

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4805259号  
(P4805259)

(45) 発行日 平成23年11月2日(2011.11.2)

(24) 登録日 平成23年8月19日(2011.8.19)

(51) Int.Cl. F I  
**GO 1 N 27/416 (2006.01)** GO 1 N 27/46 3 O 1 Z  
**GO 1 N 27/327 (2006.01)** GO 1 N 27/30 3 5 3 Z  
 GO 1 N 27/46 3 3 8

請求項の数 9 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2007-516814 (P2007-516814)	(73) 特許権者	507021757
(86) (22) 出願日	平成17年6月16日 (2005.6.16)		バイエル・ヘルスケア・エルエルシー
(65) 公表番号	特表2008-503728 (P2008-503728A)		Bayer HealthCare LLC
(43) 公表日	平成20年2月7日 (2008.2.7)		C
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/021708		アメリカ合衆国、ニューヨーク 1059
(87) 国際公開番号	W02006/007451		1、タリータウン、ホワイト・ブレインズ
(87) 国際公開日	平成18年1月19日 (2006.1.19)		・ロード 555
審査請求日	平成20年6月16日 (2008.6.16)	(74) 代理人	100078662
(31) 優先権主張番号	60/580,407		弁理士 津国 肇
(32) 優先日	平成16年6月17日 (2004.6.17)	(74) 代理人	100131808
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 柳橋 泰雄
		(72) 発明者	ブラウン, ダニエル・ブイ
			アメリカ合衆国、インディアナ 4651
			4、エルクハート、ローンデール・ロード
			1720

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサの不完全な充填の検出

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

作用電極及び対電極と、酵素及び媒介物とを有する電気化学的バイオセンサの不完全な充填を検出する方法であって、

(a) 前記作用電極と前記対電極との間に一定の電位を所定期間にわたって印加する工程、

(b) 前記作用電極と前記対電極との間を通過する電流を計測する工程、

(c) 工程(b)で計測された電流の値を工程(a)の前記所定期間中の所定の時機で収集する工程、

(d) 工程(c)で収集された電流の値によって画定される線の傾きを線形回帰によって決定する工程、及び

(e) 工程(d)で決定された線でプラスの傾きを示すセンサを充填が不完全なものとして報告する工程、

を含む方法。

【請求項2】

(f) 工程(c)で収集されたデータの相関係数を決定する工程、及び

(g) 工程(d)で決定された線でマイナスの傾きを示すが、工程(f)で決定された相関係数が所定値に満たないセンサを充填が不完全なものとして報告する工程、

をさらに含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

10

20

前記所定値が約 0.80 ~ 約 0.95 である、請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

前記収集された値が、工程 (a) の前記所定期間の第二半期の間に得られる、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

工程 (c) の前記収集された値が少なくとも 5 個である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】

工程 (c) の前記収集された値が少なくとも 6 個である、請求項 5 記載の方法。

【請求項 7】

工程 (a) の前記所定期間が約 2 ~ 約 10 秒である、請求項 1 記載の方法。

10

【請求項 8】

工程 (a) の前記所定期間が約 10 秒である、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

前記バイオセンサが全血のグルコース濃度を計測する、請求項 1 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は一般に医療装置の分野に関する。

【0002】

20

発明の背景

より具体的には、本発明は、体液中の分析対象物の量、特に全血試料中のグルコースを計測するために使用されるバイオセンサに関する。このような計測を実施する際には光学的方法を使用することが多いが、本発明は、電気化学的バイオセンサにおける改良に関する。

【0003】

本明細書に記載する発明の方法は、コレステロール、尿素、クレアチニン及びクレアチンをはじめとする他の分析対象物の計測にも応用することができるが、全血中のグルコースの計測を特に対象とする。本発明はまた、一定又は可変性の電位を、血液試料と接触した電極に印加し、得られた電流を短期間にわたって計測したのち、試料中の分析対象物の量と相関させるものである電気化学的計器に関する。このような計器は、試料の反応から発生する全電流を計測する、電量分析的と呼ばれる計器とは対照的に、電流測定的と呼ばれる。電流測定計器は、試料を酸化させる際に発生する全電流を計測する計器に比べて短時間のうちに試験計測を実施するという点で有利である。

30

【0004】

電流測定タイプのグルコースバイオセンサは、血液試料と接触した対の電極の間に一定の電位が印加されたとき発生する電流を計測する。計測される電流は、はじめ高い値にあり、次いで減少し、還元された媒介化合物が再酸化のために電極の一方へと拡散することに関連する一定の値に近づく。所定の時機で、計測された電流を使用して試料のグルコース含量を測定する。

40

【0005】

電極は一般に作用電極（すなわち、媒介物が酸化されるところの電極）及び対電極として表される。このようなバイオセンサのための多くの設計が、たとえば米国特許第 6,531,040 号公報に記載されている。電極は、試料中のグルコースを酸化させる試薬、たとえばグルコースオキシダーゼ及び還元された酵素を再酸化させる媒介物を含有する固体層と接触している。還元された媒介物そのものは、上記のように作用電極で再び酸化されることにより、試料中のグルコースの量とで事前に相関させてある計測可能な電流を発生させる。この反応は以下のステップによって表すことができる。

グルコース + E<sub>oxid</sub> → E<sub>red</sub> + 酸化グルコース (グルコノラクトン)

E<sub>red</sub> + n Med<sub>oxid</sub> → n Med<sub>red</sub> + E<sub>oxid</sub>

50



【0006】

式中、 $E_{\text{oxid}}$ 及び $E_{\text{red}}$ は、酵素の酸化還元中心の酸化形態及び還元形態であり、 $\text{Med}_{\text{oxid}}$ 及び $\text{Med}_{\text{red}}$ は、媒介物の酸化形態及び還元形態である。

【0007】

グルコースを計測する場合、酵素がグルコースオキシダーゼであり、媒介物がフェリシアン化物であることができる。他の分析対象物の計測には、適当な酵素及び媒介物を用いる。たとえば、コレステロールは、コレステロールエステラーゼ及びフェリシアン化物を使用して計測することができ、アルコールは、アルコールオキシダーゼ及びフェニレンジアミンを使用して計測することができる。酵素、媒介物及び分析対象物の一般的な組み合わせを表1に一覧にして示す。

10

【0008】

【表1】

表1

分析対象物	酵素	媒介物
グルコース	グルコースオキシダーゼ	フェリシアン化物
グルコース	グルコースデヒドロゲナーゼ	フェリシアン化物
コレステロール	コレステロールオキシダーゼ	フェリシアン化物
乳酸	乳酸オキシダーゼ	フェリシアン化物
尿酸	ウリカーゼ	フェリシアン化物
アルコール	アルコールオキシダーゼ	フェニレンジアミン

20

【0009】

血液試料中のグルコースを制限的な反応成分にするため、試薬は、必要な量よりも多く供給される。センサ中の血液の量があるセンサと別のセンサとで実質的に同じであり、各センサが均一に充填されることが重要である。しかし、バイオセンサの充填不足が、血中グルコースの一貫して正確な計測を保証する際に重大な問題を呈するほどの頻度で起こることがわかった。明らかに、糖尿病状態をかかえた人が自らの血中グルコースを頻りに計測しなければならぬならば、そのような計測が正確かつ信頼しうるものであることは死活問題である。したがって、電流測定計器は、バイオセンサが充填不足であり、不正確な結果を出している場合を検出して、その結果を破棄し、試験をやり直すことができるか、計測された電流を別のアルゴリズムによって調節することができるようにすることが望ましい。

30

【0010】

米国特許第5,620,579号及び第5,653,863号で取り扱われているもう一つの問題は、バイオセンサが使用される前の貯蔵寿命期間中の媒介物の早期還元に関する。試料がそのようなセンサに塗布されるならば、還元された媒介物は作用電極で再び酸化され、さらなるグルコースが試料中に存在するかのように見える。ひいては誤った高い値を出す。特許権者らは、初期のプラス電位パルスを短期間だけ印加して早期還元された媒介物を再び酸化させたのち、試料の試験を開始することを提案した。このような初期パルスは「燃え切り期間」と呼ばれている。特許権者らはさらに、センサ中の還元された媒介物によって取り込まれるバイアスを考慮して修正する方法を提案した。本発明は、燃え切り期間中に得られる、バイオセンサの充填に関する場合のデータを取り扱う。

40

【0011】

米国特許第6,531,040号には、改良された電流測定バイオセンサが記載されている。一つの態様で、バイオセンサは、試料による不完全な充填が発生したことを示す信

50

号を発することを意図したものである。これは、対電極のサブエレメントを作用電極の上流に設けることによって達成される。すなわち、試料は、毛管作用によってセンサに流れ込むと、まず作用電極に達し、次いで対電極に達する。充填不足状態が発生すると、電流は、正常時に予想されるよりもはるかに弱くなり、充填不足状態が発生したことを示すものと認識される。いわゆる「読み取り」及び「燃え切り」期間中の電流の計測を使用して充填不足が発生したことを予測するもう一つの方法が記載されている。このような方法はまた、米国特許出願公開公報第2004/0154932号にも記載されている。

【0012】

電流測定センサにおいて一定の電位が作用電極と対電極との間に印加されたとき発生する電流  $v$  s 時間のプロットの一般的な記載が読者の理解に役立つかもしれない。

10

【0013】

一般に、作用電極と対電極との間に電位が印加され、血液又は対照溶液の液体試料がセンサに導入されると、その液体試料によって乾燥試薬が再び水和し、電流が流れ始めて、一般には、ピークまで増大したのち、通常は長さ約10秒の「燃え切り期間」にわたって低下する。先に論じたように、この期間中、先に還元されていた媒介物が再び酸化されて、誤って高いグルコース含量値に向けてバイアスを減らす。十分な量の試料が存在しないならば、試薬が部分的にしか反応に利用されないか、作用電極及び対電極が試料と完全には接触しないおそれがあるため、さらなる誤差が取り込まれ、ひいては「燃え切り」期間中の電流を減らすおそれもある。

【0014】

20

燃え切り期間が完了したのち、低めの電位又は電位なしでの静止期間が設けられ、その間、グルコース酸化が起こり、媒介物が還元される。そして、一定の電位が再び作用電極と対電極との間に印加され、一般には約10秒の短い期間、電流が計測される。この電流ははじめ高いが、低下し、試料のグルコース含量を測定するために使用される一定の値に近づく。先に引用した公開出願及び発行済み特許の方法では、電流の値は、燃え切り及び読み取り期間中の一定の時機にとられ、センサの充填不足を予測するために使用される。しかし、充填不足を予測する改善された方法が求められている。

【0015】

本発明者らは、以下に記載する、センサの充填不足を判定する改善された方法を見いだした。

30

【0016】

発明の概要

本発明は、電気化学的センサが不完全にしか充填されていないかを判定する方法を含む。バイオセンサの作用電極と対電極との間に電位がはじめに印加された期間（すなわち燃え切り期間）中に一連の電流値をとる。一連の電流値を通過する線形回帰によって決定される線の傾きを使用して、バイオセンサが充填不足であるかどうかを判定する。一連の電流値の相関係数を使用して判定をさらに精巧化する。

【0017】

一つの実施態様で、本発明の方法は、電極に電位が印加される「燃え切り」期間（たとえば約10秒）中に少なくとも5個の電流値を得る。好ましくは、センサが試料を充填された時点から5～10秒間であることができる、燃え切り期間の第二半期から6個の電流値を選択する。これらの電流値に基づいて時間の関数として線形回帰を計算する。

40

【0018】

線形回帰によって決定された線の傾きがプラスであることがわかると、充填不足状態を報告する。あるいはまた、傾きがマイナスであるが、相関係数が、センサ性能に対する充填不足の影響に関する試験から導出された所定値に満たないならば、同じく充填不足状態を報告する。相関係数の所定値は約0.80～約0.95であろう。一つの好ましい実施態様では、相関係数は0.95である。

【0019】

一つの実施態様では、本発明の方法は、全血のグルコース含量の電流測定計測に適用さ

50

れる。

【 0 0 2 0 】

例示する実施態様の詳細な説明

好ましい実施態様の説明

以下、本発明を、商業的重要な方法である、全血のグルコース含量の計測に適用する場合で説明する。しかし、本発明の方法は、電気化学的センサの充填不足の問題が起こりがちである、他の分析対象物、たとえばコレステロール、尿素、クレアチニン及びクレアチンを尿、唾液及び間質液を含む生物学的流体中に見いだす場合にも他の用途がある。

【 0 0 2 1 】

電気化学的バイオセンサ

本発明は、従来技術で開示されている多くの中の特定のバイオセンサ設計に限定されない。図 1 及び 2 で例示する、使用することができるバイオセンサの例は米国特許第 6 , 5 3 1 , 0 4 0 号に記載されている。

【 0 0 2 2 】

図 1 には、バイオセンサ 1 0 が分解図で示されている。このバイオセンサは、絶縁ベース 1 2 を含み、その上に電気導体パターン 1 4、電極パターン（部分 1 6 及び 1 8）、絶縁（誘電）パターン 2 0 及び反応層 2 2 を順にプリント（通常はスクリーンプリント技法によって）し、カバー層 2 8 によって完成させるものである。カバー層 2 8 と試薬層 2 2 との間に形成する毛管 3 0 が流体試料のための流路を提供する。このバイオセンサは、図 2 では、ベース上のすべての要素が同じ面にある状態で示されている。

【 0 0 2 3 】

反応層 2 2 の機能は、流体試料中のグルコース又は別の分析対象物とで化学反応を起こさせ、電流を発生させることであり、その電流が計測され、存在する分析対象物の量とで相関させられる。反応層 2 2 は一般に酵素及び電子受容体を含有する。酵素が分析対象物と反応して電子を発生させ、その電子が電子受容体によって作用電極の表面に運ばれる。電子受容体は、分析対象物と酵素との間の反応に应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もできる。グルコースと反応させるために使用することができる一つの酵素はグルコースオキシダーゼであり、媒介物はフェリシアン化物塩である。

【 0 0 2 4 】

電極パターンの二つの部分 1 6、1 8 が、分析対象物濃度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を提供する。図示する設計の特徴は、対電極の大部分が作用電極の露出部分 1 6 a よりも下流（流路に沿って流体が流れる方向に関して）に位置するように作用電極及び対電極が構成されていることである。

【 0 0 2 5 】

しかし、対電極サブエレメント 1 8 a が作用電極の上寄り要素 1 6 a よりも上流に位置して、作用電極を完全に覆うには不十分な量の試験流体試料（たとえば全血試料）が毛管空間に入ったとき、全血試料の導電性のおかげで対電極サブエレメント 1 8 a と作用電極の露出部分 1 6 a との間に電氣的接続が形成するようになっている。しかし、全血試料との接触に利用可能な対電極の面積は非常に小さいため、電極間、ひいては電流検出器には非常に弱い電流しか通過することができない。受信された信号が一定の所定値に満たない場合にエラー信号を発するように電流検出器をプログラムすることにより、センサ装置は、不十分な血液がセンサのキャピティに入ったということ及びもう一度試験を実施するか、もっと多くの血液を加えるべきであるということユーザに知らせる。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 1 8 a の面積は一般に、作用電極の面積よりも約 1 0 % 少なく、より具体的には約 6 % 少ない。このエレメントはできるだけ小さいべきである。

【 0 0 2 6 】

同じく米国特許第 6 , 5 3 1 , 0 4 0 号では、対電極サブエレメント 1 8 a 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り、反応層 2 2 を対電極サブエ

10

20

30

40

50

レメント 18 a と接触させないようにすることが考察されている。これは、サブエレメントから試薬を奪い、それによってサブエレメントが厳密な意味で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 18 の大部分と接触することができないときエラー条件が達成されるようにするであろう。サブエレメント 18 a は、対電極 18 と物理的に接続し、ひいてはその一部であるように示されているが、サブエレメント 18 a は、それ自体のコネクタを有し、センサが検出器への第三の接点を備えるならば、対電極の残り部分と物理的に切り離されていてもよい。

【 0 0 2 7 】

作用電極及び対電極は一般に、一般には厚さ約 14  $\mu\text{m}$  (0.00055 インチ) であり、一般には電気化学的活性炭を含有する電極インクを使用してプリントされる。導体インクの成分は、電極と、電極がセンサの尾ビレ状端部 26 の導電パターンとの接触を介して動作的に接続す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もできるが、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 24 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。図 2 を参照すると、計測される電流は、分析対象物濃度及び反応層 22 の面積に依存するだけでなく、分析対象物含有試料に暴露される作用電極 16 a の面積にも依存するため、画定区域はこのタイプの電気化学的測定で重要である。

【 0 0 2 8 】

典型的な誘電層 20 は、UV 硬化アクリレート改質モノマー、オリゴマー又はポリマーを含み、厚さ約 10  $\mu\text{m}$  (0.0004 インチ) である。誘電層は、湿分硬化性又は熱硬化性であってもよい。ふた又はカバー 28 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、流体試料を受けるための空間を形成するように適合されている。ふた 28 は、凹空間 30 を提供し、一般には、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 28 は、通気口 32 を設けるために穿孔され、シール処理でベース 12 に接合される。ふたとベースとは、ベース 12 とふた 28 とをまず整合させ、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互いにシールすることができる。接触は、ふたの平坦な非エンボス加工領域でのみ起こる。水晶又は他の振動子からの超音波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、米国特許第 5,798,031 号でより詳細に記載されている。

【 0 0 2 9 】

絶縁ベース 12 に適した材料としては、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) がある。ふたは一般に、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。

【 0 0 3 0 】

他の電気化学的センサを本発明で使用することもできる。グルコース濃度を形成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 HealthCare の Ascentia 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さらなる詳細は、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。他の電気化学的センサは、松下電器産業株式会社から購入することもできる。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。

【 0 0 3 1 】

電気化学的センサは、複数のセンサ又は試験要素を装填される血中グルコースセンサ分

10

20

30

40

50

与機器中に配置することができる。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。

#### 【0032】

##### 全血中のグルコースの計測

全血のグルコース含量を計測するための典型的なバイオセンサでは、本明細書では作用電極及び対電極と呼ばれる電極の対が、同時プリント又は同時付着によって一つの試薬層をコートされる。試薬層は一般に、いくつかのポリマー及び反応成分、すなわち、血液試料中のグルコースを酸化させる酵素及び媒介物（すなわち、酵素が酸化性グルコースによって還元されたのちその酵素を再び酸化させる酸化還元化合物）を含む。還元された媒介物は、グルコース酸化の酵素的反応からの電子を作用電極に運び、電極表面で再び酸化される。2個の電極間の印加電圧差により結果として、媒介物が電子を作用電極に通過させて、試料中のグルコースの量に比例する計測可能な電流を発生させる。バイオセンサはまた、多数の試薬層を含むこともできるし、電極ごとに、すなわち作用電極と対電極とで異なる一つ又は多数の試薬層を含むこともできる。

10

#### 【0033】

先に記載したように、電流測定センサが一定の電位を電極間に印加し、発生した電流が、非常に短くてもよい所定期間、たとえば5～10秒間にわたって計測されて、媒介物の早期還元のせいで存在するかもしれないバイアスを考慮して修正が加えられる。「燃え切り期間」の電位 $v$ と時間 $s$ の典型的なプロットが図3に示されている。図4は、結果として得られる電流 $v$ と時間 $s$ の典型的なプロットを示す。電流は、ピークまで上昇したのち低下し、その間、試料が試薬層を再び水和させて酸化及び還元反応が起こることを可能にする。この短い期間ののち、反応が起こることを許す静止期間中、電位の印加を解除するか、少なくとも減らす。次いで、電位を再び印加し、所定の「読み取り」期間（たとえば10秒）にわたって電流を計測する。酵素の付随的酸化の結果として還元された媒介物が存在するため、発生する電流は、はじめ高いが、次いで漸的に低下し、定常状態に近づく。短い「読み取り」期間の最後に記録された電流を使用して、読み取り期間の最後の電流と既知の濃度を有する試料に含まれるグルコースとの間の事前に得られている相関関係を介して血液試料のグルコース含量を測定する。

20

#### 【0034】

従来の方法は一般に、燃え切り及び読み取り期間中の所定の時点における電流を、センサの充填を示すものとして、たとえば米国特許出願公開公報第2002/0175075号に記載されている減衰因子 $k$ 及び読み取り/燃え切り比 $R/B$ として使用した。しかし、本発明者らは、バイオセンサの充填が完全ではない場合、特に燃え切り期間中の電流が、図4に示すものとは違って非常に不規則なパターンを示すということを見いだした。図5及び6は、本発明者らが発見した結果を示す。図5には、深刻なほどには充填不足ではなかったセンサを用いた一連の試験が併せてプロットされている。燃え切り期間の早期部分における小さなピークは別として、図4の典型的なパターンを認めることができる。図6は、センサを意図的に充填不足にした試験の同様なプロットを示す。図4の典型的なパターンは見えなくなり、最大電流が燃え切り期間の後半にシフトしている。これらのピークシフトは、試料液体がセンサ中に移動することによって作用電極の近くの媒介物濃度を増大させることに起因する。加えて、これらのピークシフトは、試薬再水和及び電流発生を遅らせる不十分な電極被覆から生じる。燃え切り期間中のいずれか一つの時機を充填不足の指標として選択することは、いくらか功を奏したということは経験的にわかるが、信頼しうる結果を出すのに十分ではない可能性が高いといわざるを得ない。いずれにしても、市販のグルコース計は、電流の視覚的な提示を提供せず、したがって、燃え切り期間中の電流の観測は可能であるが、センサの充填不足が発生していることをユーザに指示するのに実用的な方法であるとは思われない。本発明者らは、燃え切り期間中に収集されるデータを使用する市販のグルコースセンサで提供することができる新規な方法を発案する。

30

40

#### 【0035】

新規な方法は以下のステップを踏む。

50

## 【 0 0 3 6 】

1 . 燃え切り期間の後寄り部分で一連の所定時機に電流データを収集する。好ましくは、データは、燃え切り期間の開始ののち5、6、7、8、9及び10秒で収集する。

## 【 0 0 3 7 】

2 . 統計的方法により、第一のステップで得られたデータを通過する直線の最適な当てはめを線形回帰によって決定する。線の傾き及び相関係数を記憶する。

## 【 0 0 3 8 】

3 . ステップ2で決定された線の傾きがプラスであるならば、それは、センサの充填不足が発生していることを示し、ユーザは、グルコース計によってその旨を知らされる。傾きがプラスではないとしても、なおも充填不足のおそれがあるため、次のステップで相関係数を考慮する。

10

## 【 0 0 3 9 】

4 . ステップ2からの線の傾きがプラスではないが、相関係数が所定値に満たないならば、ユーザは、充填不足の可能性があり、新たなセンサを用いて手順をやり直すべきであることを告げられる。相関係数は、燃え切り期間中の充填不足の影響を評価するために実施される試験の結果から決定することができ、センサ設計に応じて異なることができる。相関係数の所定値は、約0.8～約0.95であると予想される。好ましくは、全血のグルコース含量を計測する場合、所定値は0.95である。

## 【 0 0 4 0 】

ステップ2からの線の傾きがプラスではなく、相関係数がその所定値以上、好ましくは0.95以上であるならば、読み取りステップの最後に記録された電流から試料のグルコース含量を計算する。相関係数の所定値に満たないならば、結果を拒絶する。

20

## 【 0 0 4 1 】

本発明の利点はセンサの充填不足を判定する場合の改善された精度にある。さらには、新規な方法は、比較的少数のデータ点を収集することのみを含み、それは、より精巧な計算ソフトウェアを要さず、マイクロプロセッサメモリの実質的な増大を要さず、バッテリー寿命を大きく減らさないため、現在のグルコース計の能力の範囲内である。以下さらに完全に記載する、本発明者らによって実施された試験では、米国特許第5,620,579号及び第5,653,863号の方法と比較して、この新規な方法が改善された結果を出すということがわかった。充填不足であることが既知である1373個のセンサで、新規な方法は充填不足の80%を予測した。対照的に、従来法は、充填不足の47%しか正しく特定できなかった。さらには、これらの試験では血液試料のグルコース含量は既知であったため、多くのセンサが、少なくとも15%高すぎるグルコース読み値を出すということがわかった。これらのうち、新規な方法は95%を拒絶し、従来法は60%しか拒絶しなかった。

30

## 【 0 0 4 2 】

本発明の方法を図7のブロック図で説明する。本方法を一般的に説明したのち、本発明者らによって実施された一連の試験に適用する場合で説明する。

## 【 0 0 4 3 】

図の左上から出発して、第一のステップは、一般には約400ミリボルトの電位をバイオセンサの作用電極と対電極との間に印加するステップである。そして、試料液体をバイオセンサに導入して、反応層がコンディショニングされて結果の精度を改善する燃え切り期間を開始させる。この燃え切り期間は約2～約10秒であることができ、グルコースセンサでは一般に約10秒が使用される。電流値ごとに発生した電流を時間とともに記録する。図6から思い起こされるように、センサが充填不足であるとき、電流データは、燃え切り期間中に不規則なパターンを示すことがある。本発明では、燃え切り期間の後半からのデータをセンサの充填不足を示すものとして選択することが好ましい。したがって、燃え切り期間の第二半期中に少なくとも5個のデータ点、特に少なくとも6個のデータ点をとることが特に好ましい。図5を精査することから理解されるように、バイオセンサが充填不足ではない場合、燃え切り期間データの第二半期を通して引かれる線(電流v s 時間

40

50

)はマイナスの傾きを有すると予想されるが、図6で燃え切り期間の第二半期を通して引かれた線は、マイナスである可能性は低く、プラスの傾きを有することができる。したがって、プラスの傾きを有する線は、充填不足のセンサを示すものとみなされ、明らかにマイナスの傾きを示さなかった線もまた、充填不足状態を示すおそれがある。充填不足のセンサを拒絶することが重要であると考えられるため、本発明で使用される規準は、充填不足のセンサが拒絶されない可能性を最小限にする。

#### 【0044】

電流  $v$  s 時間の選択されたデータを線形回帰に付して、データに最良に当てはまる直線を導出する。その線の傾きを、センサを充填不足として拒絶するための一次ベースとして使用する。すなわち、線がプラスの傾きを有する場合、センサは充填不足であると報告される。また、規準をさらに精巧化するために、データ点の相関係数を計算する。決定された線の傾きがプラスではないが、明確にマイナスというわけでもなく、相関係数が所定値を超える(たとえば0.95以上)場合、センサは十分に充填されており、その旨が報告される。相関係数が所定値(たとえば0.95)に満たないならば、傾き計算は疑わしいものとみなされる。センサは、充填不足であると報告されるが、センサの一部が不必要に拒絶されるかもしれないと認められる。

#### 【0045】

燃え切り期間ののち、試料を試験するために使用した計器を静止期間だけ休止させ、その間、試薬層で反応が起こるよう、電位を解除するか、少なくとも大幅に減らす。そのような期間は一般に0~約10秒である。静止期間ののち、電位を再び印加し、電流及び時間を記録する。初期電流は高いが、読み取り期間にわたって電流は低下しながら定常状態に近づく。一般に約2~約10秒の読み取り期間が終わると、最終的な電流値を使用して分析対象物濃度、たとえば血液1デシリットルあたりミリグラム単位のグルコース濃度を予測する。このために、特定のセンサの場合の電流の事前の相関関係を導出した。本発明の方法を使用してセンサが充填不足と報告されないならば、グルコース濃度を正しい濃度として受け入れることができる。通常、充填不足は、糖尿病患者が頼るべきではない高すぎる又は低すぎるグルコース値を出すと予想される。しかし、試験が頻繁に実施されるならば、15%以下~20%高い又は低いグルコース値でも十分であるかもしれない。したがって、本発明の規準は、15%を超える高さのグルコース値を報告すると予想することができる、図6に類似した電流プロフィールを示すセンサを充填不足として拒絶することを意図する。無作為な試料では、実際のグルコース含量は未知であろうが、本発明者らによって実施された一連の試験で、本発明の方法が、既知の濃度を15%超で上回るグルコース濃度を報告する試料のうち、5%を除くすべてを拒絶するということが示された。

#### 【0046】

##### 実施例

上記で言及した試験では、既知の量のグルコースを含有する血液試料を用いてセンサ1373個の群を意図的に充填不足にした。このように、センサをDEXグルコース計(Bayer社)に配置し、燃え切り期間の後寄り部分でデータを取り、計器によって読まれたグルコース含量を記録することにより、本発明の方法の有効性を判定した。1373個のセンサそれぞれで図7のプロトコルを踏襲した。すべてのセンサが充填不足であることがわかってきたため、完璧な結果は、1373個のセンサすべてが拒絶され、グルコース読み値が拒絶されるという結果であったであろう。これらの試験では、80%、すなわち1098個のセンサが充填不足として正しく特定された。継続的なグルコースモニタリング及び工業規格に関しては、正しい値から $\pm 15\%$ の分散は許容可能である。その基準を使用すると、充填不足として拒絶された1098個のセンサのうち445個がなおも正しい値の15%以内のグルコース読み値を出すとということがわかった。結果は受け入れられるが、これらのセンサは再試験を要した。重要なことに、センサの約半分が、正しい値よりも15%超高いグルコース読み値を出した。それらのうち、95%が本発明のプロトコルによって拒絶された。誤った結果(すなわち、正しい値よりも $> 15\%$ 高い)の数を687とすると、そのうち653が拒絶され、非常に良好な結果であった。したがって、1373個

10

20

30

40

50

のセンサのうち、本発明のプロトコルが見過ごしたのはわずか34個であった。また、241個は拒絶されなかったが、エラーの基準、すなわち±15%以内であり、受け入れられる結果を出したと結論づけることができる。

【0047】

先に記した一連の試験は、本発明のプロトコルが、選択された基準によって受け入れられるよりも高い誤ったグルコース値を出すセンサの95%を拒絶することができることを示した。誤った結果を出すセンサを拒絶するこの能力こそがユーザにとって重要である。上述したように、従来法は、誤った結果を出すセンサの約60%しか拒絶することができず、したがって、はるかに多数のセンサが正確な結果を出すものとみなされることを許してしまう。

10

【図面の簡単な説明】

【0048】

【図1】 バイオセンサの分解図である。

【図2】 図1のバイオセンサの組み立て図である。

【図3】 燃え切り及び読み取り期間中に電流測定センサに印加される電位の典型的なプロットである。

【図4】 燃え切り及び読み取り期間中に電流測定センサで発生する電流の典型的なプロットである。

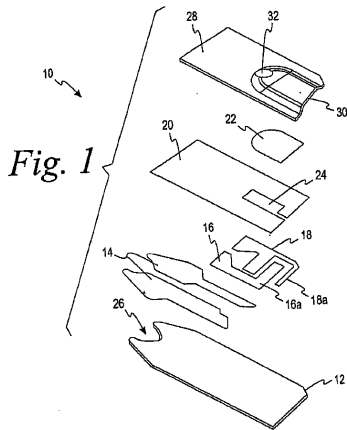
【図5】 充填されていた多数のセンサに関する燃え切り及び読み取り期間のプロットである。

20

【図6】 充填不足であった多数のセンサに関する燃え切り及び読み取り期間のプロットである。

【図7】 本発明の方法を説明するブロック図である。

【図1】



【図2】

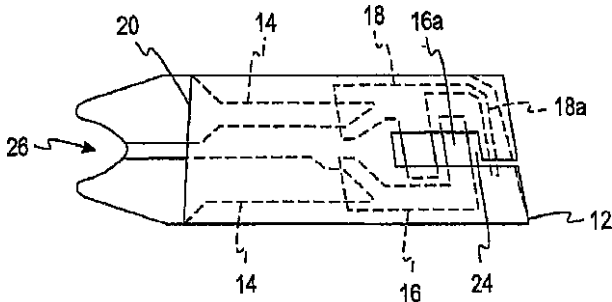
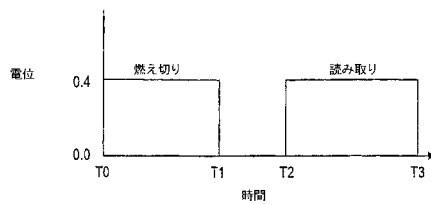
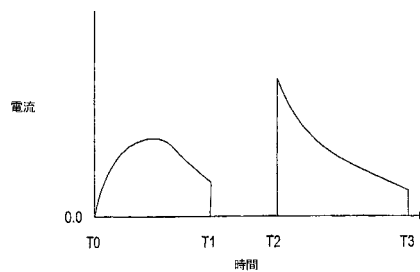


Fig. 2

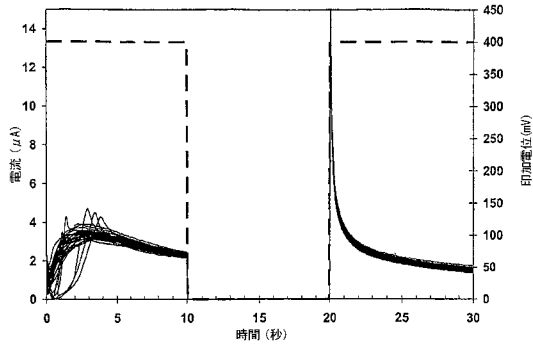
【図3】



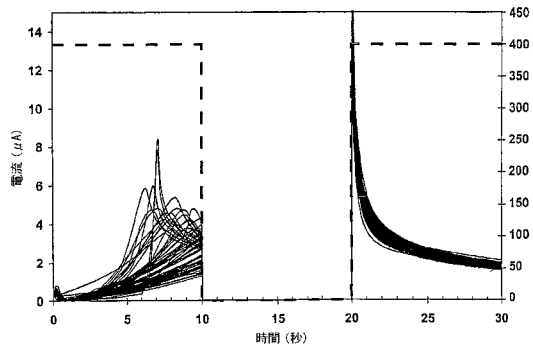
【図4】



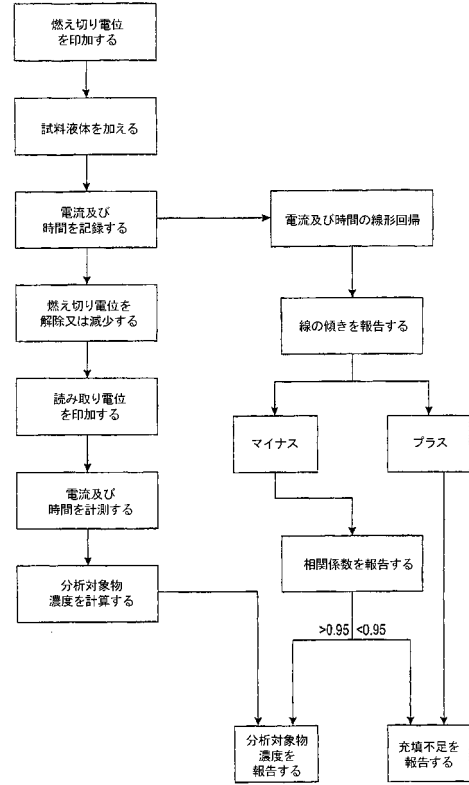
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 ブラッシュカ, クリスティーナ  
アメリカ合衆国、ミシガン 49099、ホワイト・ピジョン、ペローズ・ロード 69590

審査官 黒田 浩一

(56)参考文献 特開2002-310973(JP, A)  
特開2003-247966(JP, A)  
特開2003-004691(JP, A)  
特開2001-066279(JP, A)  
特表平08-502589(JP, A)  
国際公開第2003/044514(WO, A1)  
欧州特許出願公開第01422523(EP, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G01N 27/26-27/49