(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. März 2008 (27.03.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/034587 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12Q 1/00 (2006.01) *G01N 33/487* (2006.01)
G01N 27/49 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/008121

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. September 2007 (18.09.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2006 043 718.7
18. September 2006 (18.09.2006) DE

(71) Anmelder und
(72) Erfinder: **ADLASSNIG, Alexander** [AT/AT]; Landstrasser Hauptstrasse 106, A-1030 Wien (AT). **SCHULTHEISS, Klaus, Werner** [DE/DE]; Marktler Strasse 14, 84489 Burghausen (DE).

(74) Anwalt: **LANG, Johannes**; Bardehle Pagenberg Dost Altenburg Geissler, Galileiplatz 1, 81679 München (DE).

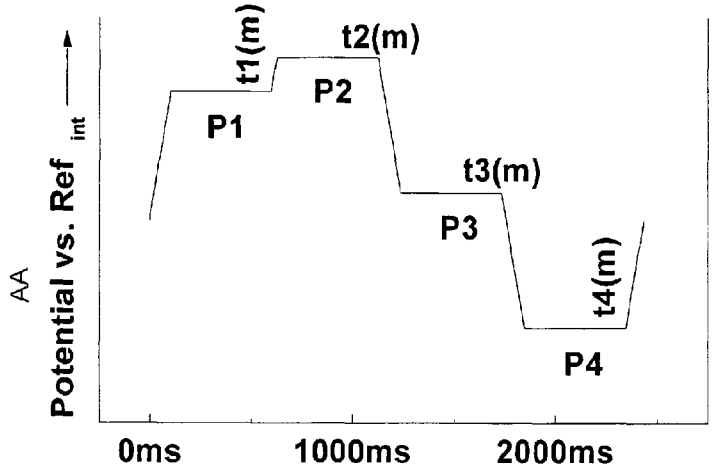
(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DETERMINATION OF HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATIONS

(54) Bezeichnung: BESTIMMUNG VON WASSERSTOFFPEROXIDKONZENTRATIONEN



AA... potential vs. internal reference electrode

(57) Abstract: For the amperometric determination of the hydrogen peroxide concentration in a liquid sample, different electrical potential stages are applied to the electrodes. At least one potential is suitable for measuring the hydrogen peroxide concentration in the liquid sample, and at least one other potential is suitable for measuring the concentration of a substance in the liquid sample, which acts as an interfering substance during the measurement of the hydrogen peroxide concentration.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2008/034587 A1

MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht*

— *vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen*

(57) Zusammenfassung: Zur amperometrischen Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration in einer Flüssigkeitsprobe werden an die Elektroden unterschiedliche elektrische Potentialstufen angelegt. Dabei ist mindestens ein Potential zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeignet, und mindestens ein weiteres Potential zur Messung der Konzentration einer Substanz in der Flüssigkeitsprobe geeignet, die bei der Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration als Störsubstanz wirkt.

Bestimmung von Wasserstoffperoxidkonzentrationen

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Gebiet der Erfindung

Die Erfindung behandelt ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Bestimmung von Wasserstoffperoxidkonzentrationen in Flüssigkeiten, insbesondere eine verbesserte Bestimmung von Wasserstoffperoxidkonzentrationen in Blut, Schweiß, Urin oder Milch.

Die Bestimmung von Substanzen, speziell in Gegenwart von anderen, z.T. störenden Substanzen, ist für viele Einsatzgebiete wichtig, insbesondere in der medizinischen Diagnostik. So ist z.B. die Bestimmung von Glukose im Blut von entscheidender Bedeutung für die Diabetes-Therapie. Besonders erfolgversprechend verläuft die Therapie, wenn der Blutzucker vom Patienten selber in regelmäßigen Abständen kontrolliert wird. Der Patient sticht sich dazu mit einer Stechhilfe, um einen Tropfen Blut zu bekommen, den er auf einen Wegwerfbiosensor aufträgt. Dieser steckt in einem Messgerät, das die Messung und die Auswertung vornimmt. Am Display erscheint nach 10 bis 30 Sekunden der Blutzuckerwert, der vom Patienten zur laufenden Kontrolle und/oder genauen Insulindosierung verwendet wird. Dies erfordert eine genaue Messung des Blutzuckers. Gelegentliche Fehlmessungen können zu akuten Komplikationen wie Koma führen. Dauernde Fehlmessungen

bedingen einen laufend unphysiologisch hohen Blutzuckerspiegel, was zu Blindheit, Amputationen, Nierenversagen und Herzinfarkt führt.

Stand der Technik

Es sind eine Vielzahl von Methoden zur Blutzuckerbestimmung bekannt. Diese fallen in der Regel in zwei Kategorien: optische Methoden und elektrochemische Methoden. Bei optischen Methoden wird Reflexions- oder Absorptionsspektroskopie eingesetzt, um die bei der Reaktion mit Glukose im Blut gebildete Menge an Chromophor nachzuweisen. Die Intensität des Farbumschlages ist dabei proportional zum Blutzuckergehalt.

Elektrochemische Methoden benutzen amperometrische oder coulometrische Verfahren, um den Blutzuckergehalt zu bestimmen. Die Einsatzmöglichkeit und vor allem die Leistungsfähigkeit elektrochemischer Methoden wird durch die Vielzahl an Störsubstanzen (Harnstoff, Aminosäuren, Ascorbinsäure, Medikamente usw.) im Blut begrenzt, da diese ebenfalls an den Elektroden umgesetzt werden können und so falsch erhöhte Werte liefern. Dasselbe gilt für andere Variablen, wie z. B. der Hämatokrit, der auch von Messung zu Messung unterschiedlich sein kann. Der Hämatokrit (Hk) ist der Anteil der roten Blutkörperchen am Gesamtblut (in Vol%). Der normale Hämatokrit liegt zwischen 40 und 45 Vol%. Im Krankheitsfall oder bei Unfällen mit hohem Blutverlust kann der Hk zwischen etwa 22 und 65 Vol% liegen. Inwieweit dieser die Messung des Blutzuckergehalts beeinflusst ist z.B. in den US-Patenten 5,234,516; 5,288,636; 5,353,351 und 5,385,846 beschrieben.

Durch die unbestimmte chemische und physiologische Zusammensetzung des Bluts oder anderer Körperflüssigkeiten weisen die Messergebnisse der elektrochemischen Glukosebestimmung nach den herkömmlichen Verfahren Abweichungen vom tatsächlichen Glukosewert von bis zu 20% auf.

Elektrochemische Wegwerfsensoren bestehen in der Regel aus einem Substrat, auf dem Kontakte, Leitungen und Elektroden aus einem leitenden Material ausgebildet werden. Die Reaktionszone und die Kontakte zum Messgerät, werden durch Aufbringen einer nichtleitenden Schicht definiert. Die Reaktionszone wird durch die Elektroden gebildet. In der Regel findet man zwei Elektroden, wobei eine als Messelektrode dient. Die andere stellt die Referenz- und Gegenelektrode dar. An der Messelektrode erfolgt die eigentliche Nachweisreaktion. Dazu wird auf oder vor diese eine Enzymschicht oder -membran angebracht. Das Enzym wird dazu verwendet, spezifisch mit der im Blut befindlichen Glukose zu reagieren. Die Messelektrode misst nun die Konzentration von einem oder mehreren Reaktionsprodukten der Enzymreaktion. Solange die Aktivität des Enzyms höher ist, als die Substratkonzentration, ist die Konzentration der Reaktionsprodukte direkt proportional zur Substratkonzentration. Die Messelektrode bestimmt so direkt die Glukosekonzentration im Blut.

Es sind eine Vielzahl von Enzymsensoren zur Glukosemessung im Blut oder anderen Flüssigkeiten in der Literatur beschrieben. Fast alle Glukosesensoren funktioniere nach folgendem Reaktionsschema:

$$O_2 + H_2O + Glukose \xrightarrow{Glukoseoxidase\,(GOD)} \delta - Glukolakton + H_2O_2 \qquad (I)$$

Die Glukosebestimmung kann entweder über (1) den Verbrauch von Sauerstoff (O_2-Elektroden); (2) das gebildete Wasserstoffperoxid (H_2O_2-Elektroden) oder (3) den Anstieg des pH-Wertes (pH-Elektroden) erfolgen. Glukosesensoren basierend auf pH-Wert Änderungen haben den Nachteil, dass ihr Messverhalten durch die Pufferkapazität der Probe bestimmt wird.

Bei O_2- und H_2O_2-Elektroden ist der Messwert über einen mehr oder weniger großen Bereich direkt proportional zur Glukosekonzentration. Der Messbereich wird durch die Permeabilität der Membran für Glukose und Sauerstoff bestimmt. Hohe Durchlässigkeit der Membran sorgt für hohe Empfindlichkeit, während geringe Durchlässigkeit zwar die Sensitivität verringert, den Messbereich jedoch erweitert. Bei hohen Glukosekonzentrationen kann der Messbereich durch zu geringe Enzymaktivität begrenzt werden. Dieser Umstand kann aber durch Einsatz von überschüssigem Enzym eingedämmt werden. Dabei ist darauf zu achten, dass es besonders bei Glukoseoxidase bei hohen Enzymmengen zu einer Selbstinhibierung kommt.

Ohne Membran ist der Messbereich durch die Transportgeschwindigkeit von Sauerstoff zum Enzym auf etwa maximal 200 mg/dl beschränkt. In der Diabetes-Therapie sind aber Blutzuckerwerte zwischen 200 und 500 mg/dl an der Tagesordnung. Um diesen Wert zu erreichen, ohne jedoch Empfindlichkeit durch dicke Membranen zu verlieren, wurden Sauerstoffunabhängige Glukosesensoren entwickelt. Dabei übernehmen andere Moleküle als Sauerstoff den Transport der Elektronen vom Redoxzentrum des Enzyms zur Elektrodenoberfläche. Diese Moleküle werden als Mediatoren M bezeichnet. Der Mechanismus läuft nach folgendem Schema ab:

$$\text{Glukose} + GOD_{ox} \rightleftharpoons \delta\text{-Glukolakton} + GOD_{red} \qquad \text{(II)}$$

$$GOD_{red} + 2M_{ox} \rightleftharpoons GOD_{ox} + 2M_{red} + 2H^+$$

$$M_{red} \rightleftharpoons M_{ox} + e^- \qquad \text{(an der Elektrode)}$$

Solche Sensoren sind bis zu einem gewissen Grad sauerstoffunabhängig und funktionieren sogar in anaeroben Umgebungen.

Bei der elektrochemischen Glukosebestimmung in einem komplexen Medium wie Blut oder Urin stellt sich allerdings das Problem, dass zahlreiche weitere in dem Medium enthaltene Substanzen den Messstrom beeinflussen können. Im Falle der direkten H_2O_2-Detektion bei etwa +0,6 V (NHE) werden auch sehr viele leicht oxidierbare Verbindungen mit umgesetzt, was zu falsch erhöhten Messwerten führt. Aus diesem Grund haben die eingesetzten Mediatoren in der Regel niedrige Redoxpotentiale, was den Einfluss von Störspezies auf das Messergebnis verringert. Beispiele für geeignete Mediatoren sind Benzo- und Naphtoquinone (EP 0 190 740), substituierte Flavine, Phenazine, Phenothiazine, Indophenole, substituierte 1,4-Benzoquinone und Indamine (EP 0 330 517), N-Oxide, Nitroso-Verbindungen, Hydroxylamine und Oxine (EP 0 354 441), lösliche Hexacyanoferrat/Eisen-Verbindungen (EP 0 496 730) oder Phenazinium/Phenoxazinium-Salze (US 3,791,988).

Glukosesensoren mit Mediatoren haben jedoch Nachteile. So sind alle Mediatoren giftig. Die natürliche Reaktion von Glukoseoxidase mit Sauerstoff aus dem Medium lässt sich nicht verhindern, da die Affinität des Redoxzentrums zu O_2 etwa 100 Mal höher ist als z.B. zu $Fe(III)CN_6$. Dies tritt besonders bei niedriger Glukosekonzentration verstärkt auf und führt zu zu niedrigen Messwerten, da das durch die Reaktion mit Sauerstoff gebildete H_2O_2 nicht detektiert wird. Bei der Herstellung solcher Sensoren muss wie

terhin dafür gesorgt werden, dass der Mediator bis zur Messung im oxidierten Zustand bleibt. Jede auch nur teilweise Reduktion führt zu einem erhöhten Grundstrom, da schon M_{red}-Moleküle vorhanden sind, die natürlich auch umgesetzt werden. Es ist bekannt (EP 0 741 186), dass besonders bei hohen Temperaturen und hoher Luftfeuchtigkeit Mediatoren zur schnellen Reduktion neigen. Das verringert natürlich die Haltbarkeit und damit die Einsatzmöglichkeit der Sensoren als Wegwerfsensoren.

Man kann Zweielektrodensysteme oder Dreielektrodensysteme verwenden. Bei beiden Systemen bestehen die Arbeitselektroden und die Gegenelektroden im Allgemeinen aus Platin, Gold, Kohlenstoff oder dergleichen. Die Vergleichselektrode ist eine Ag-AgCl-Elektrode, eine Kalomelelektrode oder aus demselben Material wie die Arbeitselektrode.

Die internationale Patentanmeldung mit der Veröffentlichungsnummer WO 81/03546 offenbart ein Verfahren zur Messung der Glukosekonzentration, bei dem ein Potentialverlauf (unteres Limit: –1,0 bis – 0,6 V; oberes Limit: 0,7 bis 1,1 V) mit Haltezeiten an bestimmten Stellen (besonders dort, wo Glukose umgesetzt wird) und an den Umkehrpunkten angelegt wird. In bestimmten Bereichen wird die Ladung bestimmt. Dabei werden Haltepunkt und Haltezeiten so gewählt, dass die Ladung proportional zur Glukosekonzentration ist, unabhängig von Störsubstanzen, hauptsächlich Harnstoff und Aminosäuren. Die Bereiche, in denen integriert wird, zeichnen sich dadurch aus, dass Glukose immer nur einen positiven Beitrag zur Gesamtladung liefert, die Störsubstanzen dagegen sowohl positive als auch negative Beiträge, die somit bei der Integration herausgemittelt werden.

Dieses Verfahren versagt aber bei hohen Konzentrationen an Störsubstanzen und gleichzeitig geringen Konzentrationen an Glukose.

In Summe wäre ein Methode zur Glukosebestimmung im Blut wünschenswert, die mit H_2O_2-Elektroden arbeitet, ohne Mediatoren auskommt, relativ unempfindlich gegenüber Hämatokrit und Temperatur ist, bei der die H_2O_2-Detektion in einem niedrigeren Potentialbereich erfolgen kann, wodurch er unempfindlicher gegenüber Störspezies wird. Gleichzeitig sollten die Sensoren lagerfähig sein, damit sie als Wegwerfsensoren eingesetzt werden können.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, die Genauigkeit der amperometrischen Bestimmung von Wasserstoffperoxidkonzentrationen in einer Flüssigkeitsprobe, insbesondere in Blut, Schweiß, Urin oder Milch, zu verbessern und insbesondere den Einfluss von Störsubsubstanzen auf das Ergebnis der Bestimmung weiter zu verringern bzw. ganz auszuschließen.

Die Aufgabe wird durch das Verfahren gelöst, das in Anspruch 1 definiert ist, sowie durch die Vorrichtungen, die in den Ansprüchen 22 und 23 definiert sind. Weitere, bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

Eine Ausführungsform der Erfindung ist ein Verfahren zur amperometrischen Bestimmung der in einer Flüssigkeitsprobe, insbesondere Blut, Se

rum, Plasma, Urin, interstitielle Flüssigkeit, Schweiß oder Milch vorhandenen Wasserstoffperoxidkonzentration mit Hilfe von Elektroden, an die während eines Messzykluses unterschiedliche Potentiale E angelegt werden. Das Verfahren umfasst die Messung bei einem Potential E_M, das zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, und die Messung bei mindestens einem Potential E_K, das zur Messung der Konzentration einer Substanz in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, die bei der Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration als Störsubstanz wirkt, insbesondere Harnstoff, Aminosäuren, Ascorbinsäure und bestimmte Medikamente.

Das Ergebnis/die Ergebnisse der zusätzlichen Messung(en) bei einem oder mehreren Potential(en) E_{Kn}, die zur Messung der Konzentration einer Störsubstanz in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist/sind, kann/können verwendet werden, um den Einfluss dieser Störsubstanz(en) auf das Ergebnis der Messung bei dem Potential, das zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, abzuschätzen. Dadurch wird das Ergebnis der Glukosebestimmung unempfindlich gegenüber dem Einfluss von einer oder mehreren Störsubstanz(en), die in der Flüssigkeitsprobe in unbekannter Konzentration enthalten ist/sind.

Vorzugsweise wird zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration bzw. der Konzentration einer Störsubstanz in der Flüssigkeitsprobe ein Potential angelegt, bei dem sich der zwischen den Elektroden fließende Strom im Wesentlichen linear, höchstens aber exponentiell mit der Wasserstoffperoxidkonzentration bzw. mit der Störsubstanzkonzentration verändert.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden zur Abschätzung des Einflusses der Störsubstanzen vom Ergebnis der Messung bei dem zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration geeigneten Potential die Ergebnisse der Messungen bei den zur Messung der Konzentration von Störsubstanzen geeigneten Potentialen, jeweils multipliziert mit einen zuvor empirisch ermittelten Gewichtungsfaktor a, abgezogen. Der Gesamtstrom beim typischen Wasserstoffperoxidpotential wird mit Hilfe der Messströme bei verschiedenen typischen Störsubstanzpotentialen, multipliziert mit einem Gewichtungsfaktor, korrigiert und ergibt so auf einfache Art und Weise einen genaueren Wert.

Nach einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden die Messungen bei den verschiedenen Potentialen wiederholt, typischer Weise bis zum Erreichen eines bestimmten Konvergenzkriteriums. Dadurch können Ungenauigkeiten wegen Messfehlern oder Ausreißern ausgeglichen werden.

In einer Ausführungsform wird vor dem Anlegen des ersten Messpotentials ein Aktivierungspotential angelegt, welches typischer Weise zwischen -200 und +700 mV, vorzugsweise bei 0 V liegt. Dadurch kann das Messpotential weit ins Kathodische verschoben werden.

Vorzugsweise werden maximal 10 unterschiedliche Potentiale angelegt, und typischerweise 4, welche in den Bereichen -1200 bis -800 mV, -600 bis 0 mV, -200 bis +700 mV und +200 bis +1400 mV liegen. Die Messpotentiale, die zur Bestimmung der Konzentrationen der Störsubstanzen angelegt werden, sind in der Regel kathodischer als das Messpotential E_M, damit wenig Substrat verbraucht wird.

In einem typischen Anwendungsfall der Erfindung, z.B. bei der Bestimmung der Glukosekonzentration in der Flüssigkeit, ist das Wasserstoffperoxid Endprodukt einer Enzymreaktion. Bei der Enzymreaktion wird vorzugsweise mindestens eine Oxoreduktase verwendet wird, z.B. Glukoseoxidase im Fall der Glukosebestimmung. Weitere Substrate lassen sich durch andere geeignete Enzyme bestimmen wie z.B. Laktatoxidase, Cholesteroloxidase, Alkohodehydrogenase, Xanthinoxidase, Aminosäureoxidase, Ascorbinsäureoxidase, Acyl-CoA-oxidase, Uricase, Glutamatdehydrogenase, Fruktosedehydrogenase oder ähnliche.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden als Elektroden Goldelektroden verwendet.

Weitere bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind Messvorrichtungen, mit Hilfe derer sich das oben beschriebene Verfahren durchführen lässt. Diese Messvorrichtungen können die Messelektroden integriert haben, z.B. auf einem Messchip, oder die Messelektroden sind auf einem externen Messstreifen angebracht, der mit dem Messgerät elektrisch verbunden wird.

In den Messvorrichtungen werden die elektrochemischen Potentialabfälle in der Flüssigkeitsprobe vorzugsweise über eine Regelschaltung kompensiert.

Weiterhin wird in einer vorteilhaften Ausführungsform der Messvorrichtungen das Potential der Messelektrode durch eine Regelschaltung während der gesamten Messung auf einen konstanten Wert gehalten.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

Die obige und andere Aufgaben, Aspekte und Vorteile der Erfindung werden mit der folgenden detaillierten Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung besser verstanden werden, in der Bezug auf die Zeichnung genommen wird, in der:

Fig. 1 einen typischen Verlauf eines an die Messelektroden angelegten Potentials zeigt;

Fig. 2 einen typischen Verlauf des Messstroms in Reaktion auf die in Fig. 1 gezeigte Potentialkurve zeigt;

Fig. 3 den schematischen Aufbau eines für die Durchführung der Messung geeigneten Teststreifens zeigt;

Fig. 4 die Kurve des Messstroms I_M bei unterschiedlichen Wasserstoffperoxidpotentialen E_M für ein Beispiel zeigt;

Fig. 5 den Einfluss der Höhe des Aktivierungspotentials E_A auf den Messstrom für E_M = +800 mV für das Beispiel aus Fig. 4 zeigt; und

Fig. 6 einen Steuerschaltkreis zum Aufprägen der erfindungsgemäßen Potentialstufen zeigt.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN DER ERFINDUNG

Gemäß der Erfindung werden mehrere Messpotentialstufen an die Elektroden des Sensors angelegt.

Dabei wird mindestens ein Potential so gewählt, dass es zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration geeignet ist. Dies ist insbesondere ein Potential, bei dem der Messstrom linear oder maximal exponential zur Wasserstoffperoxidkonzentration ist, d.h. sich linear oder maximal exponentiell mit einer Änderung der Wasserstoffperoxidkonzentration verändert.

Zusätzlich wird mindestens ein Potential so gewählt, dass es zur Messung der Konzentration einer Substanz geeignet ist, die bei der obigen Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration als Störsubstanz wirkt, das heißt den zwischen den Elektroden bei der Wasserstoffperoxidmessung fließenden Strom beeinflusst, insbesondere verstärkt. Ein solches zusätzliches Messpotential erlaubt also die Abschätzung der Konzentration einer bestimmten Störsubstanz und ist insbesondere ein Potential, bei dem der Messstrom nicht linear zur Wasserstoffperoxidkonzentration, sondern zur Konzentration der Störsubstanz ist.

Die Abschätzung(en) der Störsubstanz(en) kann/können dann als Korrekturfilter bezüglich der vorläufigen Abschätzung der Wasserstoffperoxidkonzentration verwendet werden, indem der Strom abgeschätzt wird, den die Störsubstanz(en) bei der Messung beim Potential zur Wasserstoffperoxid

messung beitragen, und der Messwert entsprechend korrigiert wird. Ist der Messwert zum Beispiel die Stärke des beim Potential zur Wasserstoffperoxidmessung fließenden Messstroms, so kann von diesem Messwert der nach dem obigen Verfahren ermittelte Schätzwert des Beitrags der Störsubstanzen zu diesem Messwert abgezogen werden.

Im Folgenden wird beschrieben, wie aus den Messwerten bei den Potentialen E_{K1} bis E_{Kn} zur Bestimmung der Störsubstanzkonzentrationen der Beitrag der Störsubstanzen zum Messwert beim Potential E_M zur Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration abgeschätzt werden kann und letzterer zur (endgültigen) Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration korrigiert werden kann.

Bei der Blutzuckermessung wird dann nach dem oben beschriebenen Verfahren für die Störsubstanzen *k1, k2, ... kn* die tatsächlich messbare Konzentration bei einem für die Messung der Störsubstanzkonzentration jeweils typischen Potential E_{Ki} bestimmt. Dieses typische Potential ist zum Beispiel ein Potential, bei dem der Messstrom linear zur Konzentration der Störsubstanz ist. Man erhält dann als Messwerte die Stromwerte I_{k1}, I_{k2}, ..., I_{kn}. Darüber hinaus wird nach dem oben beschriebenen Verfahren bei einem für die Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration typischen Potential E_M der vorläufige Wert der Wasserstoffperoxidkonzentration bestimmt, wobei man als Messwert den Stromwert I_M erhält.

Aus diesen Messwerten wird dann der Stromwert I_M· nach folgender Arbeitsformel berechnet:

$$I_{M'} = I_M - a_1 \cdot I_{k1} - a_2 \cdot I_{k2} - \ldots\ldots - a_n \cdot I_{kn} \qquad \text{(III)}$$

Die Konstanten a_1, a_2, ..., a_n sind Gewichtungsfaktoren, die bei Vorversuchen im Labor empirisch bestimmt werden müssen. Sie sind notwendig, da I_{k1}, I_{k2}, ..., I_{kn}, wie oben bemerkt, bei den Potentialen E_{k1}, E_{k2}, ..., E_{kn} gemessen werden, wobei die E_k von E_M verschieden, typischerweise geringer sind. Darüber hinaus ist bei mehreren Störsubstanzen der Zusammenhang nicht mehr linear, da sich die Substanzen gegenseitig beeinflussen. Der Zusammenhang variiert je nach Konzentration der Störsubstanzen und der Menge sonst noch vorhandener Komponenten. In Summe gehen in a_i mehrere Faktoren ein.

Die obige Arbeitsformel wird in das Messgerät einprogrammiert. Es sei aber bemerkt, dass noch weitere Faktoren in die Berechnung der Blutzuckerkonzentration einfließen und auch die obige Arbeitsformel ergänzen können. Zu solchen Faktoren gehört insbesondere eine Abschätzung des Anteils am Messstrom, der durch diejenigen Störsubstanzen verursacht wird, deren Konzentration nicht nach dem obigen Verfahren extra gemessen wird. Weiterhin können neben der chemischen Zusammensetzung der Flüssigkeitsprobe physikalische und physiologische Eigenschaften wie die Temperatur der Probe die Messströme beeinflussen.

Anhand eines Beispiels wird jetzt die Bestimmung des Glukosegehalts in Blut beschrieben. Dies geschieht durch Reaktion der Probe mit Glukoseoxidase unter Bildung von Wasserstoffperoxid und amperometrisches Bestimmen der Menge des gebildeten Wasserstoffperoxids.

Es werden dazu mindestens zwei, vorzugsweise maximal zehn und typischerweise vier Potentiale an die Messelektrode des Teststreifens aus Fig. 3 angelegt. Der Messstreifen besteht aus drei Elektroden (**14**): Mess-, Gegen- und Referenzelektrode. Das Substrat **10** besteht aus einer thermoplastischen Kunststofffolie (z.B. PVC von Ineos, Deutschland). Oberhalb der Elektrodenflächen wird durch eine Spacerfolie **11** (z.B. Duplobond® von Lohmann, Deutschland) und einer hydrophil beschichteten Deckfolie **12** (z.B. Hostaphan® RN HSTE von Mitsubishi Polyester Films, Deutschland) eine Kapillare erzeugt. Die Glukoseoxidase wird im Siebdruckverfahren auf die Elektrodenfläche aufgebracht (z.B. HEMA GX von Aurum Technology, Österreich). Die Potentialbereiche sind für den typischen Fall zum Beispiel:

E_A: -200 bis +200 mV

E_M: +400 bis +800 mV

E_{k1}: -400 bis -600 mV

E_{k2}: -800 bis -1000 mV.

E_A ist ein Aktivierungspotential. Damit hat es folgende Bewandtnis: Von Goldelektroden ist bekannt, dass die Oxidation von H_2O_2 bei zwei unterschiedlichen Potentialen stattfindet (M. Gerlache et al., Electrochimica Acta, Vol. 43, No. 23, Seiten 3467 bis 3473, 1998). Der erste Peak liegt im Bereich des Onsets der Oxidbildung (E_p = 0,49 V), der zweite – etwas anodischer – komplett im Oxid-Bereich (E_p = 0,87 V). Die Höhe vor allem des ersten Peaks hängt sehr von der Beschaffenheit der Elektrode und der Zusammensetzung des Mediums ab. Die Ausbildung des ersten Peaks wird durch adsorbierte OH-Ionen an der Goldoberfläche beschleunigt. Können keine OH-Ionen adsorbiert werden (z.B. bei hoher Cl-Ionen Konzentration

und/oder oberflächenaktiver Substanzen im Medium, verschmutzter oder oxidierter Oberfläche), bildet sich der erste Peak nur schwach oder gar nicht aus. Besonders dieser erste Peak bietet sich jedoch gut für den Nachweis von H_2O_2 an, da das Halbwellenpotential der H_2O_2-Oxidation und der Oxidbildung von einander getrennt sind. Das erlaubt empfindlicheres Messen, als z.B. mit Platin-Elektroden, bei denen bei der H_2O_2-Detektion die Oxidbildung immer mitgemessen wird.

Es hat sich herausgestellt, dass durch Anlegen eines Potentials unterhalb des Onsets der Oxidbildung (Aktivierungspotential E_A) vor dem eigentlichen Messpotential (E_M) das Messpotential weit ins Kathodische verschoben werden kann (bis auf 0,1 V). Durch das Anlegen des Aktivierungspotentials wird nämlich eine kleine katalytische Menge Oxid auf der Elektrodenoberfläche gebildet. Diese führt dazu, dass das Messpotential von mindestens 0,6 V (NHE) auf unter 0,4 V verringert wird. Damit verringert sich auch der Einfluss von Störspezies auf den Messstrom, und der Einsatz von Mediatoren ist nicht mehr unbedingt notwendig.

Die Arbeitsformel im Beispiel sieht nun folgendermaßen aus:

$$I_{M'} = I_M - a_1 \cdot I_{k1} - a_2 \cdot I_{k2} \qquad \text{(IV)}$$

Wie wirkungsvoll diese Methode ist, zeigt sich, wenn man das Konfidenzintervall (den Vertrauensbereich VB) mit und ohne Korrekturterm vergleicht. Im Fall der Bestimmung des Glukosegehalts in Blut, durch Reaktion der Probe mit Glukoseoxidase unter Bildung von Wasserstoffperoxid

und amperometrisches Bestimmen der Menge des gebildeten Wasserstoffperoxids nach der beschriebenen Methode, erhält man einen VB von 0,96999. Erweitert man die Formel um den Korrekturterm mit den empirisch ermittelten Gewichtungsfaktoren a_1 = -0,11 und a_2 = 0,47, erhöht sich der VB auf 0,99922.

Die Blutzuckerkonzentration G kann dann direkt aus I_M abgeleitet werden, da sie proportional zur Wasserstoffperoxidkonzentration ist, welche wiederum proportional zu I_M (in diesem Falle als I_{BZ} bezeichnet) ist. G ergibt sich mit dem Achsenabschnitt d und der Steigung k (beide aus der Kalibrierung) zu:

$$G=\frac{I_{BZ}-d}{k} \qquad \text{(V)}$$

Alle Potentiale beziehen sich auf die interne Referenzelektrode. Das Potential, das sich zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration eignet, liegt zwischen +200 und +1400 mV. Im Potentialbereich zwischen +770 und +1030 mV liegt das Konfidenzintervall (ohne Korrekturterm) bei 95%.

Die Fig. 1 zeigt einen beispielhaften Verlauf einer Kurve der zwischen den Messelektroden angelegten Spannung mit vier Potentialstufen P_1 bis P_4. Das größte anodische Potential – P_2 in Fig. 1 – ist typischerweise das Potential, welches sich zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration eignet. Das Potential P_1 entspricht dem Aktivierungspotential E_A für die Verringerung des Messpotentials E_M auf < 0,6 V (NHE). Dementsprechend

stellen P_3 und P_4 Potentialstufen dar, die sich zur Messung von zwei verschiedenen Störgrößen eignen.

Die vier Zeitspannen t^1_{mess} bis t^4_{mess} kennzeichnen die Zeiträume, während denen Messungen durchgeführt werden können: t^2_{mess} ist die Zeitspanne, während der die Messung (bzw. mehrere gepulste Messungen) im Bezug auf die Wasserstoffperoxidkonzentration durchgeführt werden kann; t^3_{mess} und t^4_{mess} sind die Zeitspannen, während denen jeweils die Messungen im Bezug auf die Störsubstanzen durchgeführt werden können. t^1_{mess} spielt bei iterativer Messung nur im ersten Zyklus eine Rolle. Hier dient es zur Überprüfung, ob der Teststreifen in Ordnung ist. In den darauffolgenden Zyklen wird bei P_1 keine Messung durchgeführt.

Die Messzeiträume liegen jeweils am Ende des Zeitraums, in dem eine Potentialstufe angelegt wird.

In Fig. 2 ist die der Spannungskurve aus Fig. 1 entsprechende Stromkurve dargestellt. In Fig. 2 ist gut zu erkennen, wie der Strom zwischen den Messelektroden erst gegen Ende eines jeden Zeitraums, in dem ein Potential angelegt wird, stabil wird. Diese Enden entsprechen den vier Messzeitspannen t^1_{mess} bis t^4_{mess}.

Für die Bestimmung der Glukosekonzentration werden die Messpotentiale und die entsprechenden Messungen vorzugsweise, wie oben bereits erwähnt, nicht nur ein Mal durchlaufen, sondern wiederholt. Wenn sich der so

bestimmte Blutzuckerwert *G* nicht mehr verändert, wird dieser Endwert am Display angezeigt.

Die Schaltung zur Aufprägung der erfindungsgemäßen Potentialstufen ist in Fig. 6 dargestellt. Das Potential der Messelektrode wird über den Kontakt **27** durch den Operationsverstärker (OP) **21** (Pin 5, 6, 7) auf einem konstanten Wert gehalten. Über einen Digital-Analog-Wandler (DAC; nicht dargestellt) werden bis zu zehn Potentialstufen unterschiedlicher Höhe und Länge erzeugt und dem Regler **22** (Pin 8, 9, 10) als Sollwert aufgeprägt. Der Regler **22** kompensiert elektrochemische Potentialabfälle im Blut während der Messung (IR-Kompensation). Das Potential zwischen der Messelektrode und der Referenzelektrode (mit der Messvorrichtung über Kontakt **25** verbunden) folgt daher dem Sollwert.

Der Strom der Elektroden fließt durch den Messwiderstand R_{Mess} (**27**) und erzeugt dort einen Spannungsabfall. Der Regler **23** (Pin 1, 2, 3) bringt als Spannungsfolger das Potential *VSINK* der Messelektrode an den Analog-Digital-Wandler (ADC; nicht dargestellt), der Regler **21** (Pin 5, 6, 7) die Spannung nach dem Messwiderstand **24** (U_{ADC}). Der Strom, der an den Elektroden durch die Nachweisreaktion erzeugt wird, ergibt sich nach folgender Formel:

$$I = \frac{U_{ADC} - VSINK}{R_{Mess}} \qquad \text{(VI)}$$

ANSPRÜCHE

1. Amperometrisches Messverfahren zur Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration in einer Flüssigkeitsprobe mit Hilfe von Elektroden, an die unterschiedliche Potentialstufen angelegt werden,

dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren folgende Schritte umfasst:

- Messung bei einem Potential, das zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, und
- Messung bei mindestens einem Potential, das zur Messung der Konzentration einer Substanz in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, die bei der Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration als Störsubstanz wirkt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei dem zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeigneten Potential sich der zwischen den Elektroden fließende Strom höchstens exponentiell mit der Wasserstoffperoxidkonzentration verändert.

3. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei dem zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeigneten Potential sich der zwischen den Elektroden fließende Strom im Wesentlichen linear mit der Wasserstoffperoxidkonzentration verändert.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei einem zur Messung der Konzentration einer Störsubstanz geeigneten Potential sich der zwischen den Elektroden fließende Strom höchstens exponentiell mit der Störsubstanzkonzentration verändert.

5. Verfahren nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei einem zur Messung der Konzentration einer Störsubstanz geeigneten Potential sich der zwischen den Elektroden fließende Strom im Wesentlichen linear mit der Störsubstanzkonzentration verändert.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass mit Hilfe des Ergebnisses einer Messung bei einem Potential, das zur Messung der Konzentration einer Störsubstanz geeignet ist, der Einfluss dieser Störsubstanz auf das Ergebnis der Messung bei dem Potential, das zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration in der Flüssigkeitsprobe geeignet ist, abgeschätzt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass zur Abschätzung des Einflusses der Störsubstanzen das Ergebnis der Messung bei dem zur Messung der Wasserstoffperoxidkonzentration geeigneten Potential mit den Ergebnissen der Messungen bei den zur Messung der Konzentration von Störsubstanzen geeigneten Potentialen, jeweils multipliziert mit einen zuvor empirisch ermittelten Gewichtungsfaktor, korrigiert wird.

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Messergebnis eine Stromstärke ist.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Messungen bei den verschiedenen Potentialen mehrfach durchgeführt werden.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass vor dem Messpotential ein Aktivierungspotential angelegt wird.

11. Verfahren nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Aktivierungspotential zwischen -200 und +700 mV liegt.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Aktivierungspotential bei 0 V liegt.

13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass maximal 10 unterschiedliche Potentiale angelegt werden.

14. Verfahren nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass genau vier unterschiedliche Potentiale angelegt werden.

15. Verfahren nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet,** dass die vier Potentiale in den Bereichen -1200 bis -800 mV, -600 bis 0 mV, -200 bis +700 mV und +200 bis +1400 mV liegen.

16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Flüssigkeitsprobe Blut, Schweiß, Urin oder Milch ist.

17. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Störsubstanzen Harnstoff, Aminosäuren, Ascorbinsäure oder Medikamente sind.

18. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Wasserstoffperoxid Endprodukt einer Enzymreaktion ist.

19. Verfahren nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet**, dass bei der Enzymreaktion mindestens eine Oxoreduktase verwendet wird.

20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19, **dadurch gekennzeichnet,** dass die verwendete Oxoreduktase Glukoseoxidas, Laktatoxidase, Cholesteroloxidas, Alkohodehydrogenase, Xanthinoxidase, Aminosäureoxidase, Ascorbinsäureoxidase, Acyl-CoA-oxidase, Uricase, Glutamatdehydrogenase oder Fruktosedehydrogenase ist.

21. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Elektroden Goldelektroden sind.

22. Messvorrichtung, die zwei oder mehr Elektroden aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 21 eingerichtet ist.

23. Messvorrichtung, die mit einem Messstreifen verbunden werden kann, der zwei oder mehr Elektroden aufweist, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 21 nach Verbindung mit dem Messstreifen eingerichtet ist.

24. Messvorrichtung nach Anspruch 22 oder 23, **dadurch gekennzeichnet**, dass die elektrochemischen Potentialabfälle in der Flüssigkeitsprobe über eine Regelschaltung kompensiert werden.

25. Messvorrichtung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Potential der Messelektrode durch eine Regelschaltung während der gesamten Messung auf einen konstanten Wert gehalten wird.

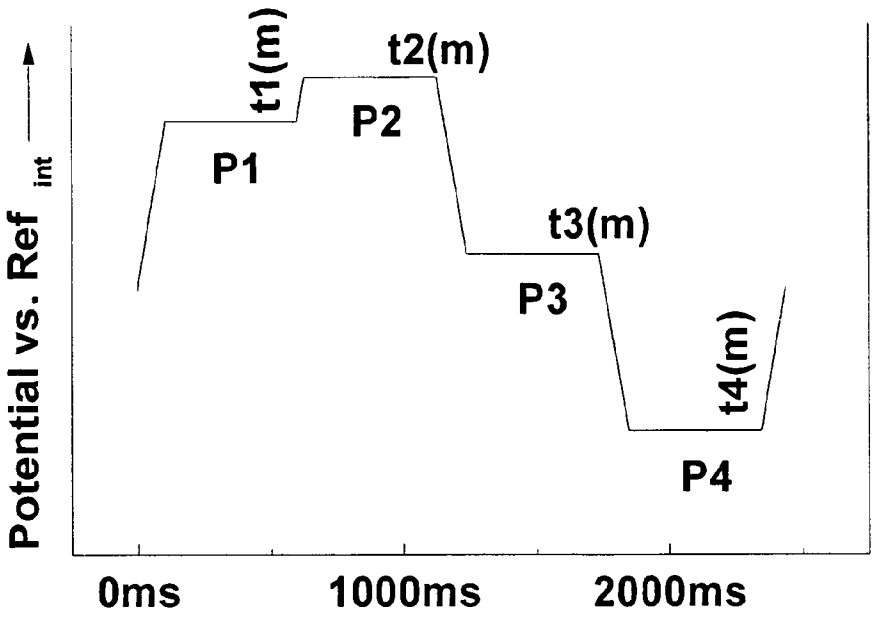

Potential vs. Ref int
t1(m)
t2(m)
P1
P2
t3(m)
P3
t4(m)
P4
0ms
1000ms
2000ms

Fig. 1

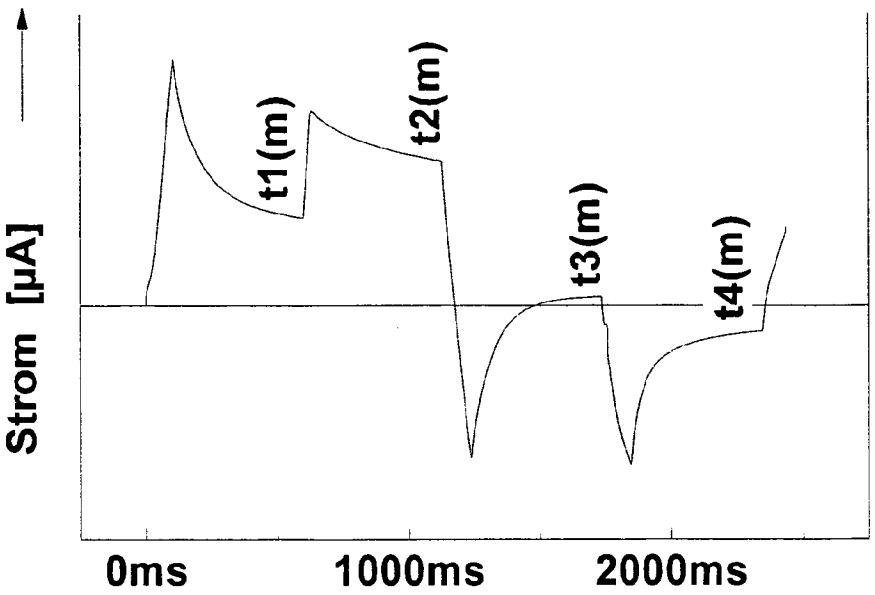

Strom [µA]
t1(m)
t2(m)
t3(m)
t4(m)
0ms
1000ms
2000ms

Fig. 2

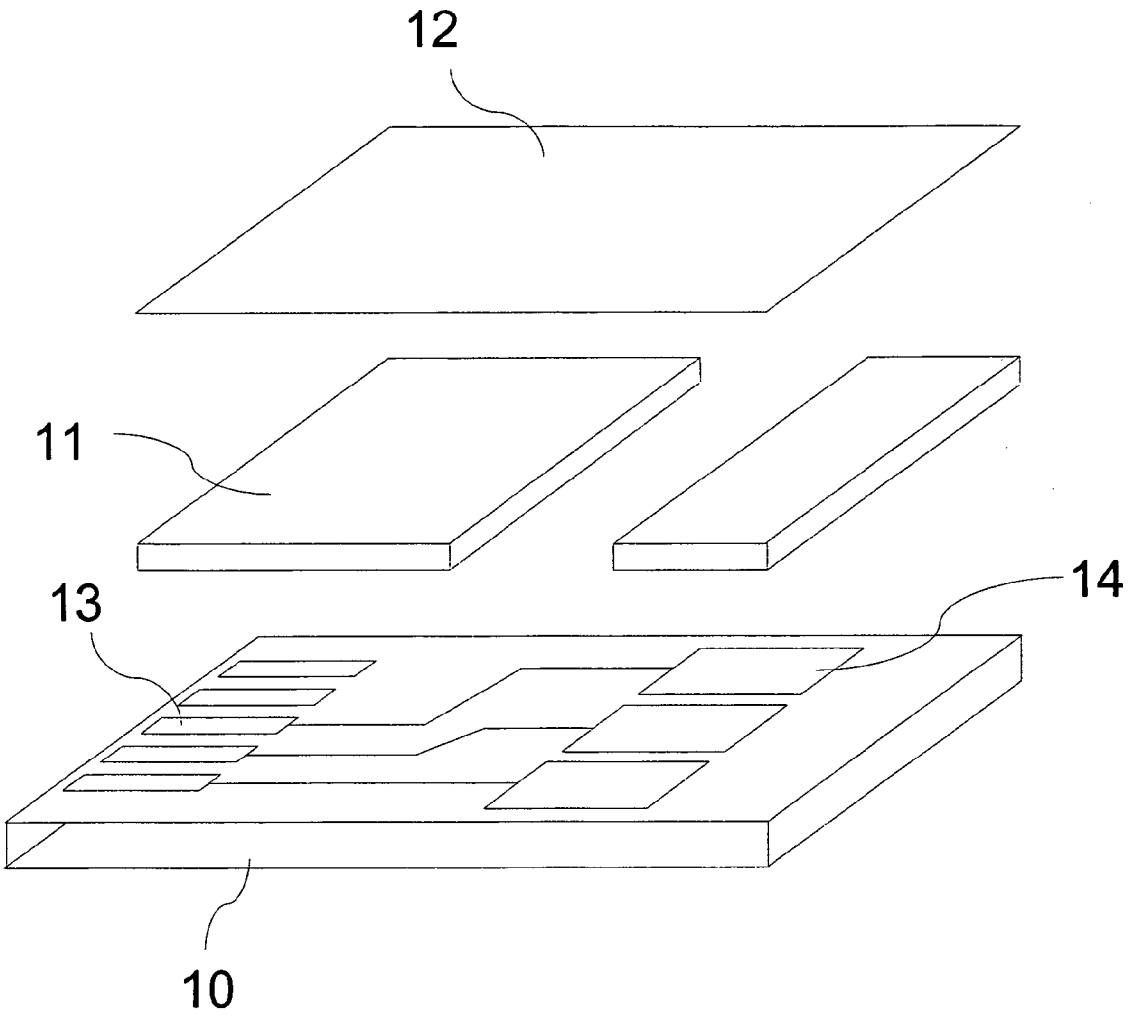


Fig. 3

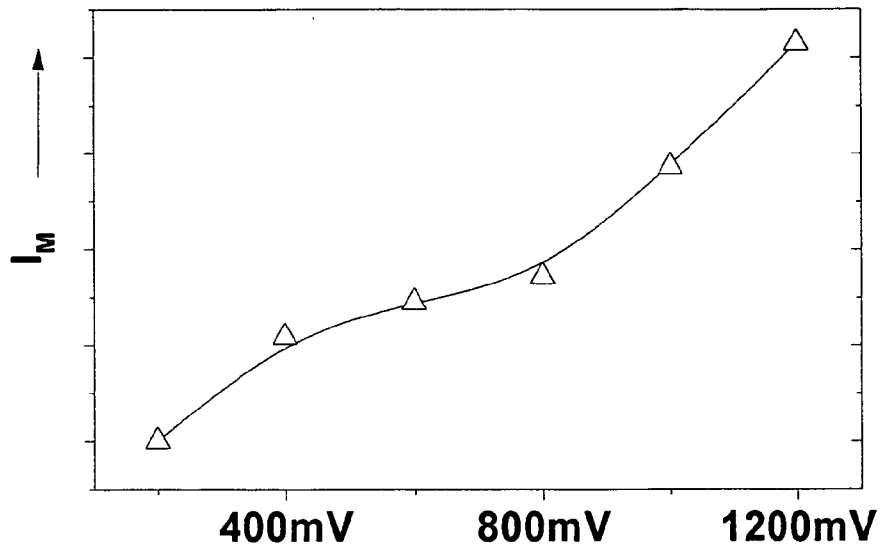


Fig. 4

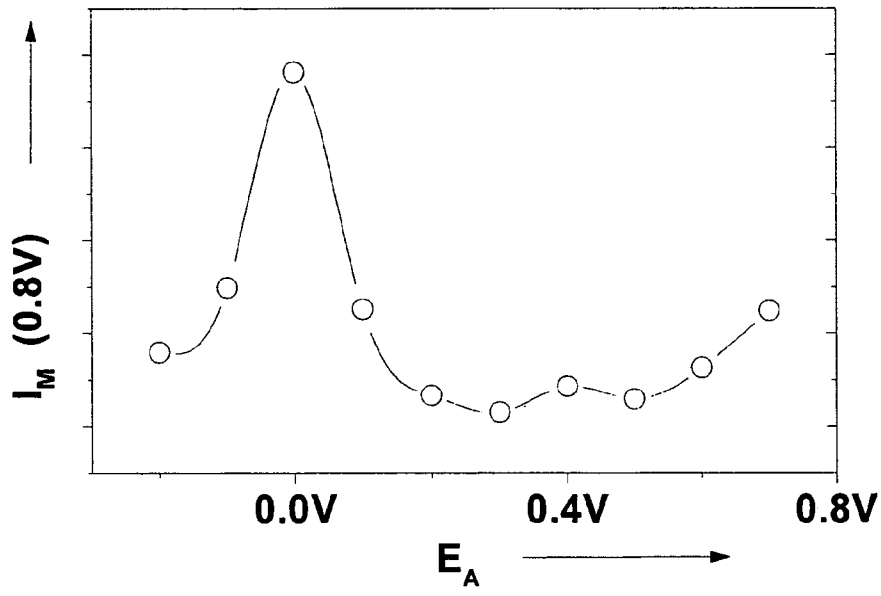


Fig. 5

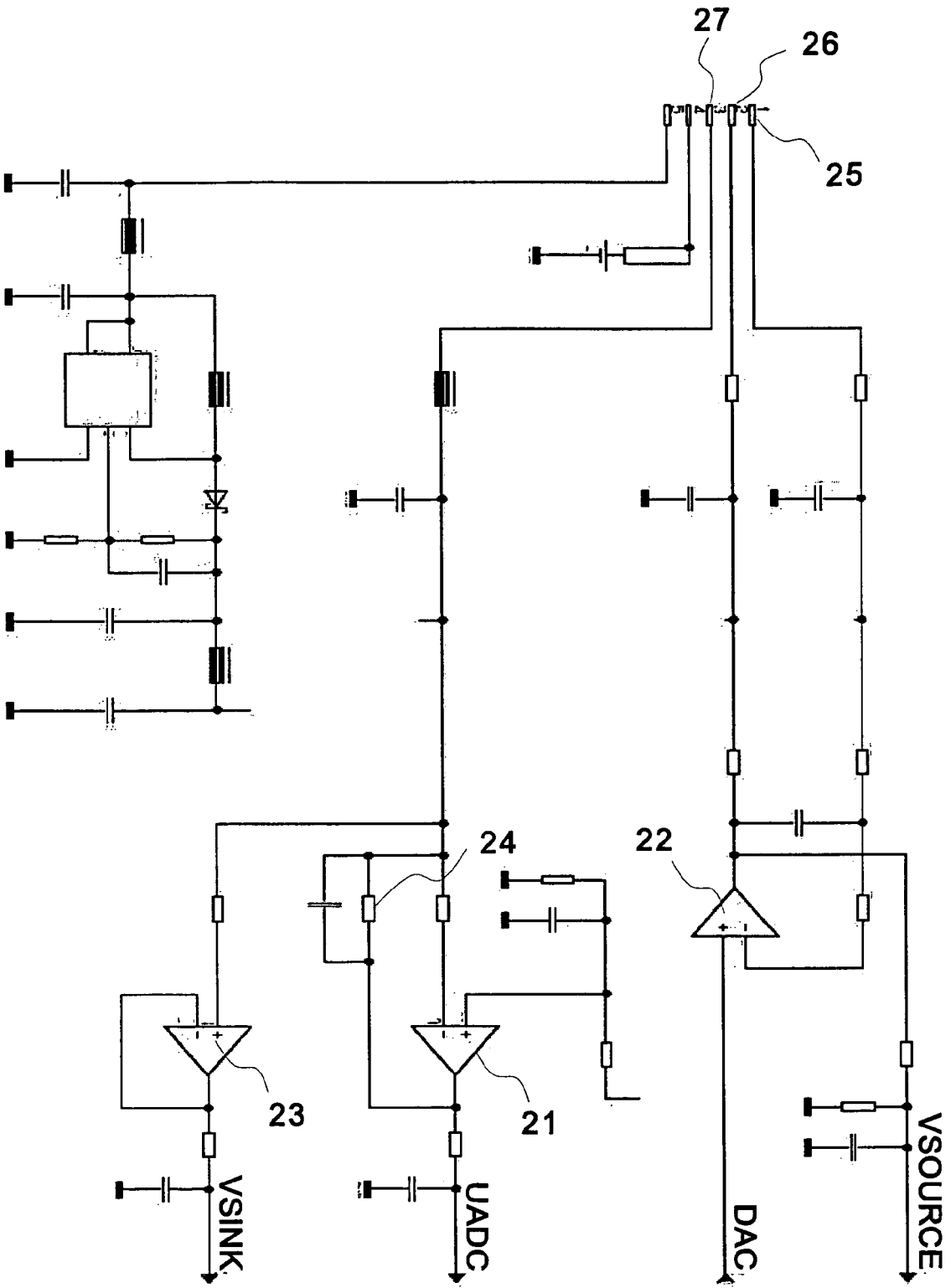


Fig. 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/008121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/00 G01N27/49 G01N33/487

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61B C12Q G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, SCISEARCH, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 07 103939 A (NIPPON ELECTRIC CO) 21 April 1995 (1995-04-21)	1-9, 16-22, 24,25
Y	abstract paragraph [0002] - paragraph [0012]; figures	10-15
Y	US 4 566 949 A (BERGER TERRY A [US]) 28 January 1986 (1986-01-28)	10-15
A	column 7, line 16 - column 8, line 50 column 13, line 1 - column 15, line 13 figures 1,7,9A-9C	1,21-25

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 Januar 2008	01/02/2008

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Johnson, Keith

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/008121

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 03 113360 A (TECHNOLOG KK) 14 May 1991 (1991-05-14) abstract; figures; example	1-12, 16-20, 22,24,25 13-15
X Y	JP 2006 105615 A (TOTO LTD) 20 April 2006 (2006-04-20) abstract paragraph [0029] - paragraph [0071]; figures	1-8, 16-25 13-15
X	WO 2005/057173 A (DEXCOM INC [US]; SIMPSON PETER C [US]; BRAUKER JAMES H [US]; CARR-BREN) 23 June 2005 (2005-06-23) page 2, line 9 - line 28 page 6, line 33 - page 11, line 34 figures	1-9, 16-20, 22-25
X	JP 63 081259 A (TAKEDA MEDICAL KK) 12 April 1988 (1988-04-12) abstract; figures	1-8, 16-20, 22,24,25
A	US 2005/183965 A1 (DAVIES OLIVER WILLIAM H [GB]) 25 August 2005 (2005-08-25) paragraph [0027] - paragraph [0055]; figures	1-8, 16-20, 22-25
A	GERLACHE M ET AL: "Pulsed electrochemical detection of H2O2 on gold" ELECTROCHIMICA ACTA, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 43, no. 23, 30 July 1998 (1998-07-30), pages 3467-3473, XP004130853 ISSN: 0013-4686 cited in the application page 3469, right-hand column, paragraph 2 - page 3471, left-hand column, paragraph 1 figures 3-5	1-8, 16-20, 22-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2007/008121

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 7103939 A	21-04-1995	NONE	
US 4566949 A	28-01-1986	NONE	
JP 3113360 A	14-05-1991	JP 2652890 B2	10-09-1997
JP 2006105615 A	20-04-2006	NONE	
WO 2005057173 A	23-06-2005	EP 1711802 A2 US 2005161346 A1	18-10-2006 28-07-2005
JP 63081259 A	12-04-1988	NONE	
US 2005183965 A1	25-08-2005	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/008121

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. C12Q1/00 G01N27/49 G01N33/487

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61B C12Q G01N

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, SCISEARCH, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	JP 07 103939 A (NIPPON ELECTRIC CO) 21. April 1995 (1995-04-21)	1-9, 16-22, 24,25
Y	Zusammenfassung Absatz [0002] - Absatz [0012]; Abbildungen	10-15
Y	US 4 566 949 A (BERGER TERRY A [US]) 28. Januar 1986 (1986-01-28)	10-15
A	Spalte 7, Zeile 16 - Spalte 8, Zeile 50 Spalte 13, Zeile 1 - Spalte 15, Zeile 13 Abbildungen 1,7,9A-9C	1,21-25

-/--

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen [X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
23. Januar 2008	01/02/2008

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Johnson, Keith

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X Y	JP 03 113360 A (TECHNOLOG KK) 14. Mai 1991 (1991-05-14) Zusammenfassung; Abbildungen; Beispiel	1-12, 16-20, 22,24,25 13-15
X Y	JP 2006 105615 A (TOTO LTD) 20. April 2006 (2006-04-20) Zusammenfassung Absatz [0029] - Absatz [0071]; Abbildungen	1-8, 16-25 13-15
X	WO 2005/057173 A (DEXCOM INC [US]; SIMPSON PETER C [US]; BRAUKER JAMES H [US]; CARR-BREN) 23. Juni 2005 (2005-06-23) Seite 2, Zeile 9 - Zeile 28 Seite 6, Zeile 33 - Seite 11, Zeile 34 Abbildungen	1-9, 16-20, 22-25
X	JP 63 081259 A (TAKEDA MEDICAL KK) 12. April 1988 (1988-04-12) Zusammenfassung; Abbildungen	1-8, 16-20, 22,24,25
A	US 2005/183965 A1 (DAVIES OLIVER WILLIAM H [GB]) 25. August 2005 (2005-08-25) Absatz [0027] - Absatz [0055]; Abbildungen	1-8, 16-20, 22-25
A	GERLACHE M ET AL: "Pulsed electrochemical detection of H2O2 on gold" ELECTROCHIMICA ACTA, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 43, Nr. 23, 30. Juli 1998 (1998-07-30), Seiten 3467-3473, XP004130853 ISSN: 0013-4686 in der Anmeldung erwähnt Seite 3469, rechte Spalte, Absatz 2 - Seite 3471, linke Spalte, Absatz 1 Abbildungen 3-5	1-8, 16-20, 22-25

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/008121

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
JP 7103939 A	21-04-1995	KEINE	
US 4566949 A	28-01-1986	KEINE	
JP 3113360 A	14-05-1991	JP 2652890 B2	10-09-1997
JP 2006105615 A	20-04-2006	KEINE	
WO 2005057173 A	23-06-2005	EP 1711802 A2 US 2005161346 A1	18-10-2006 28-07-2005
JP 63081259 A	12-04-1988	KEINE	
US 2005183965 A1	25-08-2005	KEINE	