechnungstechniken für das Extrahieren dieser Informationen aus den trocken gelagerten mikrofabrizierten elektrochemischen Sensoren werden offenbart. Somit ermöglicht die vorliegende Erfindung die Vereinfachung und die Trockenlagerfähigkeiten von mikrofabrizierten Sensoren, die auszunutzen sind, während Messungen vorausgewählter Analytspezies so nahe wie möglich in "Echtzeit" bereitgestellt werden.

[0015] Es ist somit eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zum Bestimmen des Konzentrationsverhältnisses einer vorausgewählten Analytspezies bereitzustellen, das in zumindest zwei Fluiden vorliegt, mit den folgenden Schritten: (a) Bereitstellen mindestens eines mikrofabrizierten chemischen Sensors, der eine Antwort auf Änderungen in der Konzentration einer vorausgewählten Analytspezies zeigt, und einer Referenzelektrode, die fähig ist, ein gutes Referenzpotential für eine Zeitdauer zu halten, die ausreichend ist,

und den Abschluß von zumindest zwei Signalmessungen zuzulassen, gegen welches Referenzpotential des Sensors gemessen wird, wobei der Sensor und die Referenzelektrode im wesentlichen trocken gelagert wurden, und wobei die Antwort hinreichend rasch oder "schnell" bezogen auf das "langsame" monotone Befeuchtungsverhalten ist, das von dem Sensor und der Referenzelektrode gezeigt wird, wenn es mit Fluid in Kontakt gebracht wird; (b) Herstellen elektrischen Kontakts zwischen dem Sensor, der Referenzelektrode und einer externen Berechnungsvorrichtung; (c) In-Kontakt-Bringen des Sensors und der Referenzelektrode mit einem ersten Fluid; (d) Durchführen der ersten der Signalmessungen in einem vorausgewählten ersten Zeitfenster in der Gegenwart des ersten Fluids, bevor der Sensor und die Referenzelektrode von dem Trockenzustand zu dem voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist; (e) Verdrängen des ersten Fluids; (f) In-Kontakt-Bringen des Sensors und der Referenzelektrode mit einem zweiten Fluid; (g) Durchführen der zweiten der Signalmessungen in einem vorausgewählten zweiten Zeitfenster in der Gegenwart des zweiten Fluids, bevor der Sensor und die Referenzelektrode von dem trockenen Zustand in einen voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen sind; und (h) Verbinden der ersten und zweiten Signalmessung mit der bekannten Konzentration der Analytspezies in einem Fluid von dem ersten oder zweiten Fluid, um die unbekannt Konzentration der Analytspezies in dem anderen der Fluide zu bestimmen, bevor der Sensor die voll ausgeglichene Befeuchtung erreicht.

[0016] Es ist auch eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zum Bestimmen der Konzentration einer Vielzahl vorausgewählter Analytspezies bereitzustellen, die in einem Probenfluid vorliegen, mit folgenden Schritten, als ein erster Schritt Bereitstellen eines Felds mikrofabrizierter Widerstandsmessungs- und Strommessungssensoren, von denen jeder auf Änderungen in der Konzentration einer bestimmten vorausgewählten Analytspezies empfindlich ist, und welches Feld auch eine oder mehrere Referenzelektroden umfaßt, die fähig sind, ein gutes Referenzpotential für eine Zeitdauer zu halten, die ausreichend ist. Vorzugsweise ist eine Referenzelektrode den Widerstandsmessungssensoren dediziert, und eine andere Referenzelektrode ist den Strommessungssensoren dediziert. Jedoch kann auch eine einzige Referenzelektrode für beide Sensorarten verwendet werden, wenn die Strommessungssensoren mit einer gemeinsamen Zählelektrode geliefert werden. Die Zählelektrode ist ausgelegt, um eine Polarisation der Referenzelektrode zu verhindern, wobei die Wirkung dieser Polarisation für die Leistungsfähigkeit von Widerstandsmessungssensoren schädlicher ist. Wie oben erwähnt, wurde jeder Sensor im wesentlichen trocken gelagert und zeigt ein Antwortverhalten auf die Änderungen in der Konzentration der bestimmten vorausgewählten Analytspezies, die relativ zu dem monotonen Befeuchtungsverhalten der Sensoren relativ schnell ist; (b) Herstellen eines elektrischen Kontakts zwischen dem Feld von Sensoren und der äußeren Rechenvorrichtung; (c) das Feld von Sensoren mit einem ersten (z. B. Kalibrier-) Fluid in Kontakt bringen; (d) Durchführen eines ersten Satzes Signalmessungen in einem vorausgewählten ersten Zeitfenster in der Gegenwart des ersten Fluids, bevor der Sensor von dem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist; (e) Verdrängen des ersten Fluids; (f) das Feld mit einem zweiten (z. B. Proben-) Fluid in Kontakt bringen, von dem man erwartet, daß es die Vielzahl von Analytspezies enthält, derart, daß das Feld von Sensoren mit dem zweiten Fluid in Kontakt gebracht wird; (g) Durchführung eines zweiten Satzes Signalmessungen in einem vorausgewählten zweiten Zeitfenster in der Gegenwart des zweiten Fluids, bevor der Sensor von dem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist; und (h) Verbinden des ersten und zweiten Satzes von Signalantwortmessungen, um die Konzentration einer Vielzahl der vorausgewählten Analytspezies in dem zweiten Fluid durch ein Rechenverfahren zu bestimmen, das die relativ schnelle Antwort des Sensors gegenüber Änderungen in der Konzentration des vorausgewählten Analyts von dem langsameren Befeuchtungsverhalten des Sensors und der Referenzelektrode unterscheidet, aufgrund der bekannten Konzentrationen jeder der vorausgewählten Analytspezies in dem ersten Fluid zu bestimmen.

[0017] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zum Aktivieren der Elektrodenoberfläche eines Strommessungssensors bereitzustellen, indem der Sensor einer Reihe von Potentialänderungen unterworfen wird, während er in Kontakt mit einem Fluid ist, vorzugsweise einem Kalibrierfluid.

[0018] Noch eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung umfaßt das Bereitstellen eines Leitfähigkeitssensors, durch den die Leitfähigkeit des Fluids, das in Kontakt mit dem Leitfähigkeitssensor ist, bestimmt werden und, wenn gewünscht, mit dem Hämatokritwert in der Probe verbunden werden kann, oder einfacher, einen Hinweis zu schaffen, ob das Fluid ein Kalibrierfluid, ein Plasma, ein Serum oder Vollblut ist, oder sogar, um eine Prüfung auf das Vorhandensein einer Probe oder eines Kalibrierfluids bereitzustellen.

[0019] Noch eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung umfaßt eine Bestimmung der Konzentration der fraglichen Analytspezies in ungefähr einer Minute unter Verwendung trocken gelagerter Sensoren.

[0020] Noch eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung betrifft das Minimieren des Auftretens von Test-"Fehlern" durch das Einbeziehen von Datensammelverfahren, die es der Testvorrichtung erlauben, die Unversehrtheit der erfaßten Signale zu prüfen, und die Datensätze zu manipulieren, um fremde oder anormale Datenpunkte auszuschließen, die anderenfalls zu einer Zurückweisung einer bestimmten Analyse führen würden.

[0021] Weitere Aufgaben der vorliegenden Erfindung sollten ohne weiteres den Fachleuten aus der folgenden

Diskussion ebenso wie der folgenden zusätzlichen detaillierten Offenbarung klar werden.

#### 4. KURZBESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0022] **Fig. 1** zeigt die Rohwellenform, die ein mikrofabrizierter Widerstandsmessungs-Kaliumionensensor gegen Masse zeigt (a), ausgesetzt gegenüber einem Kalibrierfluid (b) das anfängliche Befeuchten des Sensors (c), gefolgt vom Übergang zu dem Probenfluid (e). Geeignete vorausgewählte Zeitfenster für die Datenerfassung in jedem Fluid werden durch variable Zeitsegmente (d) für das erste Fluid und (f) für das zweite Fluid angedeutet.

[0023] Die **Fig. 2a bis 2e** zeigen die Antwort eines Kaliumionensensors, eines Natriumionensensors, eines Chloridionensensors, eines Harnstoffsensors bzw. einer auf der Platine mikrofabrizierten Referenzelektrode im Vergleich mit einer äußeren Standard-Corning-Referenzelektrode.

[0024] Die **Fig. 3a bis 3d** zeigen die Antwort auf eine Fluidänderung eines Kaliumionen-, Natriumionen-, Chloridionen- bzw. Harnstoffsensors im Vergleich zu einer auf der Platine mikrofabrizierten Referenzelektrode.

[0025] **Fig. 4** zeigt den Signalausgang (Strom in Nanoampère) eines Strommessungs-Glukosesensors, der zur Verwendung in dem vorliegenden Verfahren geeignet ist, in Reaktion auf das anliegende Elektrodenpotential (mV) unter Verwendung einer 20 mM Glukose in einer HEPES-Pufferprobe (O) oder nur einem HEPES-Puffer (X).

[0026] **Fig. 5a** zeigt den zunehmenden Stromausgang eines mikrofabrizierten Glukosesensors, wenn eine Reihe von Aktivierimpulsgruppen oder Potentialänderungen angelegt werden.

[0027] **Fig. 5b** zeigt die Antwort auf eine Fluidänderung des aktivierten Glukosesensors von **Fig. 4a**.

[0028] **Fig. 5c** zeigt die Abwesenheit irgendeiner wesentlichen Änderung in dem Stromausgang des aktivierten Glukosesensors von **Fig. 4a** nach dem Anlegen zusätzlicher Impulsgruppen.

[0029] **Fig. 6** zeigt ein elektrochemisches Creatinkinaseenzymassay auf der Basis von Anfangsratenmessungen. Diese Figur zeigt auch die Sensorantwort auf eine feste Konzentration von Adenosintriphosphat (ATP), das Produkt des enzymatischen Prozesses.

#### 5. DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0030] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung strebt danach, das quantifizierbare, vorhersehbare Verhalten von mikrofabrizierten Sensoren während des ausgeglichenen Befeuchtungsverfahrens mit Rechentechniken zu integrieren, einschließlich der Datenhandhabung oder Sammelverfahren, die durch die Testvorrichtung oder äußere Rechenvorrichtungen implementiert werden können, um eine gute Abschätzung der Konzentration eines fraglichen Analyts in einem bestimmten Probenfluid zu erreichen.

[0031] Der "ausgeglichene Befeuchtungs-" Vorgang ist das Mittel, durch das trocken gelagerte Sensoren einen Betriebszustand und schließlich einen stabilen Zustand erreichen, indem sie einem Fluid mit einem wäßrigen Medium, feuchten Gas oder dergleichen ausgesetzt werden. Hier wird der Ausdruck "ausgeglichenes Befeuchten" verwendet, um nicht nur das Eindringen von Wasser durch die verschiedenen Membranschichten der Elektrodenoberfläche, sondern auch alle physikalisch-chemischen Änderungen zu umfassen, die auftreten, bevor ein Sensor das Ansprechverhalten des stabilen Zustands erreicht. Diese Änderungen und deren Konsequenzen umfassen: die Hydratation jeder Membranschicht und ihr Einfluß auf die Migration von Analyten, Co-Faktoren, Ionophoren, Enzymen, Affinitätslabels, oder dergleichen durch diese; die Hydratation der Enzym-enthaltenden Schicht und ihren Einfluß auf die Aktivität von Enzymen oder die Selektivität von Ionophoren und Affinitätslabeln (d. h. den Einfluß auf ihre Bindungskoeffizienten); die Hydratation der Elektrodenoberfläche und das Antwortverhalten des Sensors, das eine Funktion z. B. von den relativen Oberflächenpopulationen von Metalloxid und Metallhydroxidstellen oder alternativ das Ausmaß von Ligand-Ligand-Substitution sein kann, bei der ein Silber-Silber-Halid-Oberfläche in einem Halogen-Aquo-Metallkomplex transformiert werden kann. Alle derartigen Änderungen, die auftreten, bevor ein vollkommen befeuchteter ausgeglichener Sensor erhalten wird, können trotz der Tatsache, daß sich die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Fluids, das eine wäßrige Flüssigkeit oder ein feuchtes Gas umfassen kann, in Kontakt mit dem Sensor nicht ändern (d. h. die Konzentration des vorausgewählten Analyts in dem Fluid bleibt konstant zusammen mit der Temperatur, dem pH-Wert, dem osmotischen Druck, der Ionenstärke usw. von dem Fluid, insbesondere des Kalibrierfluids), entweder einen singulären Anstieg oder gemeinsam ein sich monoton ändernden Signalausgang ergeben.

[0032] Die oben beschriebenen Vorgänge können in dem Sinn als passiv betrachtet werden, daß sie nach dem Kontakt mit Fluid spontan auftreten. Jedoch stellt die Elektrodenoberfläche eines Strommessungssensors einen speziellen Fall in der Hinsicht dar, daß seine Redoxeigenschaften im wesentlichen von den Spannungen beeinflusst werden, die vorher an sie angelegt wurden. In diesem Sinne kann die elektrochemische Aktivierung der Elektrodenoberfläche durch das Anlegen einer Folge unterschiedlicher Spannungen entscheidend zu der Reduktion der Zeit beitragen, die es dauert, bevor der Sensor zuverlässig auf eine Weise im stabilen Zustand arbeitet, und daher entscheidend zu dem scheinbaren "Befeuchten" (oder RC-Befeuchten) des Sensors bei-

trägt.

[0033] Das monotone Befeuchtungssignal wird üblicherweise durch eine Widerstandskapazität (RC) Zeitkonstante beschrieben, weil sie elektronisch simuliert werden kann, indem ein Widerstand und ein Kondensator entweder in Reihe oder parallel geschaltet werden. Somit wird für einen Potentialschritt, der an einer derartige Schaltung anliegt, ein exponentiell abfallender Strom mit einer Zeitkonstanten  $\tau = RC$  erhalten, wobei der Strom  $i = E/Re - (t/\tau)$  ist. Bei diesem Beispiel fällt der zum Ändern der Kapazität notwendige Strom auf 37 seines ursprünglichen Werts bei  $t = \tau$  ab und auf 5% seines ursprünglichen Werts bei  $t = 3\tau$ . Der letztere Wert wird oft als die 95% Antwortzeit bezeichnet. Für die hier beschriebenen Sensoren wird eine verwendbare analytische Information erhalten, lange bevor die Sensoren von dem trockenen Zustand in einen hydrierten oder befeuchteten Zustand übergegangen sind, in dem die Sensoren ein Signal bereitstellen, das 95 des erwarteten ausgeglichenen Werts des stabilen Zustands ist.

[0034] Eine gute einleitende Diskussion dieses RC-Konzepts kann man in Lindner, E. et al. "Dynamic Characteristics of Ion-Selective Electrodes" CRC Press, 1988 und den dort zitierten Literaturstellen finden. Es sollte erwähnt werden, daß während das exponentielle Modell für die Zeitabschätzung des chemischen Sensorsignals üblicherweise als eine "RC-Zeitkonstante" bezeichnet wird, keine spezielle ausführliche Erklärung oder Annahmen über die chemischen oder physikalischen Kapazitäts- oder Widerstandselemente des Sensorbetriebs erforderlich sind, um die Anwendbarkeit des Exponentialmodells zu verifizieren.

[0035] Bei der vorliegenden Erfindung hat man überraschenderweise herausgefunden, daß die RC-Zeitkonstante zum Befeuchten, die mit den vorliegenden vollkommen mikrofabrizierten Sensoren und Referenzelektroden verbunden ist, manipuliert und gut modelliert werden kann. Die Reproduzierbarkeit und Vorhersagbarkeit dieser RC-Befeuchtungszeitkonstante ist wiederum ein Produkt der Mikrofabrikationstechniken, die in dem folgenden Abschnitt beschrieben werden, und vollständiger in den verwandten mitanhängigen US-Anmeldungen der Serien-Nrn. 07/432,714 und 07/245,102. Derartige Mikrofabrikationstechniken schaffen eine viel genauere Kontrolle über die Abmessungen übereinandergelegter Schichten, als wie es durch frühere Techniken einschließlich der Laminierung erreicht werden kann. In der Tat können eine Vielzahl elektrochemischer Sensoren jetzt auf einem einzigen Siliciumwaver fabriziert werden. Diese elektrochemischen Sensoren umfassen die erste praktikable mikrofabrizierte Referenzelektrode, die hinreichend gute Eigenschaften besitzt, um elektrochemische Messungen zu ermöglichen, die mit der in der klinischen Chemie erforderlichen Präzision und Genauigkeit zu machen sind.

[0036] Wie es unten detaillierter beschrieben wird, haben die vorliegenden Erfinder entdeckt, daß die Zeitentwicklung oder die Rate der Änderungen in dem monotonen Befeuchtungssignal mit einem hohen Genauigkeitsgrad zu irgendeiner Zeit nach dem Anfangskontakt des Sensors und der Referenzelektrode mit einem Fluid vorhergesagt werden kann. Diese Fähigkeit, die RC-Zeitkonstante zu modellieren, zu analysieren und zu manipulieren, ist ein wichtiger Gesichtspunkt des vorliegenden Verfahrens, das es ermöglicht, die Konzentration einer fraglichen Analytspezies schnell und zuverlässig zu bestimmen, bevor die Sensoren einen vollkommen befeuchteten ausgeglichenen Zustand erreicht haben.

[0037] Ein gleichermaßen wichtiges Element der vorliegenden Erfindung und etwas, das eine direkte Konsequenz davon ist, daß man eine reproduzierbare RC-Befeuchtungskonstante hat, ist es, daß die RC-Konstante, die mit dem Ansprechverhalten des Sensors für Änderungen in der Konzentration eines vorausgewählten Analyts verbunden ist, auch sehr vorhersehbar und präzise ist.

[0038] Die RC-Zeitkonstante  $\Omega F$  ist in Einheiten von Sekunden (s), wie es aus den folgenden Beziehungen klar ist:

$$R \text{ (Widerstand)} = \Omega, \text{ Ohm} = V/i$$

$$C \text{ (Kapazität in F, Faraday)} = q/V = (i \times s)/V$$

da  $RC = \Omega F$  gilt, gilt

$$RC = (V/i) \times (i \times s)/V = s$$

[0039] Wenn ein chemischer Sensor eine Änderung in seinem Signal als Antwort auf eine Änderung in der Analytkonzentration durchmacht, verändert sich die exponentielle Zeitkonstante, die die Zeitabhängigkeit des

Signals eines chemischen Sensors abdeckt wie  $\tau \propto L^2/D$ . (siehe Lindner, E. et al. "Dynamic Characteristics of Ion-Selective Electrodes", DRC Press, 1988 und die darin zitierte frühere Arbeit von Buck, R. P., insbesondere Kapitel 1 von "Ion-Selective Electrodes in Analytical Chemistry", Freiser, H., (Ed), Plenum Press, 1978).

[0040] Die Zeit, die ein Sensor braucht, um das Ansprechverhalten im stabilen Zustand auf Änderungen in der Konzentration eines Analyts zu erreichen, kann als eine RC-Zeitkonstante beschrieben werden. Somit kann die  $RC_{\text{Antwortzeit}}$  durch die Beziehung  $RC \approx \text{gleich } L^2/D$  angenähert werden, wobei  $L$  die Dicke der Membranschicht in cm und  $D$  der Diffusionskoeffizient in  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$  des Analyts durch die Membran ist. Der Diffusionskoeffizient für Glukose durch eine Membranschicht ist typischerweise ungefähr 100 mal kleiner als ihr Diffusionskoeffizient in Lösung ( $D_{\text{Lösung}} = 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ,  $D_{\text{Membran}} \approx 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ). Wenn somit die Membranschicht ungefähr  $1 \mu\text{m}$  ( $10^{-4} \text{ cm}$ ) dick ist, dann ist  $RC_{\text{Ansprechzeit}}$  annähernd  $(10^{-4})^2/10^{-8}$  oder ca. 1 s.  $RC_{\text{Befeuchten}}$ , deren Größe eine Größenordnung von einigen zehn Sekunden ist, ist somit relativ zu der Ansprechzeit "langsam". Zum Beispiel zeigen die Befeuchtungszeitkonstanten für die in den Figuren (z. B. **Fig. 1 bis 3**) gezeigten Sensoren  $\tau$  Werte von ca. 20 s. Wie unten beschrieben, ist es, wenn der Befeuchtungsvorgang zu einem unvollständigen Wert fortschreitet, bei dem  $\tau < t < 3\tau$  ist, d. h. daß die Rate der Änderung in dem Signal hinreichend klein ist, möglich, diese Rate als eine lineare Driftrate zu modellieren (siehe Tabelle 1).

[0041] Es ist klar, daß die Zeit, die für eine Diffusionsfront einer Analytspezies erforderlich ist, um in eine Membranschicht einzudringen und ein stabiles Ansprechverhalten auszubilden, mit zunehmender Membrandicke zunimmt. Somit ist die Verfügbarkeit eines Herstellungsverfahrens, das ein hohes Maß dimensionaler Kontrolle über die Überzugsstrukturen der Sensoren hat, entscheidend, um Vorrichtungen mit vorhersehbaren reproduzierbaren Befeuchtungs- und Ansprechzeitverhalten zu erhalten.

[0042] Zusätzlich zur Beschreibung eines Verfahrens, das einen einzelnen Sensor betrifft, betrifft die vorliegende Erfindung auch den effektiven Betrieb eines Sensorfelds, von denen jeder für eine bestimmte vorausgewählte Analytspezies empfindlich ist. Jeder Sensor in dem Feld kann in einer Anzahl möglicher Moden betrieben werden, einschließlich, aber nicht beschränkt auf solche, die ausgelegt sind, um Widerstands-, Strom- und Leitfähigkeitsstandardmessungen oder darauf basierende kinetische Messungen durchzuführen. Der gleichzeitige Betrieb eines Felds unterschiedlicher elektrochemischer Sensoren, die aus einigen oder allen dieser Arten zusammengesetzt sind, macht ihren eigenen einmaligen Satz an Problemen.

[0043] Überdies sind bestimmte Arten von Mikroelektrodenanordnungen gegenüber Inaktivierung oder einem Verlust der katalytischen Oberflächenaktivität empfindlich, und erfordern eine Reaktivierung, um den höchsten Wert an Empfindlichkeit zu gewährleisten.

[0044] Das Folgende ist eine detaillierte Beschreibung von jenem Element des vorliegenden analytischen Verfahrens zum Ableiten der Konzentration von zumindest einem, vorzugsweise einer Anzahl vorausgewählter Analytspezies.

## 5.1. VOLLKOMMEN MIKROFABRIZIERTE SENSOREN

[0045] Vollkommen mikrofabrizierte Sensoren, deren Verfügbarkeit ein bevorzugtes Element des vorliegenden Verfahrens umfaßt, werden in der früheren mitanhängigen US-Patentanmeldung Nr. 07/432,714 im Detail beschrieben. Zusätzliche Gesichtspunkte betreffend die Herstellung integrierter gegenüber der Umgebung empfindlicher Vorrichtungen einschließlich einer mikrofabrizierten Referenzelektrode sind in dem US-Patent Nr. 4,739,380 und der früheren mitanhängigen US-Patentanmeldung Nr. 07/156,262 beschrieben. Diese mikrofabrizierten Sensoren werden auf eine derartige Weise hergestellt, daß die Fehler und die Nichtgleichförmigkeit vermieden werden, die durch die manuelle Ablage von Membranen oder dergleichen in verschiedenen Stufen des Herstellungsverfahrens eingebracht werden. Somit wird eine Kombination von Dünnschichttechniken einschließlich der Waverlevel-Photolithographie und der automatisierten Mikrodispension eingesetzt, um Hunderte von identischen Sensoren oder ein Feld verschiedener Sensoren auf einem einzigen Silicium-Waver zu produzieren. Durch das gleiche Verfahren gemachte Referenzelektroden werden auch auf eine stark kontrollierte Weise hergestellt.

[0046] Eine derartige Referenzelektrode ist für eine elektrochemische Messung chemischer oder biochemischer Spezies in einer Probenlösung notwendig (siehe Ives, D. V. G. und Janz, G. J. "Referenzelektroden, Theorie und Praxis" Academic Press, 1961). In dem Fall einer potentiometrischen Messung ist das gemessene Signal das Potential einer chemisch ansprechenden Elektrode (Sensor) bezüglich des Potentials der Referenzelektrode. Idealerweise ist das Potential der Referenzelektrode von der chemischen Zusammensetzung der Lösung, die sie berührt, absolut unabhängig. Eine Referenzelektrode ist auch für eine Strommessung notwendig, weil sie das Potential des Strommessungssensors kontrolliert. Weil ein derartig hoher Grad an Kontrolle bezüglich der Zusammensetzung dieser Schichten, ihren physikalischen Abmessungen ebenso wie ihrer Anordnung auf dem Sensorfeld vorhanden ist, sind die Charakteristika und die Spezifikation von jedem Sensor auf dem Waver oder irgendeinem ähnlich erzeugten Waver gut und vorhersagbar.

[0047] Insbesondere umfaßt der mikrofabrizierte Sensor und die Referenzelektrode, die am meisten bevorzugt sind, eine Durchlaß-selektive Schicht, die über zumindest einen Teil des Sensors geschichtet ist, mit einer

Dicke, die hinreichend ist, um Moleküle mit einem Molekulargewicht von ungefähr 120 oder mehr auszuschließen, während sie den freien Durchtritt von Molekülen mit einem Molekulargewicht von ungefähr 50 oder weniger zuläßt; und eine Bioschicht, die auf zumindest einem Teil der Durchlaß-selektiven Schicht und den Sensor geschichtet ist, wobei die Bioschicht (i) eine hinreichende Menge eines bioaktiven Moleküls, das fähig ist, selektiv mit einer bestimmten Analytspezies wechselzuwirken, und (ii) eine Trägermatrix umfaßt, in die das bioaktive Molekül eingebettet ist, welche Matrix von der Gruppe bestehend aus einer photoformbaren eiweißartigen Mischung, einem filmbildenden Latex und Kombinationen davon abgeleitet ist, und durch welche Matrix die Analytspezies frei durchtreten und mit dem bioaktiven Molekül wechselwirken kann.

[0048] Bei einer bevorzugten Ausführung der Erfindung wird die Durchlaß-selektive Schicht aus einem Polymerfilm abgeleitet, der insbesondere bevorzugt einen wärmebehandelten Film einer Silanverbindung mit der Formel  $R'_nSi(OR)_{4-n}$  umfaßt, wobei n ein Integer ist, der aus der Gruppe bestehend aus 0, 1 und 2 ausgewählt ist; R' ein Kohlenwasserstoffradikal mit 3-12 Kohlenstoffatomen; und R ein Wasserstoffradikal oder ein niedriges Alkylradikal mit 1-4 Kohlenstoffatomen ist.

[0049] Das bioaktive Molekül der Sensorbioschicht kann aus einer großen Vielfalt von Molekülen ausgewählt werden, die den Fachleuten bekannt sind und z. B. ein Ionophor, ein Enzym, ein Protein, ein Polypeptid, eine Nukleinsäure oder ein immunoreaktives Molekül umfassen kann. Typischerweise ist das bioaktive Molekül ein Ionophor oder ein Enzym.

[0050] Bei einem weiteren bevorzugten Ausführungsbeispiel des mikrofabrizierten Sensors umfaßt die photoformbare eiweißartige Mischung (i) eine eiweißartige Substanz; (ii) eine effektive Menge eines Photosensibilisators, der gleichförmig in der eiweißartigen Substanz verteilt ist; und (iii) Wasser. Beispiele eiweißartiger Substanzen, die bei der vorliegenden Erfindung verwendbar sind, umfassen Albumin, Casein, Gammaglobulin, Kollagen, Derivate und Mischungen davon. Die am meisten bevorzugte eiweißartige Substanz ist eine tierische Gelatine, insbesondere Fischgelatine. Viele Arten von Photosensibilisatoren sind sehr zahlreich vorhanden. Von besonderem Interesse sind jedoch Übergangsmetallverbindungen in sehr hohem Oxidationszustand, insbesondere Eisen und Chromsalze.

[0051] Das filmbildende Latex kann eine wäßrige Emulsion eines Polymers oder Copolymers umfassen, das aus synthetischen oder natürlichen Quellen abgeleitet ist.

[0052] Natürlich können zusätzliche Schichten in dem mikrofabrizierten Sensoren vorhanden sein. Zum Beispiel können zusätzliche Schichten verwendet werden, um den Transport ausgewählter Moleküle einschließlich der Analytspezies durch den Sensor abzuschwächen. Eine Elektrolytschicht kann insbesondere bei den Widerstandsmessungssensoren oder dem Referenzelektrodenaufbau vorhanden sein. Eine vollständigere Beschreibung des Referenzelektrodenaufbaus kann in den früheren mitabhängigen US-Anmeldungen Nr. 07/432,714 und 07/156,262 der Anmelderin gefunden werden.

[0053] Es sollte nochmal gesagt werden, daß ein Feld von Sensoren eine gemeinsame Referenzelektrode verwenden kann. Somit kann eine Reihe von Widerstandsmessungssensoren zur gleichzeitigen Messung der Aktivität verschiedener Elektrolyte zusammengesetzt werden, wobei das Signal von jedem Sensor relativ zu dem Potential der gemeinsamen Referenzelektrode bestimmt wird. Strommessungssensoren können einen leicht anderen Aufbau haben, wobei jeder z. B. einen Sensor und eine Zählelektrode aufweist, wobei sich aber alle Sensoren in einem Feld eine gemeinsame Referenzelektrode teilen.

[0054] Der Leitfähigkeitssensor für eine Hämatokritmessung ist im Aufbau eben und umfaßt zwei Edelmetallelektroden, die in einem geeigneten Abstand auf dem vorgeschlagenen Feld beabstandet sind. Beim Ausführen einer Leitfähigkeitsmessung wird ein elektrisches Feld zwischen dem Metallelektrodenpaar durch Anlegen eines Wechselstromsignals (ein Gleichstromsignal kann auch eingesetzt werden) erzeugt wird. Vorzugsweise wird die Wirkung des Feldes überwiegend auf das Fluidabteil begrenzt, das unmittelbar über dem Metallelektrodenpaar liegt. Dieser Aufbau maximiert die Empfindlichkeit der Vorrichtung für Erythrozyten. Es sollte erwähnt werden, daß verschiedene Faktoren beim Auswählen der geeigneten Frequenz für das Wechselstromsignal berücksichtigt werden müssen. Diese Faktoren umfassen das Minimieren der Faraday'schen Vorgänge an der Elektrodenoberfläche, während sie die Störung des Felds durch die Erythrozyten maximieren.

[0055] Die elektrochemischen Sensoren, die vielleicht in Bezug auf die Notwendigkeit zusätzlicher Reagenzien die komplexesten sind, sind solche Sensoren, die verwendet werden, um kinetische Messungen durchzuführen. Diese Arten von Sensoren sind beim Bestimmen von z. B. der Aktivität eines Enzyms verwendbar, die durch die Änderungsrate in der Konzentration einer detektierbaren Spezies reflektiert wird, die von der enzymgebundenen Reaktion verbraucht oder erzeugt wird. Somit kann die Aktivität eines bestimmten Enzyms in einer bestimmten Probe festgestellt werden. Auch können bestimmte enzymgebundene Immunoassays ausgeführt werden, die den Weg für die Analyse einer großen Vielzahl von immunoreaktiven und affinitätsaktiven Spezies bereiten, einschließlich Antigenen, Haptene, Antikörper, Viren oder dergleichen.

[0056] Somit sollte ein bevorzugtes Ausführungsbeispiel eines Sensors; der für Enzyme oder Immunoassays gedacht ist, eine Schicht haben, die für das Probenfluid zugänglich ist, an die der eine oder der andere eines Ligand/Ligand-Rezeptorpaars immobilisiert wird. Wieder wird der Leser auf die Offenbarung der früheren mitabhängigen US-Anmeldungen Nr. 07/432,714 für weitere Details verwiesen.

## 5.1.1. EINWEGVORRICHTUNG FÜR SENSOREN

[0057] Die oben beschriebenen mikrofabrizierten Sensoren sind vorzugsweise in einer Einwegvorrichtung enthalten, die zum Durchführen einer Vielzahl von Messungen an Blut oder anderen Fluiden angepaßt werden kann. Die Einwegvorrichtung ist aufgebaut, um eine Vielzahl von Funktionen einschließlich der Probensammlung und Aufbewahrung, der Sensorkalibrierung und Messung zu dienen. Während des Betriebs kann die Einwegvorrichtung in ein Handlesegerät eingesetzt werden, das die elektrischen Verbindungen zu den Sensoren schafft und automatisch die Meßabfolge ohne Eingriff des Bedieners steuert.

[0058] Eine geeignete Einwegvorrichtung umfaßt ein oberes und unteres Gehäuseglied, in dem eine Vielzahl von Sensoren und elektrischen Kontakten und ein Beutel, der ein Kalibrierfluid enthält, montiert sind. Die Sensoren erzeugen elektrische Potentiale aufgrund der Konzentration bestimmter Ionenspezies in der getesteten Fluidprobe. Eine Doppelklebeschicht ist zwischen den oberen und unteren Gehäusegliedern angeordnet, um die Gehäuseglieder miteinander zu verbinden und verschiedene Hohlräume und Leitungen in der Vorrichtung zu bestimmen und abzudichten.

[0059] Ein erster Hohlraum ist an dem Mittelteil der Vorrichtung mit einem Stift an dem Boden des Hohlraums und einer angelenkten Scheibe an dem Oberteil des Hohlraums angeordnet. Ein abgedichteter Beutel, der ein Kalibrierfluid enthält, befindet sich in dem Hohlraum, und eine erste Leitung führt von diesem Hohlraum zu den Sensoren. Eine zweite Leitung hat eine Öffnung an einem Ende für die Aufnahme einer Fluidprobe, während das andere Ende der Leitung an einer Kapillarunterbrechung endet. Eine dritte Leitung führt von der Kapillarunterbrechung über die Sensoren zu einem zweiten Hohlraum, der als ein Sammelbehälter dient. Die erste Leitung verbindet sich mit der dritten Leitung nach der Kapillarunterbrechung und vor den Sensoren. Ein dritter Hohlraum funktioniert als ein Luftspeicher. Wenn der Luftspeicher Unterdruck hat, wird Luft entlang einer vierten Leitung in die zweite Leitung gedrängt.

[0060] Beim Betrieb wird eine Fluidprobe in die zweite Leitung durch die Kapillarwirkung gezogen, indem die Öffnung an einem Ende der Leitung in Kontakt mit der Probe gebracht wird. Nachdem die Probe die zweite Leitung füllt, wird die Öffnung abgedichtet. Der das Kalibrierfluid enthaltende Beutel wird dann durch Herunterdrücken der Scheibe auf den Beutel durchstoßen, was den Stift veranlaßt, die andere Seite des Beutels zu durchstoßen. Sobald der Beutel durchstoßen ist, fließt das Kalibrierfluid aus dem Hohlraum durch die erste Leitung zu der dritten Leitung und über die Sensoren, zu welcher Zeit die Sensorkalibrierung durchgeführt wird. Als nächstes wird der Luftspeicher niedergedrückt, was Luft nach unten in die vierte Leitung zu einem Ende der zweiten Leitung drängt, was die Probe aus dem anderen Ende der Leitung hinter die Kapillarunterbrechung und in die dritte Leitung und über die Sensoren drängt, wobei Messungen durchgeführt werden. Wenn das gemacht ist, wird das Kalibrierfluid aus der dritten Leitung in den zweiten Hohlraum gedrängt, wo es gehalten wird. Sobald die Messungen gemacht sind, kann die Einwegvorrichtung entsorgt werden.

[0061] Das Handlesegerät umfaßt eine Öffnung, in der die Einwegvorrichtung aufgenommen ist, und eine Reihe von Rampen, die die Testsequenz und den Fluß des Fluids über die Sensoren steuern. Wenn die Einwegvorrichtung in das Lesegerät eingesetzt wird, reißt das Lesegerät den Beutel des Kalibrierfluids durch Niederdrücken der angelenkten Scheibe auf. Das Lesegerät bildet dann die elektrischen Kontakte zu der Einwegvorrichtung, kalibriert die Sensoren, drückt den Luftspeicher nieder, um die Fluidprobe über die Sensoren zu drängen, zeichnet elektrische Potentiale, die von den Sensoren erzeugt werden, auf, berechnet die Konzentration der getesteten chemischen Spezies und zeigt die Information zur Verwendung bei der medizinischen Beurteilung und Diagnose an.

[0062] Um die Kaliumkonzentration des Bluts eines Patienten zu messen, sticht somit z. B. der Arzt oder Techniker in den Finger des Patienten, um eine kleine Blutmenge abzuziehen. Der Arzt tut dann die Öffnung der Vorrichtung in das Blut, wobei das Blut in die Vorrichtung durch die Kapillarwirkung gesaugt wird. Der Arzt dichtet dann die Öffnung ab und setzt die Vorrichtung in das Lesegerät ein. Nach dem Einsetzen wird die Abfolge von Ereignissen automatisch von dem Lesegerät ohne Eingreifen von dem Arzt initiiert. Das Lesegerät veranlaßt automatisch, daß der Kalibrierbeutel durchstoßen wird, so daß das Kalibrierfluid über die Sensoren fließt, was die Sensoren aktiviert und das notwendige Fluid zur Kalibrierung bereitstellt. Die elektrischen Kontakte der Vorrichtung werden dann automatisch an das Lesegerät angeschlossen, und die Kalibriermessungen werden automatisch durchgeführt. Das Lesegerät drückt dann automatisch den Luftspeicher in der Einwegvorrichtung nieder, um die Probe zu veranlassen, über die Sensoren zu fließen. Die elektrischen Potentiale, die von den Sensoren erzeugt werden, werden ausgelesen, und die Konzentration der chemischen Spezies wird automatisch berechnet. Das Ergebnis wird angezeigt oder auf einem Drucker für den Arzt zur Verwendung ausgegeben.

[0063] Nach dem Abschluß des Vorgangs entfernt der Arzt die Vorrichtung aus dem Lesegerät und entsorgt es auf geeignete Weise. Das Lesegerät ist dann bereit, um eine weitere Messung durchzuführen, die durch das Einsetzen einer weiteren Einwegvorrichtung initiiert wird.

## 5.2. DATENHANDHABUNGSMETHODEN ZUM DURCHFÜHREN VON SIGNALANTWORTMESSUNGEN

[0064] Die vorliegenden Datenhandhabungsmethoden erlauben es dem Gerät, die externe Berechnungs-, Datenspeicher- und Anzeigevorrichtung aufzunehmen, um die benötigten Informationen (d. h. die elektrochemische Antwort jedes Sensors in dem Feld) aus einem Untergrund zu extrahieren, der das Sensorbefeuchtungsverhalten, fluidische Übergänge (solche Übergänge, die mit der Fluidströmung verbunden sind), das elektronische Rauschen, das Kontaktrauschen, das mit der elektronischen Schnittstelle zwischen dem Sensor- und Referenzelektrodenausgang und der Berechnungsvorrichtung und weiteren auftretenden Artefakten oder Signalfluktuationen zu extrahieren. Der Leser ist auf die frühere mitanhängige US-Anmeldung Nr. 07/187,665 zur weiteren Information betreffend die Hauptkomponenten eines Handinstruments verwiesen, das zur Verarbeitung der Sensorsignale eingesetzt werden kann.

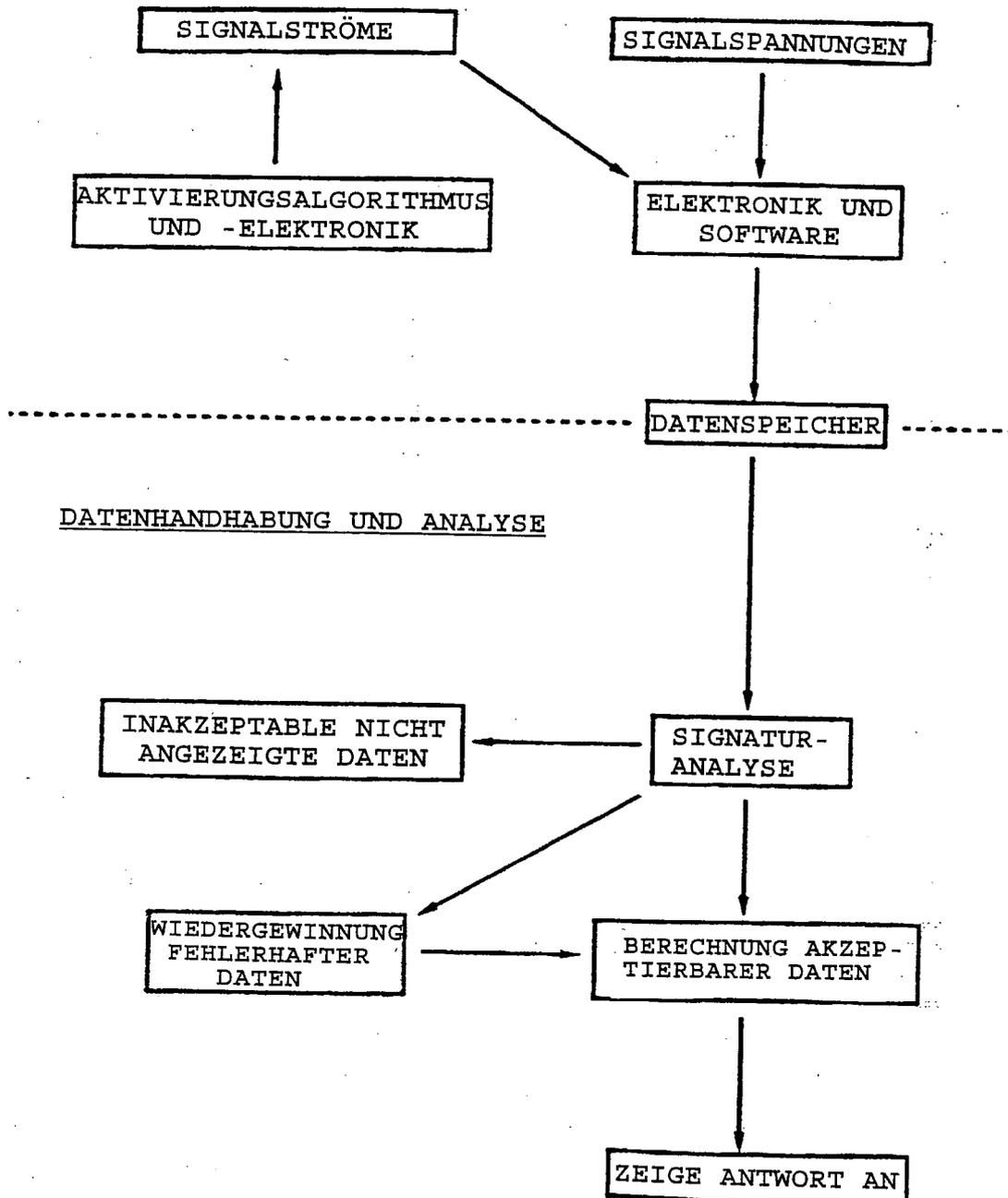
[0065] Die Datenhandhabungstechniken umfassen Berechnungsmethoden, die ausgelegt sind, um die erste und zweite Signalmessung in Beziehung zu bringen, und stellt somit die Konzentrationsverhältnisse der vor-ausgewählten Analytspezies in dem ersten und zweiten Fluid bereit. Diese Berechnungsverfahren unterscheiden das relativ schnelle Ansprechverhalten des Sensors (entweder widerstandsmessungsmäßig oder strommessungsmäßig) von Konzentrationsänderungen von dem langsameren monotonen Befeuchtungsverhalten von sowohl den Sensoren als auch der Referenzelektrode. Nach dem Studium der besonderen Ausführungsbeispiele, die hier beschrieben werden, sollte es dem Fachmann jedoch klar sein, daß kompliziertere Berechnungsmethoden eingesetzt werden können, um die Signale zu verarbeiten, sollte ein nicht monotonen Befeuchtungsverhalten auftreten. Noch weitere Arten von Berechnungsmethoden können danach zum Detektieren von Signaldefekten wie unten diskutiert, konzipiert werden. In jedem Fall kann eine Annäherung erster Ordnung auf eine allgemeinere Polynombeziehung n-ter Ordnung, eine exponentielle Beziehung oder dergleichen ausgedehnt werden, wenn die Notwendigkeit offensichtlich ist. Das einzige Bedenken gegen Berechnungen höherer Ordnung ist ihre Eignung für die Extrapolation.

[0066] Daher wird bei einer Ausführung des vorliegenden Verfahrens ein Berechnungsverfahren eingesetzt, um unbrauchbare Signale zu detektieren, die durch folgendes verursacht werden: Änderungen in der Natur des Fluids, das im Kontakt mit dem Sensor ist, elektrisches Rauschen von den Kontakten oder Verbindungen zwischen den einzelnen Sensoren und der äußeren Rechenvorrichtung ebenso wie andere intermittierende irrelevante Artefakte. Die vorliegenden Rechenverfahren können eingesetzt werden, um einen Hinweis auf das Auftreten von Artefakten bereitzustellen, die einen inakzeptablen Messungszyklus angeben. Bei einer bevorzugten Ausführung des vorliegenden Verfahrens wird ein Standardrechenverfahren erweitert, um es dem Instrument zu ermöglichen, die aus der Reihe fallenden Artefakte oder fehlerhaften Datenpunkte aus dem erfaßten Datensatz zu entfernen. Der "korrigierte" Datensatz wird dann auf die gleiche Weise verarbeitet, um eine verwendbare Messung bereitzustellen. Somit wird eine bestimmte, aber nicht die gesamte Analyse, die anderenfalls als "Fehler" verworfen worden wäre, unter geeigneten Bedingungen verwertet.

[0067] Es sollte herausgestellt werden, daß die in dem vorliegenden Verfahren eingesetzten Rechenverfahren, obwohl sie zu bekannten Signalverarbeitungsverfahren ähnlich sind, unter anderem nicht triviale Abschätzungen durchführen, wie das fragliche elektrochemische Ansprechverhalten und das Befeuchtungsverhalten oder Artefakte zu den Rohwellenformen beitragen. Die gewünschten Signale müssen dann abgeleitet oder weiter manipuliert werden, bevor eine verwendbare Information erhalten wird.

[0068] Das vorliegende Datenhandhabungsverfahren kann in zwei Hauptteile heruntergebrochen werden, mit einem Datenerfassungsteil und einem weiteren zur Datenmanipulation und Analyse. Jeder Teil hat seinen eigenen Satz an Rechenverfahren, und ihre Beziehung kann besser mit Bezug auf das unten angegebene Diagramm I verstanden werden.

## DIAGRAMM I

DATENERFASSUNG

[0069] Während des Datenerfassungsteils des Datenhandhabungsverfahrens werden die analogen Signale, die von den Sensoren erhalten werden, in ein digitales Format zum Aufzeichnen in dem Datenspeicher konvertiert. Die Elektronik ist ausgelegt, um für Widerstandsmessungssensoren mit hoher Impedanz bei einer ausreichenden Auflösung für den erwarteten Bereich der Spannungsmessungen geeignet zu sein. Die Elektronik für die Strommessungssensoren, die Strom messen, umfaßt Strom-zu-Spannungs-Konverter und ist auch ausgelegt, um eine hinreichende Auflösung für den erwarteten Bereich der Strommessungen zu haben. Während der Messungen ist das Fluid geerdet, um das Fluidpotential daran zu hindern, aus dem Bereich der Operationsverstärker zu geraten.

[0070] Es sollte herausgestellt werden, daß die Strommessungssensoren vorzugsweise einem elektrochemischen Aktivierungsprozess unterworfen werden. Die Anmelder spekulieren, daß dieses Aktivierungsverfahren

die katalytische Aktivität der Sensorelektrodenoberfläche in Richtung der Reduktion oder Oxidation von bestimmten redoxaktiven chemischen Spezies verstärkt. Eine weitere Diskussion dieses elektrischen Aktivierungsvorgangs ist unten in einem späteren Abschnitt dargestellt.

[0071] Auch umfaßt dieser Abschnitt des Datenhandabungsverfahrens das Sammeln und die digitale Speicherung von Leitfähigkeitsmessungen. Wie anderenorts in dieser Offenbarung erwähnt, betreffen diese Leitfähigkeitsmessungen die Analyse der Hämatokritwerte des Patienten und auch Systemqualitätsicherungsverfahren. Es ist wichtig, zu erwähnen, daß das Befeuchten von Leitfähigkeitsmessungssensoren, wie hier beschrieben, extrem schnell ist (in einer Größenordnung von Millisekunden), weil der Sensor einfach zwei Metallelektroden umfaßt, die unmittelbar in Kontakt mit dem Fluid sind. Somit wird nicht ein ausgedehntes Befeuchten von dazwischenliegenden Membranen beobachtet.

[0072] Zusätzliche Gesichtspunkte der Datenerfassung, Handhabung und Analyse werden detaillierter in einem späteren Abschnitt unten diskutiert.

### 5.2.1. SIGNATURANALYSE

[0073] Der Signaturanalyseabschnitt von Diagramm I ist der Schritt, bei dem die Unversehrtheit der Signalmessungen analysiert wird, die in dem ersten und zweiten Datenzeitfenster durchgeführt wurden. Die in diesem Abschnitt verwendeten Berechnungsverfahren stellen die Anwesenheit von übermäßigen Befeuchtungs-RC-Zeitkonstanten, Ausreißern, Störungsspitzen und Rauschen fest, und vergleichen die in den Zeitfenstern beobachteten Werte mit bevorzugten Werten, die in dem Speicher gehalten werden.

[0074] Bei einer bestimmten Ausführung des vorliegenden Verfahrens läuft der erste Teil der Signaturanalyse in Echtzeit (d. h. während der Datenerfassung), wobei eine Siebenpunktfallanalyse des Gleitfensters ausgeführt wird, beginnend mit den ersten sieben Punkten des Zeitfensters. Tatsächlich werden in jedem Zeitfenster insgesamt 25 Datenpunkte (1–25) gesammelt, unabhängig davon, ob die Messungen in der Gegenwart des ersten oder des zweiten Fluids gemacht werden. Obwohl eine beliebige Größe für die Gleitfenster gewählt werden kann, schafft das Siebenpunktgleitfenster einen akzeptablen Auflösungswert.

[0075] Das Berechnungsverfahren wird auf jeden Sensor während der Datenerfassung bei jedem Zeitfenster angewendet. Bei einer Ausführung, die ein Sensorenfeld einsetzt, verfolgt das Berechnungsverfahren, welcher Sensor aktiv ist, und ob das Zeitfenster begonnen oder nicht begonnen hat. Der Abfall von jedem Siebenpunktfenster wird aufgrund einer rekursiven Form einer linearen Regression berechnet. Jedes Mal, wenn ein neuer Punkt gesammelt wird, was bewirkt, daß das Siebenpunktfenster verschoben wird, wird der Abfall des neuen Siebenpunktfensters (Punkte 2–8) mit dem ersten Siebenpunktfenster (Punkte 1–7) verglichen. Ein Bereich akzeptabler Werte für den neuen Abfall aufgrund des Wertes des ersten Abfalls (des Grundabfalls) kann eingestellt werden, und wenn ein Fenster gefunden wird, das aus diesen Bereich fällt, wird ein Bit für diesen Sensor als ein Flag zur späteren Verwendung gesetzt.

[0076] Die vorliegende Gleitfensterabfallanalyse detektiert Ausreißer und Störungen in den Zeitfenstern, indem Änderungen der ersten Ableitung betrachtet werden. Es sollte klar sein, daß der Abfall von jedem Fenster mit dem Abfall von dem Fenster verglichen werden kann, das ihm unmittelbar vorangeht, anstatt des Vergleichs des neuen Abfalls mit dem des ersten Siebenpunktfensters. Die letztere Option spart jedoch Zeit, indem die Notwendigkeit vermieden wird, einen neuen Wert für den Grundabfall bei jedem Durchlauf durch das Berechnungsverfahren zu speichern. Auch ist die vorliegende Technik für Niedrigfrequenzstörungen empfindlicher als der alternative Ansatz, der einen Kompromiß beim Bestimmen der Signalunversehrtheit umfaßt. Noch ein weiteres alternatives Verfahren könnte den Abfall beider nächster Nachbarn und nicht gerade den vorangehenden Punkt vergleichen. Andere Verfahren sollten den Fachleuten klar sein.

[0077] Der zweite Teil des Signaturanalyseabschnitts umfaßt ein nach der Datenerfassung arbeitendes Berechnungsverfahren, das Grenzen der beobachteten Werte überprüft. Diese Berechnungsverfahren können die Berechnung erster Ableitungen, Fehler oder Abschätzungen einer linearen Anpassung, Deltadriftraten, Mittelwertdriftraten, zweite Ableitungen, Maße der Krümmung oder dergleichen umfassen. Das heißt, daß das Berechnungsverfahren die beobachteten Daten mit dem erwarteten Wertebereich vergleicht, der im Speicher gehalten wird. Bei einer speziellen Ausführung des vorliegenden Verfahrens werden Grenzen für die Driftraten (den Abfall) von jedem Zeitfenster eingesetzt, dem Unterschied zwischen zwischen jeder Driftrate des Zeitfensters (d. h. der Deltadriftrate zwischen dem ersten Fluidzeitfenster und dem zweiten Fluidzeitfenster), und dem Mittelwert oder gemittelten Wert der Antwort, die in jedem Zeitfenster erhalten wird. Die Driftrate und die Mittelwerte werden von einer linearen Regressionsanalyse erhalten. Eingestellte Maximal- und Minimalwerte für jeden Parameter können für jeden Sensor unterschiedlich sein. Überdies berechnet ein zusätzlicher Abschnitt des Berechnungsverfahrens zur Signaturanalyse nach der Datenerfassung den Fehler, der mit der Anpassung kleinster Quadrate verbunden ist, und vergleicht den Wert dieses Fehlers mit der Grenze, die für jeden Sensor in dem Feld eingestellt ist. Es ist die Auswahl einer optionalen Kombination der Grenzen, die die Genauigkeit und Güte bestimmen, die erreichbar ist. Zum Beispiel kann das Verkleinern der Rauschgrenzen, aber das Erhöhen der Befeuchtungs-RC-Zeitkonstante über das umgekehrte Verfahren vorteilhaft sein.

[0078] Anschließende Abschnitte des Datenmanipulations- und Analyseabschnitts des Datenhandhabungspakets diktiert weitere Aktionen, wenn ein Zeitfenster (Zeitfenster) eines bestimmten Sensors Ausreißer, Störungen, oder beobachtete Werte (z. B. Driftraten, Deltadriftraten, Mittelwerte oder Fehlerabschätzungen) enthält, die außerhalb eines erwarteten Bereichs fallen. Die Ergebnisse der beeinflussten Sensoren werden nicht angezeigt und geeignete Anweisungen werden dann auf dem Instrumentmonitor angezeigt.

[0079] Wenn jedoch die Daten verarbeitbare Abweichungen enthalten, dann wird ein Berechnungsverfahren zum Wiedergewinnen fehlerhafter Daten eingesetzt, um die hinreichende Information abzuleiten, um ein nützliches Ergebnis zu liefern. Das Berechnungsverfahren zur Wiederherstellung fehlerhafter Daten umfaßt eine Bestimmung, ob die detektierte Störung und/oder der detektierte Ausreißer hinreichend groß ist, um die Richtigkeit der linearen Anpassung, die auf das gesamte Zeitfenster angewendet wird, schädlich zu beeinflussen. Diese Analyse wird erreicht, indem die lineare Anpassung, die auf das gesamte Zeitfenster angewendet wird, mit dem Grundabfall verglichen wird, der von dem ersten Siebenpunktgleitfenster erhalten wird. Alternativ können lineare Anpassungen, mit und ohne daß die aus dem Rahmen fallenden Störungen entfernt sind, verglichen werden, und eine Entscheidung hinsichtlich ihrer gesamten Unversehrtheit gemacht werden. Noch ein weiteres Wiederherstellungsberechnungsverfahren implementiert eine Art Mittelwertfilter, um detektierte Störungen zu glätten. Wieder können weitere Wiederherstellungsverfahren in Erwägung gezogen werden.

[0080] Es kann nützlich sein, in dieser Stufe bei der Diskussion kurz das Verhalten eines repräsentativen mikrofabrizierten Sensors in dem Verlauf eines typischen Fluidanalysezyklus zu beschreiben. **Fig. 1** zeigt das Potentialantwortverhalten als eine Funktion der Zeit eines Widerstandsmessungskaliumionensensors, der bei der vorliegenden Erfindung verwendet wird. Während der ersten paar Sekunden, bei denen der Meßzyklus elektronisch begonnen wird, wird ein Kontakt zwischen dem Feld von Sensoren, die vorzugsweise auf einer Einweganordnung montiert sind (siehe z. B. die frühere mitanhängige US-Anmeldung Nr. 07/245,102) und der externen Rechenvorrichtung hergestellt. Während dieser Anfangsperiode sind alle Sensoren geerdet. Innerhalb weniger Sekunden, nachdem der elektrische Anfangskontakt hergestellt ist, wird das erste Fluid dazu gebracht, über das Sensorfeld zu strömen und damit Kontakt herzustellen. Beim Befeuchten folgt das Potential den potentiometrischen Sensordrifts monotonisch, im wesentlichen auf eine exponentielle Weise.

[0081] Bei der bestimmten in **Fig. 1** dargestellten Abfolge wird die Fluidänderung nach ungefähr 72 Sekunden gemacht, obwohl die Einleitung des zweiten Fluids eindeutig viel früher gemacht werden kann, wenn diese Kaliumionenkonzentration das einzige Ziel des analytischen Zyklus ist. Bei der vorliegenden Darstellung kann das erste Zeitfenster so ausgewählt werden, das es in irgendeine geeignete Zeit fällt, nachdem das erste Fluid über den Sensoren am Platz ist, und vor der Einleitung des zweiten Fluids. Das zweite Zeitfenster, bei dem der zweite Satz Signalmessungen durchgeführt wird, beginnt vorzugsweise bald, nachdem der Fluidaustausch gemacht wird.

## 5.2.2. BERECHNUNG DES SENSORANTWORTVERHALTENS

[0082] Die Berechnung des Sensorantwortverhaltens, d. h. die Änderung beim Auslesen des Potentials zwischen dem ersten und dem zweiten Fluid (die Deltaspannung) wird durchgeführt, sobald ein passender Datensatz erhalten wurde. Der vorliegende Algorithmus, der zur Berechnung des Sensorantwortverhaltens eingesetzt wird, führt zwei lineare Anpassungen kleinster Quadrate durch. Eine Anpassung kleinster Quadrate wird in dem Zeitfenster des ersten Fluids durchgeführt; die andere wird in dem Zeitfenster des zweiten Fluids durchgeführt.

[0083] Es gibt viele verschiedene Wege, das Sensorantwortverhalten aus der Rohdatenwellenform zu extrahieren, wie z. B. der in **Fig. 1** gezeigten. Einige Beispiele zum Ableiten des Deltaantwortwerts umfassen, aber sind nicht beschränkt auf eine Linear/Linear-Extrapolation, eine Linear/Mittelwert-Berechnung, eine Mittelwert/Mittelwert-Annäherung oder ein Mittelwert/Linear-Verfahren, um ein paar zu nennen. Bei dem Linear/Linear-Fall wird die Anpassung an das erste Zeitfenster nach vorne zu einem geschätzten Fluidübergangspunkt extrapoliert, der Mitte der Übergangszeitdauer. Die Anpassung an das zweite Zeitfenster wird nach hinten zu demselben geschätzten Übergangspunkt extrapoliert, obwohl es eindeutig nicht notwendig ist, den Fluidübergangspunkt an dem Mittelpunkt auszuwählen, wenn einige andere geeignete Punkte auch ausgewählt werden können. Der arithmetische Unterschied zwischen diesen extrapolierten Spannungen ist das Deltaantwortverhalten des Sensors. Alternativ wird das Verhältnis zwischen den extrapolierten Werten berechnet, wenn von einem Strommessungssensor abgeleitete Ströme gemessen werden. Die Konzentration in dem Probenfluid der fraglichen Analytspesies kann dann aufgrund der bekannten chemischen Aktivität (Konzentration) des Analyts in dem Kalibrierfluid bestimmt werden. Die Nicolsky-Erweiterung (1) der Nernst-Gleichung, die auch den Einfluß des Sensorantwortverhaltens der in den Fluiden vorhandenen Übergangionen in Betracht zieht, wird für diese Bestimmung eingesetzt, in dem Fall von potentiometrischen Sensoren:

$$E = E_0 + RT/nF \log[A +$$

$$\sum_{a,b} k_{a,b}$$

B]

(1)

wobei E die gemessene elektromotorische Kraft (Signal) ist, R die Gaskonstante ist, T die absolute Temperatur ist, n der absolute Wert der Ladung auf der Analytspezies a ist (z. B. n = 1 für das Ammoniumion), F die Faradaykonstante ist, A die Aktivität der Analytspezies  $\underline{a}$  ist, B die Aktivität einer chemischen Übergangsspezies  $\underline{b}$  ist,  $k_{a,b}$ , der Interferenzkoeffizient ist, der mit dem Einfluß des Vorhandenseins der chemischen Spezies  $\underline{b}$  auf die elektrochemische potentiometrische Bestimmung der Aktivität der Analytspezies  $\underline{a}$  verbunden ist, und  $E_0$  eine Konstante ist, die unabhängig von T, A oder B ist. Zur zusätzlichen Diskussion der Nicolsky-Gleichung siehe bitte Amman, D. Ion-Selective Microelectrodes, Springer, Berlin (1986), S. 68 und die dort zitierten Verweise.

[0084] Eine Korrektur der berechneten chemischen Aktivität des Analyts in dem unbekanntem Fluid oder Probenfluid kann erhalten werden, indem die Henderson-Gleichung (2) angewendet wird, wobei der Ausdruck  $E_j$  in Gleichung (1) enthalten ist und Unterschiede in der Ionenstärke und Matrixeffekte zwischen dem Kalibrierfluid und dem Probenfluid in Betracht zieht, wobei sich Unterschiede üblicherweise als eine leichte Antwort auf die Referenzelektrode manifestieren:

$$E_j = \frac{\sum_i [ |z_i| \mu_i / z_i ] [c_i(\beta) - c_i(\alpha)]}{\sum_i [ |z_i| \mu_i ] [c_i(\beta) - c_i(\alpha)]} \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum_i |z_i| \mu_i c_i(\alpha)}{\sum_i |z_i| \mu_i c_i(\beta)} \quad (2)$$

wobei  $z_i$  die Ladung ist,  $\mu_i$  die Mobilität,  $c_i$  die molare Konzentration von Spezies i und  $\alpha$  und  $\beta$  Übergangskoeffizienten sind.

[0085] Für Strommessungssensoren wird die Konzentration des Analyts in dem Probenfluid aus dem gemessenen Stromverhältnis, der bekannten Konzentration des vorausgewählten Analyts in dem Kalibrierfluid und einer Systemkonstanten abgeleitet. Gleichung 3 kann somit verwendet werden:

$$[(i_1/i_2)c_1\gamma] + \delta = c_2 \quad (3)$$

wobei  $i_1$  und  $i_2$  die gemessenen Ströme des ersten und zweiten Fluids und  $c_1$  und  $c_2$  die molaren Konzentrationen eines vorausgewählten Analyts sind. Wenn das erste Fluid ein Kalibrierfluid ist, dann ist  $c_1$  bekannt, und der Wert von  $c_2$  in der Probe kann ohne weiteres erhalten werden. Die Korrekturfaktoren  $\gamma$  und  $\delta$  werden experimentell abgeleitet, und berücksichtigen Unterschiede in den physiochemischen Eigenschaften des Kalibrierfluids und des Probenfluids.

[0086] Bei dem Linear/Mittelwert-Ansatz wird die lineare Anpassung auf das Kalibrierzeitfenster nach vorne extrapoliert, wie vorher, aber hin zu dem Mittelpunkt des Probenzeitfensters. Der Unterschied zwischen dem extrapolierten Wert von der Kalibrieranpassung und dem mittleren Probenwert ist die Deltaantwort. Wieder kann das Verhältnis des extrapolierten Werts des einen Zeitfensters zu dem Mittelpunktwert des zweiten Zeitfensters auch berechnet werden, wenn es erwünscht ist. Der Mittelwert/Linear-Fall kehrt die Richtung der Extrapolation um, die in dem vorangegangenen Ansatz verwendet wird, und die Ausführung des Mittelwert/Mittelwert-Verfahrens der Berechnung sollte offensichtlich klar sein.

[0087] Letztendlich hängt das Verfahren der Wahl zur Berechnung des Sensorantwortverhaltens von den Charakteristika des Sensors ab, und sollte am besten durch übliche Versuche bestimmt werden. Jedoch wird die Qualität der Sensorantwortverhaltensmessungen sicherlich einen Einfluß darauf haben, welches Verfahren das geeignetste ist. Zum Beispiel kann ein sehr großer Unterschied zwischen den Abfällen der Datenpunkte in dem ersten und zweiten Zeitfenster anzeigen, daß ein lineares Verfahren zu einem schiefen Ergebnis führen kann, und daß ein Mittelwert des bestimmten Zeitfensters das geeignetere sein kann. Wie oben bereits diskutiert, kann das während der Datenerfassung, Manipulation und Analyse eingesetzte Berechnungsverfahren verbessert werden, um auf Driftraten (Abfälle) zu schauen, wenn Datenpunkte in jedem Zeitfenster erfaßt werden, um die "Glätte" des Fensters zu bestimmen. Ähnlich können erste und zweite Ableitungen vollständig gesampelter Zeitfenster unter Verwendung "erweiterter" Berechnungsverfahren verglichen werden.

### 5.3. KALIBRIERFLUID

[0088] Das Kalibrierfluid sollte eine bekannte Konzentration des vorausgewählten Analyts enthalten. Das Kalibrierfluid kann ein feuchtes Gas umfassen, aber es umfaßt vorzugsweise eine wäßrige Flüssigkeit. Die ge-

wählte Konzentration des vorausgewählten Analyts in dem Kalibriermittel ist vorzugsweise ähnlich zu der erwarteten, auf die man in der unbekannt Probe trifft. Wenn notwendig, können auch Konservierungsmittel (z. B. p-Hydroxybenzoat, Phenylmercuriacetat, p-Aminobenzaldehyd und dergleichen) auch enthalten sein, um eine mikrobiologische Verunreinigung zu verhindern. Bei dem bevorzugten Verfahren der vorliegenden Erfindung ist das Kalibrierfluid eine wäßrige Lösung verschiedener Analyte, deren Konzentrationen ähnlich zu denen sind, die in einer unbekannt Probe erwartet werden, bestimm zu werden, üblicherweise Vollblut. Es war die Erfahrung der Erfinder, daß aufgrund der Unterschiede in den Eigenschaften (z. B. der Viskosität) der beiden Fluide die Praxis des vorliegenden Verfahrens vereinfacht wird, wenn ein kleines Blutvolumen verwendet wird, um ein kleines Volumen Kalibrierfluid zu verdrängen. Das heißt, daß das erste Fluid vorzugsweise das Kalibriermittel ist, und das zweite Fluid vorzugsweise die Blutprobe ist. Es sollte jedoch klar sein, daß das vorliegende Verfahren nicht derart beschränkt ist, und daß die Abfolge und Natur der Fluide, die in die Sensoren eingebracht werden, eine Frage der Wahl ist.

#### 5.4. POTENTIOMETRISCHES SIGNALANTWORTVERHALTEN

[0089] Obwohl das Signalantwortphänomen einer ionenselektiven Elektrode (ISE) nach der Änderung der chemischen Zusammensetzung des Fluids, mit dem die Elektrode einen Kontakt hat, der Gegenstand einer starken Untersuchung in der chemischen Literatur war, hat das zeitabhängige Signal einer trocken gelagerten ISE beim ersten Kontakt (Befeuchtung) mit einem wäßrigen Medium relativ wenig Beachtung gefunden. Wie vorher erwähnt, rührt dieses Vernachlässigen aus der allgemein akzeptierten Ansicht in der Technik, daß die ISE vor dem Erreichen eines vollständig ausgeglichenen befeuchteten Zustands von keinem analytischen Wert sein kann. Während dieses Vorurteil für herkömmlich hergestellte Makroelektroden für wahr gehalten werden kann, ist es nicht notwendigerweise für mikrofabrizierte Vorrichtungen richtig.

[0090] Es ist klar, daß es sehr wünschenswert wäre, um nützliche Messungen so dicht wie möglich an "Echtzeit" zu erhalten, analytische Auslesungen von trocken gelagerten ISEs aufzuzeichnen, bevor der ausgeglichene Befeuchtungsvorgang abgeschlossen ist. Ein Mittel zum Erhalten dieser Messung umfaßt das vorher beschriebene bekannte differentielle Verfahren, bei dem ein Paar Elektroden mit dem gleichen Aufbau für jede Analytspezies und die entsprechende Kalibrierlösung verwendet wird. Bei einem derartigen Aufbau gibt es keine herkömmliche Referenzelektrode. Das differentielle Auslesen ergibt das Verhältnis der Konzentrationen von unbekannt zu bekannt hinsichtlich der bestimmten chemischen Spezies, für die die ISE primär empfindlich ist. Aufgrund der Annahme, daß jedes Paar ISE's in den Charakteristika identisch ist, die den Anstieg zu der Befeuchtungs-RC-Zeitkonstante gibt, z. B. der physikalischen Abmessung und Materialzusammensetzung, erscheint die Erwartung, daß das monotone Befeuchtungssignal aus einer differentiellen Messung gelöscht wird, vernünftig zu sein. Obwohl dies ein Ansatz einiger Nützlichkeit ist, hat er bestimmte inhärente Beschränkungen für schnelle parallele elektrochemische Multi-Spezies-Assays, weil er einen genau gleichzeitigen Kontakt zwischen jedem ISE von jedem übereinstimmenden Paar und dem Kalibrierfluid bzw. Probenfluid erfordert. Die mit dem Führen und Verwenden eines Arrays dieser übereinstimmenden ISE-Paare für die Analyse mehrerer Spezies verbundenen Probleme würden als unüberwindbar erscheinen, weil diese Paare nur für Bestimmungen einzelner Analyten eingesetzt werden würden.

[0091] Durch das vorliegende Verfahren werden derartige Beschränkungen beseitigt. Die Befeuchtungsphänomene können bis zu einem hohen Maß an Gewißheit zusammen mit den physikalischen Abmessungen und Materialeigenschaften der Sensoren und der Referenzelektrode kontrolliert werden. Bei der vorliegenden Erfindung zeigt der Ausgang an, daß, wenn das Befeuchten bis zu einem Maß fortgeschritten ist, wo  $\tau < t < 3\tau$  ist, die Abnahme der Änderung als ein linearer Drift behandelt werden kann, und diese lineare Beziehung kann eine zuverlässige Vorhersage des Ausgangs des Sensors nach vorne in der Zeitdomäne für eine kurze Zeitdauer, z. B. 30 Sekunden, sein. Diese Fähigkeit wird entscheidend, wenn man die Lösung im Kontakt mit dem Sensor und der Referenzelektrode austauscht, z. B. die (unbekannte) Probe und das (bekannte) Kalibriermittel, und die Auslesungen zwischen den beiden Fluiden vergleicht. Auf diese Weise ist die Notwendigkeit für eine streng gleichzeitige Einleitung des Kalibriermittels zu der "Referenz"-Elektrode und der unbekannt Probe zu der "Arbeits"-Elektrode umgangen.

[0092] Es sollte herausgestellt werden, daß sogar, obwohl eine mikrofabrizierte Referenzelektrode wahrscheinlich ihre Referenzqualität hat, die durch die letztendliche Einwärts- oder Auswärtsdiffusion ionischer Spezies von dem wäßrigen Medium dargestellt wird, dieses Verfahren in der längeren Zeitdomäne typischerweise monoton ist. Als eine Folge wird der Ausgang eines Sensors, der gegen eine Referenzelektrode gemessen wird, zuverlässig durch eine lineare Beziehung modelliert werden. Lineare Beziehungen werden im großen und ganzen gegenüber Polynomen höherer Ordnung bevorzugt, wegen der grundlegenden Einfachheit, weniger Verwundbarkeit des Signals gegenüber Unterbrechungen und das größere Vertrauen beim Erhalten einer bedeutungsvollen Extrapolation, die mit dem früheren verbunden ist. Überdies sollte es erwähnt werden, daß es mathematisch gezeigt werden kann, daß die allgemeine exponentielle Zeitabhängigkeit derartiger Relaxationsphänomene gut durch eine lineare Funktion bei hinreichend großen Zeitwerten angenähert werden kann.

Die Richtigkeit dieser Annäherung wird klar, wenn man erwähnt, daß die Taylor-Reihenentwicklung der experimentellen Funktion durch die linearen Terme dominiert wird, wenn das Argument  $(-t/\tau)$  sich  $(-\alpha)$  annähert.

[0093] Eine Reihe von **Fig.** (1–3) folgt, um die Befeuchtungsdynamiken verschiedener unterschiedlicher vollkommen mikrofabrizierter Sensoren mit Bezug auf einen vollkommen befeuchteten herkömmlichen Fluß durch eine Silber-Silberchloridreferenzelektrode ebenso wie das Betriebsverhalten derartiger Sensoren gegenüber einer mikrofabrizierten Referenzelektrode darzustellen, die ähnliche Befeuchtungseffekte durchmacht. Man kann sehen, daß es einem eine lineare Anpassung des Auslesens in einem Fluid ermöglicht, genau vorherzusagen, was der Wert des Auslesens an einem späteren Zeitpunkt zum Vergleich mit einem anschließenden Auslesen in einem zweiten Fluid sein sollte.

[0094] Es ist wichtig, das Befeuchtungsverhalten einer trocken gelagerten Dünnschicht-Ionenselektiven Elektrode zu charakterisieren, nachdem sie einem Kalibrierfluid ausgesetzt ist. Wie in **Fig.** 1 dargestellt, wird die Rohwellenform handhabbarer, nachdem die Erdleitung beseitigt und ein Fluidweg zwischen dem Kaliumsensor und der Referenzelektrode ausgebildet ist (bei einem Intervall von ungefähr 9 Sekunden). Der exponentielle Abfall des Potentialausgangs in Richtung eines stationären Werts ist eine Funktion der Befeuchtung des Kaliumsensoren und seiner inhärenten RC-Zeitkonstanten.

[0095] Die **Fig.** 2a bis 2e zeigen die Antwortcharakteristik für eine Kalium-, Natrium-, Chlorid-, Harnstoff- bzw. eine auf der Platte mikrofabrizierte Referenzelektrode gegen eine Standard-Corning-Referenzelektrode, wobei die Änderung von dem Kalibrierfluid zu dem unbekanntem (Proben-) Fluid nach ungefähr 50 Sekunden geschieht. (Bei diesen und den folgenden Figuren ist das Antwortverhalten des Sensors vor dem Einleiten des Kalibrierfluids nicht gezeigt). Das Befeuchtungsantwortverhalten für alle diese ISE's ist ähnlich, wobei sie eine ungefähr lineare Driftrate nach ungefähr 40 Sekunden zeigen. Es ist besonders wichtig zu erwähnen, daß die auf der Platine mikrofabrizierte Referenzelektrode (**Fig.** 2e) nicht auf die Fluidänderung außer der korrigierbaren kleineren Ionenstärke und der Matrixeffekte antwortet. Somit kann sie vorteilhafterweise als die tatsächliche Referenzelektrode für die Kalium-, Natrium-, Chlorid- und Harnstoffsensoren eingesetzt werden. In den **Fig.** 3a–3d zeigen die Daten, die diesen jeweiligen Sensoren entsprechen, wobei die mikrofabrizierte Referenzelektrode als die Referenz auf der Platine eingesetzt wird, daß die Referenzelektrode auf der Platine in der Tat routinemäßig arbeitet, und daß die mit der Fluidänderung verbundenen Störungen in den **Fig.** 2a–2d ebenso beseitigt sind. Dieses Ergebnis wird voraussichtlich aufgrund der größeren Nähe der Referenzelektroden auf der Platine zu den Sensoren beobachtet.

[0096] Im Sinne der Auswahlkriterien für die Art des Berechnungsverfahrens zur Datenmanipulation und Analyse kann ein empirischer Ansatz eingesetzt werden, der die Bestimmung der Genauigkeit und Präzision für jede Beziehung erster Ordnung bestimmt. Ein Linear/Linear-Verfahren wird als überlegen für den Kalium-, Natrium- und Chloridsensor gefunden. Der Harnstoffsensor, der eine langsamere Antwortzeit hat, schafft beste Ergebnisse, wenn eine Linear/Mittelwert-Anpassung eingesetzt wird. Die exakte Stelle und Dauer der Datenerfassungsfenster kann auch auf diese Weise festgelegt werden.

## 5.5. STROMMESSUNGSSIGNALANTWORT

[0097] Im Gegensatz zu potentiometrischen Messungen, wo die ideale Empfindlichkeit des Antwortverhaltens eines Sensors durch fundamentale Konstanten und intensive thermodynamische Größen über die Nernst-Gleichung bestimmt wird, ist der Stromausgang bei Strommessungsmessungen systemabhängig. Das heißt, daß das Ergebnis von der Geometrie und den Transporteigenschaften der überlagerten Strukturen abhängt, ebenso wie von den Oberflächeneigenschaften der Elektrode. Jedoch wird das Stromantwortverhalten oberhalb eines gewissen bestimmten Konzentrationsbereichs direkt proportional zu der Mengenkonzentration des Analyts sein. Jedoch wächst der absolute Strom bei irgendeiner bestimmten Mengenkonzentration üblicherweise über die Zeitdomäne, wie die überlagerten trocken gelagerten Hydratstrukturen; d. h., daß die Transportrate über die Membranen zunimmt. Dieser Vorgang kann den analytischen Wert des Sensors in Frage stellen, seine erreichbare Genauigkeit und Präzision einschränken, wenn nicht der Kalibriervorgang und die anschließende Messung in einem (unbekanntem) Probenfluid über die Zeitdomäne nahe beieinander durchgeführt werden. Es ist klar, daß der Betrieb von trocken gelagerten Einwegstrommessungssensoren erfordert, daß die Abfolge der in dem Verlauf der Messung durchgeführten Schritte auf eine sorgfältige Weise kontrolliert wird.

[0098] Bei einer bevorzugten Ausführung der vorliegenden Erfindung werden zumindest zwei Strommessungssensorsignale (z. B. der Stromausgang) in jedem Datenerfassungsfenster bestimmt (wieder sollte es zumindest zwei Zeitfenster geben, eines für jedes Fluid). Überaus vorzugsweise wird eines der Sensorsignale, das in jedem Zeitfenster bestimmt wird (z. B. das Kalibrierfluidzeitfenster) bei einem ersten anliegenden Potential gemessen, und das andere der Sensorsignale wird noch in demselben Zeitfenster bei einem zweiten anliegenden Potential gemessen. Eine Fluidänderung wird dann gemacht, und der obige Signalmessungsvorgang wird wiederholt. Wenn z. B. das anliegende Potential schrittweise von einem Wert zu einem höheren anliegenden Potential in dem ersten Zeitfenster erhöht wird, dann kann es in dem zweiten Zeitfenster vorteilhaft sein, von dem höheren Wert zu einem niedrigeren anliegenden Potential stufenweise herunterzugehen.

[0099] Der Bereich der anliegenden Potentiale für die einzelnen Signalmessungen kann gemäß den Bedürfnissen der besonderen Anwendung variiert werden. In dem Fall eines Glukosesensors können die anliegenden Potentiale so gewählt werden, daß sie in dem Bereich von ungefähr 100 bis ungefähr 300 mV liegen. Überaus vorzugsweise wird die eine der zumindest zwei Signalmessungen in einem bestimmten Zeitfenster bei einem anliegenden Potential von ungefähr 125 mV ausgeführt, und die andere Messung bei ungefähr 225 mV. Die bei einem bestimmten anliegenden Potential erhaltenen Werte werden dann auf einer Kurve des Signals (z. B. dem Strom) über dem anliegenden Potential gezeichnet, und der Abfall der Linie, der durch derartige Werte bestimmt ist, wird berechnet und für jedes Zeitfenster verglichen. Auf diese Weise kann der Abfall der Linie, der für ein Kalibrierfluid mit einer bekannten Konzentration einer vorausgewählten Spezies erhalten wird, mit dem verglichen werden, der für eine Linie aufgezeichnet wurde, die von einem Probenfluid abgeleitet wurde.

[0100] Zur weiteren Illustration der vorliegenden Ausführung wird die Aufmerksamkeit des Lesers auf **Fig. 4** gerichtet, bei der ein Beispiel von gerade einer derartigen Kurve eines Signals über dem anliegenden Potential gezeigt wird, die gerade oben beschrieben wurde. Bei einer Untersuchung des Bereichs der Kurve, die zwischen ungefähr +100 bis ungefähr +200 mV liegt, bemerkt man, daß ein kleiner positiver Nettostrom gemessen werden kann, wenn die elektrokatalytische Oxidation von Wasserstoffperoxid nicht gut mit dem entsprechenden Reduktionsvorgang ausgeglichen ist. Es ist jedoch klar, daß in diesem Bereich, oder in einem bestimmten Bereich zwischen ungefähr -100 und ungefähr +350 mV, der Abfall der Kurve aufgrund des reinen HEPES-Puffer (X) erheblich unterschiedlich von dem der Kurve aufgrund einer Lösung von 20 mM Glukose in HEPES-Puffer (O) ist. In der Tat ist der Abfall von jeder Kurve unmittelbar mit der Konzentration von Glukose in jedem der verschiedenen Fluide verbunden.

[0101] Vorzugsweise sind die anliegenden Spannungen mittig um den Bereich, in dem der Nettostrom ist, oder nahe bei Null. Auf diese Weise ist der Beitrag störender Redoxvorgänge zu dem Gesamtstrom oder der Effekt irgendeines Vorspannungsstroms, der mit der Meßelektronik verbunden ist, minimiert, und die beste Abschätzung für den maximalen Abfall wird erhalten.

## 5.6. SENSORAKTIVIERUNG

[0102] Der Betriebsmodus kann insbesondere für Strommessungssensoren komplex sein, die im Gegensatz zu potentiometrischen Sensoren, die elektrisch passiv sind, aktive Vorrichtungen sind. Ein Strommessungssensor mißt die Rate des Elektrontransfers über den Elektroden-Lösungs-Übergang. Üblicherweise spielt die Elektrodenoberfläche eine Katalysatorrolle bei derartigen Elektrontransfer (Redox)-Reaktionen; daher ist der Strom nicht nur von dem Oberflächengebiet des Sensors sondern auch von der katalytischen Aktivität der Oberfläche abhängig.

[0103] Es ist für Elektrodenoberflächen nicht ungewöhnlich, verunreinigt oder deaktiviert zu sein. Während eine katalytische Iridiumoberfläche die als Basissensor für eine Glukoseelektrode wirkt (siehe z. B. frühere US-Anmeldung Nr.

[0104] 07/432,714), sehr aktiv für Wasserstoffperoxidoxidation vor der Abscheidung überlagerter Strukturen ist, ist ihre katalytische Aktivität nach einem derartigen Vorgang stark vermindert. Das folgende Verfahren ist ausgelegt, um die Empfindlichkeit der deaktivierten Metalloberfläche wieder herzustellen, ohne die überlagerte ausgebildete Architektur zu beschädigen.

### 5.6.1. VERFAHREN ZUR GLUKOSEAKTIVIERUNG

[0105] Das vorliegende neue Betriebsverfahren ist zur schnellen Aktivierung der Elektrodenoberfläche eines trocken gelagerten Strommessungsglukosesensors ohne die schädliche Beeinflussung der überlagerten Strukturen einsetzbar. Diese Aktivierung leistet einen wichtigen Beitrag zu der gesamten scheinbaren Befeuchtungs-RC-Zeitkonstanten für die Sensoren. Im Gegensatz zu den bekannten Impulsverfahren, die immer während des analytischen Segments der Messung ausgeführt werden (d. h. während die Vorrichtungen vollständig befeuchtet sind, und die Impulse die Datenerfassung betreffen), wird die vorliegende Aktivierung in der Gegenwart eines nicht korrodierenden Fluids, aber vor der Datenerfassung und bevor der Sensor einen vollständig befeuchteten Zustand erreicht hat, ausgeführt.

[0106] Um den Aufbau zu aktivieren, wird ein Satz von Impulsgruppen an den Glukosesensor in der Gegenwart des Kalibrierfluids oder des Probenfluids angelegt. Dieser Vorgang umfaßt das Ändern (zyklische Ändern) des anliegenden Potentials zwischen Werten entgegengesetzten Vorzeichens (z. B. wie +1 V bis -1 V). Die Impulse werden vorteilhafterweise in Vollschrittstufen angelegt (d. h. bei  $\pm 1$  V Vollschritten). Jedoch sollte es den Durchschnittsfachleuten klar sein, daß derartiges zyklisches Ändern auch in einer Vielfalt anderer Wege erreicht werden kann, einschließlich aber nicht beschränkt auf (i) Pulsen; (ii) inkrementelle Zwischenschritte zu dem gewünschten positiven Potential, gefolgt von inkrementellen Zwischenschritten zu dem gewünschten negativen Potential; (iii) lineare Potentialveränderungen zu den jeweiligen gewünschten Potentialen; und (iv) nicht lineare Potentialveränderungen oder derartige Veränderungen, die glatte sinusförmige Wellen zusam-

mensetzen.

[0107] Allgemein haben die ersten zwei Impulsgruppen in dem Satz eine Größe und Dauer, die hinreichend ist, um die katalytische Oberfläche der Elektrode zu aktivieren. Diese Impulsgruppen können auch die Hydratation der darüberliegenden Strukturen fördern. Die dritte Impulsgruppe in dem Satz dient dazu, die Anfangsänderungsrate im Strom beim Anlegen des tatsächlichen Betriebspotentials zu reduzieren. Jetzt mit Bezug auf **Fig. 5a** entspricht die Zeit Null der Zeit, bei der der Sensor in Kontakt mit dem Fluid, dem Kalibriermittel bei dem vorliegenden Fall, kommt, wobei man beobachtet, daß während des Anlegens der ersten beiden Impulsgruppen die Spitzenströme für die Wasserstoffperoxidoxidation und -reduktion dramatisch zunehmen. **Fig. 5b** zeigt detaillierter das Antwortverhalten des aktivierten Sensors bei dem Betriebspotential auf eine 5 mM Glukosekalibrierlösung (26–53 s) gefolgt von einem 10 mM menschlichen Serum (von ungefähr 54 s). Der analytische Wert des Glukosesensors ist klar offensichtlich, wobei ein deutlicher Strom für beide Fluide beobachtet wird, und wobei der Strom eine Zunahme zeigt, nachdem der Sensor einem biologischen Fluid mit einer Glukosekonzentration ausgesetzt wird, die höher als die der Kalibrierlösung ist. Bei einem Betriebspotential von +350 mV hat der Sensor ein lineares Stromantwortverhalten in einem Bereich von 0,1–30 mM Glukose. **Fig. 5c** legt nahe, daß der Sensor bereits voll aktiviert ist, weil es nur eine marginale Zunahme bei dem maximalen Wasserstoffperoxidations- und Reduktionsstrom gibt, wenn die gesamte Impulsfolge an demselben Sensor wiederholt wird.

[0108] Eine brauchbare Alternative, das anliegende Potential zyklisch zu ändern, beinhaltet die galvanostatische Kontrolle über die Sensoraktivierung, wobei eine konstante Stromquelle an den Sensor angelegt wird, bis das erforderliche Potential einen gewissen vorbestimmten Wert oder eine gewisse vorbestimmte Änderungsrate erreicht.

[0109] Eine weitere Alternative zum Messen des Stromausgangs der Sensoren, um ihren Aktivierungswert zu bestimmen, umfaßt das Durchführen einer Leitfähigkeitsmessung zwischen zwei Elektroden, von denen eine der Sensor ist.

[0110] Bei einer Ausführung des vorliegenden Verfahrens sind die Impulsfolgen für Wasserstoffperoxidmessungssensoren wie folgt: die Impulsgruppen 1 und 2 sollten eine Dauer von 5 Sekunden mit Grenzwerten von +0,7 bis +1,2 V bei der oxidierenden Seite und –0,7 bis –1,2 V bei der reduzierenden Seite haben, wobei die Impulse symmetrisch oder nicht symmetrisch angelegt werden können. Ein einzelner ausgedehnter negativer Impuls gefolgt von der Standardfolge kann auch vorteilhafterweise angelegt werden. Die Erfinder haben beobachtet, daß negative Impulse ein wichtiger Gesichtspunkt des Aktivierungsvorgangs sind, und sie spekulieren, daß der Aktivierungsvorgang wahrscheinlich mit der Reduktion einer oder mehrerer Arten funktionaler Gruppen der Iridiumelektrode verbunden ist. Jedoch wollen die Erfinder nicht, durch die vorliegende Spekulation gebunden sein, noch wünschen sie, den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung zu beschränken, indem sie spezifische Interpretationen des Aktivierungsvorganges der Oberfläche auf einem molekularen Niveau machen.

[0111] Die dritte Impulsgruppe sollte aus Gruppen ausgewählt sein, bei denen der endgültige Potentialschritt in dem Bereich von +400 mV bis +800 mV liegt. Wie man aus **Fig. 5b** sehen kann, zeigt der für das 5 mM Glukosekalibrierfluid aufgezeichnete Strom, daß der Sensor einen hinreichenden Grad an Befeuchtung und Aktivierung erreicht hat. Während der Zeitdauer von 46 bis 52 Sekunden werden Daten in dem ersten Zeitfenster für eine spätere Extrapolation aufgezeichnet. Nach 53 Sekunden wird das Kalibrierfluid zum Abfall gedrängt, und das biologische Fluid (die Probe) wird über dem Sensor angeordnet. Ein Vorteil dünnschichtmikrofabrizierter Bioschichten besteht darin, daß die Antwortzeit (d. h. die Zeit, die es dauert, bis sich der Strom auf einen Wert ändert, der proportional zu der Mengenkonzentration des Analyts in dem zweiten Fluid ist) schnell ist, üblicherweise weniger als 5 Sekunden. Es ist diese zusätzliche Eigenschaft der vorliegenden mikrofabrizierten Vorrichtungen, die zu dem Erfolg der vorliegenden analytischen Verfahren beiträgt. Während der Zeitdauer von 61 bis 66 Sekunden werden Daten in dem zweiten Zeitfenster aufgezeichnet.

[0112] Wie bei den potentiometrischen Sensoren basieren die Auswahl eines geeigneten Orts für das Datenerfassungsfenster und die Wahl der Datenanpaßberechnungsverfahren auf empirischen Berechnungen der Genauigkeit und Präzision, die mit jeder der Anpassungen erreichbar ist. Wie bei dem potentiometrischen Harnstoffsensor bevorzugt man eine Linear/Mittelwert-Anpassung für den Glukosesensor.

## 5.6.2. ALLGEMEINE BETRIEBSVERFAHREN

[0113] Die obige Diskussion betrifft einen Glukosesensor mit einem Iridiumelektrokatalysator, an dem Wasserstoffperoxid, das durch eine enzymatische Reaktion erzeugt wird, durch elektrochemische Oxidation bei einem Betriebspotential von +350 mV gegenüber einer Silber-Silberchlorid-Referenzelektrode auf der Platine gemessen wird. Ein alternatives Verfahren zum Betreiben dieses Sensors basiert auf der elektrochemischen Reduktion von Wasserstoffperoxid. Dieser Betrieb wird erreicht, indem ein Betriebspotential in dem Bereich von Null mV bis –250 mV angelegt wird, dem Impulsgruppen vorangehen, die ähnlich zu den oben genannten Gruppen 1 und 2 sind, wobei aber die Impulsgruppe 3 ein endgültiges Potential aufweist, das in dem Bereich

von  $-200$  mV bis  $-500$  mV eingestellt ist.

[0114] Die oben beschriebenen Betriebsverfahren können auch zum Aktivieren von Sensoren angewendet werden, wobei Platin oder ein anderes Edelmetall als der Elektrokatalysator anstelle von Iridium verwendet wird; diese Oberflächen werden auch während der Schritte nach der Verarbeitung deaktiviert.

[0115] Ein Sauerstoffsensoren, der in der US-Anmeldung Nr. 07/432,714 offenbarten Art mit einem Goldelektrokatalysator, der zur Sauerstoffreduktion geeignet ist, kann auch mit dieser Art Aktivierungsverfahren betrieben werden. Jedoch ist es manchmal wünschenswert, die Dauer und die Größe der Impulsgruppen 1 und 2 zu modifizieren, weil verschiedene Metalloberflächen in einem unterschiedlichen Ausmaß während der Abscheidung überlagerter Strukturen und damit verbundener Verarbeitungsschritte deaktiviert werden. Außerdem wählt man die Impulsgruppe 3 vorzugsweise derart, daß sie in den Bereich von  $-600$  mV bis  $-800$  mV fällt, wobei ein Betriebspotential in dem Bereich von  $-400$  mV bis  $-550$  mV für die Sauerstoffreduktion an einer Goldelektrode in Erwägung gezogen wird.

### 5.6.3. BERECHNUNGSVERFAHREN FÜR ENZYMASSAYS UND IMMUNOASSAYS

[0116] Bei einem Metabolitassay ist die Bestimmung der Mengenkonzentration des Metaboliten die Aufgabe des Berechnungsverfahrens. Es ist klar, daß der Sensor nicht die Mengenkonzentration des Metaboliten stören sollte, wenn die Messung von einem analytischen Wert sein soll.

[0117] Für einen Enzymsensoren oder ein enzymgebundenes Assay auf Immunosensorbasis ist im Gegensatz dazu die Bestimmung der Rate der Konzentrationsänderung einer elektroaktiven Spezies, die verbraucht oder erzeugt wird, während der Assay im Betrieb ist, die Aufgabe des Sensorberechnungsverfahrens, wobei die Rate die Enzymaktivität wiedergibt, die in dem System vorhanden ist. Für Enzyme und enzymgebundene Immunoassays geeignete Sensoren sind wieder einmal in der US-Anmeldung Nr. 07/432,714 offenbart.

[0118] Wenn das Produkt des Assays Wasserstoffperoxid ist (d. h., daß es die elektroaktive Spezies ist, die im Verlauf von dem Assay produziert wird), kann das Berechnungsverfahren wie folgt modifiziert werden: nachdem ein Satz Aktivierungsimpulsgruppen angelegt wurde, und die Messung eines Kalibrierstroms durchgeführt wurde, wie oben beschrieben, werden Substrate oder Reagenzien für das Enzym oder das enzymgebundene Immunoassay in den Sensor eingeleitet. Nach einer kurzen Induktion oder Mischzeitdauer ändert sich der Strom stetig, und die Anfangsrate der Änderung  $di/dt$  wird dann berechnet (siehe **Fig. 6**). Aus der Änderungsrate in dem Strom und der elektroaktiven Spezies mit bekanntem Strom, die einer bestimmten Konzentration in dem Kalibriermittel entspricht, kann die Rate der Zunahme ihrer Konzentration abgeschätzt werden. Diese Rate kann als die Enzymaktivität ausgedrückt werden, das sind die Mole des Substrats, die pro Zeiteinheit bei einer bestimmten Temperatur, einem bestimmten pH usw., verbraucht werden. Es ist wichtig zu erwähnen, daß, wenn sich die Datensammelzeitdauer sich über einige Minuten erstreckt, die oben erwähnten Impulsgruppen den Sensoraufbau bis zu einem hinreichenden Ausmaß befeuchten, derart, daß das Kalibriersignal ohne weiteres nach vorne in der Zeitdomäne extrapoliert werden kann. Anderenfalls kann die Ratenmessung, die auf dem anfänglichen Sensorantwortverhalten in der Gegenwart eines Kalibrierfluids basiert ist (wenn ein Kalibriermittel vor dem Einleiten der Probe eingeleitet wird), erheblich in Frage gestellt werden (vergleiche frühere Diskussionen, die die Wichtigkeit des zeitlich dicht benachbarten Durchführens der Kalibrier- und Probenmessung betreffen). Die Verwendung mikrofabrizierter Immunosensoren macht es auf diese Weise möglich, Ratenmessungen zu erhalten, bevor der Sensor einen voll befeuchteten Zustand einnimmt.

[0119] Ein weiteres Problem, das auftritt, wenn ein Sensor über eine ausgedehnte Zeitdauer (2–3 Minuten) betrieben wird, besteht darin, das Produktaufbau- oder Reaktionsverminderungszonen in den überlagerten Strukturen der Elektrode mit begleitenden Diffusionsgradienten auftreten, die sich in die Hauptlösung hinaus erstrecken. Eine derartige Inhomogenität in der Nähe des Sensors kann seine Leistungsfähigkeit nachteilig beeinflussen. Zum Beispiel verursacht ein übermäßiges Differential zwischen der Wasserstoffionenkonzentration in der Nähe der Elektrode und der Wasserstoffionenkonzentration in der Hauptlösung eine Verschiebung bei der Aktivierungsenergie für die Wasserstoffperoxidoxidation. Diese Verschiebung kann zu einem nicht linearen Stromantwortverhalten führen. Dieses Problem kann umgangen werden, indem das Berechnungsverfahren modifiziert wird, um zusätzliche Sätze von Impulsgruppen in vorausgewählten Zeitintervallen aufzunehmen. Nach Anlegen des anfänglichen Satzes von drei Impulsgruppen und nachdem die Kalibrierung durchgeführt wurde, wie oben beschrieben, dürfen Substrate oder Reagenzien für den Assay über den Sensor laufen. Eine Messung wird dann auf fast dieselbe Weise durchgeführt, wie oben für Glukose beschrieben. Jedoch wird nach dieser Messung die Impulssequenz oder ein etwas modifizierter Teil davon wiederholt, und eine zweite Messung wird gemacht. Diese Abfolge wird einige Male (üblicherweise fünf bis zehn mal) wiederholt, um einen Satz von Strommessungen hervorzubringen, die in genauen Zeitintervallen gemacht sind. Die anfängliche Änderungsrate in dem Strom kann dann genauer für diesen Satz von Strommessungen abgeschätzt werden, weil das wiederholte Pulsieren die Wirkung des Auswaschens der Elektrodenoberfläche und der überlagerten Strukturen und das Durcheinanderbringen der Fluidschicht und der Konzentrationsgradienten hat, die nahe an dem Sensor liegen. Wieder werden alle diese Vorgänge an einem Sensor überwacht, der das Befeuchten

durchmacht, d. h.  $t \leq 3\tau$ .

#### 5.6.4 WEITERENTWICKELTE BETRIEBSVERFAHREN

[0120] Weiterentwickelte Betriebsverfahren können auch eingesetzt werden, um das System "smart" zu machen. Solche Verfahren können während des Echtzeitbetriebs der Sensoren oder während der Behandlung nach der Datensammlung angewendet werden. Siehe insbesondere die flexiblen Verfahren zum Überwachen der Aktivierung der Strommessungssensoren, dem Abschätzen der Richtigkeit eines bestimmten Satzes Datenpunkten oder dem Bestimmen der besten Stelle für das Datenfenster, um ein paar zu nennen.

[0121] Somit können diese Verfahren Alternativen zum Anlegen der identischen Impulsfolge auf alle Strommessungssensoren umfassen, die in dem Feld vorhanden sein können. Zum Beispiel kann das Betriebsverfahren derart modifiziert werden, daß die Impulsgruppen 1 und 2 angelegt werden, bis der beobachtete Spitzenstrom, der mit jedem Potentialimpuls verbunden ist, einen Endwert erreicht hat, bis die für die gesamte Impulsfolge hindurchgetretene Ladung den Endwert erreicht hat, oder bis die RC-Zeitkonstante für die Sensoren nach einem bestimmten Impuls innerhalb eines gewissen vorbestimmten Wertebereichs liegt. Überdies können die Impulsgruppen 1 und 2 angelegt werden, bis die Änderungsrate zwischen aufeinanderfolgenden Impulsen im Sinne des Spitzenstrom, der hindurchgetretenen Ladung oder der RC-Zeitkonstante innerhalb eines gewissen vorausgewählten Bereichs liegt.

[0122] Weiterentwickelte Verfahren zur Fehlerwiederherstellung können auch implementiert sein. Insbesondere können Berechnungsverfahren zum Detektieren des Vorliegens von Störungen in dem Datensatz eingebaut werden; ganz gleich, ob derartige Störungen isoliert oder zahlreich sind, oder ob sie mit einem gemeinsamen Untergrundrauschen verbunden sind. Ein weiterentwickeltes Verfahren zum Wahrnehmen von Unversehrtheitsfehlern kann geeignete Lösungen vorschlagen, wie z. B. die Anwendung von Mittelwertfiltern. Alternativ kann ein anderer Datensatz gewählt werden, der von einem getrennten Datenfenster abgeleitet wird, das in dem System gespeichert ist. Wenn z. B. die Probe ein abnormal langsames Antwortverhalten von dem Sensor bewirkt, beim Kontakt mit den Sensoren einen Anstieg zu nicht idealen Wellenformen macht oder im großen und ganzen keine guten Wellenformen bereitstellt, können das erste und zweite Zeitfenster nicht in dem am Anfang besten Platz angeordnet werden. Das Vorhandensein leichter Defekte in dem Sensor kann auch einen Anstieg zu geringeren als wünschenswerten Antworten ergeben. In dem Fall eines langsamen Antwortverhaltens kann der maximale Wert für die Probe oder das zweite Fluid noch nicht erreicht worden sein, bevor eine zweite Signalmessung durchgeführt wird (d. h., daß ein zweites Zeitfenster zum Vergleichen mit dem ersten Zeitfenster ausgewählt wird, das dem ersten Fluid oder dem Kalibrierfluid zugeordnet ist). Das der Probe zugeordnete Signal kann schnell abnehmen, gleich nachdem der Maximalwert erreicht wurde, um somit einen niedrigeren Wert als den bereitzustellen, der hätte beobachtet werden sollen, wenn das Signal nicht abgenommen hätte.

[0123] Bei beiden in dem vorangehenden Absatz diskutierten Fällen kann das Berechnungsverfahren für das richtige Datensammelfenster suchen, und den Maximalwert auffindig machen, der eine bessere Abschätzung der Konzentration der vorausgewählten Analytspezies schafft. Selbst wenn bestimmte Fehlergrenzen erreicht oder überschritten werden, kann auch eine Wiederüberprüfung des Werts des Abfalls und der Qualität des Gesamtdrifts das Instrument veranlassen, die erhaltenen Werte zu akzeptieren. In bestimmten kann der Wert des Deltadrifts ein Datenfenster mit einer ungewöhnlichen Anzahl von Störungen oder einem hohen Maß an Rauschen nicht berücksichtigen. Natürlich können verschiedene Verfahren zum Extrapolieren der Abfalleigenschaften und dem Berechnen des Unterschieds zwischen den Signalmessungen ausgewählt werden. Diese nicht idealen Antwortverhalten können bei häufig verwendeten Sensoren mit stärkerer funktionaler Komplexität auftreten.

[0124] Wie früher erwähnt, kann man sich auch flexible Berechnungsverfahren vorstellen, die angepaßt sind, um zu bestimmen, wann und ob eine hinreichende Anzahl an Datenpunkten gesammelt wurde. Derartige weiterentwickelte Verfahren können die Zeit herabsetzen, die zum Ausführen des Datensammelns und der Datenanalyse notwendig ist.

#### 5.7. LEITFÄHIGKEITSMESSUNGEN

[0125] Für eine Kolloidsuspension, wie z. B. Blut, ist die elektrische Leitfähigkeit eine Funktion der Natur der Teilchen, des Mediums und des Anteils des Gesamtvolumens, das von den Teilchen eingenommen wird. Bei hohen Teilchenkonzentrationen, wie in Blut, ist es auch notwendig, die Geometrie und Orientierung des Teilchens in Betracht zu ziehen.

[0126] Die gesamte Zeitdauer der Datenerfassung bei dem Kalibriermittel und in dem Blut dauert nur ungefähr eine Sekunde. Während dieser Zeitdauer wird die Wechselstromleitfähigkeit bei einer Frequenz gemessen, die ausgewählt ist, um hinreichend hoch zu sein, um den Widerstand bei der Sensor-Fluid-Zwischenfläche zu minimieren, und hinreichend niedrig, um die kapazitive Kopplung über die Erythrozytenzellmembran zu mi-

nimieren. Eine bevorzugte Frequenz liegt bei ungefähr 50 KHz.

[0127] Sobald die Kalibrierung gemacht wurde, wird dann das Kalibrierfluid entfernt und Blut eingeleitet. Der Meßzyklus wird dann wiederholt, wobei die tatsächliche Meßzeit derart gewählt wird, daß das Blut in einem ruhigen Zustand ist, aber sich bevor ein erhebliches Maß an Erythrozyten geordnet hat.

[0128] Der Leitfähigkeitssensor umfaßt zwei Edelmetallelektroden, die auf einer ebenen Oberfläche mikrofabriziert und mit einer geeigneten Geometrie konstruiert sind.

[0129] Für Leitfähigkeitsmessungen besteht keine Notwendigkeit für ein kompliziertes Berechnungsverfahren zum Durchführen einer Signaturanalyse. Die Berechnung des prozentualen Hämatokrits in dem Blut wird entweder aus einer empirisch bestimmten Kalibrierkurve, die in den Elektroniken gespeichert ist, oder eher vorzugsweise mittels einer Gleichung gemacht, die von Velick und Gorin wie in Journal of General Physiology 1940, 23, 752–771, beschrieben, entwickelt wurde.

[0130] Eine derartige Leitfähigkeitsmessung kann auch eingesetzt werden, um den Erfolg oder Fehler des Fluidaustauschvorgangs festzustellen. Das heißt, daß gespeicherte Werte vorhergesagter Fluidleitfähigkeiten mit den beobachteten Messungen verglichen werden können, um ein Qualitätssicherungsverfahren für das Detektieren des Vorhandenseins eines adäquaten dazwischenliegenden Luftsegments zwischen den Fluiden, des Versagens, daß das Kalibrierfluid sich zum Abfall bewegt hat, oder anderer derartiger Systemfehler, die mit den Fluidbewegungen verbunden sind.

## 5.8. SYSTEMINTEGRATION

[0131] Wie anderswo in dieser Offenbarung erwähnt, ist ein System, das bei den klinischen Einstellungen am attraktivsten ist, nicht auf diskrete Messungen einzelner Analyte beschränkt. Stattdessen bevorzugt man ein Feld von Sensoren, die ausgelegt sind, um eine Vielzahl diskreter Messungen eines Bereichs unterschiedlicher Analyte in biologischen Fluiden zu machen. Dieses Feld von Sensoren wird vorzugsweise einem einzigen gemeinsamen Kalibrierfluid ausgesetzt, das entfernt wird, nachdem alle Sensoren kalibriert wurden. Nur dann kann das zweite Fluid (die Probe) zu den Sensoren geleitet werden. Ein derartiges integriertes Einstellen bedeutet, daß alle Sensoren chemisch und elektrisch kompatibel sein müssen: d. h., daß sie mit ungefähr derselben Rate befeuchtet werden und antworten müssen, ohne sich gegeneinander zu stören. Somit wird die Sensorkompatibilität und Systemintegration verbessert, wenn die Impulsfolge, die bei Strommessungsmessungen eingesetzt wird, abgeschlossen wird, bevor die potentiometrischen Messungen durchgeführt werden, weil der hohe Stromfluß in der Lösung, der mit den Impulsen verbunden ist, die Unversehrtheit des potentiometrischen Signals unterminieren kann.

[0132] Wenn der Leitfähigkeitssensor aktiviert wird, fließt auch ein Strom von ca.  $10^{-3}$  A in der Lösung zwischen dem Paar Metallelektroden. Obwohl dieser Strom klein zu sein scheint, ist er ungefähr sechs Größenordnungen größer als der bei den Strommessungsanalysen gemessene. Wieder fließt auch während der Zeitdauer, wenn die Strommessungssensoren gepulst werden, ein maximaler Strom von ca.  $10^{-6}$  A. Um die Störung während der Kalibrierung zwischen den Leitfähigkeitsmessungs- und Strommessungssensoren zu minimieren, bevorzugt man, daß der Leitfähigkeitssensor nach der Aktivierung der Strommessungssensoren betrieben wird, aber bevor Strommessungsdaten erfaßt werden. Nach der Fluidänderung wird die Strommessungsdatenerfassung durchgeführt, bevor die zweite Leitfähigkeitsmessung gemacht wird. Eine Reihe von Widerständen, ca.  $10^5$  Ohm, kann auch eingesetzt werden, um Strommessungssensoren während den Wechselstromleitfähigkeitsmessungen zu schützen.

[0133] Wie zuvor erwähnt, kann der Leitfähigkeitssensor auch eingesetzt werden, um die gesamte Zusammensetzung eines Fluids zu unterscheiden, d. h. ob der Sensor in Kontakt mit Kalibrierfluid, Serum oder Vollblut ist, oder für den Fall, daß überhaupt keine Probe vorhanden ist, d. h. Luft. Weil viele der Sensoren Matrixeffekte zeigen, wie oben diskutiert, kann diese Messung verwendet werden, um eine geeignete Korrektur der Berechnung der Konzentration der vorausgewählten Analyte zu machen.

[0134] Hinsichtlich der Integration der Leitfähigkeitsmessungen mit potentiometrischen Messungen gibt es keine erkennbare Störung. Jedoch bevorzugt man, daß die Leitfähigkeitsmessung während der Datenerfassung bei den potentiometrischen Sensoren vermieden wird.

[0135] Außerdem bevorzugt man, daß es eine Fluiderdungselektrode in nächster Nähe zu den potentiometrischen Sensoren gibt, um Überschußladung zu absorbieren, die in dem Fluid erzeugt wird, wenn der Leitfähigkeitssensor aktiviert wird. Diese Überschußladung kann den unerwünschten Effekt der Polarisierung der potentiometrischen Membranen haben. Überdies müssen die Membranen schnell depolarisiert werden, wenn sie einen analytischen Wert haben sollen.

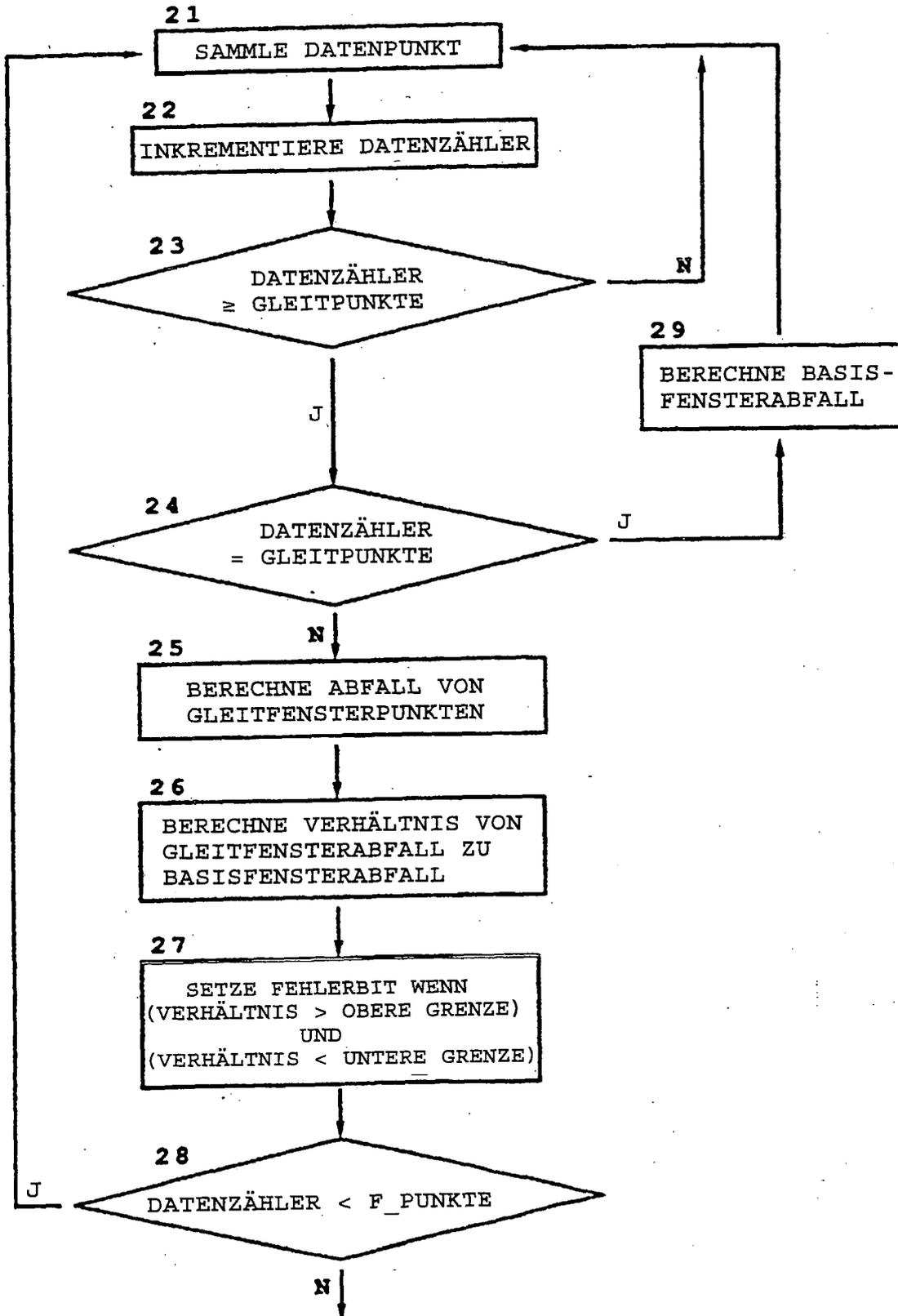
[0136] Schließlich kann es erwünscht sein, den Leitfähigkeitsmessungssensor auf einem von dem der potentiometrischen Sensoren getrennten Chip anzuordnen. Üblicherweise werden diese Sensorstrukturen tatsächlich auf einem Siliciumwaver mit einer Isolierschicht, ca.  $0,5 \cdot 10^{-6}$  m dick, aus Siliciumdioxid fabriziert. Das darunterliegende Silicium ist ein Halbleiter, was bedeutet, daß die kapazitive Kopplung zwischen den Sensoren eine mögliche Signalstörung darstellt. Das Trennen der Sensoren auf verschiedene Chips vermeidet dieses

mögliche Problem.

## 6. BEISPIELE

[0137] Als eine weitere Darstellung des vorliegenden Verfahrens wird das folgende Beispiel beschrieben. Jetzt mit Bezug auf Diagramm II wird dort ein detaillierteres Flußdiagramm des Datensammelverfahrens gezeigt. Wie zuvor erwähnt, kann die Datensammlung auf verschiedene unterschiedliche Weisen durchgeführt werden, einschließlich dem einfachen sequentiellen Messen und Speichern der Daten. Das Verfahren des bevorzugten Ausführungsbeispiels erlaubt die Verifikation der Unversehrtheit der Messungen in Echtzeit, während des Sammelns der Eingangsdaten. Obwohl eine sorgfältige Datenintegritätsanalyse bei der Datenanalysestufe geschaffen wird, erlaubt dieses Online-Verifikationsverfahren eine frühzeitige Detektion und mögliche Beseitigung von Spitzen, Störungen und anderem Rauschen in den Daten. Alternativ können die Zeitfenster intelligent in flexiblen Intervallen festgelegt werden, wo die Datenpunkte nicht erheblich von Rauschen beeinflusst werden. Derartige glatte Zeitfenster können somit leicht lokalisiert werden.

DIAGRAMM II



[0138] Bei dem vorliegenden Beispiel beginnt das Datensammelverfahren bei Block 21, wo jeder Datenpunkt gemessen wird. Die Datenerfassung umfaßt das Aufnehmen eines analogen Signals und das Aufzeichnen im digitalen Format in dem geeigneten Speicherplatz. Um zu gewährleisten, daß das System nicht auf 60 Hz Rauschen empfindlich ist, wird vorzugsweise alle Sechzigstelsekunden ein Satz von 80 Datenpunkten aufgezeichnet. (Es ist klar, daß in Ländern, wo 50 Hz Rauschen die Norm ist, die Abtastrate auf 80 Datenpunkte alle Fünfzigstelsekunden eingestellt wird). Der Durchschnittswert dieser Einstellung wird dann berechnet, und dieser

Wert wird als ein "einziger" Datenpunkt genommen. Diese "einzelnen" Datenpunkte werden dann bei weiteren Berechnungen verwendet.

[0139] Wie oben beschrieben, sind die Elektroniken ausgelegt, um für potentiometrische Sensoren mit hohem Widerstand bei einer hinreichenden Auflösung über dem erwarteten Meßbereich geeignet zu sein. Die Elektroniken für Strommessungssensoren umfassen Strom-zu-Spannungs-Konverter, die ausgelegt sind, um eine hinreichende Auflösung für den erwarteten Strommeßbereich zu haben.

[0140] Als nächstes schreitet das Verfahren mit Block 22 fort, wo ein Zähler (DATENZÄHLER) um eins inkrementiert wird, der die angesammelte Anzahl von Datenpunkten verfolgt, die in einem Zeitfenster gesammelt wurden. (Der DATENZÄHLER wird vor der Erfassung des ersten Datenpunkts eines bestimmten Zeitfensters auf Null initialisiert.) Das Verfahren schreitet dann mit Test 23 fort, wo die Gesamtzahl gesammelter Datenpunkte (DATENZÄHLER) mit der Anzahl an Datenpunkten eines ausgewählten Gleitfenstersatzes (GLEITPUNKTE) verglichen wird. Die Größe eines Gleitfensters wird auf der Basis eines Kompromisses zwischen der Rechenzeit und der Genauigkeit der Fehlerdetektion gewählt. In diesem Fall wird ein Siebenpunktgleitfenster aus einem Fünfundzwanzigpunktzeitfenster gewählt. Gemäß Test 23 kehrt, wenn die Gesamtzahl der erfaßten Punkte kleiner als die Größe eines Gleitfensters ist, die Kontrolle zurück zu Block 21, wo ein weiterer Datenpunkt erfaßt wird. Anderenfalls fährt die Kontrolle mit Test 24 fort.

[0141] Test 24 ist vorgesehen, um das Basisfenster zu lokalisieren. In diesem Fall wird das Basisfenster als das erste Gleitfenster definiert und bleibt das gleiche während des ganzen Datenerfassungsvorgangs für ein bestimmtes Zeitfenster. Es sollte einem Durchschnittsfachmann klar sein, daß es weitere Verfahren zum Auswählen eines Basisfensters gibt. Zum Beispiel kann ein Basisfenster als ein Gleitfenster definiert werden, das "hinter" dem aktuellen Gleitfenster um ein oder mehrere Punkte zurückliegt.

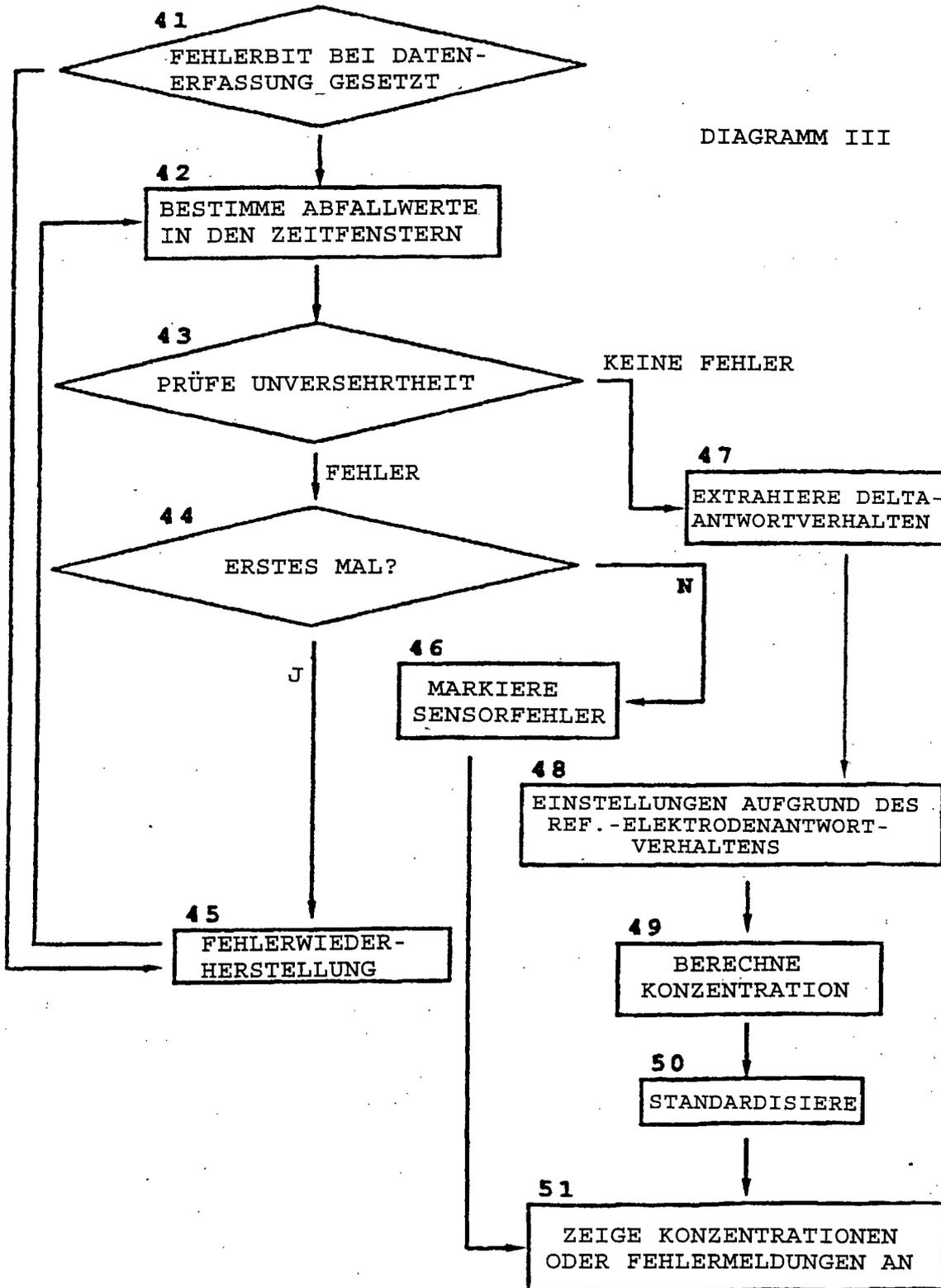
[0142] Gemäß Test 24 fährt, wenn eine exakte Anzahl an GLEITPUNKTEN gesammelt ist, der Verfahrensablauf mit Block 29 fort; anderenfalls ist die Gesamtzahl der gesammelten Punkte größer als die Größe eines Gleitfensters, und der Verfahrensfluß fährt in Block 25 fort. In Block 29 wird der Abfall des Basisfensters unter Verwendung einer linearen Regression berechnet (d. h. durch Anpassen der Punkte in eine Linie, die durch  $y = ax + b$  definiert ist, wobei der Abfall "a" ist). In Block 25 wird eine neue Gleitfenstereinstellung gebildet, und eine rekursive Form des linearen Regressionsverfahrens wird verwendet, um den Abfall eines Gleitfensters zu berechnen. In diesem Fall wird eine neue Gleitfenstereinstellung erzeugt, wann immer der Ablauf zu Block 25 gelangt. Daher besteht ein erstes Gleitfenster aus den folgenden Datenpunkten: {2, 3 ... (GLEITPUNKTE + 1)}, und jedes nachfolgende Gleitfenster wird gebildet, indem ein neu erfaßter Datenpunkt aufgenommen und der erste Datenpunkt der vorhergehenden Zeitfenstereinstellung eliminiert wird.

[0143] Als nächstes fährt der Verfahrensablauf mit Block 26 fort, wo der Abfall des Basisfensters mit dem Abfall des aktuellen Gleitfensters verglichen wird, und das Verhältnis der Abfallwerte wird berechnet. Dann wird in Block 27 die Unversehrtheit eines aktuellen Gleitfensterdatensatzes verifiziert. Wenn das Verhältnis der Abfallwerte nicht innerhalb akzeptabler Grenzen liegt, wird der Ausgang eines derartigen Sensors so angesehen, daß er einen Fehler enthält. Man kann z. B. eine obere Grenze von 2,5 für das Verhältnis einstellen. Wenn jedoch das Basisfenster einen Wert von Null aufweist, wird anstatt eines Verhältnisses eine Differenz verwendet.

[0144] Wenn somit das Verhältnis oder die Differenz außerhalb der Grenzen liegt, wird ein Flag (FEHLER) gesetzt. In diesem Fall ist das FEHLER-Flag einfach ein Bit. Alternativ kann der FEHLER-Flagwert einen Zeiger auf einem bestimmten Datenpunkt enthalten, der verursacht, daß das Verhältnis der Abfallwerte außerhalb der Grenzen liegt. Als nächstes kommt der Verfahrensablauf zu Test 28, der überprüft, ob zusätzliche Datenpunkte für ein bestimmtes Zeitfenster gemessen werden sollten. Wenn nicht alle Zeitfensterpunkte (F-PUNKTE) gesammelt wurden, kehrt der Ablauf zu Block 41 zurück; anderenfalls fährt die Kontrolle mit einem neuen Verfahrensschritt fort, der das Vertreiben des Kalibrierfluids durch das Probenfluid mit einem Luftsegment verursacht, das zwischen den Fluiden vorhanden ist. Wenn das letzte Zeitfenster gesammelt wurde, wird die folgende Analysestufe ausgeführt. Es sollte klar sein, daß F-PUNKTE für jeden aktiven Sensor in dem Feld gesammelt werden. Somit wird jeder Verfahrensblock von Diagramm II für jeden aktiven Sensor im wesentlichen parallel durchgeführt.

[0145] Diagramm III zeigt schematisch die Schritte der Datenanalysestufe des Verfahrens, bei dem Analytkonzentrationen von jeder Sensormessung bestimmt werden. In diesem Schritt sind Datenpunkte für das erste (z. B. Kalibrier-) und zweite (z. B. Proben-) Zeitfenster gesammelt und in geeigneten Speicherstellen gespeichert. Testblocks 41–47 treten für jeden aktiven Sensor in dem Feld auf, wobei die Testblocks 48–51 einmal für das gesamte Feld vorkommen.

[0146] Das Verfahren beginnt bei Test 41, der überprüft, ob ein Fehler bei der Datenerfassungsstufe detektiert wurde, indem der Status des FEHLER-Bits geprüft wird. Wenn das Fehlerbit gesetzt ist, geht der Verfahrensablauf unmittelbar zu Block 42, wo die Fehlerwiederherstellung durchgeführt wird. Anderenfalls (d. h. bei keinem Fehler bei der Datenerfassungsstufe) geht der Ablauf weiter zu Block 42.



[0147] In Block 42 wird eine lineare Regression auf die Datenpunkte von jedem Fenster angewendet, um die Driftraten (Abfallwerte) des Datenfensters anzunähern. Eine lineare Anpassung kleinster Quadrate ist ein bekanntes Verfahren der Interpolation, bei dem Datenpunkte verbunden werden, um eine Linie anzunähern, "y = ax + b," wobei Konstanten "a" und "b" derart gewählt werden, daß die Summe der Quadrate der Abweichung von den tatsächlichen Datenpunkten minimiert ist. Alternativ können Regressionen höherer Ordnung, d. h. solche, die Funktionen zweiter, dritter ... n-ter Ordnung annähern, leicht implementiert werden. Im großen und ganzen sollte die Ordnung der angewendeten Regression gemäß der Natur des Befeuchtungsmaßes der Sensoren und der Wellenform in den ausgewählten Zeitfensterintervallen festgelegt werden.

[0148] Als nächstes geht der Ablauf weiter zu Test 43, wo die Datenpunkte beider Fenster auf unerwartete

Werte überprüft werden. Die folgende Datenunversehrtheitsverifikation wird dann durchgeführt:

MIN\_ABFALL < Abfall erstes Fenster < MAX\_ABFALL

MIN\_ABFALL < Abfall zweites Fenster < MAX\_ABFALL

(Abfall erstes Fenster – Abfall zweites Fenster) < MAX\_DIFF

MIN\_MITTEL < Mittelwert erstes Fenster < MAX\_MITTEL

MIN\_MITTEL < Mittelwert zweites Fenster < MAX\_MITTEL\_1

Fehlerannäherung erstes Fenster < MAX\_FEHLER

Fehlerannäherung zweites Fenster < MAX\_FEHLER

[0149] Die Werte MIN\_ABFALL, MAX\_ABFALL, MAX\_DIFF, MIN\_MITTEL, MAX\_MITTEL, MAX\_MITTEL 1 und MAX\_FEHLER sind erwartete Bereiche der obigen Parameter. Die speziellen werte werden experimentell aufgrund der vorhersagbaren Charakteristika der Antwortkurve der Sensoren festgelegt. Tabelle I führt einige vorgeschlagene Werte für die verschiedenen Datenfensterparameter auf.

TABELLE I  
VORGESCHLAGENE GRENZEN FÜR VERSCHIEDENE DATENFENSTERPARAMETER

Sensor	Erstes Fenster				
	Abfall (mV/s)		Mittelwert (mV)		Fehler (mV)
	min	max	min	max	max
Cl	-0,65	0,65	-200	+100	0,2
K	-0,25	1,0	-250	+100	0,2
Na	0,0	1,0	-250	+100	0,2
BUN <sup>a</sup>	-0,65	0,65	-200	+100	0,2
Gluk <sup>b</sup>	-0,02 <sup>c</sup>	0,02 <sup>c</sup>	0,2 <sup>d</sup>	3 <sup>d</sup>	0,015 <sup>d</sup>

Sensor	Zweites Fenster				
	Abfall (mV/s)		Mittelwert (mV)		Fehler (mV)
	min	max	min	max	max
Cl	-0,65	0,65	-200	+100	0,2
K	-0,25	1,0	-250	+100	0,2
Na	0,0	1,0	-250	+100	0,2
BUN <sup>a</sup>	-1,0	1,0	-200	+100	0,4
Gluk <sup>b</sup>	-0,1 <sup>c</sup>	0,1 <sup>c</sup>	0,05 <sup>d</sup>	32 <sup>d</sup>	0,015 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Cl, K, Na und BUN steht für Chlor, Kalium, Natrium bzw. Blutharnstoffstickstoffsensoren.

<sup>b</sup> Gluk steht für Glukosesensor.

<sup>c</sup> dieser Wert ist in Einheiten von nA/s.

<sup>d</sup> dieser Wert ist in nA.

[0150] Im vorliegenden Fall wird die Grenze des Unterschieds (in mV/s) zwischen dem Wert des Abfalls in jedem Zeitfenster auf ein Maximum von 0,50, 0,30, 0,30 und 1,0 für den Chlor-, Kalium-, Natrium- bzw. BUN-Sensor eingestellt. Die beobachtete Wellenform für das zweite Fluid, wie z. B. Glukose, das in Kontakt mit den mikrofabrizierten Strommessungssensoren ist, kann einen maximalen oder minimalen Wert zeigen; demzufolge bevorzugt man eine Linear/Mittelwert-Anpassung.

[0151] Wenn einer der obigen Tests anzeigt, daß die Messung außerhalb des Bereichs liegt, werden alle Messungen, die von einem bestimmten Sensor erzeugt werden, als unzuverlässig verworfen. Jedoch schafft das vorliegende Verfahren eine Fehlerwiederherstellung korrupter Daten. Wenn dementsprechend ein Fehler bei Test 43 detektiert wird, fährt der Fehlerablauf mit Test 44 fort. Wenn keine Fehler detektiert werden, fährt die Kontrolle mit Block 47 fort, wo die Antwortverhalten der Sensoren bestimmt werden.

[0152] Test 44 bestimmt, ob ein früherer Versuch, Fehler zu korrigieren, bereits gemacht wurde. In diesem

Schritt wird eine Variable "ERSTES MAL" um eins inkrementiert. (ERSTES MAL wird beim Beginn der Datenanalyse für jedes Zeitfenster auf Null initialisiert). Ein Wert von ERSTES MAL, der größer als 1 ist, zeigt an, daß ein früherer Versuch, Fehler zu korrigieren, gemacht worden ist. Weil der Ablauf anschließend zu Test 44 zurückkehrt, hat die Fehlerwiederherstellung einmal versagt, und sollte nicht wiederholt werden. In diesem Fall fährt der Verfahrensablauf mit Block 46 fort, wo das "VERSAGT"-Bit gesetzt wird, um zu anzuzeigen, daß diese bestimmte Messung versagt hat, und daß die einzige weitere Verarbeitung, die für einen derartigen Sensor verbleibt, das Anzeigen einer Fehlermeldung in Block 51 umfaßt. Anderenfalls ist der Wert von ERSTES MAL 1, und die Verarbeitung schreitet mit Block 46 fort, wo die Fehlerwiederherstellung versucht wird.

[0153] Die Fehlerwiederherstellung kann auf eine Vielfalt von Weisen implementiert werden. Zum Beispiel können Rauschen und Spitzen in den Daten durch bekannte digitale Techniken eliminiert werden, wie z. B. Mittelwertfilter oder dergleichen, die vorher beschrieben wurden, d. h. die Rückrechnung beobachteter Werte (siehe z. B. S. 30). Ein weiteres Verfahren kann die Interpolation einer Kurve auf der Basis der ersten verschiedenen Punkte eines bestimmten Zeitfensters und die Zurückweisung solcher Punkte umfassen, die erheblich von der Interpolation abweichen. In den meisten Fällen kann es wünschenswert sein, mehr Datenpunkte zu sammeln, als die, die für ein bestimmtes Zeitfenster erforderlich sind, so daß die Fehlerwiederherstellung ausgeführt werden kann, indem eine alternative Zeitfenstereinstellung gewählt wird. Von der Fehlerwiederherstellung in Block 46 kehrt der Verfahrensablauf zurück zu Block 42, wo die Punkte der korrigierten Datensätze interpoliert werden, und neue Abfallwerte und Näherungsfehler berechnet werden.

[0154] Wenn die gesammelten Daten alle Unversehrtheitstests durchlaufen haben, fährt die Kontrolle mit Block 47 fort, wo die Antwortverhalten der Sensoren bestimmt werden, indem Messungen in dem ersten (Kalibrier-) Zeitfenster mit solchen in dem zweiten (Proben-) Zeitfenster in Verbindung gebracht werden. Für Spannungsmessungssensoren ist der fragliche analytische Wert das Deltaantwortverhalten, das der Unterschied zwischen den Amplituden ist, die an einem gewählten Punkt eines Analyts und den Kalibriermittelantwortkurven gemessen wurden. Für Strommessungssensoren entspricht das Deltaantwortverhalten dem Verhältnis der jeweiligen Amplituden. Wie oben erwähnt, wird die Datenerfassung durchgeführt, während die Sensoren ein monotonen Befeuchtungsantwortverhalten zeigen. In diesem Fall werden die Antworten in Zeitfenstern gemessen, die derart ausgewählt sind, daß lineare Interpolationen hinreichend genau sind, um die Antwortdrifts zu beschreiben. Dementsprechend können lineare Annäherungen von Block 42 zuverlässig nach vorne und nach hinten in der Zeit projiziert werden, um das Antwortverhalten jeden Sensors auf die Fluidänderung zu vergleichen. Wie zuvor erwähnt, können auch Annäherungen n-ter Ordnung für diesen Zweck eingesetzt werden.

[0155] Das bestimmte Deltaantwortverhalten des Sensors wird dann auf eine der vielen verschiedenen Weisen berechnet, einschließlich, aber nicht begrenzt auf einen Linear/Linear-Delta-, Linear/Mittelwert-Delta-, Mittelwert/Mittelwert-Delta-, Mittelwert/Linear-Delta-, Maximum/Linear-Delta-, Linear/Maximum-Delta-, Linear/Minimum-Delta- und Minimum/Linear-Delta-Ansatz. Bei dem Linear/Linear-Fall, wird die Anpassung an das erste Fenster nach vorne auf einen geschätzten Fluidübergangspunkt extrapoliert, d. h. dem Mittelpunkt zwischen dem ersten Fenster und dem zweiten Fenster. Die Anpassung auf das zweite Fenster (Probe) wird nach hinten zu demselben abgeschätzten Übergangspunkt extrapoliert. Der Unterschied zwischen diesen Extrapolationen ist die bestimmte Deltaantwort des Sensors. Bei dem Linear/Mittelwert-Ansatz wird die lineare Anpassung auf das Kalibriermittel nach vorne zu dem Mittelpunktwert des Probenfensters extrapoliert und mit dem Mittelpunktwert der Probenantwortkurve verglichen. Bei dem Mittelwert/Linear-Ansatz wird die vorhergehende Abfolge umgekehrt. Bei dem Mittelwert/Mittelwert-Ansatz ist das Deltaantwortverhalten der Unterschied zwischen dem Mittelpunkt des Probenfensters und dem Mittelpunktwert des Kalibrierfensters. Das Linear/Maximum-, Maximum/Linear-, Linear/Minimum- und Minimum/Linear-Verfahren ist analog zu dem Linear/Mittelwert- und Mittelwert/Linear-Verfahren, außer daß der Mittelwert durch den Maximal- oder Minimalwert des entsprechenden Zeitfensters ausgetauscht wird. Auf der Grundlage von Routineversuchen kann man herausfinden, daß eines der obigen Verfahren zum Erhalten eines genaueren Meßwerts der Konzentration eines bestimmten Analyts mehr als die anderen wünschenswert ist, verglichen mit einem Referenzanalyseverfahren. Zur Zeit hat man herausgefunden, daß das Linear/Linear-Verfahren für den Kalium-, Natrium- und Chloridsensor überlegen ist. Ein Linear/Mittelwert-Verfahren ist am meisten für das vorliegende Ausführungsbeispiel des Glukose- und Harnstoffsensors geeignet.

[0156] Nachdem die Deltaantwortverhalten für jeden Sensor berechnet sind, schreitet der Ablauf mit Block 48 fort. In Block 48 wird das Antwortverhalten der Referenzelektrode von dem Deltaantwortverhalten abgezogen, das in Block 47 bestimmt ist. In diesem Zustand werden bestimmte Korrekturen für ein leichtes Antwortverhalten der Referenzelektrode aufgrund von Matrixeffekten und Unterschieden in der Ionenstärke der Fluide gemacht. Als nächstes fährt der Ablauf mit Block 49 fort, wo für Widerstandsmessungssensoren Gleichung 1 und die Koeffizienten, die aus Gleichung 2 abgeleitet sind, wie oben beschrieben, angewendet, um eine Analytkonzentration zu bestimmen. Für Strommessungssensoren wird Gleichung 3 angewendet. Dann werden in Block 50 die Ergebnisse ungefähr skaliert, um standardisierte Werte abzuleiten. Schließlich schafft Block 51 eine Anzeige der berechneten Konzentrationen oder eine Anzeige einer geeigneten Nachricht, wenn anormale Werte gefunden werden.

[0157] Das vorangehende Ausführungsbeispiel wird nur zum Darstellen eines Verfahrens zum Ausführen der Erfindung dargestellt, und sollte nicht auf irgendeine Weise für die Erfindung als beschränkend angesehen werden. Zweifelsfrei können andere Ausführungsbeispiele ausgedacht werden, die nicht entscheidend von der vorliegenden Erfindung abweichen würden, deren Schutzbereich durch die folgenden Ansprüche definiert ist.

### Patentansprüche

1. Verfahren zum Bestimmen der Konzentration zumindest einer vorausgewählten Analytspezies, die in einem Probenfluid vorliegt, mit folgenden Schritten:

- (a) Bereitstellen einer externen Rechenvorrichtung, einer Referenzelektrode und mindestens einem im wesentlichen trocken gelagerten mikrofabrizierten Sensor, der fähig ist, eine Antwort auf Änderungen in der Konzentration einer vorausgewählten Analytspezies zu zeigen, wobei die Antwort relativ zu dem Befeuchtungsverhalten des Sensors schnell ist, wenn er mit einem Fluid in Kontakt gebracht wird;
- (b) Herstellen eines elektrischen Kontakts zwischen dem Sensor, der Referenzelektrode und der externen Rechenvorrichtung;
- (c) den Sensor und die Referenzelektrode mit einem Kalibrierfluid in Kontakt bringen;
- (d) Durchführen einer ersten Signalmessung in einem ersten Zeitfenster in der Gegenwart des Kalibrierfluids, bevor der Sensor von einem trockenen Zustand in einen voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist;
- (e) Verdrängen des Kalibrierfluids nach dem Durchführen der ersten Signalmessung;
- (f) den Sensor und die Referenzelektrode mit dem Probenfluid in Kontakt bringen,
- (g) Durchführung einer zweiten Signalmessung in einem zweiten Zeitfenster in der Gegenwart des Probenfluids, bevor der Sensor von dem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist; und
- (h) Verbinden der ersten und zweiten Signalmessungen, um die Konzentration der vorausgewählten Analytspezies in dem Probenfluid durch ein Rechenverfahren zu bestimmen, das die relativ schnelle Antwort des Sensors auf Änderungen in der Konzentration des vorausgewählten Analyts von dem langsameren Befeuchtungsverhalten des Sensors und der Referenzelektrode unterscheidet.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der mikrofabrizierte Sensor ein Widerstandsmessungssensor ist, der eine Antwort auf Änderungen in der Konzentration einer vorausgewählten Analytspezies zeigt, wobei die Referenzelektrode fähig ist, ein gutes Referenzpotential für eine Zeitdauer zu halten, die ausreichend ist, um den Abschluß von zumindest zwei Signalmessungen zu erlauben, bevor der Sensor einen voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand einnimmt, und die Referenzelektrode im wesentlichen trocken gelagert wurde.

3. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem ein Feld mikrofabrizierter Widerstandsmessungs- und Strommessungssensoren in Schritt (a) bereitgestellt werden, von denen jeder eine Antwort auf Änderung in der Konzentration einer anderen vorausgewählten Analytspezies zeigt, welches Feld einzelne Sensoren und zumindest zwei Referenzelektroden umfaßt, die fähig sind, ein gutes Referenzpotential für eine Zeitdauer zu halten, die hinreichend ist, um den im Abschluß von zumindest zwei Signalmessungen zu erlauben, bevor der Sensor eine voll ausgeglichene Befeuchtung erreicht, wobei eine Referenzelektrode an die Widerstandsmessungssensoren angeschlossen ist, wenn die andere Referenzelektrode an die Strommessungssensoren angeschlossen ist, und jeder der Sensoren im wesentlichen trocken gelagert wurde; und bei dem das Verbinden der ersten und zweiten Sätze von Signalmessungen die Bestimmung der Konzentration einer Vielzahl der verschiedenen vorausgewählten Analytspezies in dem Probenfluid bietet.

4. Verfahren zum Bestimmen des Verhältnisses der Konzentrationen einer vorausgewählten Analytspezies, die in zwei Fluiden vorkommt, mit den folgenden Schritten:

- (a) Bereitstellen einer externen Rechenvorrichtung und mindestens eines trocken gelagerten mikrofabrizierten Sensors, der fähig ist, eine Antwort auf Änderungen in der Konzentration einer vorausgewählten Analytspezies zu zeigen, welche Antwort relativ zu dem Befeuchtungsverhalten des Sensors schnell ist, wenn er mit einem Fluid in Kontakt gebracht wird;
- (b) Bereitstellen einer trocken gelagerten mikrofabrizierten Referenzelektrode, die fähig ist, ein gutes Referenzpotential für eine Zeitdauer zu halten, die ausreichend ist, um den Abschluß von zumindest zwei Signalmessungen zu erlauben, bevor der Sensor von einem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen ist, und ein Befeuchtungsverhalten zeigt, das ähnlich zu dem ist, das der Sensor zeigt, wenn er mit einem Fluid in Kontakt gebracht wird;
- (c) Herstellen eines elektrischen Kontakts zwischen dem Sensor, der Referenzelektrode und der äußeren Rechenvorrichtung;

- (d) den Sensor und die Referenzelektrode mit einem ersten Fluid in Kontakt bringen;
- (e) Durchführen einer ersten Signalmessung in einem vorausgewählten ersten Zeitfenster in der Gegenwart des ersten Fluids, bevor der Sensor und die Referenzelektrode von dem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen sind;
- (f) Verdrängen des ersten Fluids nach dem Durchführen der ersten Signalmessung;
- (g) den Sensor und die Referenzelektrode mit einem zweiten Fluid in Kontakt bringen;
- (h) Durchführen einer zweiten Signalmessung in einem vorausgewählten zweiten Zeitfenster in der Gegenwart des zweiten Fluids, bevor der Sensor und die Referenzelektrode von dem trockenen Zustand in den voll ausgeglichenen befeuchteten Zustand übergegangen sind; und
- (i) Verbinden der ersten und zweiten Signalmessungen, um das Verhältnis der Konzentrationen von der Analytspezies in dem ersten und zweiten Fluid durch ein Rechenverfahren zu bestimmen, das die relativ schnelle Antwort des Sensors gegenüber Änderungen in der Konzentration des ausgewählten Analyts von dem langsameren Befeuchtungsverhalten des Sensors und der Referenzelektrode unterscheidet.

- 5. Verfahren nach Anspruch 4, bei dem der mikrofabrizierte Sensor ein Strommessungssensor ist.
- 6. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, bei dem die Reihenfolge, in der der Sensor, die Referenzelektrode oder das Feld davon mit dem Kalibrierfluid und dem Probenfluid in Kontakt gebracht wird, umgedreht ist.
- 7. Verfahren nach Anspruch 6, bei dem die erste und die zweite Signalmessung oder deren Sätze in der Gegenwart von dem Probenfluid bzw. dem Kalibrierfluid durchgeführt werden.
- 8. Verfahren nach dem Anspruch 4 oder 5, bei dem das erste Fluid ein Kalibrierfluid ist.
- 9. Verfahren nach Anspruch 8, bei dem das zweite Fluid ein Probenfluid ist.
- 10. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, bei dem das erste Fluid ein Probenfluid ist.
- 11. Verfahren nach Anspruch 10, bei dem das zweite Fluid ein Kalibriermittel ist.
- 12. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, das des Weiteren das Bereitstellen eines Leitfähigkeitssensors umfaßt, der fähig ist, die Leitfähigkeit eines Fluids zu messen, das mit ihm in Kontakt gebracht ist.
- 13. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, das des Weiteren das Durchführen einer ersten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des Kalibrierfluids umfaßt.
- 14. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, das des Weiteren das Durchführen einer ersten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des ersten Fluids umfaßt.
- 15. Verfahren nach Anspruch 13, das des Weiteren das Durchführen einer zweiten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des Probenfluids umfaßt.
- 16. Verfahren nach Anspruch 14, das des Weiteren das Durchführen einer zweiten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des zweiten Fluids umfaßt.
- 17. Verfahren nach Anspruch 13, bei dem die erste Leitfähigkeitsmessung vor dem Durchführen der ersten Signalmessung oder dessen Satz davon durchgeführt wird.
- 18. Verfahren nach Anspruch 14, bei dem die erste Leitfähigkeitsmessung vor dem Durchführen der ersten Signalmessung durchgeführt wird.
- 19. Verfahren nach Anspruch 15, bei dem die zweite Leitfähigkeitsmessung nach dem Durchführen der zweiten Signalmessung oder dem Satz davon durchgeführt wird.
- 20. Verfahren nach Anspruch 16, bei dem die zweite Leitfähigkeitsmessung nach dem Durchführen der zweiten Signalmessung durchgeführt wird.
- 21. Verfahren nach Anspruch 3 oder 5, das des Weiteren das Aktivieren des Strommessungssensors oder des Feldes davon umfaßt.

22. Verfahren nach Anspruch 21, bei dem das Aktivieren des Strommessungssensors das Unterwerfen des Strommessungssensors einer Reihe von Potentialänderungen in der Gegenwart des Kalibrierfluids oder des ersten Fluids umfaßt.

23. Verfahren nach Anspruch 22, bei dem die Potentialänderungen das zyklische Ändern des anliegenden Potentials zwischen Werten entgegengesetzten Vorzeichens relativ zu der Referenzelektrode umfaßt.

24. Verfahren nach Anspruch 22, bei dem die Reihe von Potentialänderungen eine erste Gruppe umfaßt, die zumindest zehn Wiederholungen eines Zyklus aufweist, in dem das anliegende Potential auf einem ersten Wert gehalten wird, und dann auf einen zweiten Wert gleicher Größe aber mit entgegengesetzten Vorzeichen zu dem ersten Wert umgeschaltet wird.

25. Verfahren nach Anspruch 24, bei dem die Reihe von Potentialänderungen des Weiteren eine zweite Gruppe umfaßt, die zumindest fünf Wiederholungen eines Zyklus aufweist, bei dem das anliegende Potential auf einem ersten Wert gehalten wird, und dann auf einen zweiten Wert gleicher Größe aber mit entgegengesetzten Vorzeichen zu dem ersten Wert umgeschaltet wird.

26. Verfahren nach Anspruch 25, bei dem die Reihe von Potentialänderungen des Weiteren eine dritte Gruppe umfaßt, die zumindest fünf Wiederholungen von einem Zyklus aufweist, bei dem das anliegende Potential auf einem ersten Wert gehalten wird, und dann auf einen zweiten Wert gleicher Größe aber mit entgegengesetzten Vorzeichen zu dem ersten Wert umgeschaltet wird.

27. Verfahren nach Anspruch 24, bei dem die Anwendung der ersten Gruppe innerhalb von ungefähr einer Sekunde begonnen wird, nachdem das Kalibrierfluid oder das erste Fluid mit dem Strommessungssensor in Kontakt kommt.

28. Verfahren nach Anspruch 25, bei dem die Anwendung der zweiten Gruppe innerhalb von ungefähr zwölf Sekunden beginnt, nachdem das Kalibrierfluid oder das erste Fluid mit dem Strommessungssensor in Kontakt kommt.

29. Verfahren nach Anspruch 26, bei dem die Anwendung der dritten Gruppe innerhalb von ungefähr zwanzig Sekunden beginnt, nachdem das Kalibrierfluid oder erste Fluid mit dem Strommessungssensor in Kontakt kommt.

30. Verfahren nach Anspruch 25, bei dem der erste Wert von der ersten und zweiten Gruppe ungefähr +1000 mV beträgt.

31. Verfahren nach Anspruch 26, bei dem der erste Wert der dritten Gruppe innerhalb des Doppelten der Größe von dem Betriebspotential des Strommessungssensors liegt.

32. Verfahren nach Anspruch 3, das des Weiteren die folgenden Schritte umfaßt:  
Bereitstellen eines Leitfähigkeitssensors, der fähig ist, die Leitfähigkeit eines Fluids zu messen, das mit ihm in Kontakt ist,  
Aktivieren des Strommessungssensors in der Gegenwart des Kalibrierfluids, und  
Durchführen einer ersten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des Kalibrierfluids, nachdem der Strommessungssensor aktiviert wurde, aber bevor irgendein Satz von Signalmessungen durchgeführt wurde.

33. Verfahren nach Anspruch 32, das des Weiteren das Durchführen einer zweiten Leitfähigkeitsmessung in der Gegenwart des Probenfluids umfaßt, nachdem alle Sätze an Signalmessungen durchgeführt wurden.

34. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem die Signalmessungen oder die Sätze davon innerhalb von 2 Minuten durchgeführt werden.

35. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem das Ende des ersten Zeitfensters und der Beginn des zweiten Zeitfensters durch ungefähr drei bis ungefähr sechs Sekunden getrennt sind.

36. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem das Ende des ersten Zeitfensters und der Beginn des zweiten Zeitfensters durch nicht mehr als ungefähr 10 Sekunden voneinander getrennt sind.

37. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem die Dauer der Zeitfenster ungefähr fünf bis ungefähr

fünfzehn Sekunden beträgt.

38. Verfahren nach Anspruch 3, bei dem eine der Referenzelektroden gegen eine Zählelektrode ausgetauscht ist, derart, daß die verbleibende Referenzelektrode für sowohl den Widerstandsmessungssensor als auch den Strommessungssensor verfügbar ist, und die Zählelektrode für die Strommessungssensoren dediziert ist.

39. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, bei dem das Verdrängen des Kalibrierfluids durch das Einleiten des Probenfluids gemacht wird.

40. Verfahren nach Anspruch 39, bei dem das Verdrängen des Kalibrierfluids mit dem Probenfluid mit einem Luftsegment gemacht wird, das die Fluide trennt.

41. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, bei dem das Verdrängen des ersten Fluids durch das Einleiten des zweiten Fluids gemacht wird.

42. Verfahren nach Anspruch 41, bei dem das Verdrängen des ersten Fluids mit dem zweiten Fluid mit einem Luftsegment gemacht wird, das die Fluide trennt.

43. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem das Durchführen der Signalmessungen das Erfassen einer vorausgewählten Anzahl an Datenpunkten während der Zeitdauer der Zeitfenster umfaßt.

44. Verfahren nach Anspruch 43, bei dem das Erfassen der Datenpunkte die folgenden Schritte umfaßt:  
(a) Sammeln eines ersten vorausgewählten Anteils der Datenpunkte in einem ersten Gleitfenster, welches erste Gleitfenster einen entsprechenden Anteil des Zeitfensters umfaßt; und  
(b) Sammeln zusätzlicher vorausgewählter Anteile der Datenpunkte in nachfolgenden Gleitfenstern, bis jeder Datenpunkt in dem Zeitfenster in zumindest einem Gleitfenster enthalten ist.

45. Verfahren nach Anspruch 44, bei dem das erste und nachfolgende Gleitfenster die gleiche Dauer haben.

46. Verfahren nach Anspruch 44, bei dem die ersten und weitere vorausgewählten Teile eine gleiche Anzahl an Datenpunkten enthalten.

47. Verfahren nach Anspruch 44, bei dem das Sammeln zusätzlicher Teile der Datenpunkte das Aufnehmen zumindest eines neuen Datenpunkts in dem ersten Gleitfenster umfaßt, um ein nachfolgendes Gleitfenster zu bilden.

48. Verfahren nach Anspruch 44, bei dem das Sammeln zusätzlicher Teile der Datenpunkten das Entfernen zumindest des frühesten Datenpunkts umfaßt, der in dem ersten Gleitfenster gesammelt wurde, und das Hinzufügen zumindest eines neuen Datenpunkts zu den übrigen Datenpunkten, um ein anschließendes Gleitfenster zu bilden.

49. Verfahren nach Anspruch 44, das des Weiteren das Festlegen, daß einer der vorausgewählten Anteile einen Basissatz an Datenpunkten bildet, und das Bestimmen seiner Eigenschaften umfaßt.

50. Verfahren nach Anspruch 49, das des Weiteren das Vergleichen der Eigenschaften des Basissatzes an Datenpunkten mit den Eigenschaften der übrigen vorausgewählten Anteile umfaßt.

51. Verfahren nach Anspruch 50, bei dem eine der Eigenschaften das Abfallen jedes vorausgewählten Anteils in seinem jeweiligen Gleitfenster umfaßt.

52. Verfahren nach Anspruch 50, das des Weiteren das Detektieren der Anwesenheit von annormalen Datenpunkten auf der Basis derartiger Vergleiche umfaßt.

53. Verfahren nach Anspruch 52, das des Weiteren das Entgegenwirken gegen die schädlichen Auswirkungen der annormalen Datenpunkte umfaßt, wenn das Auftreten derartiger Punkte detektiert wurde.

54. Verfahren nach Anspruch 53, bei dem das Entgegenwirken gegen die schädlichen Wirkungen der annormalen Datenpunkte das Durchführen eines Schritts umfaßt, der aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus

dem Verwenden von Mittelwertfiltertechniken, Beseitigen der Datenpunkte, die außerhalb des gewünschten Bereiches liegen, und dem Interpolieren der restlichen Datenpunkte, dem Verwenden digitaler Filtertechniken oder dem Verwerfen des Gleitfensters besteht, das die anormalen Datenpunkte enthält.

55. Verfahren nach Anspruch 1, das des Weiteren das Vergleichen des Abfallens der Datenpunkte in einem bestimmten Zeitfenster mit einem Bereich erwarteter Werte umfaßt, um die Unversehrtheit der entsprechenden Signalmessung zu bestimmen.

56. Verfahren nach Anspruch 1, das des Weiteren das Vergleichen des Unterschieds zwischen dem Abfallen der Datenpunkte in dem ersten Zeitfenster und dem Abfallen der Datenpunkte in dem zweiten Zeitfenster mit einem Bereich vorausgewählter Grenzwerte umfaßt, um die Unversehrtheit der Signalmessungen zu bestimmen.

57. Verfahren nach Anspruch 1, das des Weiteren das Vergleichen des Mittelwerts der Datenpunkte in einem bestimmten Zeitfenster mit einem Bereich erwarteter Werte umfaßt, um die Unversehrtheit der Signalmessung zu bestimmen.

58. Verfahren nach Anspruch 1, das des Weiteren das Vergleichen der Abweichung der Datenpunkte in einem bestimmten Zeitfenster von der linearen Interpolation der Datenpunkte mit einem Bereich vorausgewählter Grenzwerte umfaßt, um die Unversehrtheit der Signalmessung zu bestimmen.

59. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem die Signalmessungen die folgenden Schritte umfassen:

- (a) Interpolieren der Datenpunkte in dem ersten Zeitfenster;
- (b) Interpolieren der Datenpunkte in dem zweiten Zeitfenster;
- (c) Extrapolieren der Interpolation des ersten Zeitfensters in Richtung auf eine Stelle, die zwischen dem ersten und dem zweiten Zeitfenster liegt;
- (d) Extrapolieren der Interpolation des zweiten Zeitfensters nach hinten zu dieser Stelle; und
- (e) Berechnen des Verhältnisses der Werte, die von den Extrapolationen erhalten werden, aus welchem Verhältnis die Konzentration der vorausgewählten Analyspezies bestimmt werden kann.

60. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, bei dem das Kalibrierfluid eine wässrige Flüssigkeit oder ein feuchtes Gas umfaßt.

61. Verfahren nach Anspruch 22, bei dem die Potentialänderungen in der Form von Impulsen, inkrementiellen Stufen, Sinuswellen, linearen Schwüngen oder Kombinationen davon gemacht werden.

62. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, bei dem zumindest zwei Signalmessungen in jedem von dem ersten und zweiten Zeitfenster durchgeführt werden, wobei eine der Signalmessungen bei einem ersten anliegenden Potential und die andere bei einem zweiten anliegenden Potential ausgeführt wird.

63. Verfahren nach Anspruch 62, bei dem die Signalmessung das Messen des Stroms umfaßt.

64. Verfahren nach Anspruch 62, bei dem das erste und das zweite anliegende Potential in dem Bereich von ungefähr 100 bis ungefähr 300 mV liegen.

65. Verfahren nach Anspruch 62, bei dem eine der Signalmessungen in dem ersten Zeitfenster bei einem anliegenden Potential von ungefähr 125 mV gemacht wird und die weitere Messung bei ungefähr 225 mV gemacht wird.

66. Verfahren nach Anspruch 65, bei dem eine der Signalmessungen in dem zweiten Zeitfenster bei einem anliegenden Potential von ungefähr 225 mV gemacht wird und die andere Messung bei ungefähr 125 mV gemacht wird.

67. Verfahren nach Anspruch 62, das des Weiteren das Bestimmen der Steigung der Linie umfaßt, was durch zumindest zwei Punkte eines Signals über der anliegenden Spannungskurve bestimmt wird, welche Punkte von den Signalmessungen erhalten werden, die in jedem der Zeitfenster durchgeführt werden.

68. Verfahren nach Anspruch 67, bei dem das Verbinden der Signalmessungen das Vergleichen der Steigungen der Linien beinhaltet, die von den Zeitfenstern erhalten werden, um die Konzentration der vorausge-

DE 691 33 252 T2 2004.01.29

wählen Analytspezies zu bestimmen.

Es folgen 15 Blatt Zeichnungen

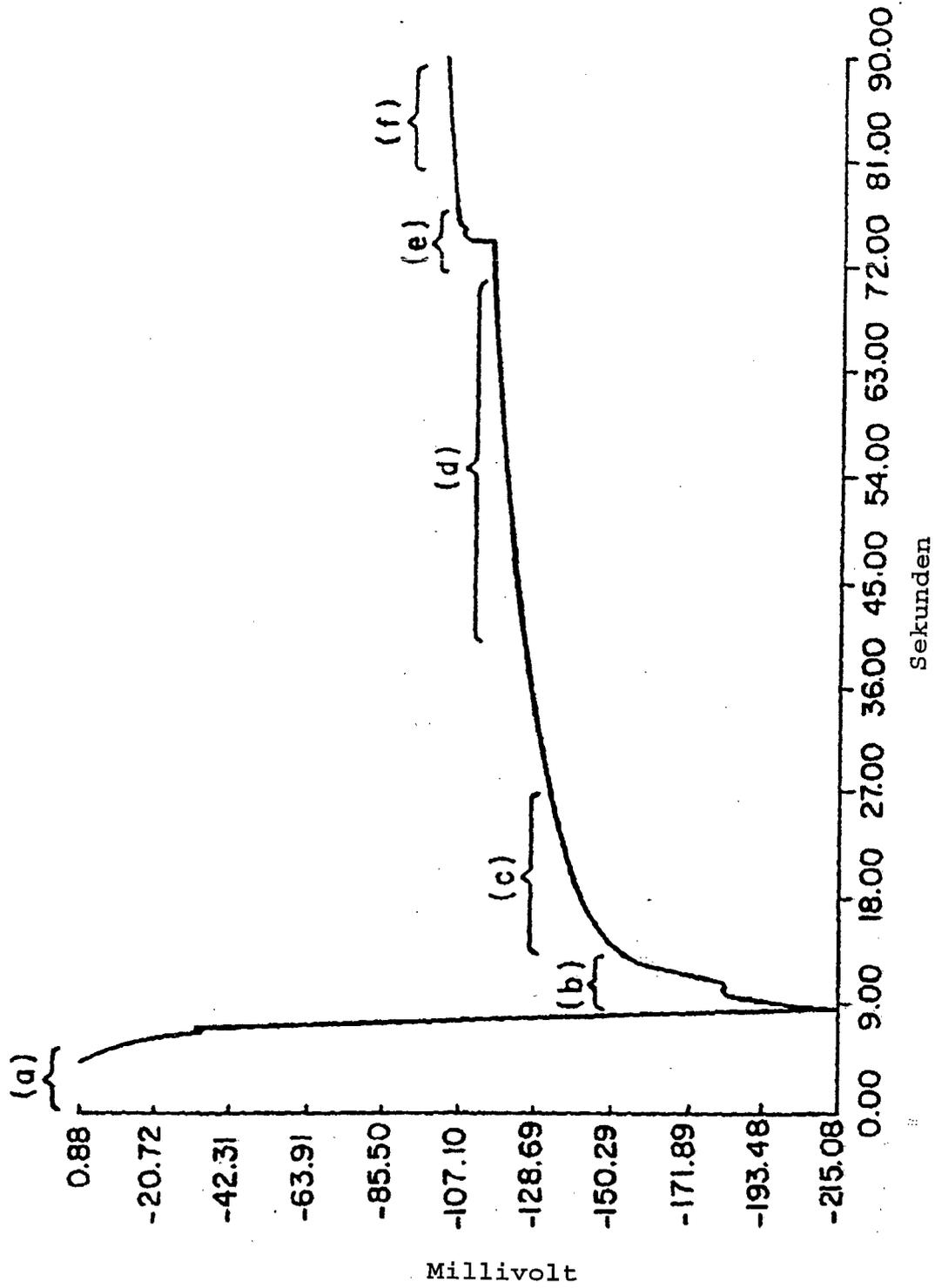


FIG. 1

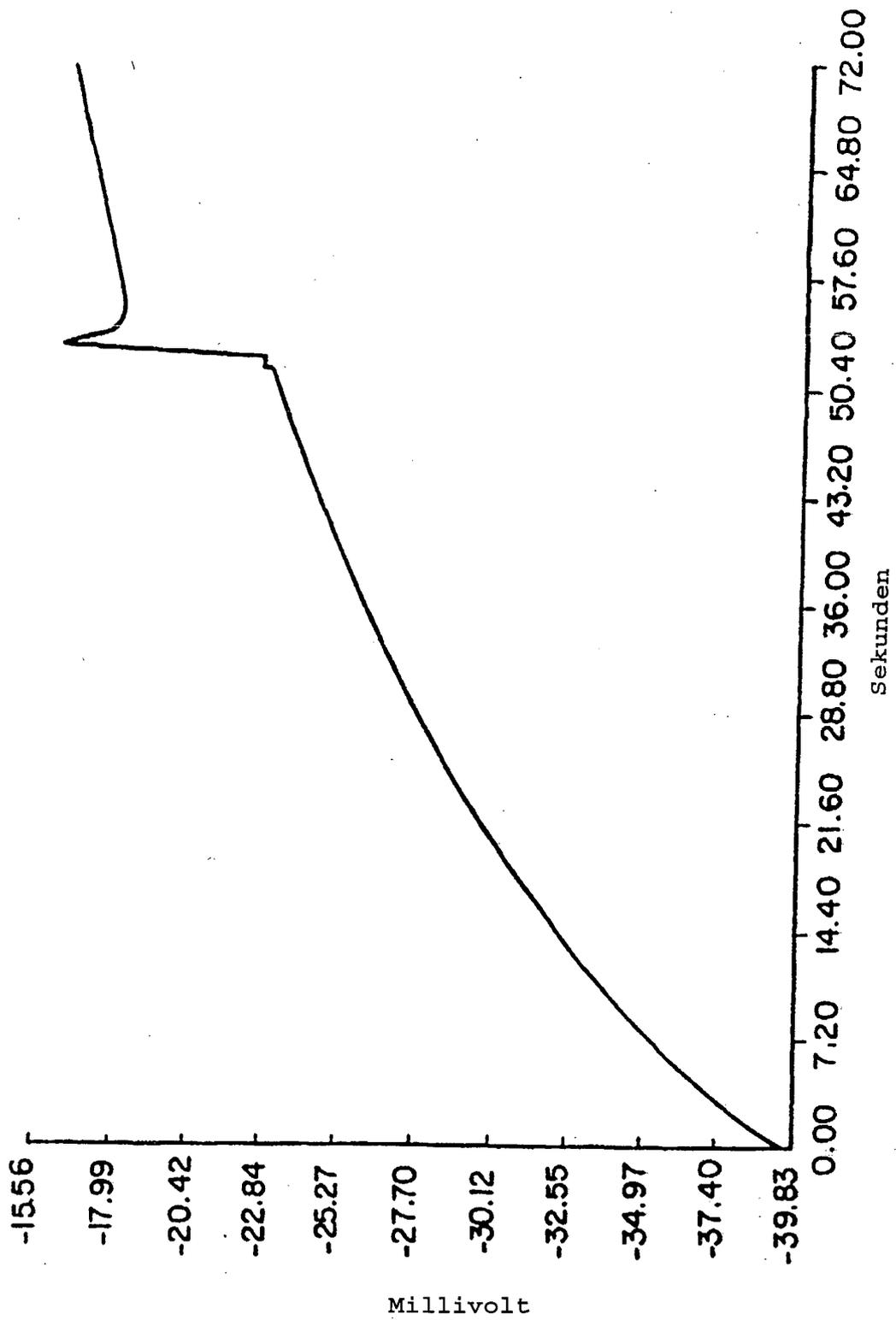


FIG. 2a

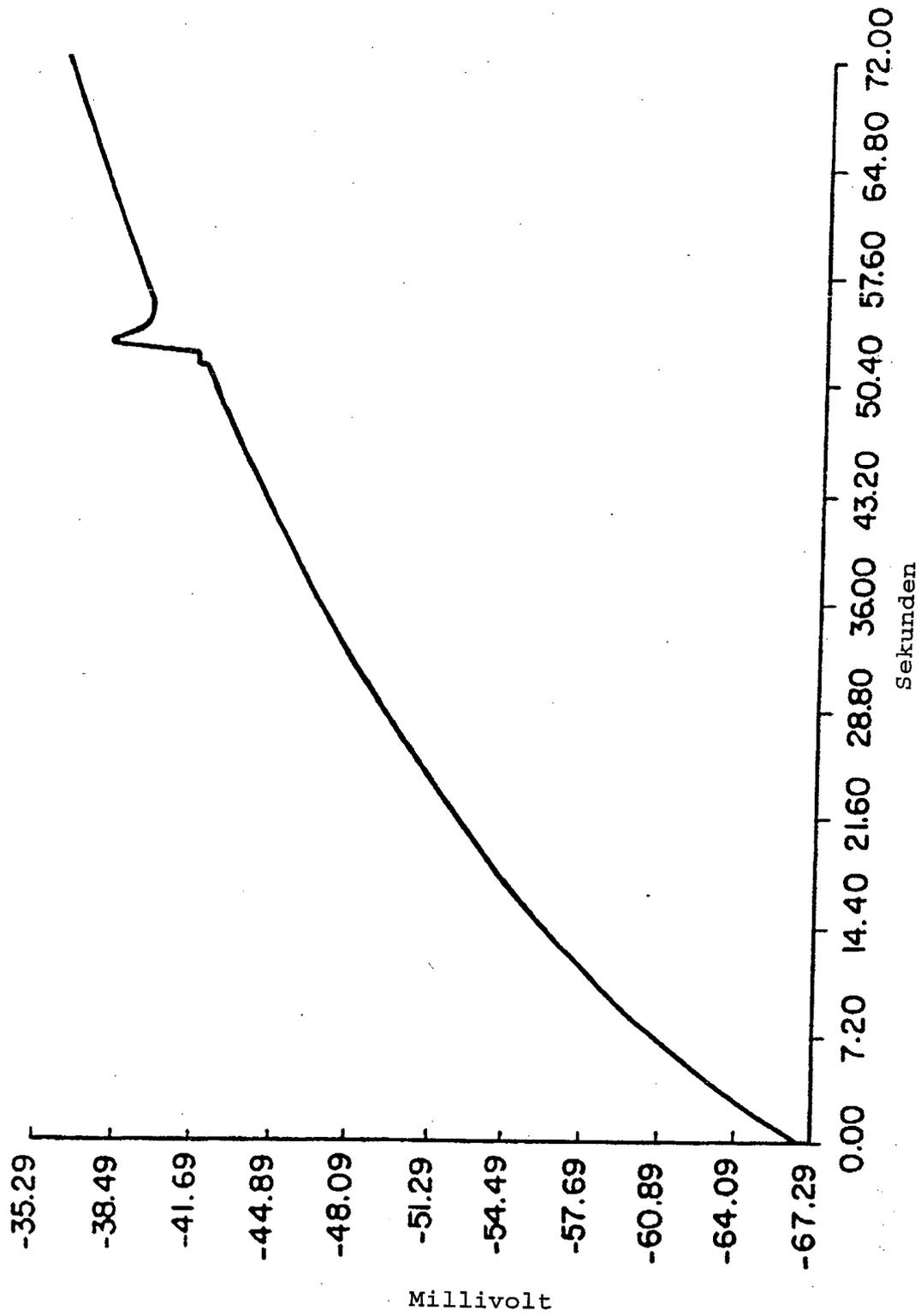


FIG. 2b

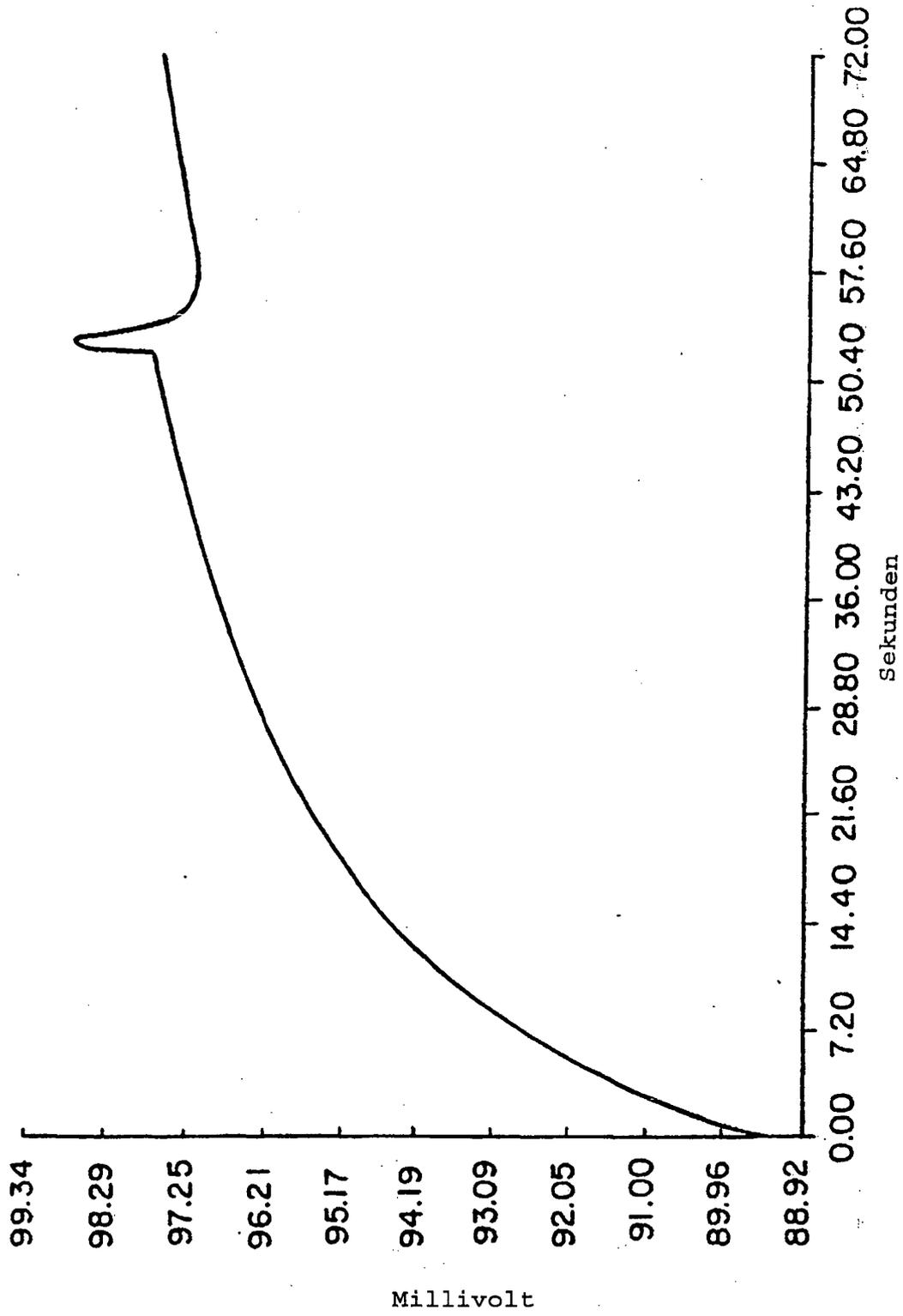


FIG. 2C

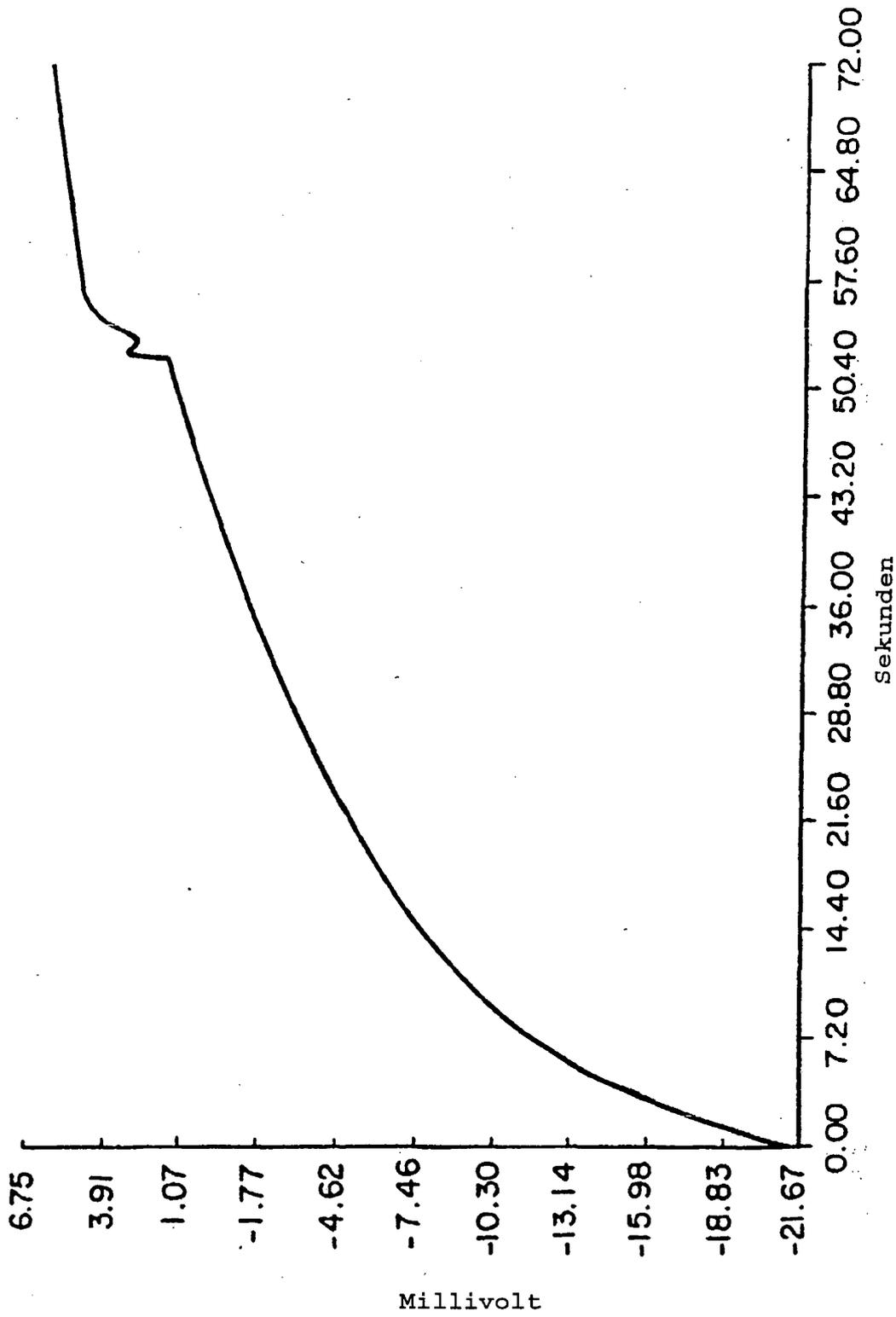


FIG. 2d

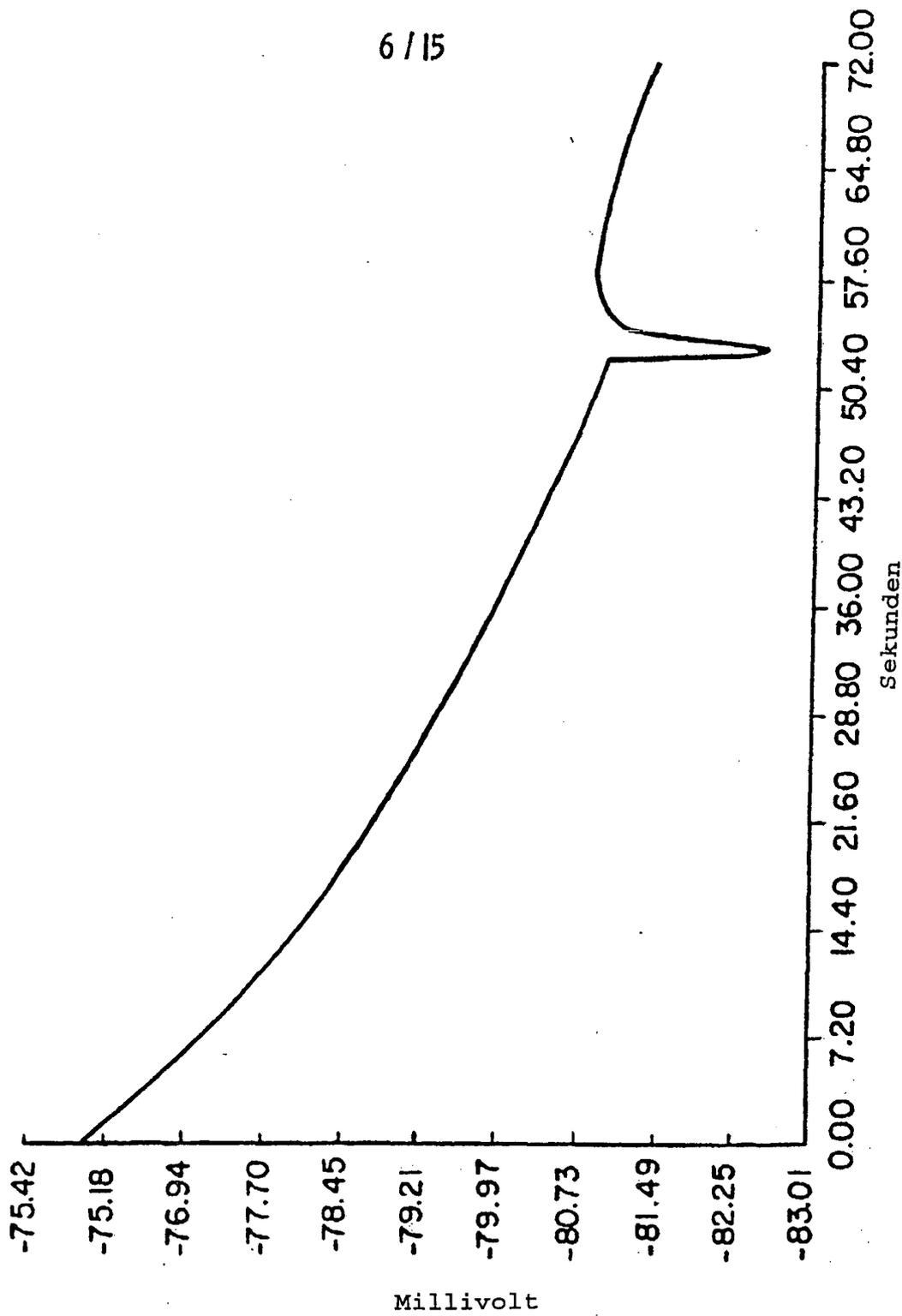


FIG. 2e

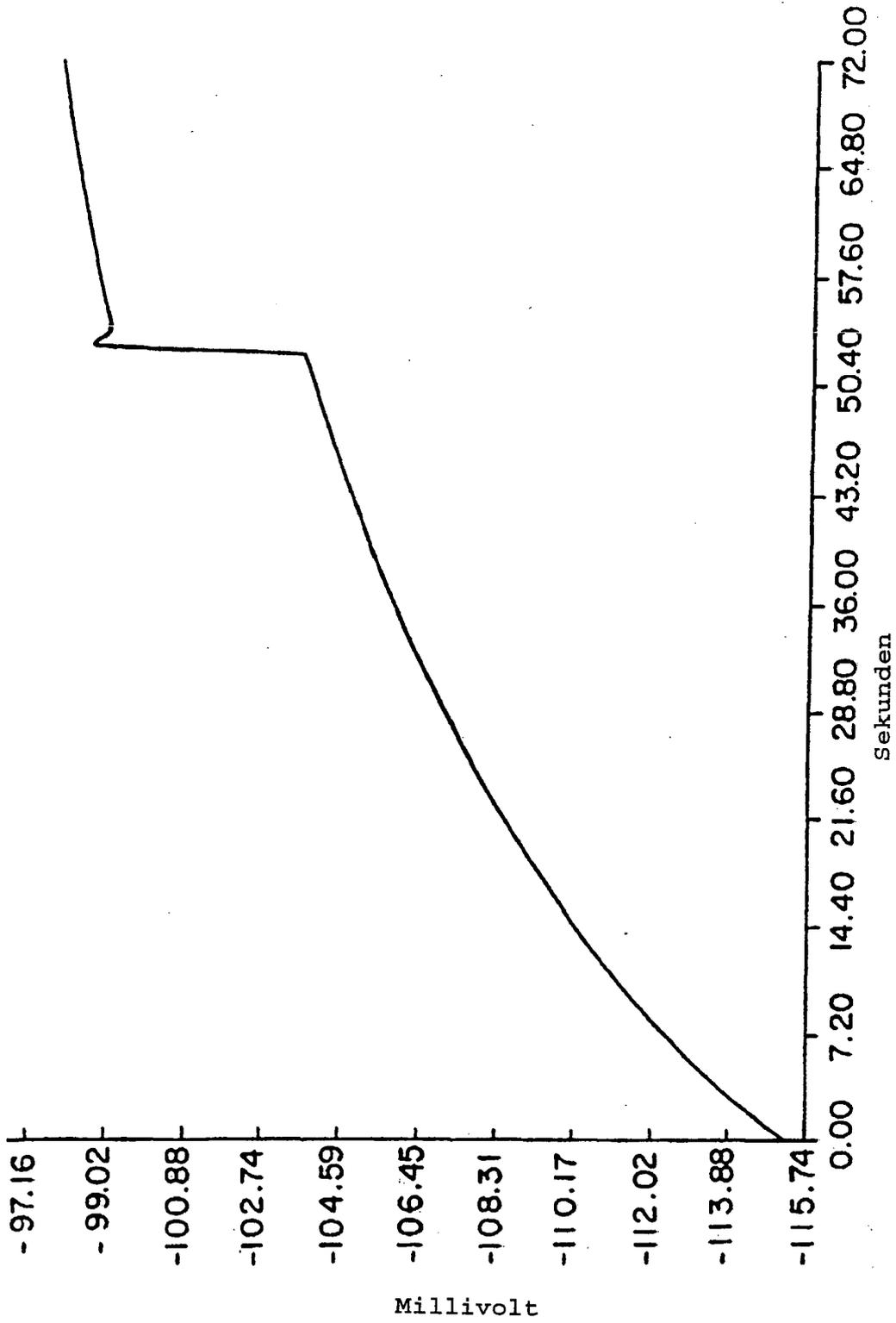


FIG. 3a

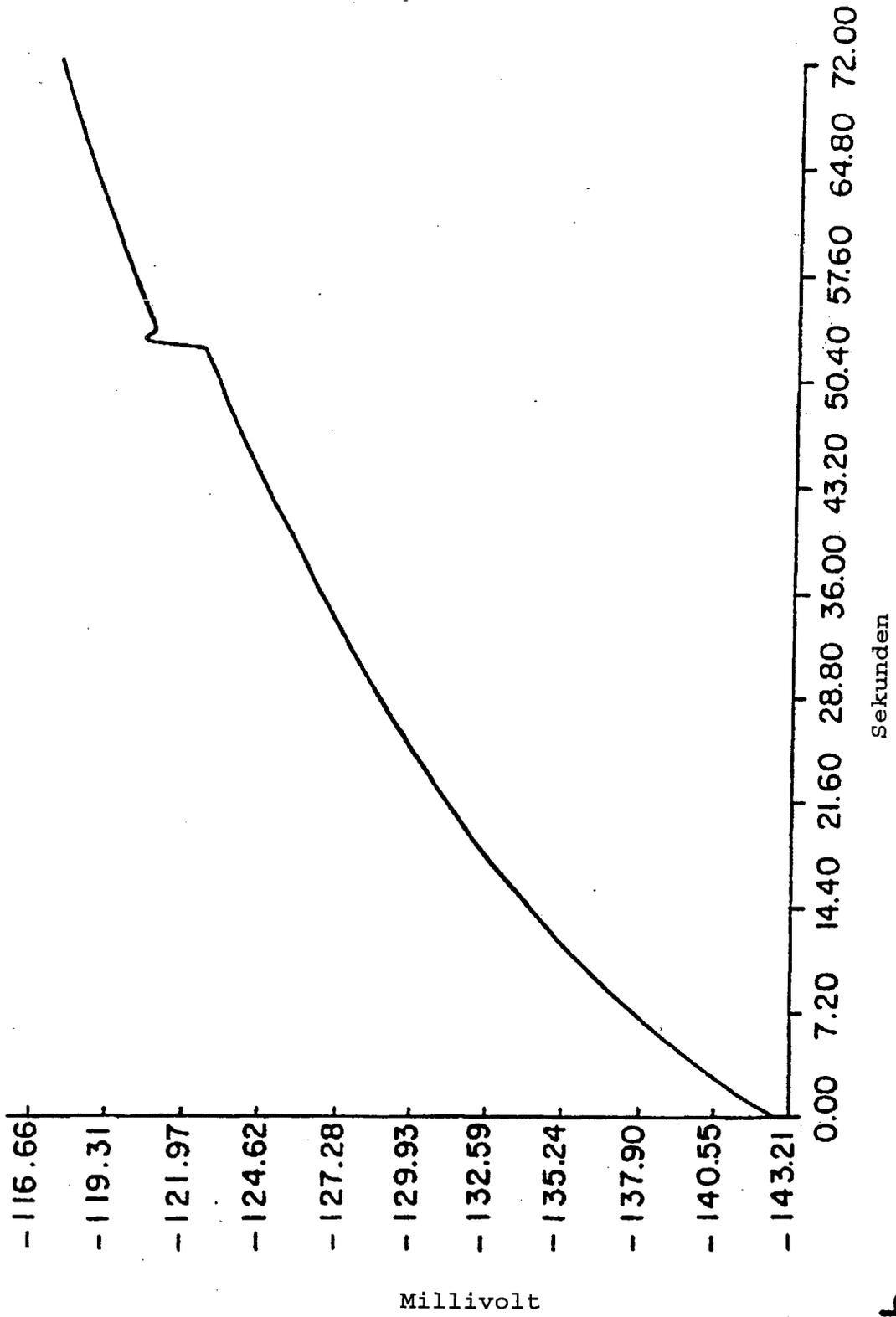


FIG. 3b

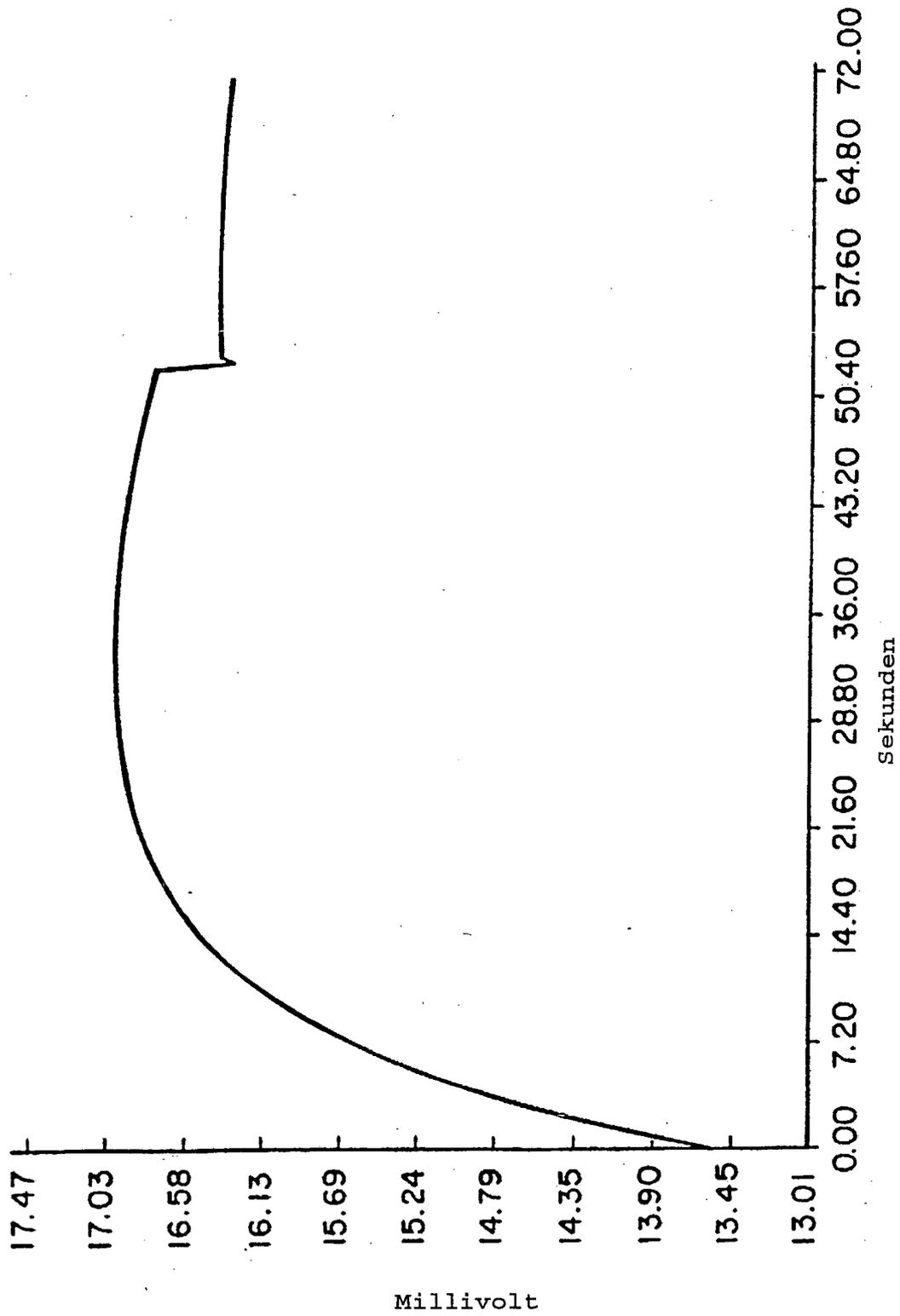


FIG. 3C

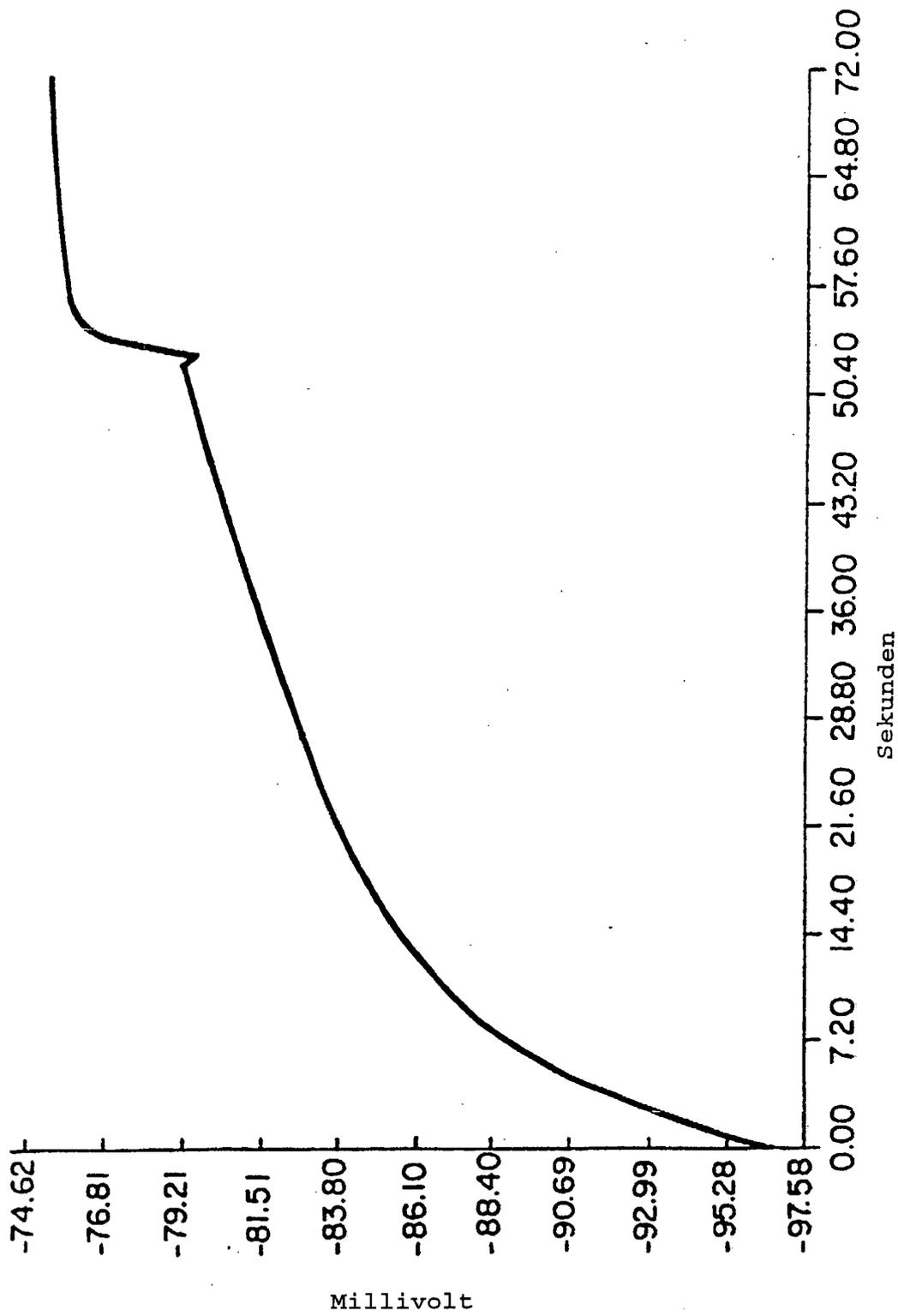
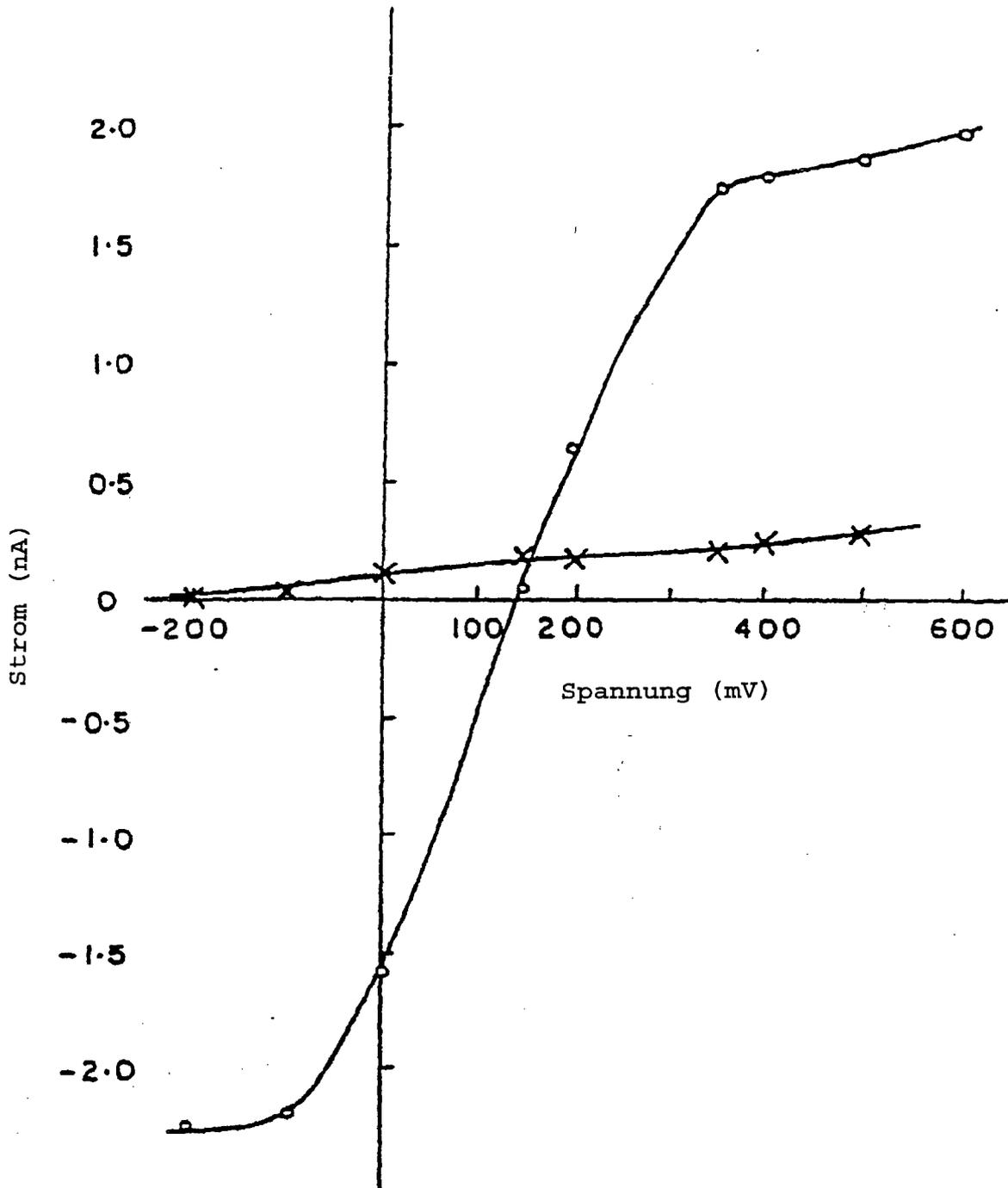


FIG. 3d

FIG. 4



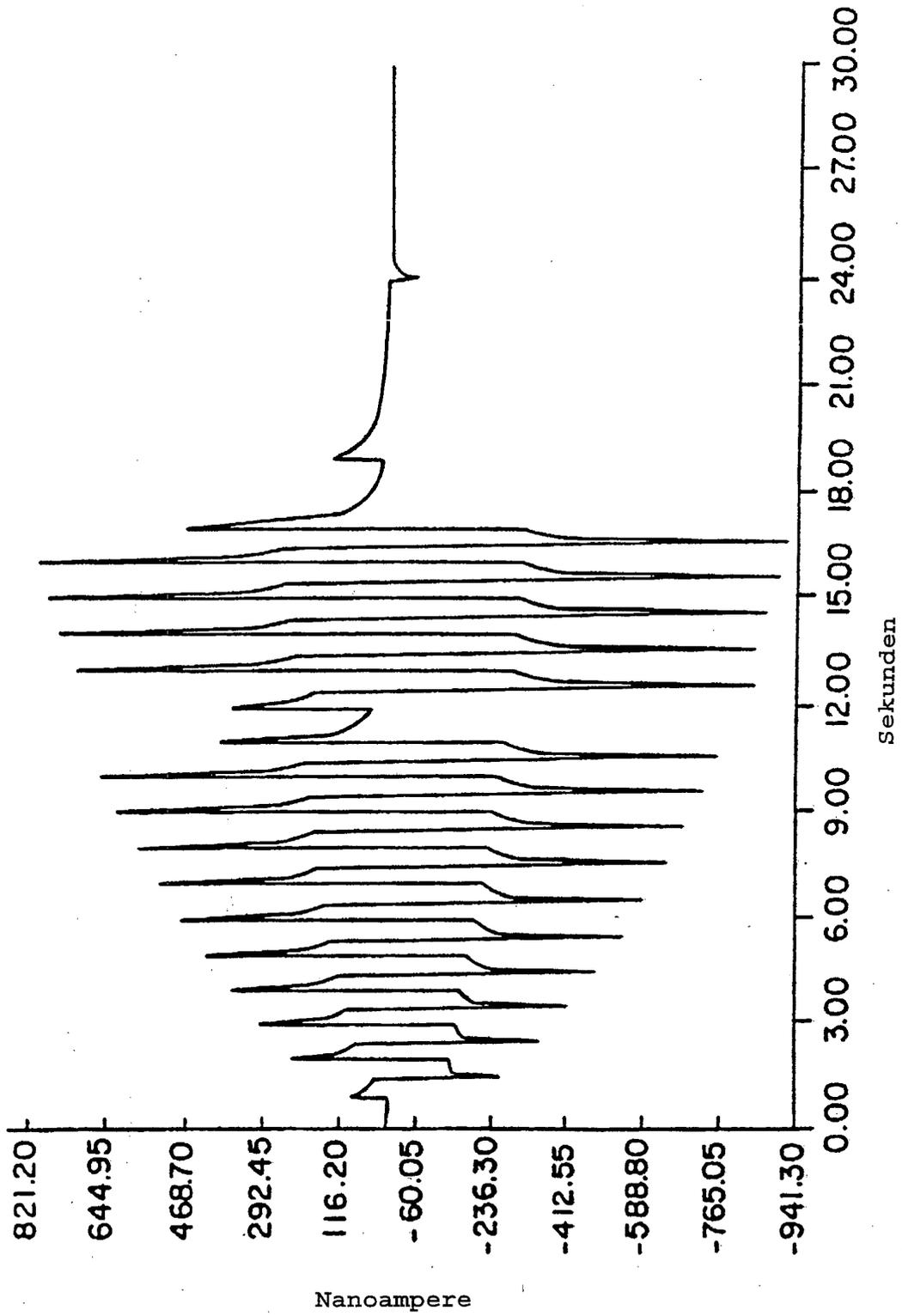


FIG. 5a

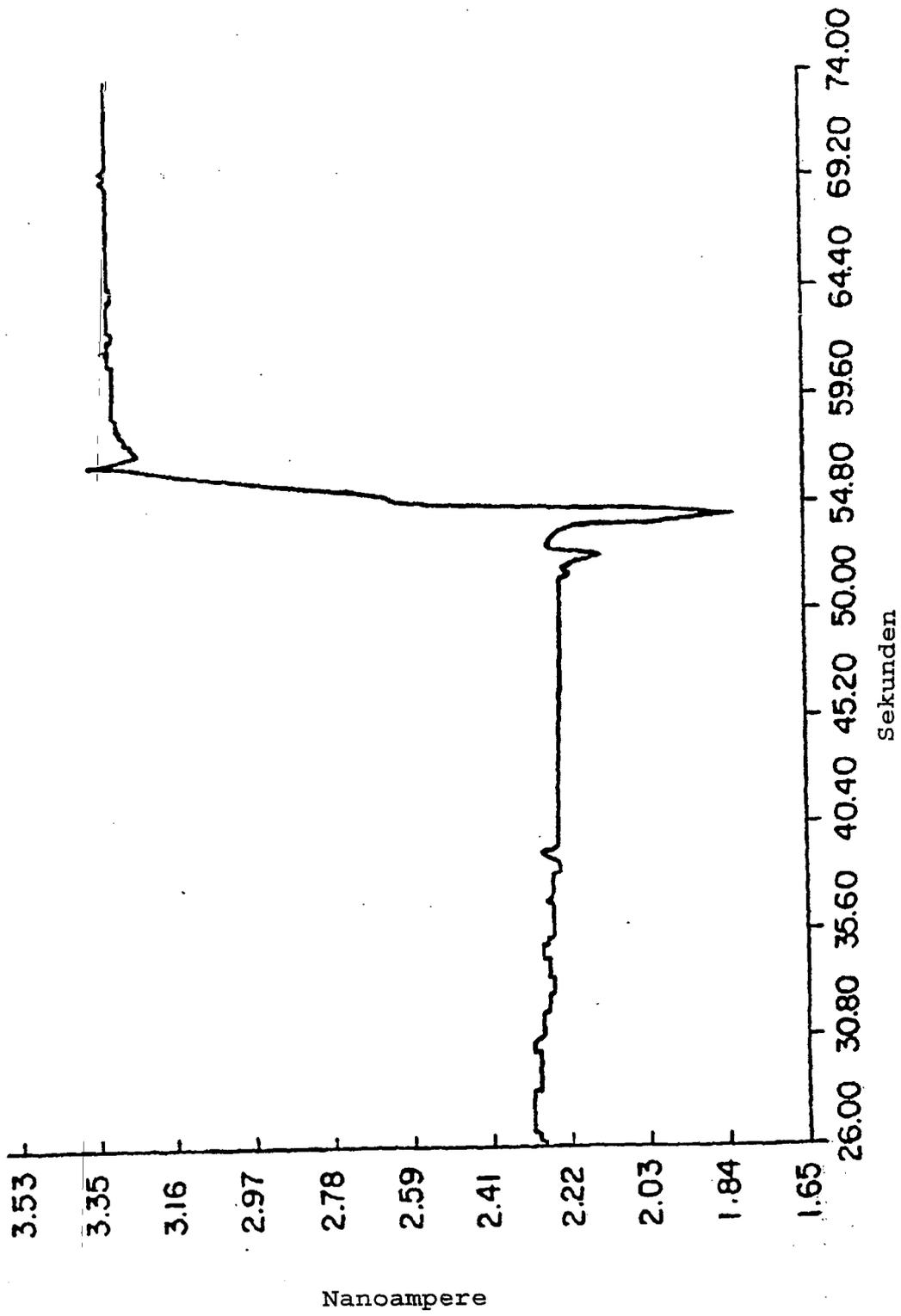


FIG. 5b

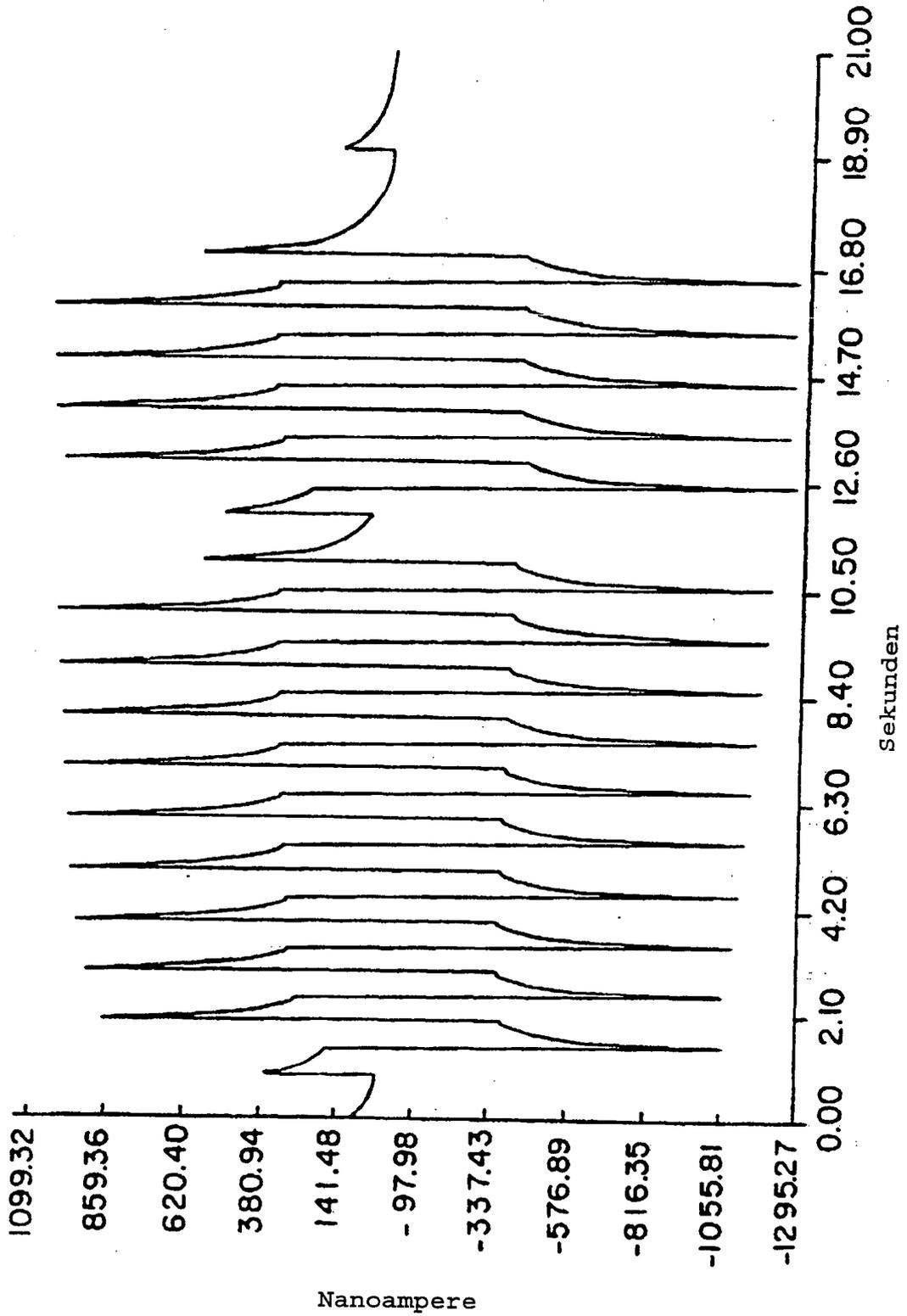


FIG. 5C

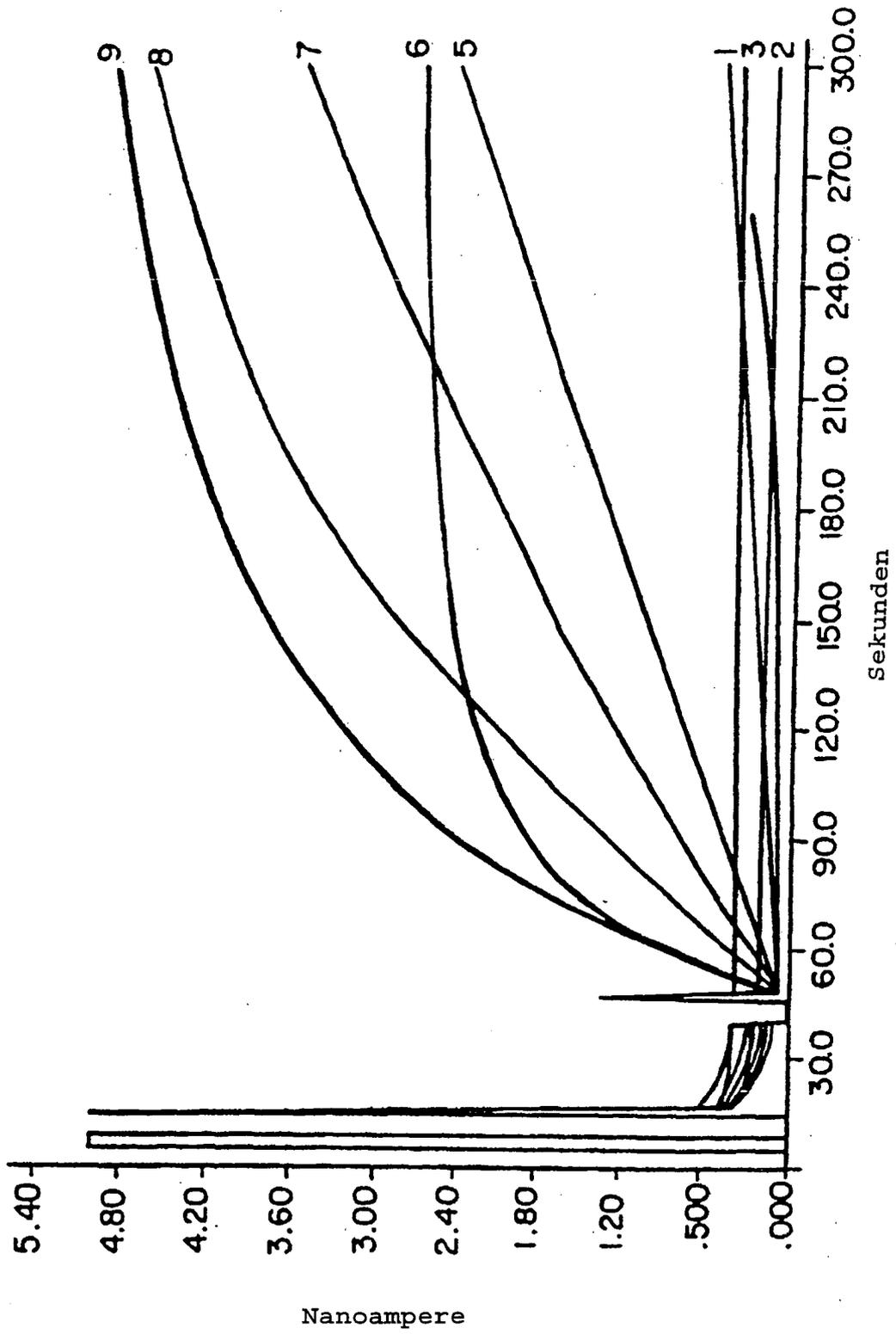


FIG. 6