



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 254**

51 Int. Cl.:

G01N 27/38 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

C12Q 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **06017511 .4**

86 Fecha de presentación : **30.05.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1739415**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **03.01.2007**

54 Título: **Procedimiento para restaurar las propiedades funcionales de un sensor electroquímico.**

30 Prioridad: **31.05.2001 US 871885**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2008

73 Titular/es: **Instrumentation Laboratory Company**
101 Hartwell Avenue
Lexington, Massachusetts 02173, US

72 Inventor/es: **Xu, Clarke;**
Mansouri, Sohrab y
Cosofret, Vasile

74 Agente: **Illescas Taboada, Manuel**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para restaurar las propiedades funcionales de un sensor electroquímico.

5 La presente invención se refiere al campo de los sensores electroquímicos, en particular a los sensores electrodos de enzimas, y a la regeneración o mantenimiento de las propiedades funcionales de las membranas de dichos sensores.

10 En una variedad de situaciones clínicas es importante medir ciertas características químicas de la sangre del paciente tales como pH, hematocrito, la concentración iónica de calcio, potasio, cloruro, sodio, glucosa, lactato, creatinina, creatina, urea, la presión parcial de O₂ y CO₂ y similares. Estas situaciones se producen en un abanico de situaciones desde la visita rutinaria de un paciente a la consulta del médico al control de un paciente durante una operación a corazón abierto. Los requisitos de velocidad, exactitud y otras características varían en cada situación.

15 Habitualmente, los sistemas de sensores electroquímicos que proporcionan los análisis hematológicos son máquinas independientes o están adaptadas para conectarse a una derivación extracorpórea o a una fuente de sangre *ex vivo* tal como una máquina de perfusión que se usa para mantener al paciente durante la operación. Así, por ejemplo, pueden derivarse pequeñas muestras de prueba de sangre *ex vivo* de la línea bien del caudal venoso o arterial de una máquina de perfusión directamente a una cámara expuesta a un banco de microelectrodos que generan señales eléctricas proporcionales a las características químicas de la muestra de sangre que fluye en tiempo real.

20 Los sistemas de sensores electroquímicos son herramientas de análisis que combinan un componente de reconocimiento químico o bioquímico (por ejemplo, una enzima) con un transductor físico tal como un electrodo de platino. El componente de reconocimiento químico o bioquímico es capaz de interactuar de forma selectiva con un analito de interés y de generar de forma directa o indirecta, una señal eléctrica a través del transductor. Los sistemas de sensores electroquímicos desempeñan un papel creciente en la resolución de problemas analíticos y clínicos y encuentran aplicaciones en el campo del diagnóstico médico.

30 La selectividad de ciertos componentes de reconocimiento bioquímico posibilita el desarrollo de sensores electroquímicos que pueden detectar de forma exacta ciertos analitos biológicos incluso en una mezcla compleja de analitos tales como la sangre entera. A pesar del alto grado de selectividad de ciertos componentes bioquímicos, la selectividad de dichos sensores en conjunto puede sin embargo verse comprometida por la presencia de ciertas sustancias biológicas que interfieren (por ejemplo ácido ascórbico, ácido úrico, paracetamol, cisteína, etc.) que pueden interactuar de forma directa con el transductor físico si no se evita que esto suceda. La exactitud y la precisión de los sistemas de sensores electroquímicos con compuestos de reconocimiento de sustancias bioquímicas se ve también comprometido por los niveles residuales de analitos que permanecen en el sensor pertenecientes a una muestra anterior que afecta al análisis de la siguiente muestra.

40 El documento WO 97/15827 describe un procedimiento para preparar un sensor electroquímico que comprende un electrodo y una primera membrana polimérica compuesta (poli-m-fenilendiamina, GOD, carbono en polvo, Nafion). En una segunda etapa, el sensor se pone en contacto con una solución que contiene m-fenilendiamina y se aplica un potencial eléctrico de tal forma que este monómero se polimeriza en forma de una segunda membrana polimérica sobre el sensor.

45 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un procedimiento para restaurar las propiedades funcionales de un sensor electroquímico, tal como se detalla en las reivindicaciones adjuntas.

50 En el presente documento se describe un sistema y procedimiento para aumentar la exactitud y vida útil eficaz de un sensor electroquímico. La polimerización de monómeros electropolimerizables formando una membrana polimérica interior sobre el sensor electroquímico forma una membrana de rechazo de interferencias. Esta membrana polimérica interior actúa protegiendo al sensor electroquímico de contaminaciones o interferencia de los compuestos de la muestra y así aumenta la exactitud que se pierde por la degradación por contaminación de la membrana o por interferencia de los compuestos de los analitos de la muestra.

55 Un sensor electroquímico incluye al menos un electrodo, y una membrana compuesta. La membrana compuesta incluye una capa externa, una capa enzimática y una capa interna que puede restablecerse. La capa interna está en contacto con al menos un electrodo e incluye una membrana polimerizable.

60 La Fig. 1 es un diagrama esquemático de los componentes de un aparato de sensores electroquímicos que incluyen un cartucho de sensores con un banco de sensores y un bloque térmico para la hidratación acelerada y el calibrado de los sensores.

La Fig. 2 ilustra una vista frontal inversa de la tarjeta de sensores, en parte fragmentaria, de un cartucho.

Las Fig. 3A-B ilustran vistas trasversales de un sensor enzimático.

65 Haciendo referencia a la Fig. 1, el sistema de sensores electroquímicos 8 emplea un ensamblaje de sensores que se indica de forma general en 10, que incorpora una pluralidad de electrodos adaptados para tomar mediciones eléctricas de una muestra, tal como una muestra de sangre, introducida en el ensamblaje de sensores 10. Las muestras de sangre a

analizar por el sistema se introducen a través de la boca de entrada de muestras 13a. Las muestras de sangre se obtienen, por ejemplo, mediante flebotomía o se derivan periódicamente del circuito de flujo de sangre extracorpórea conectado a un paciente durante, por ejemplo, una intervención a corazón abierto. Las muestras de sangre pueden introducirse en la admisión de las muestras 13a por otros medios automáticos o manualmente mediante una jeringuilla. Las muestras de sangre pueden introducirse en forma de muestras separadas.

El sistema electroquímico 8 que incluye un número de componentes esenciales tal como se ha descrito hasta ahora está contenido en un cartucho desechable 37. Un cartucho de un tipo similar se describe en detalle en la patente de Estados Unidos n°. 4.734.184. En un ejemplo, el sistema de sensores electroquímicos 8 incorpora en el cartucho 37 al menos dos envases previamente empaquetados 14, y 16, que contienen cada uno una solución acuosa de calibrado que tiene valores conocidos de los parámetros a medir por el sistema. Como referencia, la solución contenida en el envase previamente empaquetado 14 se denominará Solución de calibrado A, la solución contenida en el envase previamente empaquetado 16 se denominará Solución de calibrado B. En otro ejemplo, el sistema electroquímico 8, que se ilustra en la Fig. 1, incluye un tercer envase previamente empaquetado 23 que contiene la Solución de calibrado AO. Cada uno de los envases previamente empaquetados 14, 16 y 23 contiene una cantidad suficiente de su solución de calibrado para permitir calibrar el sistema un número sustancial de veces antes de que se vacíe el envase previamente empaquetado. Cuando uno o más de los envases 14, 16 y 23 que contiene las soluciones de calibrado se vacía, el cartucho que contiene los envases previamente empaquetados 14, 16 y 23 debe ser sustituido.

En un ejemplo, la Solución de calibrado AO contiene monómero electropolimerizable. El monómero electropolimerizable tal como m-fenilendiamina puede incluirse en las soluciones de calibrado a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a 100 mM, preferiblemente aproximadamente 15 mM. En otro ejemplo, una solución de monómeros electropolimerizables está contenida en un envase previamente empaquetado (no se muestra) separado de los envases previamente empaquetados 14 y 16 para las soluciones de calibrado a una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a 100 mM, de forma preferible aproximadamente 15 mM.

Haciendo referencia a la Fig. 1, el envase previamente empaquetado 14 está conectado a la admisión de una válvula multiposición 18 a través de una línea de flujo 20, y el envase previamente empaquetado 16 está conectado a una segunda entrada de la válvula multiposición 18 a través de una línea de llenado 22.

El envase 23 está conectado a una tercera admisión de la válvula multiposición 18 a través de una línea de flujo 25. Otro envase 17 contiene una solución de enjuague y está conectado a la admisión de la válvula multiposición 18 a través de una línea de flujo 21. En otro ejemplo, se elimina la bolsa de enjuague 17 y se usa una de las soluciones de calibrado A o B como solución de enjuague, también. La línea de salida 12 es la salida de la válvula multiposición 18 y está conectada a la línea de admisión de muestras 13 a través de una aguja 11. Dependiendo de la posición de la válvula 18, las líneas de admisión 20, 21, 22, 25 o aire se abren a la válvula 18. De forma similar, cuando la aguja está en una posición normal (posición 11b) de la línea de admisión de muestras 13b, la línea 12b está abierta a la línea de admisión de muestras 13b y permite el paso de la solución de calibrado o de enjuague, o de aire a través de la línea de admisión de muestras 13b al ensamblaje de sensores 10 a través de la línea 24, que es facilitado por la actuación de una bomba peristáltica que se ilustra de forma esquemática en 26. Sin embargo, en el modo de aceptación de muestras (13a), la línea 12 está separada de la línea de admisión de muestras (posición 12a) y la muestra se introduce directamente en el ensamblaje de sensores 10 a través de la línea 24, facilitada por la actuación de la bomba peristáltica 26.

El cartucho 37 también incluye un envase 28, para una solución de referencia. El envase 28 está conectado al ensamblaje de sensores mediante una línea de flujo 30. El sistema incluye además un envase 32 para los residuos, que recibe las muestras de sangre, las soluciones de calibrado y la solución de referencia después de que hayan pasado a través del ensamblaje de sensores 10, mediante un conducto flexible 34 que tiene la admisión desde el ensamblaje de sensores 10.

Tanto el conducto de flujo de los residuos 34 como la línea de flujo de la solución de referencia 30 están constituidos o incluyen secciones de tubo de paredes flexibles que pasan a través de la bomba peristáltica 26. La bomba 26 comprime y golpea las secciones flexibles de las líneas de flujo 30 y 34 para inducir un flujo presurizado de solución de referencia desde el envase 28 al ensamblaje de electrodos 10 y para crear una presión negativa en los productos de residuos de la línea de flujo 34 de forma que se extraigan los líquidos, incluidos los líquidos con los monómeros polimerizables, de la línea de flujo 24 a través de pasos del ensamblaje de electrodos 10 pasando las membranas de los sensores. Esta disposición, por contraste con la alternativa de inducir una presión positiva en la sangre y calibrar las soluciones para forzarlas a través del ensamblaje de electrodos 10, evita la imposición de una fuerza mecánica innecesaria y posiblemente traumática sobre la muestra de sangre y minimiza la posibilidad de escapes en el ensamblaje de electrodos 10.

El cartucho 37 también contiene una tarjeta de sensores 50 que proporciona una cámara de poco volumen, impermeable a gases en la que la muestra, tal como una muestra de sangre, una solución de calibrado o una solución que contiene monómeros, se presenta a uno o más sensores electroquímicos, es decir, los sensores de pH, pCO₂, pO₂, Na⁺, Ca⁺⁺, glucosa, lactato, creatina, creatinina y hematocrito, junto con el electrodo de referencia que se indican en conjunto como sensores 10, son partes integrales de la cámara. Las membranas hidrófobas sensibles a las sustancias químicas, que habitualmente están formadas por polímeros tales como cloruro de polivinilo, ionóforos específicos y un plastificante adecuado, están unidas de forma permanente al cuerpo de la cámara. Estas membranas hidrófobas,

ES 2 307 254 T3

sensibles a las sustancias químicas, que se describen en detalle más adelante, son la interfase entre la muestra o las soluciones de calibrado y la solución tampón en contacto con el electrodo interno (plata/cloruro de plata).

En un ejemplo, haciendo referencia todavía a la Fig. 1, incluidas en el cartucho 37, hay tres soluciones que permiten calibrar a concentraciones altas y bajas todos los parámetros excepto el hematocrito, que se calibra a un nivel. En un ejemplo, el cartucho 37 también incluye el brazo para el rotor de la admisión de muestras 5, los tubos de la bomba 24, 30 y 34, la aguja de muestreo 11, una bolsa de residuos 32, el envase de la solución de referencia 28, el envase de la solución de enjuague 17, los envases de las soluciones de calibrado 14, 16 y 23, la válvula de control 33, y los tubos 12, 20, 21, 22 y 25. Se evita que las muestras de sangre que se han analizado vuelvan otra vez a la tarjeta de sensores 50 desde el envase de residuos 32 gracias a la presencia de una válvula de control unidireccional 33 en la línea de residuos 34. Después de usar en el sistema 8, el cartucho 37 está diseñado para ser desechado y sustituido por otro cartucho.

En referencia a la Fig. 1, los sensores están disponibles en forma de un banco de electrodos 10 que están fabricados en una tarjeta de plástico 50 y alojados en el cartucho desechable 37 que forma una interfaz con un ensamblaje de bloque térmico 39 de una máquina de análisis hematológico adaptada de forma adecuada. El ensamblaje de bloque térmico 39 aloja los dispositivos calefactor/refrigerador tales como un elemento de resistencia o un dispositivo de efecto Peltier, una resistencia térmica 41 para monitorizar y controlar la temperatura, la interfase eléctrica 38 entre los sensores de la tarjeta plástica 50 y el microprocesador 40 a través de la placa analógica 45. La placa analógica 45 aloja convertidores de analógico en digital y de digital en analógico. La señal de la interfase de los electrodos 38 pasa a través del convertidor de analógico en digital, se convierte en forma digital para que el procesador 40 lo almacene y lo presente. A la inversa, las señales digitales del procesador 40, por ejemplo, el voltaje de polarización del sensor de oxígeno, pasan a través del convertidor digital en analógico, se convierten en forma analógica y se alimentan a los sensores para su control, a través de la interfase de los electrodos 38.

El sistema de sensores electroquímicos 8 se forma tras la inserción del cartucho 37 en el aparato de sensores electroquímicos. Tras su inserción, la tarjeta de sensores 10 encaja en el ensamblaje de bloque calefactor 39, que se describe en detalle más adelante, y el ensamblaje calefactor/refrigerador es regulado por los ciclos de temperatura del microprocesador 40 de la tarjeta de sensores 50 y la solución en contacto con los sensores de la tarjeta de sensores 50 a través de una temperatura específica y un tiempo específico. El ensamblaje de bloque calefactor 39 tiene capacidad de calentarse y enfriarse rápidamente, por ejemplo, mediante un dispositivo termoeléctrico que aplica, por ejemplo, el efecto Peltier, controlado mediante una resistencia térmica 41, y todos ellos controlados por el microprocesador 40. Los sensores conectados a la interfase de electrodos 38 que selecciona una de la pluralidad de señales eléctricas generadas por los sensores y pasa la señal eléctrica al microprocesador 40 de la máquina a través de un convertidor de analógico a digital de la placa analógica 45 donde se convierte de forma analógica a digital, adecuada para su almacenamiento y presentación. Haciendo referencia a la Fig. 1, ensamblaje de electrodos 10 tiene un número de conectores de borde 36 en un banco que permite que se conecte a un colector hembra complementario 38 de forma que los electrodos formados en el ensamblaje 10 puedan estar conectados al microprocesador 40 a través de la placa analógica 45. El microprocesador 40 se conecta a la válvula de puertos múltiples 18 mediante un actuador de la válvula 43 mediante una línea 42 y al motor de la bomba peristáltica 26 mediante un actuador de la bomba 45 a través de una línea 44. El microprocesador 40 controla la posición del brazo de las muestras 5 a través un actuador del brazo 15, y la posición de la válvula 18 y el suministro de energía a la bomba 26 para provocar que pasen secuencias de muestras de sangre y soluciones de calibrado a través del ensamblaje de electrodos 10. Cuando las soluciones de calibrado, por ejemplo, de los envases 14, 16 y 23 se bombean al ensamblaje de electrodos 10, los electrodos que forman parte del ensamblaje toman mediciones de los parámetros de la muestra y el microprocesador 40 almacena estos valores eléctricos. Basándose en mediciones que se toman durante el paso de las soluciones de calibrado a través del ensamblaje de electrodos 10, y los valores conocidos de los parámetros medidos contenidos en la solución de calibrado de los envases 14, 16 y 23, el microprocesador 40 crea de forma eficaz una curva de calibrado para cada uno de los parámetros medidos, de forma que cuando se pasa una muestra de sangre a través del ensamblaje de electrodos 10, pueden usarse las mediciones que toman los electrodos para derivar mediciones exactas de los parámetros de interés. Estos parámetros se almacenan y presentan en el microprocesador 40. El microprocesador 40 se programa de forma adecuada para realizar las funciones de medición, cálculo, almacenamiento y control tales como las diferencias de potencial eléctrico entre uno o más electrodos.

Soluciones de calibrado

Una composición de la solución de calibrado A que se usa para el calibrado de dos puntos, preparada a 37°C y a presión atmosférica con presiones parciales medidas con 9% de CO₂, 14% de O₂ y 77% de gas helio, es como sigue: tampón orgánico a pH 6,9; pCO₂ = 63 mmHg; pO₂ = 100 mmHg; Na⁺ = 100 mmol/l; K⁺ = 7 mmol/l; Ca⁺⁺ = 2,5 mmol/l; glucosa = 150 mg/dl; lactato = 4 mmol/l; creatina = 0,5 mmol/l; creatinina = 0,5 mmol/l; tensioactivo y conservante inerte.

Una composición de solución de calibrado B que se usa para el calibrado de un punto y enjuague, preparada a 37°C y 700 mmHg de presión absoluta con presiones parciales medidas con 27% de CO₂, 5% de O₂ y 68% de gas helio, es así: tampón orgánico a pH 7,4; pCO₂ = 34 mmHg; pO₂ = 180 mmHg; Na⁺ = 140 mmol/l; K⁺ = 3,5 mmol/l; Ca⁺⁺ = 1,0 mmol/l; tensioactivo y conservante inerte.

ES 2 307 254 T3

Una composición de solución calibrado preferida AO para el calibrado de oxígeno a concentración baja y regeneración *in situ* de la membrana polimérica interna de los sensores enzimáticos contiene una solución acuosa de sal de Na⁺, K⁺, Ca⁺; 15 mmol/l de m-fenilendiamina, 20 mmol/l de sulfito, tensioactivo y conservante inerte; tampón orgánico, pCO₂. La solución de referencia contiene AgNO₃ = 1 mmol/l; KNO₃ = 1 mol/l; tensioactivo.

Las composiciones de las soluciones de calibrado A y B se eligen de forma que para cada una de las características que mide el sistema, se obtiene un par de valores que se distribuyen en el intervalo de valores permisibles que mide el sistema, proporcionando un calibrado equilibrado de 2 puntos para el instrumento. La solución de calibrado AO se elige para un calibrado de oxígeno a baja concentración y regeneración de la membrana polimérica interna sobre los sensores de glucosa, creatina, creatinina y lactato.

Las composiciones de calibrado A y B se preparan mezclando previamente todos los constituyentes en un cierto orden, empezando por el tampón y terminando con la sal de bicarbonato sódico, después midiendo las presiones parciales de la solución con oxígeno y CO₂ mezclado con helio produciendo el nivel deseado de pCO₂ y pO₂. La solución de calibrado AO se prepara con una pequeña diferencia en el procedimiento. Las sales, a excepción del sulfito sódico, m-fenilendiamina y bicarbonato sódico se añaden al agua y la solución se mide la presión parcial con helio para llevar la pO₂ a menos de 30 mmHg. Después, se añaden a la solución las sales restantes y se determinan las presiones parciales de la mezcla final con una mezcla de pCO₂ y helio produciendo el nivel de pCO₂ deseado.

Se añade al menos un monómero electropolimerizable a al menos una de las soluciones de calibrado, la solución AO del envase 23 por ejemplo. La ausencia de oxígeno disuelto en la solución AO, debido a la presencia de ión sulfito, permite una vida útil en depósito mayor del monómero electropolimerizable de la Solución AO debido a que el oxígeno disuelto oxida el monómero electropolimerizable y así hace que el monómero sea incapaz de polimerizarse. Los monómeros electropolimerizables de m-fenilendiamina por ejemplo, pueden incluirse en una solución de calibrado a una concentración en el intervalo entre aproximadamente 1 a 100 mM, preferiblemente 15 mM. El monómero electropolimerizable puede incluirse en el cartucho 37 en un reservorio aparte.

La temperatura y presión a la que se preparan las soluciones de calibrado y su procedimiento de envasado deben ser tales que eviten la posibilidad de que los gases disueltos salgan de la solución al envase, lo que afectaría a la concentración de los gases de las soluciones de calibrado, y que minimicen la tendencia de los gases a atravesar incluso los materiales más impermeables que pueden obtenerse en la práctica. Las soluciones de calibrado se envasan con las soluciones llenando completamente los envases, de forma que no exista ningún espacio en la parte superior, evacuando los envases antes de ser llenados de un modo que se describirá posteriormente.

Al cargar la solución de calibrado en el envase evacuado de paredes flexibles, 14, 16, 23 a temperaturas elevadas y a presión inferior a la atmosférica, la solución a una temperatura de uso menor no tendrá tendencia a perder el gas y así producir burbujas de gas en el envase. Si se produjera el escape de gas, las concentraciones de los gases de la solución se verían afectadas, creando inexactitudes en el calibrado de los instrumentos. De forma similar, las soluciones de calibrado no deben envasarse a una presión demasiado baja, es decir, no por debajo de aproximadamente 625 mm de mercurio, debido a que la capacidad de absorción de gases por parte de la solución aumenta al disminuir la presión de envasado y por debajo de ese valor de presión, la capacidad de absorción de la solución puede ser lo suficientemente alto como para que tienda a extraer gases a través de la leve permeabilidad inherente de incluso el material de envasado flexible más impermeable a los gases, durante periodos de tiempo prolongados. Por consiguiente, se prefiere una presión de envasado en el intervalo de 625-700 mm de mercurio.

Una solución de calibrado se prepara a una temperatura superior a la temperatura de uso que se pretenda de forma que a la temperatura menor exista una tendencia menor de que se escapen los gases disueltos. Esto coopera con el envasado a presión reducida para minimizar la posibilidad de que se escape el gas.

Las soluciones de calibrado A, B y AO se preparan a una temperatura superior a la temperatura de uso que se pretenda a una presión controlada cercana a la presión atmosférica. Mediante el uso de temperatura elevada (por ejemplo, 37°C), la solución puede prepararse a aproximadamente presión atmosférica sin posibilidad de que se produzcan microtúbulos posteriores en el envase ni transferencia de gas a través del envase cuando se empaqueta en un envase flexible, impermeable a los gases con un espacio superior cero.

Los envoltorios que forman los envases de solución de calibrado previamente empaquetados 14, 16, 23 se forman, por ejemplo, a partir de láminas rectangulares, termoselladas en los extremos y termoselladas en una esquina de un vástago de admisión de la válvula 18 que se usa para el llenado. En el ejemplo que se ilustra, los envases previamente empaquetados 14, 16 y 23 y las líneas de los envases previamente empaquetados 20, 22, y 25 se forman en un conjunto unitario con la válvula 18 de forma que así se evita el espacio muerto de fase de gas en las líneas 20, 22, 25. En un procedimiento para purgar y llenar las bolsas de envoltorio, el envoltorio se evacua primero y después se carga con la solución preparada. La bolsa después se agita a la vez que el exceso de solución fluye continuamente al exterior de la bolsa. Este proceso elimina todas las burbujas de gas residual de la bolsa. La solución después se sella en el envase.

Las soluciones de calibrado de los envases previamente empaquetados 14, 16, y 23 presentan una estabilidad excelente y una vida útil en depósito prolongada. Cuando están a la temperatura de uso y a presión atmosférica no existe posibilidad de que se escape el gas del líquido y forme burbujas de gas en los envases previamente empaquetados 14, 16, y 23.

Solución de referencia

La solución de referencia dispuesta en el envase previamente empaquetado 28 se emplea en el ensamblaje de electrodos 10 como fuente de aportación a un electrodo de referencia para proporcionar una confluencia líquida y así aislar el electrodo de referencia del potencial electroquímico variable de la solución de calibrado o de la sangre de un modo que se describirá posteriormente. En un ejemplo, la solución es nitrato de plata 1 mmol/l. La solución también contiene un tensioactivo tal como Brij 35. La solución se envasa en un envase flexible sellado sin espacio superior.

Ensamblaje de electrodos

En referencia a la Fig. 1, durante el accionamiento de la bomba 26, el ensamblaje de electrodos 10 recibe un flujo pulsátil constante de la solución de referencia mediante la línea 30 y flujos secuenciales, intermitentes y pulsátiles o bien de la muestra de sangre o de una de las soluciones de calibrado mediante la línea 24. El ensamblaje también proporciona una salida correspondiente de sus productos de residuo a una bolsa que recoge los residuos 32 mediante la línea 34.

En referencia a la Fig. 2, a modo de ejemplo, el ensamblaje de electrodos 10, está constituido por una tarjeta rectangular estructuralmente rígida 50 de poli(cloruro de vinilo) que tiene una placa de recubrimiento rectangular de aluminio (u otro material adecuado) 52 adherida a una de sus superficies. La placa de recubrimiento 52 cierra y aísla los canales de flujo 56 formados en una superficie de la tarjeta 50 y también actúa como medio de transferencia de calor para hidratar los sensores mediante ciclado térmico, que se describe más adelante, y manteniendo los líquidos fluyendo a través del ensamblaje de electrodos 10, y los electrodos mismos, a una temperatura constante durante el calibrado y durante la medición de parámetros relevantes de una muestra de un paciente. Esto puede lograrse midiendo la temperatura de la placa 52 y empleando un elemento de calefacción o refrigeración adecuado, por ejemplo un dispositivo de efecto Peltier y una resistencia térmica 41 para mantener la temperatura de la placa 52 a la temperatura deseada.

Haciendo referencia a la Fig. 2, se introduce una solución de referencia en un pocillo 64 formado sobre la superficie del sustrato 50 del mismo modo que los otros canales de flujo 56 y se cubre de forma similar mediante la placa metálica 52. La línea de flujo de la solución de referencia 30 pasa a través de un agujero inclinado del pocillo 64. El pocillo 64 está conectado a la sección de salida 34 del canal de flujo 56 a través de una sección capilar muy estrecha 66 que se forma en la superficie del sustrato de plástico 50 del mismo modo que los canales de flujo principales 56. El canal capilar 66 es sustancialmente menos profundo y más estrecho que el canal de flujo principal 56; su sección transversal es aproximadamente 0,5 mm². El líquido de referencia se bombea al pocillo 64 mediante la bomba 26, a través de la línea 30 (véase también la Fig. 1), llena el pocillo, y se fuerza a través de la sección capilar 66 donde se une a la corriente de salida del fluido que pasa a través de la sección del canal de flujo principal 56 y después fluye con él a la bolsa de residuos 32. La influencia combinada de su mayor densidad que se describe anteriormente y la capilaridad del canal de flujo 66 minimiza cualquier posibilidad de que la solución de calibrado o la sangre pasen hacia abajo a través del canal 66 al pocillo 64 y que afecte a las mediciones electroquímicas.

Al ir pasando una cantidad de muestra de sangre o de solución de calibrado introducida al canal de flujo 24, a través del canal de flujo 56 a la sección de salida 34, pasa sobre un número de electrodos tal como se ilustra en la Fig. 2.

Haciendo referencia a las Fig. 1 y 2, la placa calefactora 52 queda en contacto y forma una pared del canal de la muestra 56. La placa calefactora 52 está en contacto con el dispositivo de efecto Peltier del ensamblaje de bloque térmico 39 que se describe más adelante. El ensamblaje de bloque térmico 39 puede cambiar y controlar la temperatura de la placa calefactora 52 entre 15°C y 75°C. El cambio y control de la temperatura se monitorizan mediante una resistencia térmica 41 y son regulados por el microprocesador 40. Un reloj digital interno de microprocesador 40 controla el tiempo y puede encender y apagar el ensamblaje de bloque térmico 39 de acuerdo con un programa previamente ajustado. Así, el microprocesador 40 controla el ensamblaje de bloque térmico 39, regulando el ajuste de la temperatura y la duración de cada temperatura ajustada de la placa calefactora 52.

Los electrodos

El orden del ensamblaje de los electrodos que se proporciona más adelante es únicamente a modo de ejemplo y no se pretende que se limite al orden que se proporciona.

El par de electrodos del hematocrito

Haciendo referencia a la Fig. 2, un par de filamentos de oro 98 y 100 forman electrodos para determinar el hematocrito (Hct) de una muestra basándose en su conductividad. Los filamentos entran en contacto con los conectores de borde del circuito impreso 102 y 104, respectivamente, que también se ilustra en la Fig. 5.

El sensor de oxígeno

Haciendo referencia a la Fig. 2, el siguiente sensor del canal de flujo 56 es el sensor de oxígeno 70 con una configuración de tres electrodos, que también se ilustra en la Fig. 4.

El electrodo que detecta los iones de potasio, calcio y sodio

El siguiente en el canal de flujo es un electrodo que detecta el sodio 78, seguido de un electrodo que detecta el calcio 86 y de un electrodo que detecta el potasio 90 que incluye una membrana activa y un filamento de plata insertado y un conector de borde asociado.

El electrodo del pH

Haciendo referencia a la Fig. 2, el siguiente en el canal de flujo 56 es un electrodo que detecta el pH 94 que también se ilustra en la Fig. 6 que incluye una membrana 148 y un filamento de plata 87 insertado o ajustado por presión a través del grosor del plástico 50 en el canal de flujo 56. Haciendo referencia a la Fig. 6, unidos en el lado opuesto del canal de flujo 56 hay una sección conductora impresa sobre una almohadilla 88 (véase también la Fig. 5) que forma un conector de borde. La naturaleza de este electrodo de pH se describirá posteriormente en detalle.

El electrodo de dióxido de carbono

Haciendo referencia a la Fig. 2, el siguiente electrodo 93 en el canal de flujo 56 mide el dióxido de carbono disuelto en la sangre o solución de calibrado y trabaja combinado con el electrodo de pH 94.

El electrodo de lactato

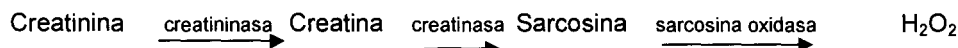
Haciendo referencia a la Fig. 2, a continuación en el canal de flujo 56, está el electrodo de lactato 92 que trabaja midiendo los productos secundarios de una reacción enzimática de la lactato oxidasa sobre el lactato. La lactato oxidasa presente en la capa enzimática oxida el lactato produciendo peróxido de hidrógeno, que es detectado por el electrodo del sensor de lactato.

El electrodo de glucosa

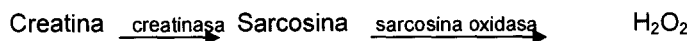
Haciendo referencia a la Fig. 2, un electrodo de glucosa 91 es el siguiente electrodo, que al igual que el electrodo de lactato 92 trabaja mediante la detección del peróxido de hidrógeno producido por una reacción enzimática de la capa enzimática. La enzima, glucosa oxidasa, oxida de forma específica la glucosa y produce peróxido de hidrógeno, un compuesto que detecta el electrodo del sensor de glucosa.

Los electrodos de creatina y creatinina

La medición de creatinina en una muestra de sangre requiere dos electrodos. Un electrodo mide la concentración total de creatinina y creatina y el otro electrodo mide la concentración sólo de creatina. La concentración de creatinina se determina sustrayendo la creatina de las concentraciones de creatina y creatinina combinadas. Haciendo referencia a la Fig. 2, los dos electrodos siguientes, creatinina 116 y creatina 118, al igual que el electrodo de glucosa 91 y el electrodo de lactato 92, trabajan detectando el H_2O_2 producido mediante reacción enzimática en sus capas enzimáticas respectivas. En el electrodo de creatinina 116, la capa enzimática incluye una mezcla de tres enzimas: creatininasa, creatinasa y sarcosina oxidasa. Esta mezcla de enzimas oxida específicamente la creatinina y la creatina y produce H_2O_2 en la siguiente reacción en cascada:



En el electrodo de creatina 118, la capa de enzimas incluye una mezcla de dos enzimas: creatinasa y sarcosina oxidasa. Esta mezcla enzimática oxida de forma específica solo la creatina y produce H_2O_2 en la siguiente reacción en cascada:



La base

La base 105 que se ilustra en la Fig. 2, es un filamento de plata insertado a través del sustrato 50. La base actúa de punto de referencia eléctrico para todos los electrodos. La base también puede actuar de contraelectrodo para el sistema de sensores amperiométricos.

El electrodo de referencia

Tal como se ilustra en la Fig. 2, dos filamentos de plata 106 están insertados a través de todo el grosor de la placa de sustrato plástica 50 en el pocillo de la solución de referencia 64 actuando como el electrodo de referencia de la placa. El uso de dos filamentos de plata 106 que están conectados eléctricamente asegura el contacto continuo entre el filamento de plata y la solución de referencia en presencia de burbujas de aire. Las burbujas de aires pueden formarse

en el canal de referencia cuando la solución de referencia pierde el gas a la temperatura elevada del control del sensor. Un elemento de circuito impreso 108, que también se ilustra en la Fig. 5, se extiende por la parte posterior del panel entre un extremo de este electrodo de referencia y el extremo de la placa proporcionando un conector de borde.

5 Características de los electrodos de enzimas

Un sensor de enzimas comprende un sistema de tres electrodos que incluye un electrodo de trabajo, de referencia y un contraelectrodo. El electrodo de trabajo incluye una membrana compuesta que se deposita sobre una superficie en contacto con un filamento conductor, un filamento de platino por ejemplo. La membrana compuesta comprende dos o
10 más capas, que incluyen una capa enzimática y una membrana interna de rechazo de interferencias, por ejemplo.

La fabricación del sensor puede basarse en técnicas de proyección de disolventes notorias en la técnica. El grosor de las capas puede controlarse dispensando volúmenes precisos de solutos que se encuentran en las capas. La membrana polimérica que comprende una membrana interna de rechazo de interferencias, que se describe en detalle más adelante,
15 se forma sobre el electrodo de filamento mediante la electropolimerización de monómeros electropolimerizables, tal como se describe más adelante.

Haciendo referencia a las Fig. 3A y 3B, un electrodo de enzimas 59, tal como un electrodo de glucosa, se localiza en el canal de flujo 56 de la tarjeta de sensores 50. La Fig. 3B es una sección agrandada de la Fig. 3A. El electrodo enzimático 59 incluye una membrana compuesta de tres capas 60 que comprende, desde el canal de flujo 56 al filamento 57, una membrana exterior 51 adyacente al canal de flujo 56, una capa enzimática 53, localizada entre la membrana exterior 51 y una membrana interna de rechazo de interferencias 55 adyacente a un filamento 57. El electrodo enzimático 59 se pone en contacto con la muestra mientras la muestra fluye a lo largo del canal de flujo 56 y sobre la membrana externa 51 del electrodo de las enzimas 59. La señal eléctrica generada por el electrodo de las
25 enzimas 59 es transportada por el filamento 57 y se transfiere al conductor 61 que está en comunicación eléctrica con el ensamblaje de electrodos 10 que se muestra en la Fig. 2.

Haciendo referencia todavía a las Figs. 3A y 3B, la membrana exterior 51 del electrodo de enzimas 59 generalmente funciona controlando la difusión del analito a la capa de enzimas 53 y protegiendo los otros componentes del electrodo 59 del contacto directo con los constituyentes de la muestra del canal 56. En un ejemplo, la membrana exterior 51 es una membrana polimérica que comprende uno o más compuestos con base de poliuretano. La capacidad hidrófoba de la membrana se determina mediante la mezcla de especies de compuestos poliméricos. Al aumentar la capacidad hidrófoba de la membrana, aumenta la capacidad del oxígeno de difundirse a través de la membrana a la vez que disminuye la capacidad de los analitos de difundirse a través de la membrana. La composición preferida de la membrana externa 51 es la concentración a la que existe un equilibrio óptimo entre las velocidades de difusión del oxígeno, que es un sustrato necesario de las reacciones enzimáticas, y el analito (lactato en un sensor de lactato, o creatinina y creatina en un sensor de creatinina, y glucosa en un sensor de glucosa) en condiciones típicas. Puede ser preferible una membrana exterior muy hidrófoba porque el oxígeno se difunde rápidamente a la capa de enzimas 53 y así no se convertirá en un factor limitante para la reacción enzimática. La membrana exterior 51 puede tener un grosor
40 preferible de 8 a 15 micrómetros y podría funcionar con un grosor en el intervalo de 5 a 30 micrómetros.

La membrana exterior 51 está compuesta por una mezcla de poliuretanos con diferentes niveles de captación de agua. Una composición típica de la membrana exterior 51 es 77% de poliuretano con base de poliéter alifático con 20% de captación de agua, 17% de poliuretano con base de poliéter alifático con 60% captación de agua, y 6% de poliuretano con base de poliéter alifático con 3% de captación de agua. La membrana exterior 51 con esta composición puede producirse dispensando un volumen de una solución de 3,0 ml de disolvente de ciclohexanona, 17,0 ml de disolvente de tetrahidrofuran, 1,08 g de poliuretano con 20% de captación de agua, 0,24 g de poliuretano con 60% de captación de agua y 0,08 g de poliuretano con 3% de captación de agua sobre la capa de enzimas 53 de la membrana compuesta 60.
50

Haciendo referencia a la Fig. 3B, la membrana exterior 51, que está dispuesta en forma de capa directamente sobre y en contacto con la capa de enzimas 53, actúa preservando la capa de enzimas 53, al evitar la exposición de una enzima 49 embebida en la capa de enzimas 53, y la matriz estabilizadora en la que está embebida la enzima 49, de las proteínas degradadoras de los compuestos de la muestra del canal 56. Del mismo modo, la membrana exterior 51 evita la difusión de la enzima 49 de la capa de enzimas 53. La membrana exterior 51 también actúa controlando la velocidad de difusión del analito (por ejemplo glucosa, lactato, creatina y creatinina) y oxígeno de la muestra a la capa de enzimas 53. Si no se puede controlar la difusión del analito y el oxígeno a la capa de enzimas 53 se producen mediciones no lineales e inexactas de analito de la muestra.
55

Haciendo referencia todavía a la Fig. 3B, la capa de enzimas 53 del sensor de glucosa o lactato, incluye al menos una especie de enzima 49 necesaria para la reacción enzimática en la que participa el analito específico que está estabilizado en la matriz de la capa de enzimas 53. En un ejemplo, la enzima 49 incluye al menos una proteína con actividad enzimática. En otros ejemplos, la enzima 49 incluye una mezcla de varias enzimas, proteínas y estabilizantes, por ejemplo.
60

En un ejemplo, la enzima proteínica 49 glucosa oxidasa o lactato oxidasa está embebida en la capa de enzimas 53 y crea un electrodo 91 y 92 sensible específicamente a la glucosa y lactato, respectivamente, presentes en la muestra. El electrodo de glucosa 91 incluye glutaraldehído y glucosa oxidasa en la capa de enzimas 53.
65

El electrodo de glucosa puede incluir 0,10 g de glutaraldehído por gramo de glucosa oxidasa. En un ejemplo particular, el electrodo de lactato 92 incluye al menos glutaraldehído, albúmina de suero bovina, un estabilizador enzimático, tal como, por ejemplo, polietilenimina y lactato oxidasa en la capa de enzimas 53. En un ejemplo, el electrodo de lactato 92 incluye 45% de lactato oxidasa en peso, 45% de albúmina de suero bovina en peso, 5% de polietilenimina (un estabilizante de enzimas) en peso y 5% de glutaraldehído en peso, por ejemplo. Las fracciones en peso de lactato oxidasa y de albúmina de suero bovina pueden variar. El porcentaje en peso de polietilenimina de la capa de enzimas puede variar de 1 a 20, y el porcentaje en peso de glutaraldehído puede variar de 1 a 10. Otros estabilizantes de enzimas incluyen, pero sin limitación, compuestos poliónicos tales como polipropilenimina, poli(N-vinilimidazol), polialilamina, polivinilpiridina, polivinilpirrolidona, polilisina, protamina y sus derivados.

Todavía en otro ejemplo, la capa de enzimas 53 incluye una mezcla de varias enzimas, proteínas, y estabilizantes embebidos en la matriz de la capa de enzimas 53 para la detección específica de creatinina y creatina o creatina sola. Las mezclas de enzimas se usan en el electrodo de creatinina 116 y en el electrodo de creatina 118. La creatina sola se detecta con el electrodo de creatina 118. En un ejemplo particular, el electrodo de creatinina 116 incluye una mezcla de 5% de creatininas en peso, 55% de creatinasa en peso, 30% de sarcosina oxidasa en peso, 5% de poli(N-vinilimidazol) (un estabilizante de enzimas) en peso y 5% de glutaraldehído en peso, por ejemplo. Las fracciones en peso de creatininas, creatinasa y sarcosina oxidasa del electrodo de creatinina y las fracciones en peso de creatinasa y sarcosina oxidasa en el electrodo de creatina pueden variar. El porcentaje en peso de poli(N-vinilimidazol) en los electrodos de creatinina y creatina puede variar, por ejemplo, del 1% al 20%, y el porcentaje en peso de los electrodos de creatinina y creatina también puede variar por ejemplo del 1% al 10%. También pueden usarse estabilizantes poliónicos, distintos del poli(N-vinilimidazol), para estabilizar la mezcla de enzimas. Los ejemplos de compuestos poliónicos incluyen, pero sin limitación, polietilenimina, polipropilenimina, polialilamina, polivinilpiridina, polivinilpirrolidona, polilisina, protamina, y sus derivados.

En un ejemplo de los electrodos de glucosa, lactato, creatina y creatinina, la capa de enzimas 53 está constituida por una matriz reticulada de enzimas, estabilizantes tales como polietilenimina o poli(N-vinilimidazol), y otras proteínas tales como albúmina de suero bovina. La reticulación de las enzimas, estabilizantes, y otras moléculas proteínicas se logra, por ejemplo, con glutaraldehído, un dialdehído. También pueden usarse otros agentes de reticulación tales como 1,4-diisocianatobutano, un diisocianato, 1,2,7,8-diepoxioctano y 1,2,9,10-diepoxidecano, ambos diepóxidos. La reticulación de las moléculas de enzima y el uso de los estabilizantes poliónicos y de proteínas inertes en la matriz enzimática puede extender de forma significativa la vida útil en depósito y la vida útil de los electrodos de enzimas.

Todavía en otro ejemplo relacionado con los electrodos de creatinina 116 y creatina 118, la capa de enzimas 53 incluye una mezcla de varias enzimas, proteínas, pero carece de estabilizante de enzimas. El electrodo de creatinina 116 incluye una mezcla de 30% de creatininas, 30% de creatinasa, 30% de sarcosina oxidasa y 10% de glutaraldehído (porcentajes en peso). El electrodo de creatinina 118 incluye una mezcla de 45% de creatinasa, 45% de sarcosina oxidasa y 10% de glutaraldehído (porcentajes en peso). La capa de enzimas 53 puede tener un grosor en el intervalo de 1 a 10 micrómetros, preferiblemente 2-5 micrómetros medidos desde la superficie interior de la membrana exterior 51 a la superficie exterior de la membrana interna de rechazo de interferencias 55.

En referencia a las Figs. 3A y 3B, el electrodo de enzimas 59 también incluye una membrana interna de rechazo de interferencias 55 que es una membrana polimérica que puede restablecerse en contacto íntimo con el filamento 57. La membrana interna de rechazo de interferencias 55 puede formarse mediante la polimerización de monómeros electropolimerizables. Los monómeros electropolimerizables adecuados incluyen benzotiofeno, fenilendiaminas y fenoles, por ejemplo. La membrana interna de rechazo de interferencias 55, que habitualmente tiene menos de un micrómetro de grueso, aísla o protege el filamento 57 de los compuestos de la muestra, especialmente de los compuestos oxidables que interfieren con el funcionamiento adecuado del electrodo de enzimas.

En un ejemplo, la membrana polimérica que comprende la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se forma mediante la aplicación de un potencial eléctrico al filamento 57 en presencia de monómeros electropolimerizables. Los monómeros en presencia de un potencial eléctrico se polimerizan sobre el filamento 57 formando una membrana interna de rechazo de interferencias polimérica 55 que aísla eléctricamente sobre el filamento 57 que se ilustra en las Figs. 3A y 3B. El peróxido de hidrógeno que se genera por la actividad de la enzima sobre el electrodo de enzimas de un analito específico, pasa a través de los poros de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 y se pone en contacto con el filamento 57 provocando la generación de una señal eléctrica en el filamento 57. El menor tamaño de los poros de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 restringe la interferencia de los compuestos que se encuentran en la muestra, que son mayores que el peróxido de hidrógeno, tales como el paracetamol, ácido ascórbico, ácido úrico, cisteína y otros compuestos electroactivos que son mayores que el H_2O_2 y evita que reduzcan la exactitud del electrodo 59 del sensor electroquímico.

De acuerdo con la invención, la membrana interna de rechazo de interferencias 55 puede regenerarse repetidamente para restaurar su función. Tras la exposición repetida a muchas muestras, la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se degrada o contamina con los compuestos presentes en la muestra. La degradación de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se caracteriza por fisuras en la estructura polimérica en la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Dichas fisuras impiden que la membrana interna de rechazo de interferencias 55 proteja el filamento 57 para que los compuestos presentes en la muestra analítica, por ejemplo, ácido ascórbico, paracetamol, y ácido úrico que interfieren se pongan en contacto con el filamento 57 y alteren la señal eléctrica detectada por el filamento 57.

Para evitar los problemas inducidos por la degradación de la membrana interna de rechazo de interferencias 55, puede combinarse un monómero electropolimerizable con una solución de calibrado, tal como la solución AO contenida en el envase previamente empaquetado 23 del sistema de sensores electroquímicos 8 que se ilustra en la Fig. 1, por ejemplo, para usar en la nueva polimerización y restauración de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. La polimerización del monómero se produce cuando una solución que contiene el monómero AO se bombea desde un envase previamente empaquetado y se pasa a través del canal de flujo 56 de la tarjeta de sensores 50 durante la aplicación de un potencial eléctrico generado por el aparato de sensores electroquímicos 8 que se ilustra en la Fig. 1 al filamento 57. Durante el proceso de polimerización, el monómero de la solución de calibrado del canal de flujo 56 se difunde a través de la membrana exterior 51 y la capa de enzimas 53 hasta que alcanza la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Una vez está en la membrana interna de rechazo de interferencias 55, los monómeros presentes en la solución penetran en las áreas de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 que ha perdido la integridad estructural debido a degradación, grietas o roturas, y actúa de mediador en la restauración de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 polimerizando para rellenar la estructura dañada de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. El monómero se expone a un potencial eléctrico generado a partir de una fuente eléctrica y se transfiere al filamento 57 de las áreas donde se ha perdido la integridad de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. El potencial eléctrico polimeriza el monómero sobre la estructura polimérica existente de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 en las áreas dañadas de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 hasta que se restaura la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Una vez se ha restaurado la membrana interna de rechazo de interferencias 55, se renuevan las propiedades aislantes de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 y el monómero presente en la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se aísla del potencial eléctrico del filamento 57. Esta restauración autolimitada de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se repite automáticamente cada 24, por ejemplo. La restauración autolimitada automática regular de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 asegura la exactitud del sensor de enzimas 59. Pueden emplearse ciclos de restauración más o menos frecuentes de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 para hacer frente a diferentes situaciones.

El potencial eléctrico para el proceso de polimerización generado por el sistema de sensores electroquímicos 8 que se ilustra en la Fig. 1 se aplica al filamento 57 en el intervalo de 0,1 a 0,8 V comparado con el electrodo de referencia instalado 106, durante de aproximadamente 30 segundos a una hora. Un potencial de polarización óptimo es 0,5 V comparado con el electrodo de referencia instalado 106, durante 3 minutos, repetido cada 24 horas. El potencial eléctrico es demasiado bajo si no provoca la reacción de polimerización y el potencial eléctrico es demasiado alto si provoca la hidrólisis del agua y la formación de gas en la membrana interna de rechazo de interferencias 55 provocando así daños al electrodo de enzimas 59.

35 Restauración de la membrana interna (de rechazo de interferencias) de la membrana compuesta

El procedimiento para restaurar la función de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de la membrana compuesta 60 del sensor de enzimas 59 se ilustra, por ejemplo, en la Fig. 3B. Esta incluye la restauración de la integridad y funcionamiento adecuado de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de los electrodos de enzimas. En la membrana compuesta 60, que se ilustra en la Fig. 3B, la restauración de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 se produce mediante la polimerización *in situ* de los monómeros electropolimerizables sobre la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de la membrana compuesta 60.

En un ejemplo, los monómeros electropolimerizables están en solución en la solución de calibrado AO del envase 23 que se ilustra en la Fig. 1. La solución de calibrado AO se pasa a través del canal de flujo 56 de la tarjeta de sensores 50 que se ilustra en la Fig. 3A. La solución AO con los monómeros electropolimerizables entran en contacto con el electrodo de enzimas 59 de la membrana exterior polimérica 51 de la membrana compuesta 60. Los monómeros electropolimerizables se difunden primero a través de la membrana exterior 51 y después a través de la capa de enzimas 53 de la membrana compuesta 60, hasta que los monómeros alcanzan la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de la membrana compuesta 60. Se aplica un potencial eléctrico superior a la línea de base, 0,5 V comparado con el electrodo de referencia instalado, al filamento 57 durante 3 minutos, por ejemplo, provocando que los monómeros electropolimerizables se polimericen sobre la estructura polimérica existente de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de la membrana compuesta 60. Tras la polimerización de la membrana interna de rechazo de interferencias 55, se restauran las propiedades aislantes de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Debido a que el resto de los monómeros electropolimerizables de la solución de calibrado no están ya expuestos al potencial eléctrico, la polimerización de los monómeros ya no puede producirse.

La amplitud del potencial eléctrico y el periodo de tiempo del potencial elevado suficiente para la restauración de la membrana interna de rechazo de interferencias 55 de la membrana compuesta 60 se determina según la configuración específica del electrodo 59. La composición y la geometría particular del electrodo afecta a la amplitud del potencial eléctrico y el periodo de tiempo necesario para la restauración completa de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Una membrana compuesta 60 de una composición o geometría que ralentiza la difusión de los monómeros desde el canal de flujo 56 a la membrana interna de rechazo de interferencias 55 hará que sea necesaria una mayor amplitud de polimerización durante un tiempo más largo. Una polarización de aproximadamente 0,1 a 0,8 V comparado con un electrodo de referencia instalado aplicado durante aproximadamente de 30 segundos a 1 hora es adecuado para una restauración al menos parcial de la membrana interna de rechazo de interferencias 55. Una vez se ha completado la restauración de la membrana interna de rechazo de interferencias 55, la solución AO del canal de flujo 56 se sustituye por la solución de enjuague 17 y el potencial eléctrico vuelve al de línea de base.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para restaurar las propiedades funcionales de un sensor electroquímico, comprendiendo dicho procedimiento:

(a) proporcionar un sistema de sensores electroquímicos, comprendiendo dicho sistema de sensores electroquímicos:

una tarjeta de sensores electroquímicos (50) que comprende al menos un sensor electroquímico, comprendiendo dicho sensor electroquímico un electrodo (59) y una membrana de composite (50) comprendiendo dicha membrana compuesta una membrana polimérica interna (55) que tiene una o más áreas dañadas;

un aparato con sensor electroquímico (8) en contacto eléctrico con la tarjeta de sensores electroquímicos, estando el aparato con sensor electroquímico configurado para medir señales eléctricas de la tarjeta de sensores electroquímicos y para proporcionar un potencial eléctrico al sensor electroquímico; y

un reservorio (17) que contiene un monómero electropolimerizable en una solución en comunicación fluida con la tarjeta de sensores electroquímicos;

(b) poner en contacto el sensor electroquímico con la solución; y

(c) aplicar un potencial eléctrico de suficiente potencia y suficiente duración para que provoque que al menos una porción del monómero electropolimerizable de la solución se polimerice sobre dichas una o más áreas dañadas de la membrana polimérica interna.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además: añadir el monómero electropolimerizable a una solución de calibrado para formar una solución de monómero electropolimerizable.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que dicho potencial eléctrico comprende un intervalo de 0,1 V a 0,8 V con respecto a un electrodo instalado de referencia de Ag/AgNO₃ (106), y en el que dicho intervalo de potencial eléctrico se aplica durante de 30 segundos a una hora.

4. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende además: aplicar un potencial eléctrico adicional al electrodo de potencia suficiente y duración suficiente para eliminar al menos una porción de los agentes de interferencia de dicha membrana polimérica interna.

5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el potencial eléctrico adicional se aplica en el intervalo de 0,1 V a 0,8 V con respecto a un electrodo instalado de referencia de Ag/AgNO₃ y durante un tiempo de de 10-200 segundos.

6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las etapas (b) y (c) están automatizadas y se repiten regularmente.

7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las etapas (b) y (c) se repiten cada 24 horas.

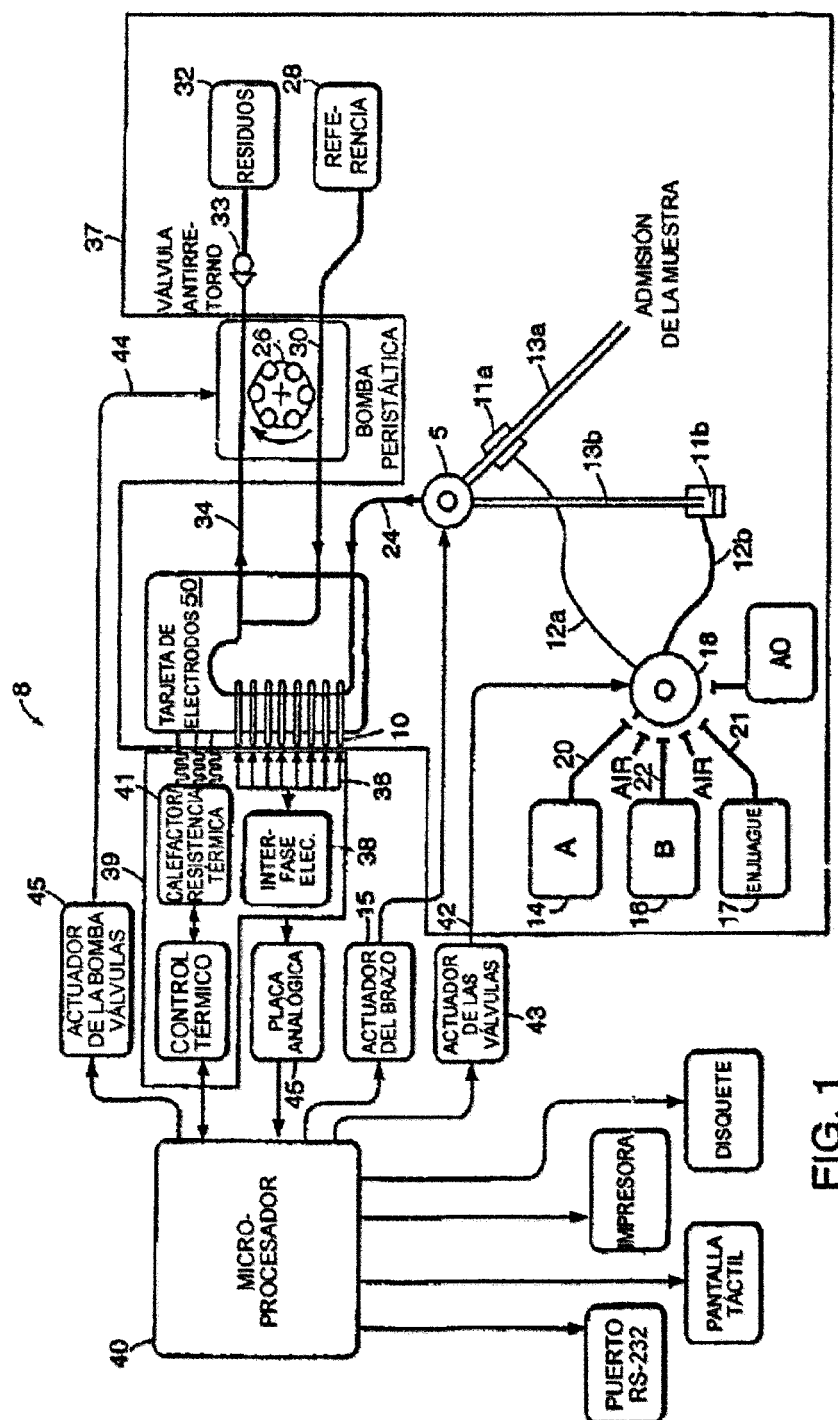


FIG. 1

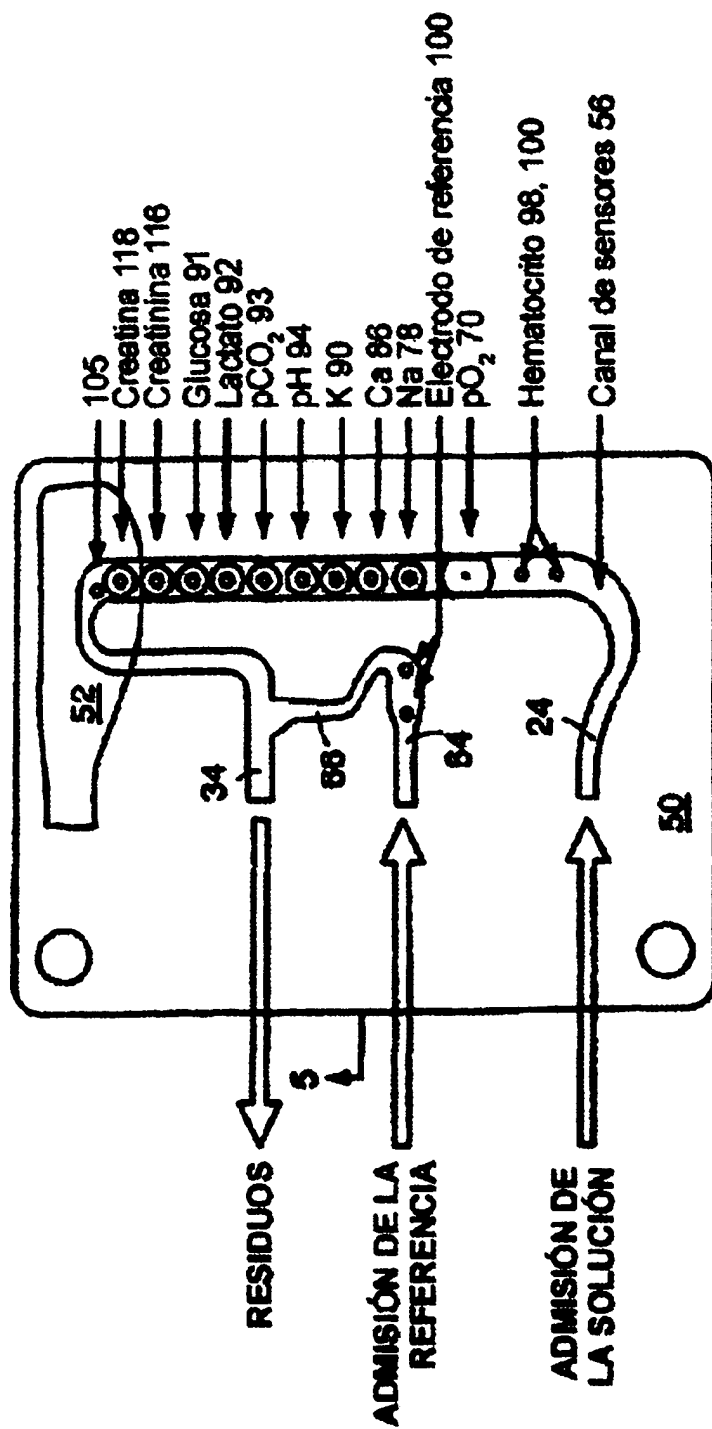


FIG. 2

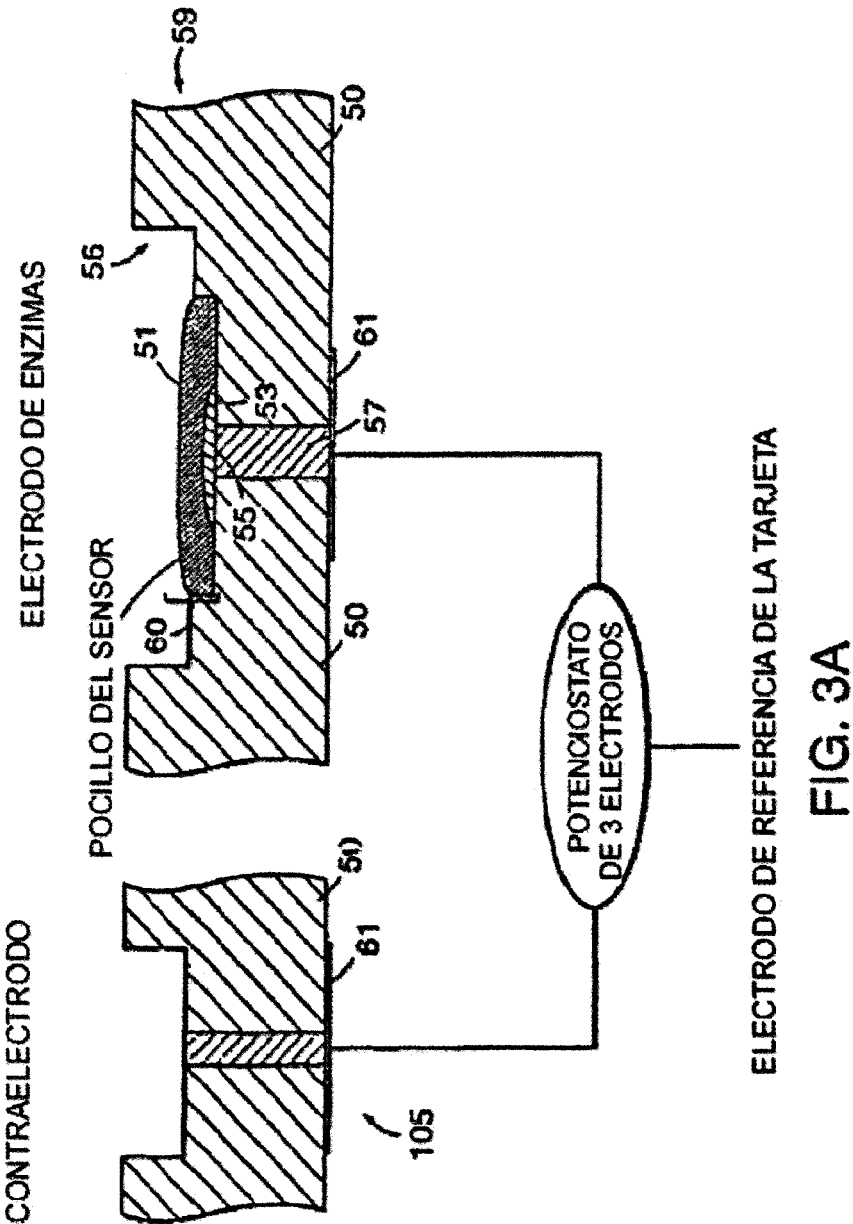


FIG. 3A

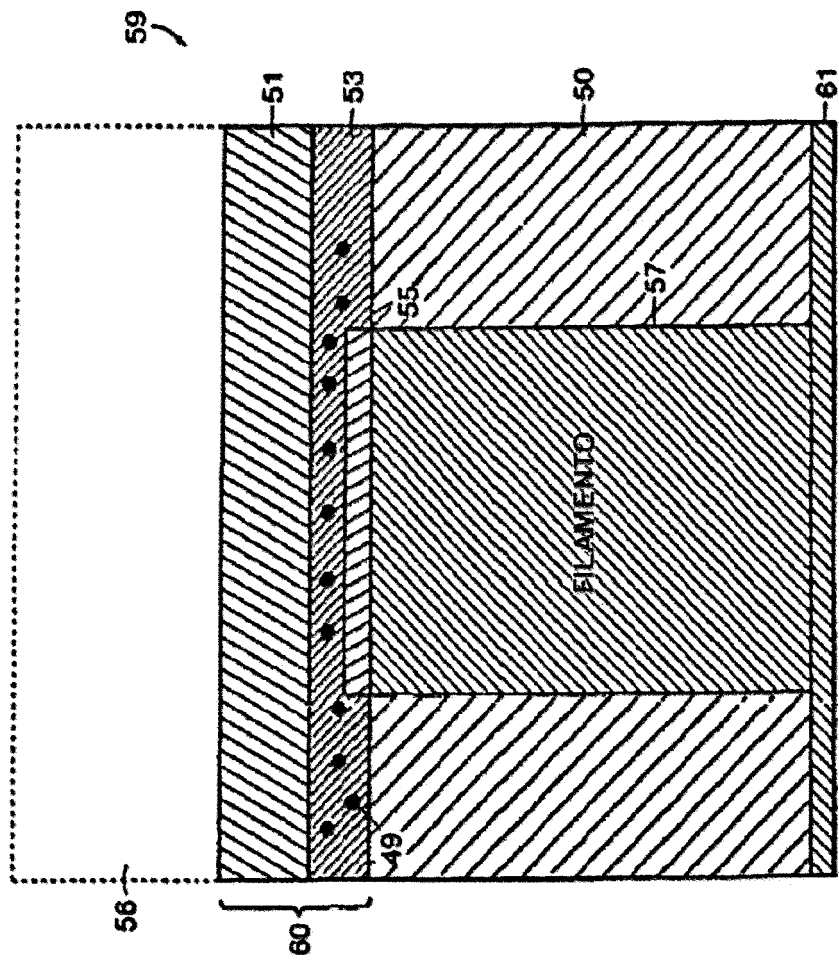


FIG. 3B