

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4740546号
(P4740546)

(45) 発行日 平成23年8月3日 (2011.8.3)

(24) 登録日 平成23年5月13日 (2011.5.13)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 27/416 (2006.01)

GO 1 N 27/327 (2006.01)

GO 1 N 27/46 3 3 8

GO 1 N 27/46 T

GO 1 N 27/30 3 5 3 Z

GO 1 N 27/30 3 5 3 R

GO 1 N 27/46 3 3 6 B

請求項の数 23 外国語出願 (全 16 頁)

(21) 出願番号 特願2004-33125 (P2004-33125)
 (22) 出願日 平成16年2月10日 (2004.2.10)
 (65) 公開番号 特開2004-245836 (P2004-245836A)
 (43) 公開日 平成16年9月2日 (2004.9.2)
 審査請求日 平成19年2月5日 (2007.2.5)
 (31) 優先権主張番号 60/446, 223
 (32) 優先日 平成15年2月11日 (2003.2.11)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 503085274
 バイエル・ヘルスケア・エルエルシー
 Bayer Healthcare, LLC
 アメリカ合衆国、ニューヨーク 1059
 1、タリータウン、ホワイト・ブレインズ
 ・ロード 555
 (74) 代理人 100078662
 弁理士 津国 肇
 (74) 代理人 100075225
 弁理士 篠田 文雄
 (72) 発明者 インピン・デン
 アメリカ合衆国、インディアナ 4603
 8、フィッシャーズ、ラグスデイル・プレ
 イス 11107

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法であって、

流体試料中の分析対象物を計測するように適合された、対電極及び作用電極を有する電気化学的センサを用意するステップと、

電気化学的センサの対電極及び作用電極に流体試料を接触させるステップと、

電位を対電極と作用電極との間で所定期間印加するステップと、

最高電流及び最高電流が計測された時間を測定するために、対電極と作用電極との間の電流を所定期間中の複数のインターバルで計測するステップと、

流体試料中の分析対象物の濃度を測定するために、対電極と作用電極との間の、「バーンオフ」期間又は「読み取り」期間に計測された少なくとも一つの他の計測した電流を計測するステップと、

最高電流、最高電流が計測された時間及び「バーンオフ」期間又は「読み取り」期間に計測された少なくとも一つの他の計測した電流を使用して指数を計算するステップと、

指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、指数が所定のしきい値を超えるときを識別するステップと、

指数と所定のパラメータの少なくとも一つの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示するステップと、

を含む方法。

【請求項 2】

10

20

分析対象物がグルコースであり、流体試料が全血試料である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

電流測定モニタリングシステムを使用して全血試料のグルコース濃度を測定する、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

電気化学的センサが、流体試料のための流路を提供するベースを含み、その表面に、電流検出器と電氣的に連通した対電極及び作用電極を有し、少なくとも作用電極の表面に、流体試料中の分析対象物と反応する酵素を含む反応層を有し、ベースと嵌合して、対電極及び作用電極が中に位置する、流体試料を収容するための空間を形成するように適合されたふたを有する、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 5】

反応層の酵素が親水性ポリマーと組み合わされている、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項 4 記載の方法。

【請求項 7】

電気化学的センサが、酵素及び酵素中の媒介物を含み、媒介物がフェリシアン化塩であり、分析対象物と酵素との反応に応答して還元される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

所定期間が 2 ~ 30 秒である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

所定期間が 5 ~ 15 秒である、請求項 8 記載の方法。

20

【請求項 10】

所定期間中、0.1 ~ 3 秒の規則的なインターバルで電流を計測する、請求項 8 記載の方法。

【請求項 11】

0.2 ~ 0.5 秒の規則的なインターバルで電流を計測する、請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

式： $I = (I_{rt} / I_{bmax}) * T_{bmax}$

(式中、

I_{rt} = 少なくとも一つの他の計測した電流であり、

I_{bmax} = 所定期間中に計測した最高電流であり、

T_{bmax} = 所定期間中に最高電流が計測された時間である)

を解くことによって指数 (I) を計算する、請求項 1 記載の方法。

30

【請求項 13】

少なくとも一つの他の計測した電流を計測するステップの後に、測定した分析対象物濃度を k 係数及び読み取り - パーン比の少なくとも一方と比較して、充填不足状態が存在するかどうかの決定を支援するステップをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 14】

指数が少なくとも一つの所定のパラメータの範囲に入らないときエラー信号を表示する、請求項 1 記載の方法。

40

【請求項 15】

流体試料中の分析対象物の濃度を、少なくとも一つの他の電流の関数として測定する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 16】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法が使い捨てセルフテストシステムで起こる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 17】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法が臨床分析装置で起こる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 18】

50

流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法であって、
 流体試料中の分析対象物を計測するように適合された、対電極及び作用電極を有する電気化学的センサを用意するステップと、
 電気化学的センサの対電極及び作用電極に流体試料を接触させるステップと、
 電位を対電極と作用電極との間で第一の所定期間印加するステップと、
 最高電流及び最高電流が計測された時間を測定するために、対電極と作用電極との間の電流を所定期間中の複数の時間で計測するステップと、
 流体試料中の分析対象物の濃度を測定するために、対電極と作用電極との間の、「バーンオフ」期間又は「読み取り」期間に計測された少なくとも一つの他の計測した電流を計測するステップと、

10

$$\text{式： } I = (I_{rt} / I_{bmax}) * T_{bmax}$$

(式中、

I_{rt} = 少なくとも一つの他の計測した電流であり、

I_{bmax} = 所定期間中に計測した最高電流であり、

T_{bmax} = 所定期間中に計測した最高電流が計測された時間である)

を解くことによって指数 (I) を計算するステップと、

指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、指数が所定のしきい値を超えるときを識別するステップと、

指数と所定のパラメータの少なくとも一つとの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示するステップと、
 を含む方法。

20

【請求項 19】

分析対象物がグルコースであり、流体試料が全血試料である、請求項 18 記載の方法。

【請求項 20】

少なくとも一つの他の計測した電流を計測するステップの後に、測定した分析対象物濃度を k 係数及び読み取り - バーン比の少なくとも一方と比較して、充填不足状態が存在するかどうかの決定を支援するステップをさらに含む、請求項 18 記載の方法。

【請求項 21】

I_{rt} が電流の最後の計測値である、請求項 18 記載の方法。

【請求項 22】

少なくとも一つの他の計測した電流を計測する前に、電位を除去する又は実質的に減少させる、請求項 1 記載の方法。

30

【請求項 23】

少なくとも一つの他の計測した電流を計測する前に、第 2 の電位を印加する、請求項 18 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、バイオセンサを使用する方法に関し、より具体的には、不完全に充填された電気化学的センサによって生じる、流体試料中の分析対象物濃度の測定における偏りを検出する方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

体液中の分析対象物の定量測定は、特定の生理的異常の診断及び管理において多大に重要である。たとえば、特定の個人では、乳酸、コレステロール及びビリルビンをモニタすべきである。特に、体液中のグルコースの測定は、食事におけるグルコース摂取を規制するために体液中のグルコースレベルを頻繁にチェックしなければならない糖尿病患者にとって重要である。本明細書の開示の残りの部分はグルコースの測定に関するが、本発明の方法は、適切な酵素の選択により、他の分析対象物の測定にも使用することができるということが理解されよう。

50

【 0 0 0 3 】

過去、バイオセンサ（たとえば生化学的センサ）を使用して流体試料中の特定成分（分析対象物）の量を測定する種々の方法が実現されている。これらのバイオセンサのいくつかの例は、電気化学的センサを含め、米国特許第 5 , 1 2 0 , 4 2 0 号、第 5 , 2 6 4 , 1 0 3 号及び第 5 , 6 2 0 , 5 7 9 号ならびに米国特許公開公報第 2 0 0 1 0 0 4 2 6 8 3 号に開示されている。

【 0 0 0 4 】

電気化学的センサを使用する既存の方法の欠点のいくつかは、不十分な量の流体試料しか存在しないときに起こることがある。これらの欠点は、電気化学的センサの対電極及び作用電極が流体試料で完全には覆われず、電極間を流れる電流が不完全になったときに生じる。電気化学的センサによって検出される分析対象物（たとえばグルコース）の量は検出計を流れる電流に正比例するため、電気化学的センサの電極を完全に覆うことができないと、血液試料の分析対象物（たとえばグルコース）濃度に偏りが生じるおそれがある。

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

不十分な量の流体試料しかないときを検出し、そのような状態をエラーとしてユーザに報告する方法を提供することが望ましいであろう。また、電気化学的センサの薬品を完全に再水和させるには試料が不十分であるので、異常な再水和過程を示す電気化学的センサを検出する方法を提供することが望ましいであろう。電気化学的センサの電極が十分に覆われているときでさえ、不十分な量の流体試料が存在することを決定する方法を提供することが望ましいであろう。また、たとえば不完全に充填されたセンサ中の溶液の動き又は異常な再水和速度によって生じるように、分析対象物濃度の偏りが所定のしきい値を超えるならば、そのような状態をエラーとしてユーザに報告することが望ましいであろう。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定する一つの方法によると、流体試料中の分析対象物を計測するように適合された電気化学的センサを用意する。この電気化学的センサは、対電極及び作用電極を有する。電気化学的センサの対電極及び作用電極を流体試料によって十分に覆う。第一の電位を対電極と作用電極との間で第一の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第一の所定期間中の複数の時間で計測する。第一の所定期間中の計測の時間を記録する。対電極と作用電極との間の第一の電位を第二の所定期間除去する又は実質的に減少させる。第二の電位を対電極と作用電極との間で第三の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第三の所定期間中に少なくとも一度計測する。

【 0 0 0 7 】

流体試料中の分析対象物の濃度を、計測した電流の関数として測定する。第一の所定期間の計測した電流及び記録した時間、ならびに第三の所定期間の計測した電流の少なくとも二つを使用して指数を計算する。その指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、偏りがある場合にそれが所定のしきい値を超えるときを識別する。指数と所定のパラメータの少なくとも一つとの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示する。

【 0 0 0 8 】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定するもう一つの方法によると、流体試料中の分析対象物を計測するように適合された電気化学的センサを用意する。電気化学的センサは、対電極及び作用電極を有する。電気化学的センサの対電極及び作用電極を流体試料によって十分に覆う。第一の電位を対電極と作用電極との間で第一の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第一の所定期間中の複数の時間で計測する。第一の所定期間中の計測の時間を記録する。対電極と作用電極との間の第一の電位を第二の所定期間除去する又は実質的に減少させる。第二の電位を対電極と作用電極との間で第三の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第三の所定期間中に少なくとも一度計測する。

【 0 0 0 9 】

流体試料中の分析対象物の濃度を、計測した電流の関数として測定する。式

$$I = (I_{rt} / I_{bmax}) * T_{bmax}$$

(式中、

I_{rt} = 第三の所定期間中の電流の最後の計測値であり、

I_{bmax} = 第一の所定期間中に計測された最高電流であり、

T_{bmax} = 第一の所定期間中に最高電流が計測された時間である)

を解くことによって指数 (I) を計算する。

【 0 0 1 0 】

この指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、偏りがある場合にそれが所定のしきい値を超えるときを識別する。指数と所定のパラメータの少なくとも一つとの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示する。

10

【 0 0 1 1 】

流体試料中の分析対象物の濃度を測定するさらなる方法によると、流体試料中の分析対象物を計測するように適合された電気化学的センサを用意する。この電気化学的センサは、対電極及び作用電極を有する。電気化学的センサの対電極及び作用電極を流体試料によって十分に覆う。第一の電位を対電極と作用電極との間で第一の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第一の所定期間中の複数の時間で計測する。第一の所定期間中の計測の時間を記録する。対電極と作用電極との間の第一の電位を第二の所定期間除去する又は実質的に減少させる。第二の電位を対電極と作用電極との間で第三の所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を第三の所定期間中に少なくとも一度計測する。

20

【 0 0 1 2 】

流体試料中の分析対象物の濃度を、計測した電流の関数として測定する。第一の所定期間の計測した電流及び記録した時間、ならびに第三の所定期間の計測した電流を使用して指数を計算する。その指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、偏りがある場合にそれが所定のしきい値を超えるときを識別する。指数と所定のパラメータの少なくとも一つとの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示する。

【 0 0 1 3 】

30

流体試料中の分析対象物の濃度を測定するさらに別の方法によると、流体試料中の分析対象物を計測するように適合された電気化学的センサを用意する。この電気化学的センサは、対電極及び作用電極を有する。電気化学的センサの対電極及び作用電極を流体試料によって十分に覆う。電位を対電極と作用電極との間で所定期間印加する。対電極と作用電極との間の電流を所定期間中の複数の時間で計測する。所定期間中の計測の時間を記録する。流体試料中の分析対象物の濃度を、計測した電流の関数として測定する。所定期間の選択された計測した電流及び記録した時間を使用して指数を計算する。その指数を、流体試料中の測定した分析対象物濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、偏りがある場合にそれが所定のしきい値を超えるときを識別する。指数と所定のパラメータの少なくとも一つとの比較に依存して、エラー信号又は分析対象物濃度を表示する。

40

【 0 0 1 4 】

本発明は、種々の変形及び代替形態を受けることができるが、その具体的な実施態様を図面で一例として示し、本明細書で詳細に説明する。しかし、本発明を、開示される特定の形態に限定する意図はなく、それどころか、特許請求の範囲によって定められる発明の本質及び範囲に当てはまるすべての変形、均等及び代替を包含することを意図するということが理解されるべきである。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 5 】

本発明は、バイオセンサを使用する方法に関し、より具体的には、不完全に充填された

50

バイオセンサ（すなわち、充填不足状態）によって生じる、分析対象物の濃度の測定における偏りを検出する方法に関する。たとえば不完全に充填されたバイオセンサ内での試料の動きによって生じる偏りの強い分析対象物結果を検出することにより、バイオセンサの性能を改善することができる。他の異常状態は、センサの薬品を完全に溶解させるには不十分な試料を含む。そのような結果を充填不足エラーとしてユーザに報告することにより、バイオセンサの性能が改善される。充填不足のセンサの電極の一方が流体試料と接触しなくなったとき発生する充填不足エラーを検出し、報告することができることが望ましい。このような状態の例は、流体試料が作用電極と対電極とを接触させるのには十分であるが、毛管を完全に満たすのには不十分である（たとえば約 3 . 5 μ l）場合である。血液が毛管中を上昇するとき、メニスカス及び毛管作用の断絶によってセンサが全血試料から引き離されると、偏りが発生することがあり得る。最終的なグルコース読み値に対する偏りの大きさは、センサ毛管中の血液の容量%とセンサが試料液滴から引き離されている時間とに依存する。

10

【0016】

先に論じたように、試験される分析対象物は、全血試料中のグルコースであることができる。流体試料（たとえば全血試料）の分析対象物（たとえばグルコース）濃度は、電流測定モニタリングシステムを使用して測定することができる。

【0017】

電気化学的センサ

全血試料中のグルコース濃度を測定するために、一つの実施態様の電気化学的センサが用意される。電気化学的センサは、信頼しうる再現精度の高い計測を提供することが重要である。一つの実施態様によると、本発明における電気化学的センサは、全体を引用例として本明細書に取り込む、2001年11月22日に20010042683として公開された「Electrochemical-Sensor Design」と題する米国特許出願に記載されているものであってもよい。

20

【0018】

20010042683として公開された米国特許出願に記載されている電気化学的センサの例が図1に示されている。図1を参照すると、センサ34は、絶縁ベース36の上に電気導体パターン38、電極パターン（部分39及び40）、絶縁（誘電）パターン42及び反応層44を順に通常はスクリーンプリント技法によってプリントしたものを含む。電気化学的センサのベースは、流体試料のための流路を提供する。センサベースは、ベース上のすべての要素を同じ面で示す図2に示されている。

30

【0019】

反応層44の機能は、流体試料中のグルコース又は別の分析対象物を化学量論的に化学種に転換することである。この化学種は、電極パターンの成分により、それが発生させる電流によって電気化学的に計測可能である。反応層44は一般に、バイオセンシング又は試薬物質、たとえば酵素及び電子受容体を含む。より具体的には、反応層44は、分析対象物と反応して可動性電子を電極パターン上に生成する酵素と、可動性電子を作用電極の表面に運ぶための電子受容体（たとえばフェリシアン化塩）とを含む。電子受容体は、分析対象物と酵素との反応に応答して還元される媒介物ということもできる。反応層中の酵素は、親水性ポリマー、たとえばポリエチレンオキシドと組み合わせることができる。グルコースと反応させるために使用することができる酵素はグルコースオキシダーゼである。他の酵素、たとえばグルコースデヒドロゲナーゼを使用することも考えられる。

40

【0020】

電極パターンの二つの部分39、40が、分析対象物を電気化学的に測定するために必要な作用電極及び対電極のそれぞれを提供する。作用電極は通常、分析対象物と反応する酵素を含む。作用電極及び対電極は、対電極の大部分が作用電極の露出部分39aから下流（流路に沿って流体が流れる方向を基準にして）に位置するように構成することができる。この構成は、検出されない部分的な充填が起こったすべての場合に試験流体試料が作

50

用電極の露出部分を完全に覆うことを可能にする。

【0021】

しかし、対電極サブエレメント40aが作用電極上寄り要素39aから上流に配置されて、作用電極を完全に覆うのには不十分な量の試験流体試料（たとえば全血試料）が毛管空間に入ると、全血試料の導電性により、対電極サブエレメント40aと作用電極の露出部分39aとの間に電氣的接続が形成されるようになっている。しかし、全血試料との接触に利用しうる対電極の区域は非常に小さいため、ごく弱い電流しか電極間、ひいては電流検出器を通過することができない。受信した信号が所定のレベルに満たないときにはエラー信号を出すように電流検出器をプログラムすることにより、センサ装置が、不十分な血液しかセンサのキャピティに入っておらず、もう一度試験を実施すべきであることを使用者に知らせる。電極の具体的な寸法は重要ではないが、対電極サブエレメント40aの面積は通常、作用電極の面積の約10%未満、より具体的には約6%未満である。この要素は、スクリーンプリント法の制約を考慮して、可能な限り小さく製造されるべきである。

10

【0022】

また、反応層44を対電極サブエレメント40aと接触させないことも考えられる。これは、対電極サブエレメント40bの上には試薬インクをプリントしないスクリーンを製造することによって達成される。これは、サブエレメントから試薬を枯渇させ、それにより、サブエレメントが真の対電極として機能することを許さず、試験流体試料が対電極40の大部分と接触することができない場合にエラー条件が達成されるようにする目的に役立つ。サブエレメント40aは、対電極40に物理的に接続し、ひいてはその一部であるように示されているが、そのような物理的接続は重要ではない。このようなサブエレメントは、それ自体のコネクタを備え、センサが検出器への第三の接点を備える限り、対電極の残り部分から物理的に切り離されてもよい。

20

【0023】

作用電極及び対電極は電極インクを含む。一般に厚さ約14 μm (0.00055インチ)である電極インクは通常、電気化学的に活性な炭素を含有する。導体インクの成分は、電極と、センサの尾ビレ状端部45の導電パターンへの接触を介して動作的に電極が接続される計器との間に低化学抵抗路を設けるように選択される、炭素と銀との混合物であることができる。対電極は銀/塩化銀で構成されることができるが、炭素が好ましい。計器読みの再現精度を高めるため、誘電パターンが、電極パターン43の中央に近い画定区域を除き、電極を流体試料から絶縁する。計測される電流は、分析対象物濃度と、分析対象物含有試料にさらされる反応層の面積とに依存するため、画定区域はこのタイプの電気化学的測定で重要である。

30

【0024】

典型的な誘電層42は、厚さ約10 μm (0.0004インチ)であるUV硬化アクリレート改質ポリメタンを含む。ふた又はカバー46がベースと嵌合して、対電極及び作用電極が中に位置する、流体試料を収容するための空間を形成するように適合されている。ふた46は、凹空間48を提供し、通常、変形性材料の平坦なシート材をエンボス加工することによって形成される。ふた48は、通気口50を設けるために穿孔され、シール処理でベース36に接合される。ふたとベースとは、ベース36とふた46とをまず位置合せし、次いで振動加熱シール部材又はホーンと固定ジョーとの間で押し合わせる音波溶接によってシールすることができる。ホーンは、ふたの平坦な非エンボス加工領域とでのみ接触するような形状である。水晶又は他の振動子からの超音波エネルギーを使用して金属ホーンの振動を励振する。この機械的エネルギーをポリマー接合部で熱として放散させて、熱可塑性材料の接着を可能にする。エンボス加工されたふたとベースとは、ふたの下面に接着剤を使用することによって接合することもできる。ふたとベースとを接合する方法は、全体を引用例として本明細書に取り込む米国特許第5,798,031号に詳細に記載されている。

40

【0025】

50

絶縁ベース 36 に適した材料は、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレート、寸法安定性のビニル及びアクリルポリマーならびにポリマーブレンド、たとえばポリカーボネート/ポリエチレンテレフタレートならびに金属箔構造（たとえばナイロン/アルミニウム/ポリ塩化ビニル積層体）を含む。ふたは通常、変形性ポリマーシート材料、たとえばポリカーボネート又はエンボス加工可能な等級のポリエチレンテレフタレート、グリコール改質ポリエチレンテレフタレート又は金属箔組成物（たとえばアルミニウム箔構造）から製造される。誘電層は、UV 光硬化性もしくは湿分硬化性であるアクリレート改質ポリウレタン又は熱硬化性であるビニルポリマーから製造することができる。

【0026】

他の電気化学的センサを本発明に使用することも考えられる。グルコース濃度を計測するために使用することができる電気化学的センサの例は、Bayer社のGlucometer DEX（登録商標）及びELITE（登録商標）システムで使用されているものである。このような電気化学的センサに関する詳細は、いずれも全体を引用例として本明細書に取り込む米国特許第5,120,420号及び第5,320,732号に見ることができる。電気化学的センサの1種以上は、松下電器産業株式会社から購入することができる。もう一つの電気化学的センサが、全体を引用例として本明細書に取り込む米国特許第5,798,031号に開示されている。電流測定モニタリングシステムで使用することができる電気化学的センサのさらなる例が米国特許第5,429,735号に開示されている。他のバイオセンサを本発明に使用することも考えられる。

【0027】

電気化学的センサは、複数のセンサ又は試験要素を含むセンサパックの中に装填されるように適合されている血中グルコースセンサ分与機器中に配置することができる。各センサは、センサパックから排出されるように適合されている。センサ分与機器に装填されるセンサパックの一例が米国特許第5,660,791号に開示されている。電気化学的センサを他の装置、たとえばボトルに格納することも考えられる。

【0028】

本発明の方法

本発明の流体試料中の分析対象物の濃度を測定する方法は、上記電気化学的センサの1個（たとえばセンサ34）の使用を含むことができる。電気化学的センサは、対電極及び作用電極を含む。図1及び2に関連して記載したもの以外の電気化学的センサを使用することも考えられる。

【0029】

図3を参照すると、ステップ110で、対電極と作用電極との間に第一の電位を印可する。ステップ120で、分析対象物を含む流体試料を加えて電気化学的センサと接触させる。第一の電位を対電極と作用電極との間に第一の所定期間印加する。第一の電位は、一般的には約100～約600mV、より典型的には約300～約500mVである。

【0030】

ステップ130で、第一の所定期間中、対電極と作用電極との間の電流を複数のインターバルで計測し、計測の時間を記録する。第一の所定期間は、一般的には約2～約30秒、より典型的には約5～約15秒である。第一の所定期間中の電流は、期間が異なることができる規則的なインターバルで計測することができる。たとえば、第一の所定期間中の電流は、一般的には約0.1～約3秒、より典型的には約0.2～約0.5秒の規則的なインターバルで計測される。電流の計測の間、そのような計測の時間を記録する。第一の所定期間を「バーンオフ」期間と呼ぶ。

【0031】

ステップ140で、対電極と作用電極との間の第一の電位を第二の所定期間除去する又は実質的に減らす。第二の所定期間は、一般的には約2～約20秒、より典型的には約5～約15秒である。第二の所定期間を「待機」又は「インキュベーション」期間と呼ぶ。

【0032】

ステップ150で、第二の電位を対電極と作用電極との間に第三の所定期間印加する。

第二の電位は、一般的には約 1 0 0 ~ 約 6 0 0 mV、より典型的には約 3 0 0 ~ 約 5 0 0 mV である。ステップ 1 6 0 で、対電極と作用電極との間の電流を第三の所定期間計測する。第三の所定期間は、一般的には約 2 ~ 約 3 0 秒、より典型的には約 5 ~ 約 1 5 秒である。第三の所定期間中の電流は、期間が異なることができる規則的なインターバルで計測することができる。たとえば、電流は、一般的には約 0 . 1 ~ 約 3 秒、より典型的には約 0 . 2 ~ 約 0 . 5 秒の規則的なインターバルで計測される。第三の所定期間を「読み取り」期間と呼ぶ。別の方法によると、第二及び第三の所定期間を除いてもよい。

【 0 0 3 3 】

一つの方法によると、ステップ 1 7 0 で、第三の所定期間中に計測された電流の関数として流体試料中の分析対象物濃度を測定する。しかし、第一の期間中に計測された電流の関数として分析対象物濃度を測定することも考えられる。

10

【 0 0 3 4 】

電気化学的センサの電極が流体試料によって十分に覆われていないとき充填不足状態が存在するかどうかの決定を支援するため、分析対象物濃度を少なくとも一つの係数、たとえば k 係数及び ν 又は読み取り - バーン比と比較することもできる。電気化学的センサは、充填不足状態の場合には、結果が、中立的な応答、すなわち検出器が信号を出すことができないこととは反対に、肯定的になるように構成されている。したがって、たとえば、毛管空間に入る流体試料の量が対電極サブエレメント 4 0 a 又は 4 0 b 及び対電極 4 0 の主要部分から上流に位置する作用電極の部分 3 9 a を覆うのには十分であるとき、検出器は電流を感知するが、その電流は、作用電極及び対電極が流体試料で完全又は十分に覆われている場合よりも弱くなる。検出器は、充填不足状態が発生したときエラー信号をユーザに表示するため、読み取り手段と接続されてもよい。

20

【 0 0 3 5 】

エラー状態が発生したかどうかを決定するために絶対電流レベルとともに使用される特定の電流特性を時系列的に感知するための手段が設けられる。これは、試験流体が対電極のサブエレメントを作用電極と電気的に接続した後の一定期間の電流を計測することによって、充填不足状態を検出するよう計器をアルゴリズム的にプログラムすることによって達成される。二つの計測に関する電流の比を使用して、センサに正しく充填されたかどうかを決定する。たとえば、駆動電位を回路に印加した 5 秒後及び 1 0 秒後に電流を計測し、これら二つの電流を比に変換する。この比及び 1 0 秒での電流読み値を使用して、センサの毛管空間が正しく充填されたかどうかを決定する。

30

【 0 0 3 6 】

試料計算は次のとおりである。一つの方法にしたがって 3 回の電流計測を、試験シーケンス中：(a) 駆動電位が第一の所定期間印加された「バーンオフ」期間として知られる初期期間（たとえば I_{b10} と記す 1 0 秒）の最後、(b) 第三の所定期間インターバル又は「読み取り」期間、たとえば 5 秒（ I_{r5} ）の間に電位が印加され、計測されるとき、及び (c) I_{r10} と記す「読み取り」期間として知られる第三の所定期間（たとえば 1 0 秒）の最後で実施する。期間が上記の例示的な期間とは異なることも考えられる。これら三つの電流計測から二つのパラメータを決定することができる。これら二つのパラメータの少なくとも一つを使用して、センサの毛管空間が正しく充填されたかどうかを決定する。第一のパラメータは、電流時間経過の形状を記述する減衰係数 k である。第二のパラメータは、読み取り段階中の電流レベルの減衰速度を特徴づける比率である。減衰係数 k は以下のように定義される。

40

$$k = \ln(I_{r5}) - \ln(I_{r10}) / (\ln(10) - \ln(5)) \quad \text{式 A}$$

【 0 0 3 7 】

読み取り - バーン比 R / B は以下のように定義される。

$$R / B = I_{r10} / I_{b10} \quad \text{式 B}$$

【 0 0 3 8 】

これら二つのパラメータを使用する充填不足状態の規準の一例は以下のとおりであることができる。

50

(1) $k < 0.227$ 又は $k > 0.497$ 、あるいは

(2) $R / B < 0.263$ 又は $R / B > 1.263$

【 0 0 3 9 】

充填不足状態が存在するかどうかを決定する際、この規準の数は減衰係数 k 及び読み取り - パーン比 R / B に関して異なることも考えられる。充填不足のセンサは、以下の三つの電流計測値を出した。

【 0 0 4 0 】

充填不足状態でこれらのパラメータを使用する例は以下のとおりである。

$I_{b10} = 505.1 \text{ nA}$ 、 $I_{r5} = 656.5 \text{ nA}$ 及び $I_{r10} = 561.8 \text{ nA}$

【 0 0 4 1 】

これらの電流計測値から減衰係数及び読み取り - パーン比を計算した。

減衰係数

【 0 0 4 2 】

【 数 1 】

$$k = \frac{\ln(I_{r5}) - \ln(I_{r10})}{\ln(10) - \ln(5)} = \frac{\ln(656.5) - \ln(561.8)}{\ln(10) - \ln(5)} = 0.22$$

【 0 0 4 3 】

読み取り - パーン比

$R / B = I_{r10} / I_{b10} = 561.8 / 505.1 = 1.11$

【 0 0 4 4 】

これらの二つのパラメータを使用して以下のエラー状態を検出した。

・このグルコースリードバックレベルで $k < 0.227$ 又は $k > 0.497$ 。 $k = 0.22 < 0.227$ であるため、真。

・このグルコースリードバックレベルで $R / B < 0.263$ 又は $R / B > 1.263$ 。 $R / B = 1.11 > 0.263$ かつ < 1.263 であるため、偽。

【 0 0 4 5 】

電気化学的センサの電極が流体試料によって十分に覆われていないときの充填不足状態の場合に肯定的な（中立的ではなく）応答を出す装置を設けることにより、ユーザは、試験の打ち切りが、何らかの他の誤作動が異常な結果を生じさせたのではなく、毛管空間に入った血液が少なすぎる結果であることを認識する。このような比較は、充填不足のセンサの対電極が血液試料と接していないとき十分に働く。全血試料が約 $2.5 \mu\text{l}$ 又は $2.0 \mu\text{l}$ 未満であるとき、対電極（全血試料の動きなし）は通常、DEXシステム中では血液試料と接触しない。

【 0 0 4 6 】

一定の充填不足状態（たとえば、全血試料が動き、その結果、センサ毛管は不完全にしか充填されていないが、全血試料は対電極と接触する状態）の検出を改善するため、本発明では指数を計算する。ステップ 190 で、第一の所定期間中の一つの計測した電流及び記録した時間と第三の期間中の少なくとも一つの計測した電流との少なくとも二つを使用する一つの工程によって指数を計算する。

【 0 0 4 7 】

本発明で 사용할 ことができる指数の一例は、三つの変数すべてを使用する式 C を解くことによる。

式 C : 指数 (I) = (I_{rt} / I_{bmax}) * T_{bmax}

式中、

I_{rt} = 第一又は第三の所定期間中に計測された電流（たとえば、第三の所定期間中の電流の最後の計測値）であり、

I_{bmax} = 第一の所定期間中に計測した最高電流であり、

T_{bmax} = 第一の所定期間中に最高電流が計測された時間である。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 8 】

上記の変数三つ未満を使用することができる他の式を使用して本発明の指数を決定することも考えられる。たとえば、これらの変数（第一の所定期間中に計測した電流及び記録した時間ならびに第三の期間中に計測した電流）の二つを使用して適切な指数を決定することもできる。このような一つの例は、第一の所定期間の計測した電流及び記録した時間の傾きを使用することによって適切な指数を決定することである。あるいはまた、（ a ）第一の所定期間の計測した電流及び第三の所定期間の計測した電流、又は（ b ）第一の所定期間の記録した時間及び第三の所定期間の計測した電流、の傾きを使用して他の指数を生成することも考えられる。

【 0 0 4 9 】

10

ステップ 2 0 0 で、指数を、流体試料中の分析対象物の測定濃度に関連する少なくとも一つの所定のパラメータと比較して、偏りが、ステップ 1 8 0 から得られる所定のしきい値を超えたときを識別する。所定のパラメータは通常、計器に記憶されている。

【 0 0 5 0 】

指数が所定のパラメータの少なくとも一つの範囲に入るかどうか依存して、エラー信号を表示する（ステップ 2 1 0 ）又は分析対象物濃度を表示する（ステップ 2 0 0 ）。一つの方法によると、指数が少なくとも一つの所定のパラメータの範囲に入らないときエラー信号を表示し、指数が少なくとも一つの所定のパラメータの範囲に入るとき分析対象物濃度を表示する。あるいはまた、指数が少なくとも一つの所定のパラメータの範囲に入るときエラー信号を表示し、指数が少なくとも一つの所定のパラメータの範囲に入らないとき分析対象物濃度を表示してもよい。

20

【 0 0 5 1 】

指数を決定し、それを所定のパラメータと比較する例が図 4 に示されている。指数は、ステップ 3 3 0 で、 I_{rt} = ステップ 3 0 0 から得られる第三の所定期間中の最後の電流計測値、 I_{bmax} = ステップ 3 1 0 から得られる第一の所定期間中に計測された最高電流及び T_{bmax} = ステップ 3 2 0 から得られる第一の所定期間中に最高電流が計測された時間を使用して、上記のように式 C で計算する。

【 0 0 5 2 】

ステップ 3 5 0 で、ステップ 3 3 0 から得た指数をステップ 3 4 0 から得られた所定のパラメータと比較する。この例では、所定のパラメータは 1 . 5 である。所定のパラメータがステップ 3 4 0 に示すものとは異なることも考えられる。所定のパラメータは、グルコース濃度のレベルに関連する。指数が所定のパラメータ 1 . 5 よりも大きいならば、ステップ 3 6 0 でエラーを表示する。指数が 1 . 5 以下であるならば、ステップ 3 7 0 で分析対象物濃度を計算し、ユーザに報告する。

30

【 0 0 5 3 】

分析対象物濃度（たとえばグルコース濃度）を測定する方法は、使い捨てセルフテストシステムで実施することもできる。使い捨てセルフテストシステムは、最終消費者、特に糖尿病患者によって使用されることが多い。あるいはまた、分析対象物濃度（たとえばグルコース濃度）を測定する方法は、臨床分析装置で実施することもできる。臨床分析装置は、病院又は診療所で使用されることが多い。

40

【 0 0 5 4 】

センサの試験端は、試験される流体試料（たとえば全血試料）と接触して配置されるように適合されている。全血試料は、穿刺装置、たとえばマイクロレットによって生成することができる。穿刺装置は、たとえば人の指を刺すことによって血液を得ることができる。一つの方法によると、全血試料は、（ a ）パケットから電気化学的センサを取り出し、（ b ）電気化学的センサをグルコース濃度計測機器に入れ、（ c ）全血試料を生成し、（ d ）センサと全血試料とを接触させて、血液を毛管作用によってセンサ中の大部分に引き込むことにより、試験のために用意することができる。

【 0 0 5 5 】

一つの方法によると、全血試料を導入口から空間に導入する。排出口から全血試料を流

50

入させることによって空間からガスを排出させる。全血試料中のグルコースが酵素（たとえば、グルコン酸を生成するための電極に担持されたグルコースオキシダーゼ）と反応すると考えられる。電極間に電圧（たとえば600mV）を印加し、計測のための電極を陽極方向に分極させる。陽極方向に電圧を印加することにより、生成される過酸化水素の酸化電流を得る。この電流レベルが全血試料中のグルコースの濃度に対応する。

【0056】

例

充填不足の試験センサを使用する場合の、全血試料のグルコース濃度に対する影響を示すため、いくつかの実験を実施した（表1参照）。また、正しく充填された状態で全血試料を使用していくつかの実験を実施した（表2参照）。

10

【0057】

表1 試験手順

3μlの全血試料を、試験中に溶液を多様に動かしながら15回試験した。換言すると、一部の試料をわずかに動かし、他の試料をより大きな程度に動かし、全血試料は同じ供給源から採取され、したがって、ほぼ同じグルコース濃度を有するものであった。

【0058】

以下の工程を使用して試験を実施した。まず、400mVの正電位を電気化学的センサの作用電極と対電極との間に印加した。使用した電気化学的センサは、Bayer社のGlucometer DEX（登録商標）システムから得た。全血試料3μlを電気化学的センサに加え、それと接触させた。「バーン」期間中、0.3秒ごとに10秒間、作用電極と対電極との間で電流を計測した。この電流をバーン電流と呼ぶ。また、バーン電流の計測に対応する各時間を記録した。10秒間、作用電極と対電極との間の電位を除去して、開回路を生じさせた。この期間を「待機」又は「インキュベーション」期間と呼ぶ。400mVの正電位を電気化学的センサの作用電極と対電極との間に再び印加した。「読み取り」期間中、0.3秒ごとに10秒間、作用電極と対電極との間で電流を計測した。この電流を読み取り電流と呼ぶ。読み取り電流を使用して、全血試料のグルコース濃度を測定した。

20

【0059】

そして、このグルコース計算値をk係数及び読み取り・バーン比の所定のパラメータと比較して、血液試料の量が十分でなかったかどうかを決定した。これらの比は、式A及びBへの適用で上記した同じ方法で計算した。

30

【0060】

上記のように式Cで指数を計算したのち、所定の指数1.5と比較した。指数が1.5よりも大きいならば、エラーを表示した。指数が1.5以下であるならば、分析対象物濃度を報告した。試験結果を以下の表1に示す。

【0061】

100%充填状態の例である10μlからの偏り%を以下のように式Dで計算した。

式D：（グルコース_{充填不足量} - グルコース_{10μl}） / グルコース_{10μl} * 100

【0062】

10μl試料を使用してセンサが100%充填されていることを保証した。

【0063】

40

【表 1】

表 1

反復試験 番号	T _{bmax} (sec)	I _{bmax} (nA)	I _{r10} (nA)	指数	% 偏り	エラー (yes/no)
1	0.3	4230	1407	0.10	1.74	No
2	0.3	6561	1321	0.06	-4.48	No
3	5.7	5771	1472	1.45	6.44	No
4	7.8	4105	1552	2.95	12.22	Yes
5	2.1	3809	1406	0.78	1.66	No
6	0.9	5078	1410	0.25	1.95	No
7	1.8	14115	1441	0.18	4.95	No
8	1.5	11557	1444	0.19	5.17	No
9	8.4	4452	1579	2.98	15.00	Yes
10	2.7	8631	1477	0.46	7.57	No
11	1.5	11364	1434	0.19	4.44	No
12	0.9	5210	1360	0.23	-0.95	No
13	2.4	9261	1451	0.38	5.68	No
14	1.8	11665	1403	0.22	2.18	No
15	5.7	5627	1511	1.53	10.05	Yes

10

【0064】

上記表 1 で見てとれるように、反復試験番号 4、9 及び 15 は、1.5 よりも大きな指数を示し、ひいては、ユーザに対してエラー信号を発した。他方、反復試験番号 1 ~ 3、5 ~ 8 及び 10 ~ 14 は、1.5 よりも大きな指数を有さず、したがって、ユーザにエラー信号を表示しなかった。この試験は、センサが不完全にしか充填されていない（たとえば全血試料 3 μ l で）とき、受け入れられない大きく偏った結果が生じるおそれがあることを示した。これは、反復試験番号 4、9 及び 15 が、指数及び得られるエラー信号から独立して、10 % よりも大きな偏り % を示したことによって確認された。これらの例では、対電極及び作用電極が 3 μ l 全血試料で十分に覆われるため、充填不足状態が存在するかどうかを決定する際、減衰係数 k 及び読み取り - パーン比 R / B はそれらの正常範囲に入るであろう。換言するならば、k 及び / 又は R / B を使用しても、大きく偏った結果を検出することはなかったであろう。

20

【0065】

表 2 試験手順

30

10 μ l の全血試料を、サンプリング中に溶液を動かすことなく 15 回試験した。全血試料は同じ供給源から採取され、したがって、ほぼ同じグルコース濃度を有するものであった。試験手順は、表 1 の試験手順で上記したものと同じであった。

【0066】

【表 2】

表 2

反復試験 番号	T _{bmax} (sec)	I _{bmax}	I _{r10}	指数	% 偏り	エラー (yes/no)
1	2.1	4133	1401	0.71	1.30	No
2	2.7	3402	1398	1.11	1.08	No
3	1.2	3878	1291	0.40	-6.65	No
4	2.1	4017	1441	0.75	4.19	No
5	1.8	4041	1409	0.63	1.88	No
6	2.4	3686	1360	0.89	-1.66	No
7	1.5	4313	1423	0.49	3.64	No
8	1.5	4860	1318	0.41	-4.01	No
9	1.2	4915	1392	0.34	1.38	No
10	1.5	4546	1389	0.46	1.17	No
11	1.8	4285	1390	0.58	1.24	No
12	1.5	4638	1324	0.43	-3.57	No

40

【0067】

上記表 2 で見てとれるように、反復試験番号 1 ~ 15 のいずれも 1.5 よりも大きな指

50

数を示さず、ひいてはユーザにエラー信号を発しなかった。これは、計算した指数及び所定のパラメータ 1.5 を使用すると、溶液の動きなしでは、完全に充填された全血試料がユーザにエラー信号を発しないということを示した。

【 0 0 6 8 】

本発明の具体的な実施態様及び応用を例示し、説明したが、本発明は、本明細書に開示したとおりの構造及び構成に限定されず、特許請求の範囲によって定められる発明の本質及び範囲を逸することなく、種々の変形、変更及び改変が前記記載から自明であることが理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 6 9 】

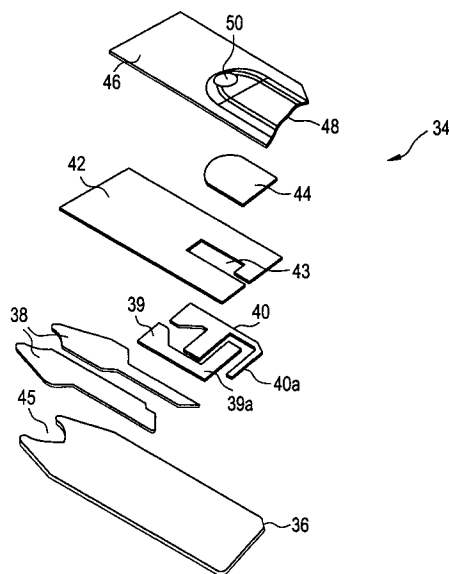
【図 1】本発明の方法で 사용할 ことができる一つの実施態様の電気化学的センサの分解図である。

【図 2】センサベースと図 1 のセンサのベースに直接被着される要素とを示す図である。

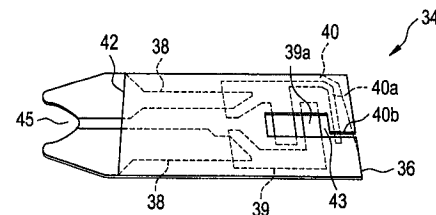
【図 3】本発明の一つの方法にしたがって流体試料中の分析対象物の濃度を測定するための一連のステップを示すフローチャートである。

【図 4】本発明の一つの方法にしたがって指数を決定し、充填不足状態をユーザに報告するための一連のステップを示すフローチャートである。

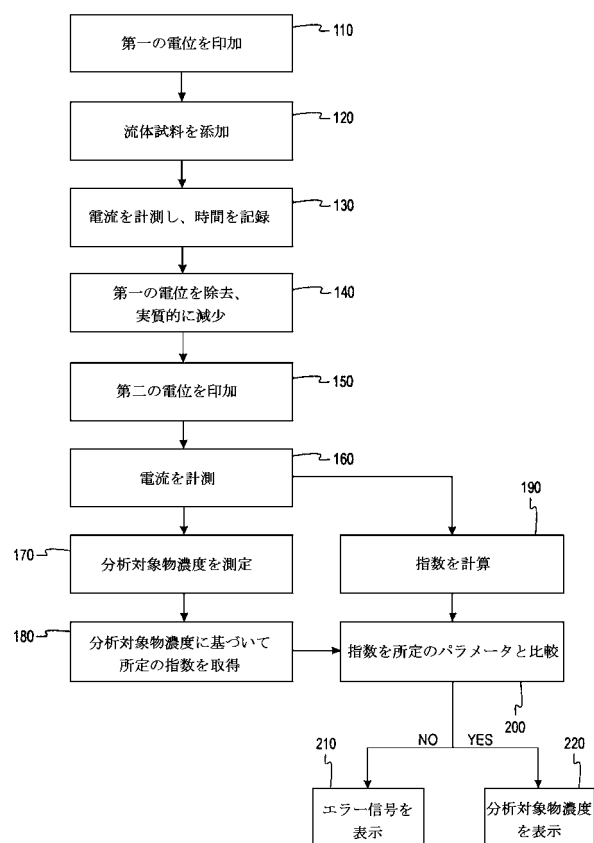
【図 1】



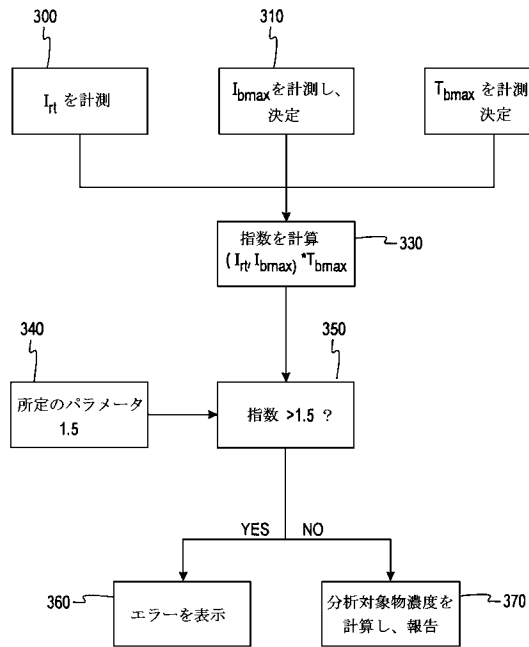
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(72)発明者 エミー・エイチ・チュ

アメリカ合衆国、インディアナ 4 6 5 1 4、エルクハート、カウンティ・ロード 1 0 2 2 4
6 0

審査官 大竹 秀紀

(56)参考文献 特開2 0 0 3 - 0 0 4 6 9 1 (J P , A)

特開平0 8 - 3 0 4 3 4 0 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G 0 1 N 2 7 / 4 1 6