(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 384 382**

(51) Int. Cl.:
C12Q 1/00 (2006.01)
G01N 33/487 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **04705979 .5**
(96) Fecha de presentación: **28.01.2004**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1592802**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **09.11.2005**

(54) Título: **Membranas poliméricas para usar en sensores electroquímicos**

(30) Prioridad:
11.02.2003 US 364840

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.07.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.07.2012

(73) Titular/es:
Instrumentation Laboratory Company
180 Hartwell Road
Bedford, MA 01730, US

(72) Inventor/es:
COSOFRET, Vasile V.

(74) Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

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).

ES 2 384 382 T3

DESCRIPCIÓN

Membranas poliméricas para usar en sensores electroquímicos

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de los sensores electroquímicos, particularmente a la reducción de interferencia con las medidas de tales sensores causadas por contaminantes en una muestra analítica. -

Información de los antecedentes

Investigadores y trabajadores clínicos necesitan medir la concentración de diversos analitos en muestras biológicas. Estos analitos incluyen gases disueltos (por ejemplo, dióxido de carbono), iones (por ejemplo hidrógeno, sodio, potasio, calcio, litio, amonio y magnesio) y moléculas biológicamente activas (por ejemplo urea). En muchos casos, la muestra biológica es un fluido corporal tomado de un paciente durante una visita al consultorio o mientras se sufre cirugía. La diagnosis y el tratamiento apropiados dependen de la precisión de estas medidas y de la velocidad con la que ellas se obtienen.

Un sistema de sensores electroquímicos es una herramienta analítica que se puede usar para medir la concentración de un analito en una muestra biológica. El sensor electroquímico contiene un transductor físico, tal como un electrodo metálico, separado de la muestra analítica por al menos una membrana semipermeable. La membrana confiere la selectividad a un sensor electroquímico dado. La elección apropiada de componentes de membrana permite a los sensores electroquímicos que puedan detectar y medir fielmente analitos en mezclas complejas, tales como sangre completa.

Ciertos contaminantes que están a menudo presentes en muestras analíticas pueden comprometer la precisión del sensor electroquímico por difusión a través de la membrana e interferencia con el electrodo de metal. En el caso de los electrodos selectivos de iones (ISE), el contaminante puede ser una especie de fármaco, tal como el anestésico tiopental sódico (tiopental), por ejemplo. El resultado de tal contaminación en el ISE puede variar desde interferencia suave hasta una de significancia clínica, dependiendo de la concentración del contaminante en la muestra.

LINDNER y cols., Talanta 40/7, 1993, páginas 957-967, revela las respuestas de electrodos de membrana poliméricos disolventes selectivos H(+) fabricados a partir de membranas de PVC modificadas.

COSOFRET y cols., Analyst 119, 1994, páginas 2283-2292 describe estudios electroanalíticos y de biocompatibilidad de membranas de poli(cloruro de vinilo) carboxilado para sensores microfabricados.

LIMA y cols., Microchimica Acta 131, 1999, páginas 187 -190, revelan un electrodo selectivo de iones de dopamina para potenciómetro en preparaciones farmacéuticas.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona un procedimiento para reducir la interferencia causada por contaminantes en sensores electroquímicos usados para la detección y/o medida de un analito en una muestra biológica. El sensor electroquímico de acuerdo con la presente invención no presenta cambios negativos grandes en potencial después de someter a ensayo una muestra analítica contaminada con, por ejemplo, una especie de fármaco aniónico lipófilo. Además, un sensor electroquímico de acuerdo con la presente invención presenta una reducción en resistencia de membrana global, lo que es importante para estabilidad de sensor y la reproducibilidad de medidas de sensor. Un sensor electroquímico fabricado de acuerdo con la presente invención presenta una línea base estable que se recupera rápidamente después de someter a ensayo una muestra, que da como resultado tiempos de medida más cortos. Estos tiempos de medida más cortos pueden conducir a rendimiento incrementado para un instrumento analítico que incorpora un sensor electroquímico tal.

En general, en un aspecto, la presente invención presenta un procedimiento de diagnóstico in vitro, que comprende: seleccionar pacientes tratados con agentes aniónicos lipófilos seleccionados del grupo que consta de un analgésico, un anestésico, tiopental sódico, fenitoína, ibuprofeno, salicilato, valproato, ε-amino-caproato; proporcionar un sensor que reduce la interferencia causada por agentes aniónicos lipófilos que comprenden un electrodo y una membrana polimérica de cloruro de polivinilo carboxilado;

poner en contacto un fluido corporal de dicho paciente con dicho sensor; medir un analito objetivo en dicho fluido corporal de paciente; y determinar un diagnóstico a partir de la medida de dicho analito objetivo.

La membrana polimérica basada en PVC-COOH reduce la interferencia con la detección y/o la medida del analito en la muestra biológica causada por los contaminantes.

Las realizaciones de este aspecto de la invención pueden incluir las siguientes características. El contaminante que la membrana polimérica basada en PVC-COOH evita que interfiera con el electrodo puede comprender una especie aniónica lipófila. El contaminante puede ser un anestésico o un analgésico. Más específicamente, el contaminante puede ser tiopental sódico (tiopental), o puede ser fenitoína, ibuprofeno, fenoprofeno, salicilato, valproato, o ε-amino-

caproato. El analito medido y/o detectado por el electrodo puede ser un catión inorgánico. El analito puede ser también un gas disuelto, o puede ser un metabolito biológico, tal como un carbohidrato, péptido, lípido, nucleótido, o urea. La muestra biológica en sí misma puede ser un fluido corporal, tal como sangre u orina. El PVC-COOH que está incluido en la membrana polimérica puede contener grupos carboxilo al 0,1 a 5 % en peso.

Los objetos, aspectos, características y ventajas precedentes y otros de la invención se harán más patentes a partir de la siguiente descripción y a partir de las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

En los dibujos, como características de referencia se hace referencia generalmente a las mismas partes para todos los puntos de vista diferentes. Además, los siguientes dibujos no están necesariamente a escala, poniéndose en lugar de ello énfasis generalmente en ilustrar los principios de la invención.

La fig. 1 es un diagrama esquemático de los componentes de una realización de un sistema de sensores electroquímicos de acuerdo con la invención, incluyendo un cartucho sensor con una tarjeta de electrodos y una entrada de muestra, una bomba peristáltica y un microprocesador.

La fig. 2 ilustra una vista frontal de una realización de una tarjeta de electrodos de acuerdo con la invención.

La fig. 3 ilustra una vista de sección transversal de una realización de un electrodo selectivo de ion (ISE) de acuerdo con la invención.

La fig. 4 ilustra una vista de sección transversal de una realización de un electrodo de dióxido de carbono (CO_2) de acuerdo con la invención.

La fig. 5 ilustra una vista de sección transversal de una realización de un electrodo enzimático de acuerdo con la invención.

La fig. 6 es una tabla que contiene ejemplos de componentes de membrana polimérica y sus respectivos porcentajes en peso para cuatro ISE diferentes.

La fig. 7 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de sodio con una membrana polimérica que contiene cloruro de polivinilo de peso molecular alto (HMW-PVC), con medidas tomadas antes y después de ensayar una muestra que contiene sodio contaminada con tiopental sódico a 10 mg/ml (tiopental).

La fig. 8 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE con membranas poliméricas que contienen cloruro de polivinilo carboxilado (PVC-COOH) de acuerdo con la invención, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra que contiene sodio contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 9 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de potasio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra que contiene potasio contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 10 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE de potasio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra que contiene potasio contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 11 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de calcio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC, con medidas tomadas antes y después de ensayar una muestra que contienen calcio contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 12 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE de calcio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra que contiene calcio contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 13 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye un electrodo de pH con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC, con medidas tomadas antes y después se someter a ensayo una muestra tamponada de pH contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 14 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye cinco electrodos de pH con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención, con medidas tomadas antes y después de ensayar una muestra tamponada de pH contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 15 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye un electrodo de CO_2 con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 16 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas de una tarjeta de electrodos que incluye cuatro electrodos de CO_2 con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención, con medidas tomadas antes y después de someter a ensayo una muestra contaminada con tiopental a 10 mg/dl.

La fig. 17 es una representación gráfica de la resistencia de membrana global para un ISE con membrana polimérica conteniendo HMW-PVC.

La fig. 18 es una representación gráfica de la resistencia de membrana global para un ISE con membrana polimérica conteniendo PVC-COOH.

La fig. 19 es una representación gráfica que compara los valores de concentración de sodio en muestras de sangre completa determinados por un ISE de sodio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC frente a aquellos determinados por una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE de sodio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención.

La fig. 20 es una representación gráfica que compara los valores de concentración de potasio en muestras de sangre completa determinados por un ISE de potasio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC frente a aquellos determinados por una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE de potasio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención.

La fig. 21 es una representación gráfica del flujo negativo en potencial a lo largo del tiempo de un ISE de sodio con una membrana polimérica que contiene PVC-COOH de acuerdo con la invención.

Descripción

La presente invención proporciona un procedimiento para reducir la interferencia causada por contaminantes en sensores electroquímicos usados para la detección y/o medida de un analito en una muestra biológica. Específicamente, la invención describe un sensor electroquímico que tiene cloruro de polivinilo carboxilado (PVC-COOH) como un componente polimérico de su membrana polimérica. El sensor electroquímico de acuerdo con la invención puede configurarse para detectar varios analitos, incluyendo gases disueltos (por ejemplo dióxido de carbono), iones (por ejemplo hidrógeno, sodio, potasio, calcio, litio, amonio y magnesio) y metabolitos biológicos (por ejemplo urea).

Un sensor electroquímico de acuerdo con la invención se puede incorporar en un sistema de sensores electroquímicos. En referencia a la figura 1, en una realización de acuerdo con la invención, el sistema de sensores electroquímicos 1 tiene una entrada 2 donde la muestra biológica se introduce dentro del sistema de sensores electroquímicos 1. Una bomba peristáltica 4 mueve una muestra, tal como una muestra de fluido corporal, a través de la entrada 2 y el interior de la tarjeta de electrodos 6. La tarjeta de electrodos 6 contiene uno o más electrodos 8 que detectan y miden analitos de interés en la muestra. Una interfaz eléctrica 10 conecta la tarjeta de electrodos 6 a un microprocesador 12. Las señales de la tarjeta de electrodos 6 pasan al microprocesador 12 para permitir el almacenamiento y la presentación de las señales. Las señales a partir del microprocesador 12 pasan a la tarjeta de electrodos 6 para permitir control sobre condiciones de medida, tales como el voltaje de polarización de un electrodo. En una realización de acuerdo con la invención, la entrada de muestras 2 y la tarjeta de electrodos 6 están contenidas dentro de un cartucho disponible 13, que puede estar separado de los elementos que quedan del sistema de sensores electroquímicos 1 y que puede reemplazarse después de usar.

En referencia a la Figura 2, en una realización de acuerdo con la invención, la tarjeta de electrodos 6 incluye una tarjeta rígida, sustancialmente rectangular hecha de cloruro de polivinilo (PVC). Un canal 20 se encuentra dentro de la tarjeta electrónica 6, a través del cual puede fluir una muestra biológica o una solución de referencia. Uno o más electrodos 8 pueden incrustarse dentro del canal 20. Cuando una muestra se hace pasar a través de la tarjeta de electrodos 6, ella fluye a través del canal 20 y sobre los electrodos 8, permitiendo detección y/o medida del/de los analito(s) de interés.

En referencia a la Figura 2, los electrodos 8 que pueden incorporarse dentro de la tarjeta de electrodos 6 incluyen electrodos selectivos de iones (ISE) 100, electrodos para analizar gases disueltos (electrodos gaseosos) y electrodos que usan un sistema de detección basado en enzimas (electrodos de enzimas). Por ejemplo, los electrodos pueden detectar sodio 26, calcio 28, potasio 30, pH 32, litio 34, magnesio 36, amonio 38, dióxido de carbono 40 y urea 42.

En referencia a la figura 3, en una realización de acuerdo con la invención, un ISE 100 comprende un elemento metálico 105, una fase de solución interna 110 y una membrana polimérica 115. El elemento metálico 105 está incrustado en el PVC de una tarjeta de electrodos y la fase de solución 110 cubre el extremo expuesto del elemento metálico 105. La fase de solución interna 110 puede contener, por ejemplo, tampón de ácido 2-[N-

morfolino]etanosulfónico (MES). La membrana polimérica 115 es una membrana selectiva de iones que separa la fase de solución interna 110 de una muestra analítica (por ejemplo, una muestra de fluido corporal) que pasa a través del canal 20 en la tarjeta de electrodos 6. La composición de la membrana polimérica 115 determina la selectividad del ISE 100 para un ion particular. En una realización particular de acuerdo con la invención, PVC-COOH es un componente de la membrana polimérica 115.

Refiriéndonos de nuevo a la figura 2, para medir la concentración de un ion en una muestra analítica, un ISE 100 debe trabajar conjuntamente con un electrodo de referencia 44. Si el ion que el ISE 100 está diseñado para detectar está presente en una muestra analítica, se genera un potencial eléctrico a través de la membrana polimérica 15 que depende de la diferencia entre la concentración del analito en la fase de solución interna 110, ilustrada en la figura 3 y su concentración en la muestra analítica. La diferencia en el potencial eléctrico entre el ISE 10 y el electrodo de referencia 44 es directamente proporcional a la carga en el logaritmo de la concentración del ion medido en la muestra analítica.

En referencia a la figura 4, en una realización de acuerdo con la invención, un electrodo de dióxido de carbono (CO_2) 40, un tipo de electrodo gaseoso, comprende un elemento metálico 125, una fase de solución interna 130 y una membrana polimérica 135. El electrodo de CO_2 40 es funcionalmente similar a un ISE 100, salvo porque la fase de solución interna 130 del electrodo de CO_2 40 es tampón de bicarbonato. En referencia a figura 2, salvo un ISE 100, el electrodo de CO_2 40 debe trabajar conjuntamente con un electrodo de pH 32.

En referencia de nuevo a la figura 4, cuando CO_2 se infiltra a través de la membrana polimérica 135 del electrodo de CO_2 40, este se disuelve en el tampón de bicarbonato de la fase de solución interna 130 y cambia el pH del tampón, que cambia el potencial eléctrico del electrodo de CO_2 40. La fase de solución interna del electrodo de pH 32, sin embargo, no está afectada por CO_2 en la muestra analítica, de tal forma que el potencial del electrodo de pH permanece constante. La diferencia en potencial eléctrico entre el electrodo de CO_2 40 y el electrodo de pH 32 es proporcional a la concentración de CO_2 en la muestra. En una realización de acuerdo con la invención, PVC-COOH puede ser un constituyente de la membrana polimérica 135 de un electrodo de CO_2 40.

La figura 5 ilustra otra realización de acuerdo con la invención, un electrodo enzimático 150 para detectar la presencia y concentración de metabolitos biológicos (tales como un carbohidrato, péptido, lípido, nucleótido o urea, por ejemplo) en una muestra analítica. El electrodo enzimático 150 comprende un elemento metálico 155 incrustado en una tarjeta de electrodos 6 y una membrana compuesta 160, que está localizado entre el elemento metálico 155 y una muestra analítica que fluye a través de un canal 20 en una tarjeta electrónica 6. La membrana compuesta 160 incluye una membrana difusional externa 165 adyacente al canal 20, una fase enzimática 170, una membrana polimérica selectiva de iones 175 y una fase de solución interna 180 adyacente al elemento metálico 155. La membrana difusional externa 165 controla la difusión del analito dentro de la fase enzimática 170 y protege los otros componentes del electrodo enzimático 150 del contacto directo con la muestra analítica en el canal 20. La fase enzimática 170 puede incluir al menos un enzima, o una mezcla de varias enzimas, proteínas y estabilizantes, que reacciona con un analito particular. Si el analito difunde a través de la membrana difusional exterior 165, ello puede reaccionar con la(s) enzima(s) en la fase enzimática 170 para producir un subproducto químico, que puede migrar a través de la membrana polimérica selectiva de iones 175. En el caso de un sensor de urea, el subproducto químico puede ser iones amonio, por ejemplo. Se genera un potencial eléctrico a través de la membrana compuesta 160 que depende de la concentración del subproducto químico, que es proporcional a la concentración del analito de interés en una muestra analítica. En una realización de acuerdo con la invención, PVC-COOH es un constituyente de la membrana polimérica selectiva de iones 175.

En referencia de nuevo a la figura 3, la membrana polimérica de un ISE regula la selectividad del ISE 100 para un analito de interés. La membrana polimérica 115 incluye al menos 4 elementos: un polímero, un plastificante, un ionóforo y un aditivo salino lipófilo.

De acuerdo con la invención, el PVC-COOH es un componente polimérico de la membrana polimérica 115. El PVC-COOH es polímero de cloruro de polivinilo (PVC) que tiene un porcentaje de sus átomos de cloro reemplazados por grupos carboxilo (COOH). En una realización de acuerdo con la invención, el PVC-COOH puede contener entre 0,1 y 5 % de COOH en peso y en una realización particular de la invención, el PVC-COOH contiene COOH al 1,8 % en peso. El PVC-COOH evita que especies aniónicas lipófilas (tales como analgésicos y anestésicos, por ejemplo) en la muestra analítica permeen la membrana polimérica 115 e interfieran con el ISE 100. Tales especies aniónicas lipófilas pueden incluir tiopental sódico (tiopental), feitoína, ibuprofeno, fenoprofeno, salicilato, valproato y ε-amino-caproato, por ejemplo. PVC-COOH puede mezclarse con otro polímero (tal como HMW-PVC o poliuretano, por ejemplo) para formar el componente de polímero de la membrana polimérica. En una realización particular de la invención, PVC-COOH no se mezcla con otro polímero y es el único componente polímero de la membrana polimérica.

La membrana polimérica 115 que incluye PVC-COOH también presenta propiedades adhesivas potenciadas a plataformas sólidas, que es importante para la larga vida y la estabilidad potencial de un sensor electroquímico. Además, un sensor electroquímico que emplea PVC-COOH en su membrana polimérica 115 muestra mejor estabilidad y reproducibilidad potenciales de medidas de sensor debido a una reducción significativa en la resistencia de membrana conferida por la membrana polimérica relativamente polar 115, según se ilustra por el

ejemplo 6 más adelante. La precisión y seguridad de un sensor de PVC-COOH es comparable a ISE conocido, incluyendo sensores basados en cloruro de polivinilo de alto peso molecular (HMW-PVC), como se ilustra por el ejemplo 7 más adelante.

El componente plastificante de la membrana polimérica 115 proporciona movilidad iónica dentro de la membrana que es necesaria para obtener transferencia iónica efectiva. El plastificante debe ser compatible con el componente de polímero y debe ser un disolvente para el ionóforo. El plastificante debe ser también suficientemente insoluble en agua de tal forma que ello no migra significativamente en una muestra acuosa en contacto con la superficie de la membrana polimérica 115. También es deseable que el plastificante sea sustancialmente no volátil para prolongar la vida propia del electrodo. Los plastificantes adecuados incluyen bis(2-etilhexil)sebacato (DOS) y éter o-nitrofeniloctílico (NPOE).

El ionóforo usado en la membrana polimérica 115 es capaz de asociarse selectivamente con un ion específico. Esta característica del ionóforo es responsable de la selectividad iónica de un ISE. Ejemplos de ionóforos adecuados para un ISE de sodio incluyen éster de metilmonensina, derivados de calixareno y otros compuestos sensibles a sodio. Se puede usar un antibiótico monocíclico (tal como valinomicina, por ejemplo) como un ionóforo para un ISE de potasio. Un ionóforo para un ISE de calcio puede ser, por ejemplo, (-)-(R,R)-N,N'-(bis(11-etoxicarbonil)undecil)-N,N'-4,5-tetrametil-3,6-dioxaoctanodiamida; N,N'-[(4R,5R)-4,5-dimetil-1,8-dioxo-3,6-dioxaoctametileno]-bis(12-metilaminododecanoato) de dietilo (ETH 1001). Un ejemplo de un ionóforo adecuado para un electrodo de pH y/o un electrodo de dióxido de carbono es tridodecilamina (TDDA).

El aditivo salino lipófilo usado en la membrana polimérica 115 sirve para reducir la resistencia de membrana y para reducir la interferencia aniónica. Los aditivos lipófilos salinos útiles incluyen, por ejemplo, tetraquis(4-clorofenil)borato de potasio (KTpClPB) y tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de potasio (KTTFPB). El aditivo salino lipófilo, sin embargo, no siempre es esencial para la función de la membrana polimérica 115 y puede omitirse cuando se toman como objetivo ciertos analitos.

La eficiencia de la membrana polimérica 115 en rechazar contaminantes de fármacos de aniones lipófilos se potencia cuando la composición de membrana polimérica 115 se optimiza en términos de proporción PVG-COOH/plastificante y por una selección apropiada del tipo y proporciones de ionóforo y de aditivo salino lipófilo. Por ejemplo, la membrana polimérica 115 para un ISE de sodio puede contener PVC-COOH al 25-35 % , DOS al 60-70 %, derivado de calixareno al 2-8 % y KTTFPB al 1-3 % en peso. La membrana polimérica 115 para un ISE de potasio puede contener, por ejemplo, PVC-COOH al 25-35 %, DOS al 60-70 %, valinomicina al 1-% % y KTpClPB al 0-1 % en peso. La membrana polimérica 115 para un ISE de calcio puede contener, por ejemplo, PVC-COOH al 25-35 %, DOS/NPOE 1:1 al 60-70 %, ETH 1001 el 1-5 % y KTpClPB al 0,2-2 % en peso. La membrana polimérica 115 para un pH o ISE de CO_2 puede contener, por ejemplo, PVC-COOH al 25-35 %, DOS al 60-70 %, TDDA al 2-7 % y KTpCIPB al 1-4 % en peso. La figura 6 ilustra ejemplos de realizaciones particulares de componentes de membrana poliméricos adecuados 115 y sus proporciones en peso respectivas para una diversidad de sensores electroquímicos.

En referencia aún a la figura 3, una membrana polimérica 115 de acuerdo con la presente invención se puede formar disolviendo las cantidades apropiadas de polímero, plastificante, ionóforo y aditivo salino lipófilo en un disolvente, típicamente tetrahidrofurano (THF) o ciclohexanona y aplicar esta solución a la superficie expuesta de un elemento metálico 105 incrustado en una tarjeta de electrodos 6. Por ejemplo, un ISE de potasio se puede fabricar mezclando PVC-COOH (COOH al 1,8 % en peso), DOS, valinomicina y KTpClPB de acuerdo con las proporciones enumeradas en la figura 6 para elaborar una masa total de 630-650 mg. La mezcla se disuelve en 3-3,5 ml de THF y se aplican 0,75 µl de la solución al extremo expuesto del elemento metálico 105 (por ejemplo, un alambre de plata clorado) incrustado en la tarjeta de electrodos 6. Una vez se evapora el disolvente, se aplica el mismo volumen de solución de membrana dos veces adicionales con tiempo de secado adecuado entre cada aplicación. Una vez el disolvente se ha evaporado desde la última aplicación, la membrana polimérica 115 se forma y se une a la tarjeta de electrodos 6.

Un ISE de acuerdo con la presente invención mide cambios en el potencial eléctrico, medidos en milivoltios (mV), de una muestra analítica que se debe a los cambios en las concentraciones de analitos dentro de la muestra. De forma similar, un electrodo gaseoso de acuerdo con la presente invención mide cambios en un potencial eléctrico de una muestra analítica que se deben a cambios en la presión parcial del gas disuelto en la muestra. Los profesionales expertos en la técnica son conscientes de que los valores de potenciales eléctricos se refieren a valores de concentración o presión parcial de acuerdo con la ecuación de Nernst. En una realización particular de acuerdo con la invención, se puede incluir software en el sistema de sensor electroquímico para convertir valores de potenciales eléctricos medidos por el electrodo a valores de concentración o de presión parcial del analito medido usando la ecuación de Nernst.

En otro aspecto, la invención es un procedimiento para detectar la presencia y/o medir la concentración de un analito en un fluido corporal (tal como sangre, por ejemplo) en presencia de una especie aniónica lipófila (tal como tiopental, por ejemplo) sin interferencia por las especies aniónicas lipófilas en la detencción y/o medición del analito. El procedimiento de la invención proporciona un sensor electroquímico para detectar y/o medir un analito de interés en un fluido corporal que incluye PVC-COOH como un componente polimérico de la membrana polimérica del sensor.

Una muestra de fluido corporal que contiene el analito de interés y un contaminante aniónico lipófilo se pone en contacto con el sensor electroquímico que incluye PVC-COOH como un componente polimérico de la membrana polimérica del sensor. El analito de interés en la muestra de fluido corporal se mide y/o se detecta después por el sensor electroquímico con interferencia reducida por el contaminante aniónico lipófilo.

Los siguientes ejemplos se desean para ilustrar, pero no para limitar, la invención.

Ejemplo 1

La figura 7 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas registradas a partir de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de sodio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC. Una muestra analítica que contiene una concentración conocida de sodio se introdujo a la tarjeta de electrodos, y la ISE midió la concentración de sodio que era 142 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contiene la misma concentración de sodio más tiopental a 10 mg/dl y el ISE volvió a un valor de concentración de sodio de 137 mM.

La figura 8 es una representación gráfica de las respuestas cronopotentiométricas registradas a partir de una tarjeta electrónica que incluye cinco ISE de sodio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Se introdujo una muestra analítica que contenía una concentración conocida de sodio en la tarjeta de electrodos y todos los ISE midieron que la concentración de sodio era 139 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma concentración de sodio más tiopental a 10 mg/dl y todos los cinco electrodos volvieron a los valores de concentración de sodio de 139 mM. Los ISE de sodio basados en PVC-COOH no presentaron la desviación de potencial mostrada por el ISE de sodio basado en HMW-PVC después de analizar una muestra contaminada con tiopental, lo que ilustra la eficacia de PVC-COOH en evitar interferencias con medidas de sodio causadas por contaminantes aniónicos lipófilos.

Ejemplo 2

La figura 9 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas registradas a partir de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de potasio con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC. Una muestra analítica que contiene una concentración conocida de potasio se introdujo en la tarjeta de electrodos, y la ISE midió que la concentración de potasio era 3,2 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contiene la misma concentración de potasio más tiopental a 10 mg/dl y el ISE volvió a un valor de concentración de potasio de 2,8 mM.

La figura 10 es una representación gráfica de las respuestas cronopotentiométricas registradas a partir de una tarjeta electrónica que incluye cinco ISE de potasio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Se introdujo una muestra analítica que contenía una concentración conocida de potasio en la tarjeta de electrodos, y todos los cinco ISE midieron que la concentración de potasio era 3,3 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma concentración de potasio más tiopental a 10 mg/dl y todos los cinco electrodos volvieron a los valores de concentración de potasio de 3,3 mM. Los ISE de potasio basados en PVC-COOH presentaron desviaciones de potencial despreciables después de analizar una muestra contaminada con tiopental según se compararon con la desviación mostrada por el ISE de potasio basado en HMVV-PVC, lo que ilustra la eficacia del PVC-COOH en evitar interferencias con medidas de potasio causadas por contaminantes aniónicos lipófilos.

Ejemplo 3

La figura 11 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas registradas a partir de una tarjeta de electrodos que incluye un ISE de calcio con membrana polimérica que contiene HMW-PVC. Una muestra analítica que contiene una concentración conocida de calcio se introdujo en la tarjeta de electrodos y la ISE midió que la concentración de calcio era 0,93 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contiene la misma concentración de calcio más tiopental a 10 mg/dl y el ISE volvió a un valor de concentración de calcio de 0,81 mM.

La figura 12 es una representación gráfica de las respuestas cronopotentiométricas registradas a partir de una tarjeta electrónica que incluye cinco ISE de calcio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Se introdujo una muestra analítica que contenía una concentración conocida de calcio en la tarjeta de electrodos y todos los ISE midieron que la concentración de calcio era 0,87 mM. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma concentración de calcio más tiopental a 10 mg/dl y los cinco electrodos volvieron a los valores de concentración de calcio de 0,85, 0,85, 0,86, 0,86 y 0,85 mM. Los ISE de calcio basados en PVC-COOH no presentaron una desviación de potencial tan grande como la mostrada por un ISE de calcio basado en HMW-PVC después de analizar una muestra contaminada con tiopental, lo que ilustra la eficacia del PVC-COOH en evitar interferencias con medidas de calcio causadas por contaminantes aniónicos lipófilos.

Ejemplo 4

La figura 13 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas registradas a partir de una tarjeta de electrodos que incluye un electrodo de pH con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC. Una muestra analítica que contenga una solución tampón de pH conocido se introdujo en la tarjeta de electrodos y el electrodo midió que el pH era 7,63. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma solución de tampón más tiopental a 10 mg/dl y el electrodo volvió a un valor de pH de 7,68.

La figura 14 es una representación gráfica de una de las respuestas cronopotentiométricas registradas a partir de una tarjeta electrónica que incluye cinco electrodos de pH con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Una muestra analítica que contenga una solución tampón de pH conocido se introdujo en la tarjeta de electrodos y todos los cinco electrodos midieron que el pH era 7,66. A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma solución de tampón más tiopental a 10 mg/dl y cinco electrodos volvieron a valores de pH de 7,68. Los electrodos de pH basados en PVC-COOH no presentaron una desviación de potencial tan grande como la mostrada por el electrodo de pH basado en HMW-PVC después de analizar una muestra contaminada con tiopental, lo que ilustra la eficacia del PVC-COOH en evitar interferencias con medidas de pH causadas por contaminantes aniónicos lipófilos.

Ejemplo 5

La figura 15 es una representación gráfica de las respuestas cronopotenciométricas registradas a partir de una tarjeta de electrodos que incluye un electrodo de CO_2con membrana polimérica que contiene HMW-PVC. Una muestra analítica que contiene una solución de sodio se introdujo en la tarjeta de electrodos. Se tomaron dos medidas de la presión parcial de CO_2 en la solución y los resultados se promediaron proporcionando un valor de 8.799,25 pascales (66 mm de Hg). A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma solución de tampón más tiopental a 10 mg/dl y el electrodo volvió a valor de presión parcial de CO_2 de 1.999,83 pascales (115 mm de Hg).

La figura 16 es una representación gráfica de las respuestas cronopotentiométricas registradas a partir de una tarjeta electrónica que incluye cuatro electrodos de CO_2 con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Una muestra analítica que contenga una solución de sodio se introdujo en la tarjeta electrónica. Se tomaron dos medidas de la presión parcial de CO_2 en la solución con cada uno de los cuatro electrodos y los resultados de cada electrodo se promediaron proporcionando valores de 9052,56, 9065,9, 9065,9 y 9092,56 pascales (67,9, 68,0, 68,0 y 68,2 mm de Hg). A tiempo t, la muestra analítica se cambió a una solución que contenía la misma solución de tampón más tiopental a 10 mg/dl y los cuatro electrodos volvieron a valores de presión parcial de CO_2 de 1.999,83, 9172,55, 9172,55 y 9785,83 pascales (70,4, 68,8, 68,8 y 73,4 mm de Hg). Los electrodos de CO_2 basados en PVC-COOH mostraron desviaciones de potencial despreciables después de analizar una muestra contaminada con tiopental comparadas con la desviación presentada por el electrodo de CO_2 basado en HMW-PVC, lo que ilustra la eficacia del PVC-COOH en evitar interferencias con medidas de CO_2 causadas por contaminantes aniónicos lipófilos.

Ejemplo 6

La figura 17 es una representación gráfica de la resistencia de membrana global de una membrana polimérica de ISE que incluye HMW-PVC como un componente polimérico, como se conoce en la técnica. De acuerdo con la figura 17, la membrana de HMW-PVC tiene una resistencia de aproximadamente $2,4 \times 10^7$ ohms. Por comparación, la figura 18 muestra que la resistencia de membrana global de una membrana polimérica de ISE que incluye PVC-COOH como un componente de polímero de acuerdo con la invención es aproximadamente $1,25 \times 10^6$ ohms, que es más de diecinueve veces menor que aquella de un ISE que contiene HMW-PVC. Bajando la resistencia de membrana global, un ISE fabricado usando PVC-COOH en su membrana polimérica presenta estabilidad de potencial aumentada y reproducibilidad de medidas aumentada.

Ejemplo 7

La figura 19 es una representación gráfica que compara los valores de concentración de sodio en muestras de sangre completa determinados por un ISE de sodio conocido con una membrana polimérica que contiene HMW-PVC frente a aquellos determinados por una tarjeta de electrodos que incluye cinco ISE de sodio con membranas poliméricas que contienen PVC-COOH de acuerdo con la invención. Los valores de concentración de sodio para noventainueve muestras de sangre completa diferentes que representan un amplio intervalo de niveles de sodio se determinaron primero con un ISE de sodio basado en HMW-PVC, después con un ISE de sodio basado en PVC-COOH. Como se ilustra por la figura 19, los valores obtenidos del ISE de sodio basado en PVC-COOH correlacionan bien con aquellos obtenidos usando el ISE de sodio basado en HMW-PVC (r = 0,9983), lo que indica que el ISE de sodio basado en PVC-COOH mide sodio con igual precisión y seguridad que un electrodo de sodio conocido.

La figura 20 ilustra un experimento similar usando un ISE de potasio basado en PVC-COOH. Los valores de concentración de potasio de 127 muestras de sangre completa diferentes que representan un amplio intervalo de potasio se determinaron usando un ISE de potasio basado en HMW-PVC, después un ISE de potasio basado en PVC-COOH. Como se ilustra por la figura 20, los valores obtenidos del ISE de potasio basado en PVC-COOH

correlacionan con aquellos obtenidos usando el electrodo basado en HMW-PVC (r = 0,9995), lo que indica que el ISE de potasio basado en PVC-COOH mide potasio con igual precisión y seguridad que un electrodo de potasio conocido.

Ejemplo 8

La figura 21 es una representación gráfica de la estabilidad a lo largo del tiempo de un ISE de sodio basado en PVC-COOH de acuerdo con la invención. En el día 1, se introdujo una muestra analítica que contenía una concentración conocida en una tarjeta de electrodos que incluya cinco ISE de sodio con membranas poliméricas que contenían PVC-COOH de acuerdo con la invención y se midió la concentración de sodio. Después la muestra analítica se cambió a una solución que contenga la misma concentración de sodio más tiopental a 10 mg/ml y la concentración de sodio se midió de nuevo. Se calculó la diferencia entre las dos medidas (ΔEMF), que representan la desviación del potencial de electrodos debido a la interferencia de tiopental y la muestra analítica se retiró de la tarjeta sensora. Este procedimiento se repitió en los días 2, 4, 6, 9, 12, 14 y 20 y se calcularon los valores de ΔEMF. Según ilustra la figura 21, el efecto que tiene una especie aniónica lipófila tal como el tiopental sobre un ISE de sodio basado en PVC-COOH de acuerdo con la invención permanece muy bajo durante toda la vida del electrodo.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de diagnóstico in vitro, que comprende:

seleccionar pacientes tratados con agentes aniónicos lipófilos seleccionados del grupo constituido por un analgésico, un anestésico, tiopental sódico, fenitoína, ibuprofeno, salicilato, valproato y ϵ-amino-caproato;

proporcionar un sensor que reduce la interferencia causada por agentes aniónicos lipófilos que comprende un electrodo y una membrana polimérica de cloruro de polivinilo carboxilado;

poner en contacto un fluido corporal de dicho paciente con dicho sensor;

medir un analito objetivo en dicho fluido corporal de paciente; y,

determinar un diagnóstico de la medida de dicho analito objetivo.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el analito comprende un catión inorgánico.

3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el catión inorgánico comprende: sodio, potasio, calcio, hidrógeno, litio, amonio o magnesio.

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el analito objetivo comprende un gas disuelto; y opcionalmente en el que el gas disuelto comprende dióxido de carbono.

5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el analito objetivo comprende un metabolito biológico.

6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que bien el metabolito biológico comprende urea, o bien el metabolito biológico comprende un miembro del grupo constituido por carbohidratos, péptidos, lípidos y nucleótidos.

7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el cloruro de polivinilo carboxilado contiene 0,1 a 0,5 % de grupos carboxilo en peso.

8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la muestra biológica comprende sangre u orina.

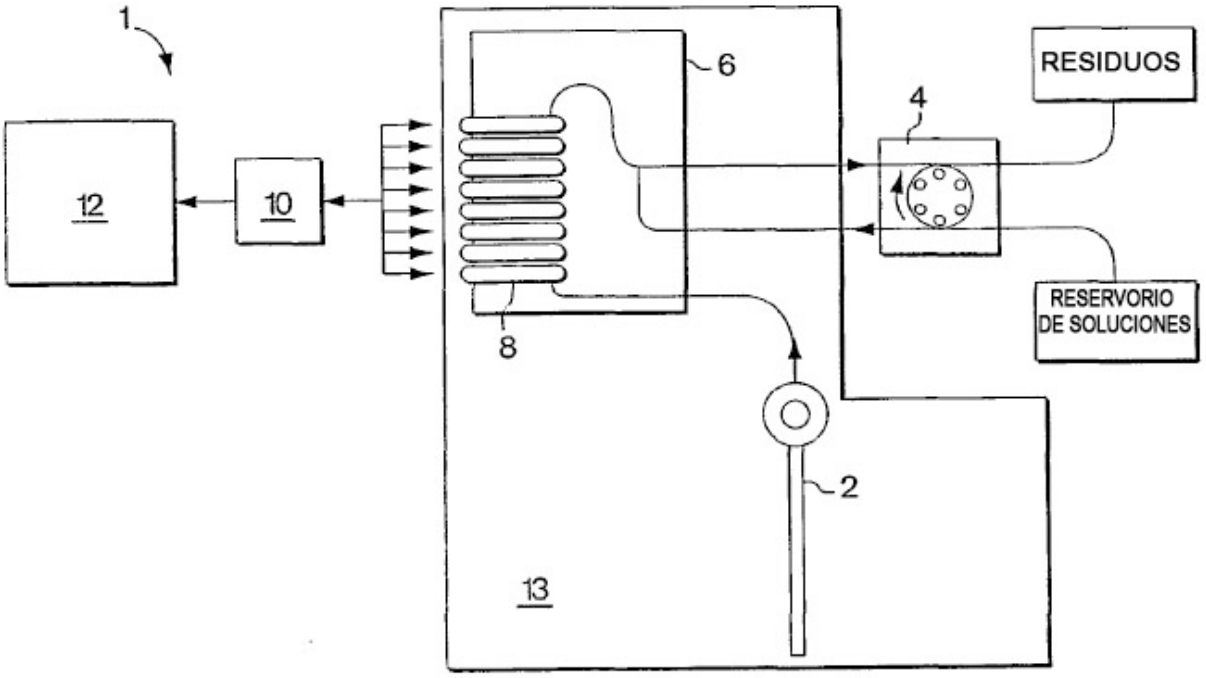


Fig. 1

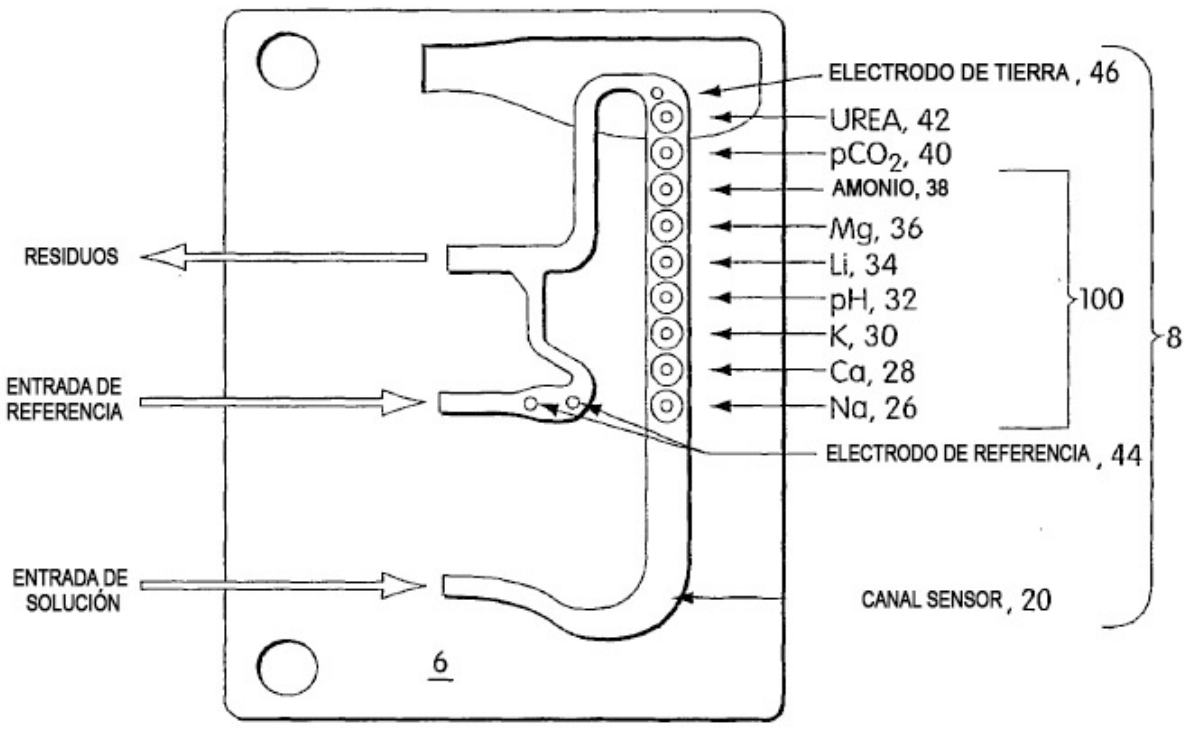

ELECTRODO DE TIERRA , 46
UREA, 42
pCO2, 40
AMONIO, 38
Mg, 36
Li, 34
pH, 32
K, 30
Ca, 28
Na, 26
100
8
RESIDUOS
ENTRADA DE REFERENCIA
ELECTRODO DE REFERENCIA , 44
ENTRADA DE SOLUCIÓN
CANAL SENSOR , 20
6

Fig. 2

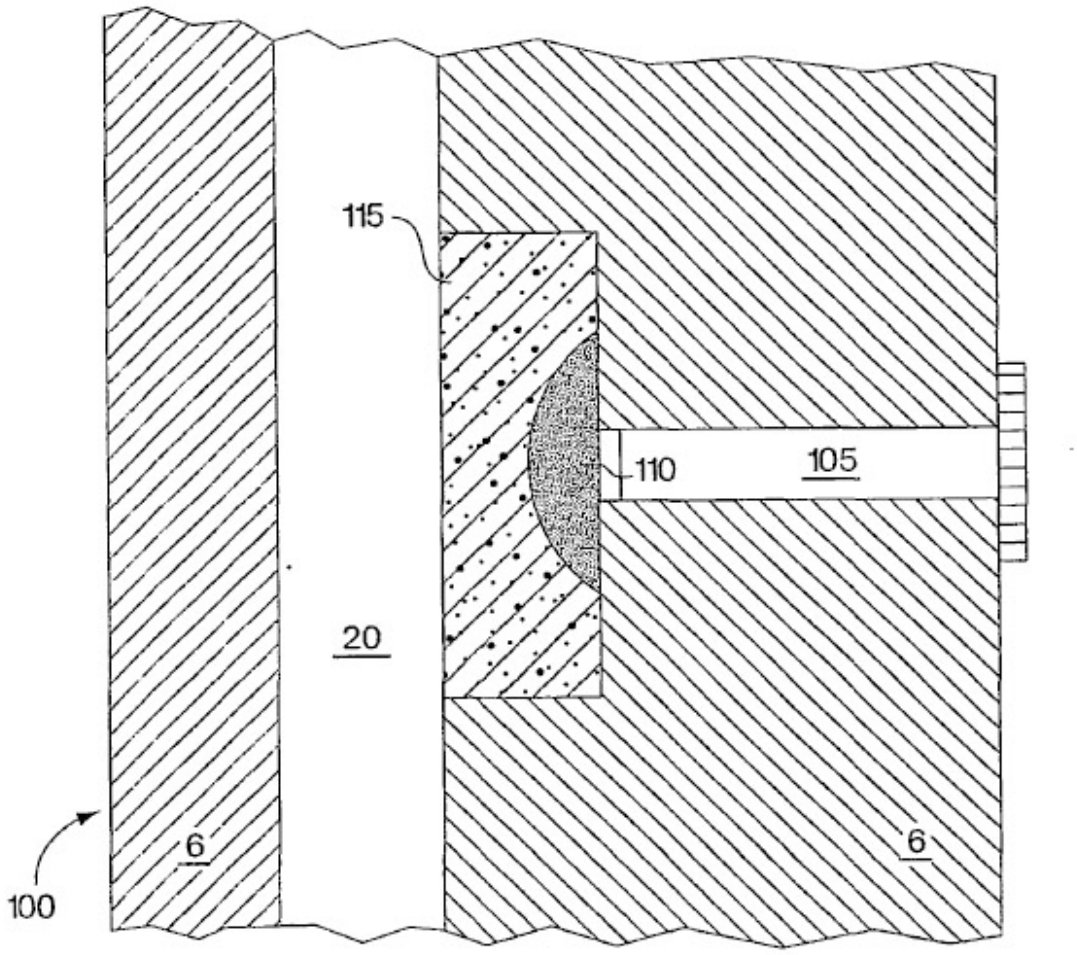


Fig. 3

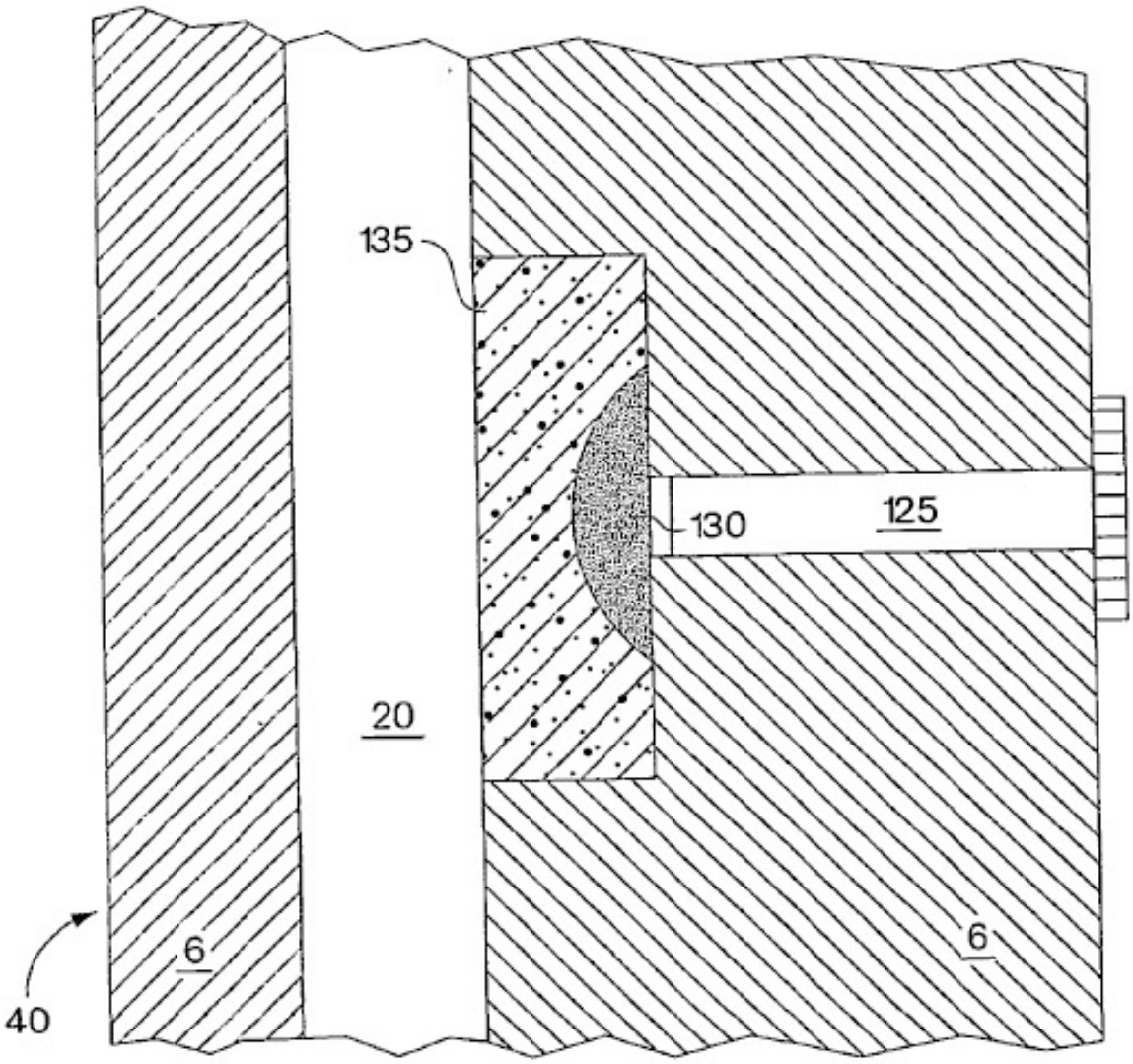


Figura 4

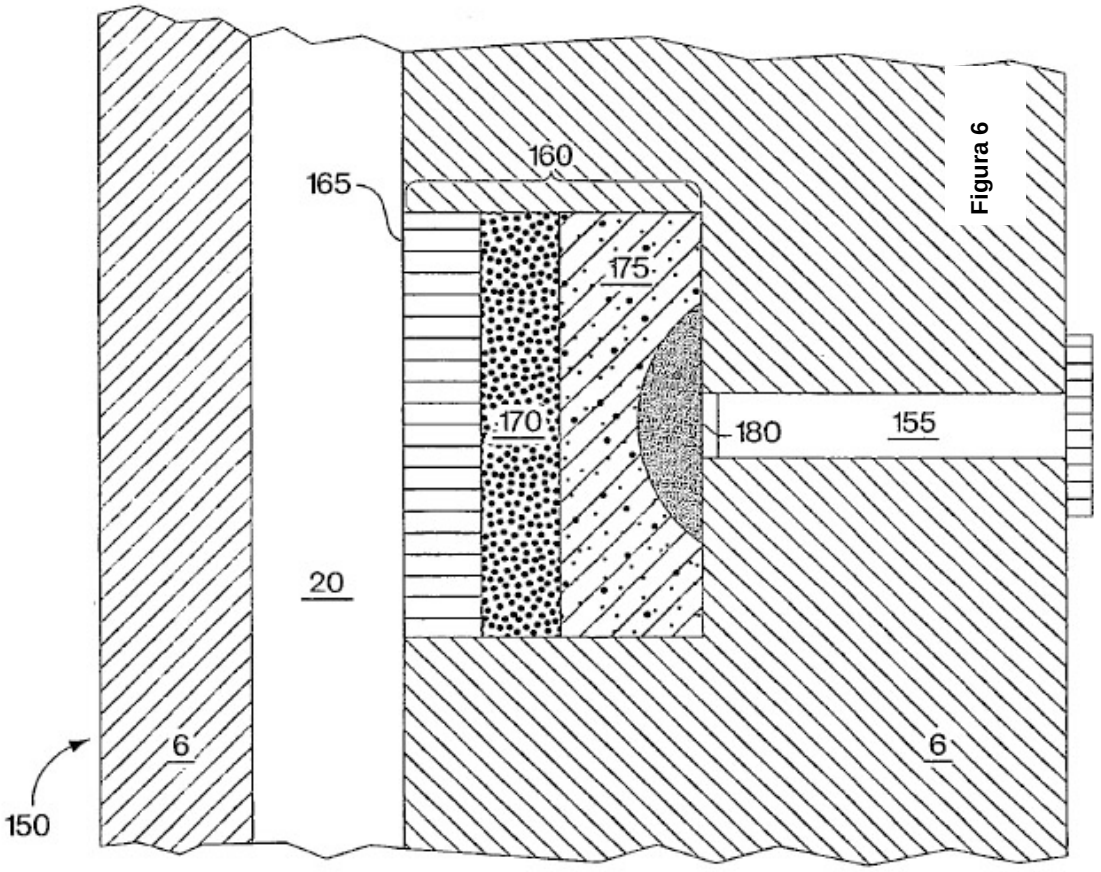


Figura 5

Tipo de Electrodo Selectivo de Iones

Componente de Membrana polimérica	Sodio	Potasio	Calcio	pH/dióxido de carbono
Polímero	PVC-COOH[2] al 30 %[1]	PVC-COOH[2] al 32 %	PVC-COOH[2] al 32 %	PVC-COOH[2] al 30 %
Plastificante	DOS[3] al 61 %	DOS[3] al 64 %	1:1 DOS/NPOE[4] al 63 %	DOS[3] al 61 %
Ionóforo	Derivado de calixareno al 6,8 %	Valinomicina al 3,5 %	ETH 1001[5] al 3,6 %	TDDA[6] al 5,6 %
Aditivo salino lipófilo	KTTFPB[7] al 2,2 %	KTpClPB[8] al 0,5 %	KTpClPB[8] al 1,4 %	KTpClPB[8] al 3,4 %

1. Todos los porcentajes son p/p %.
2. Cloruro de polivinilo carboxilado, COOH al 1,8 % en peso.
3. Bis(2-etilhexil) sebacato.
4. mezcla de bis(2-etilhexil) sebacato y éter *o*-nitrofeniloctilo
5. (-)-(R,R)-N,N'-(Bis(11-etoxicarbonil)undecil)-N,N'-4,5-tetrametil-3,6-dioxaoctanodiamida; Dietil N,N'-[(4R,5R)-4,5-dimetil-1,8-dioxo-3,6-dioxaoctametileno]-bis(12-metilaminododecanoato).
6. Tridodecilamina.
7. Tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de potasio
8. Tetraquis(4-clorofenil)borato de potasio

Fig. 6

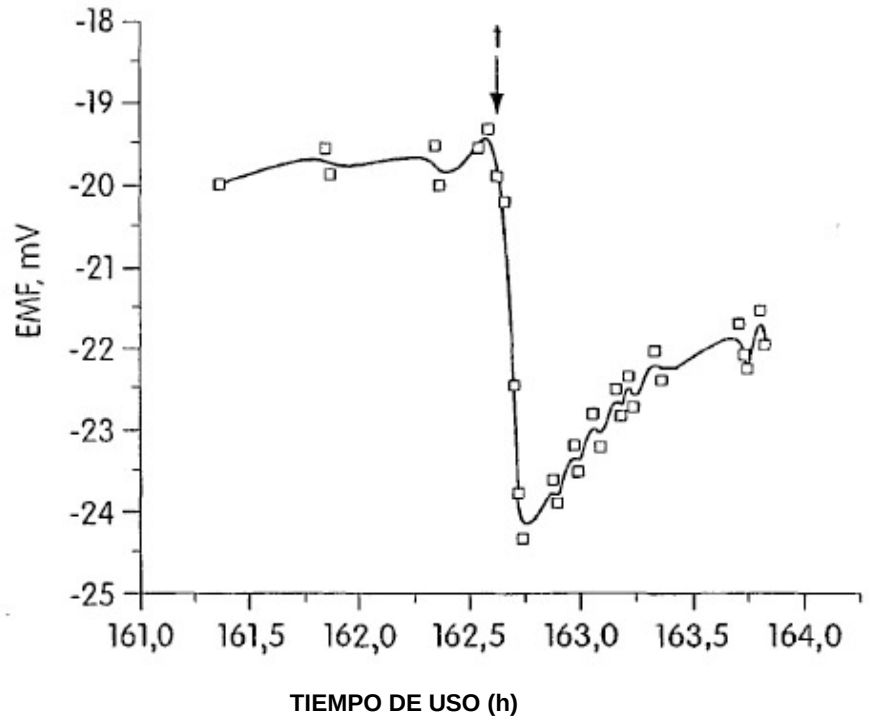


Figura 7

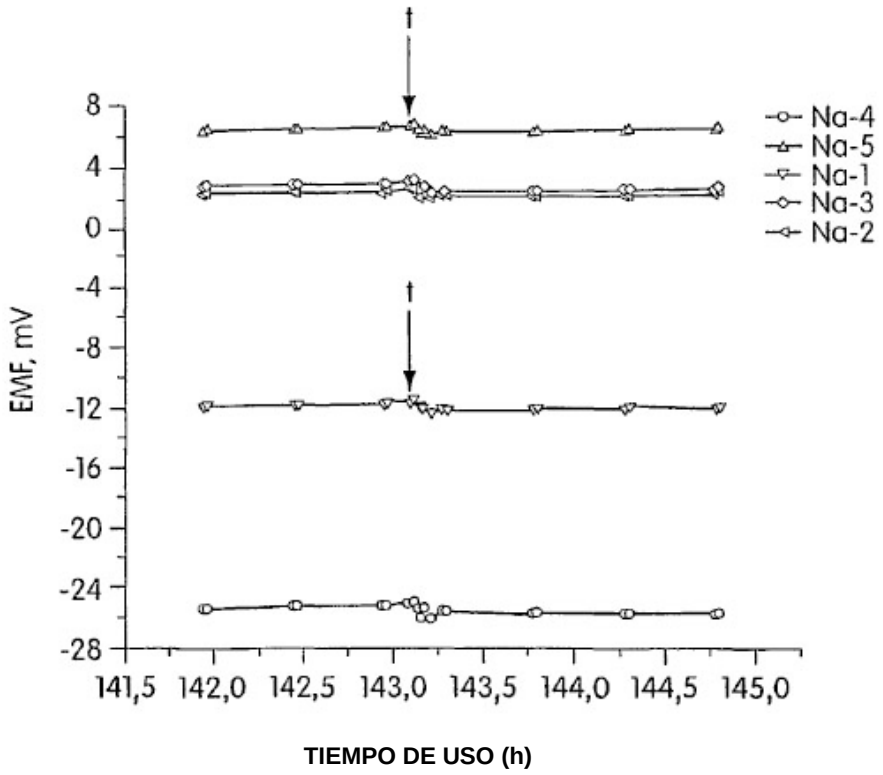


Figura 8

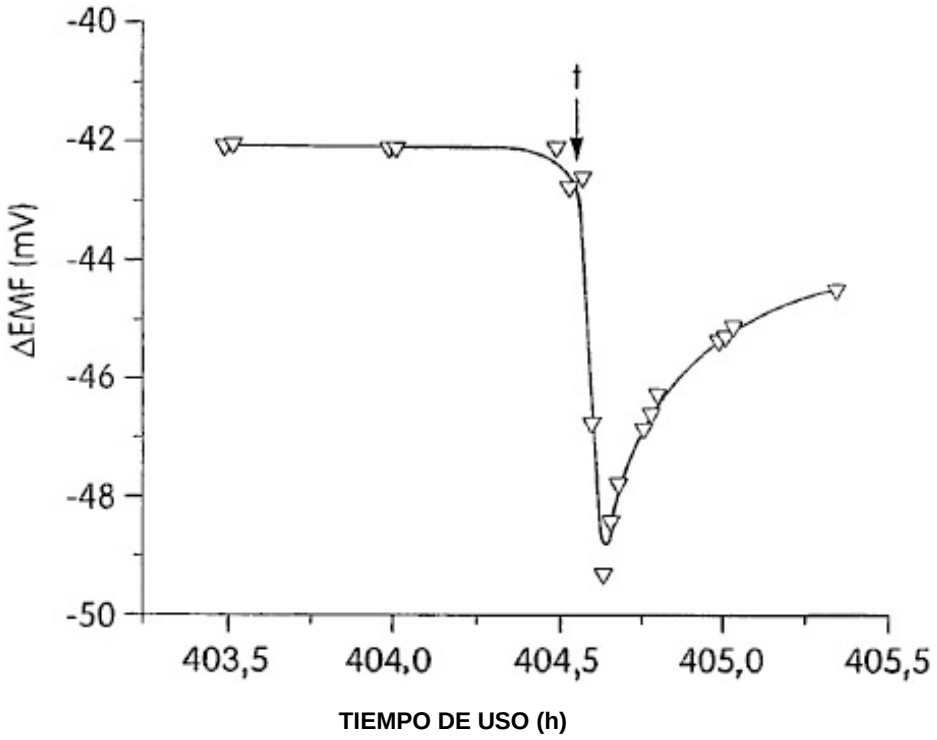


Figura 9

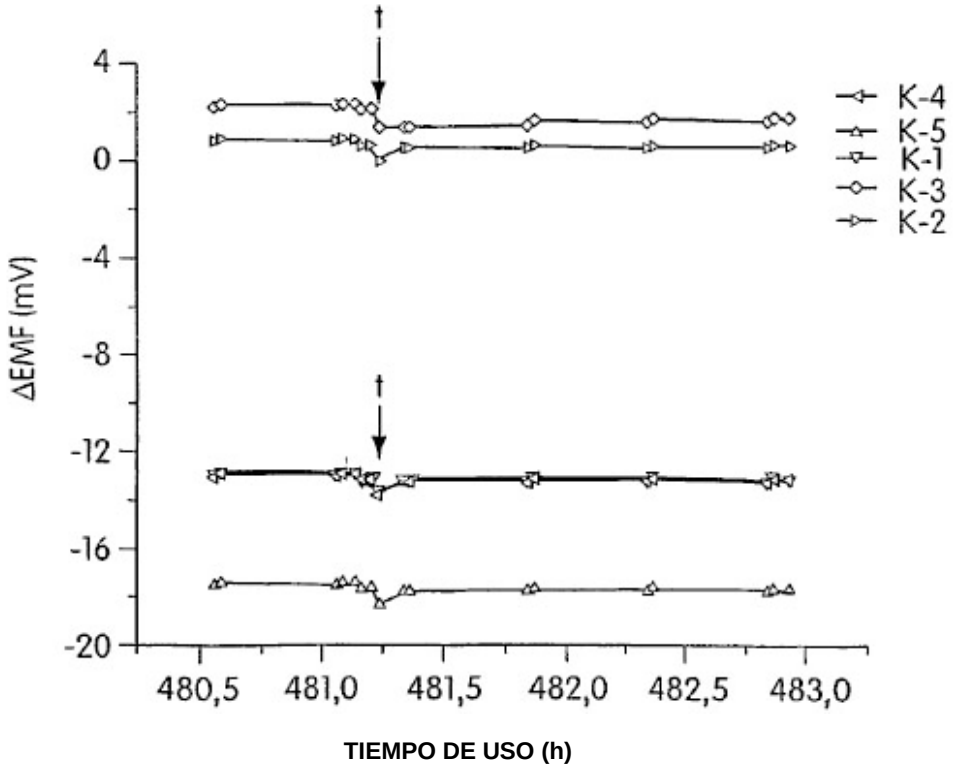


Figura 10

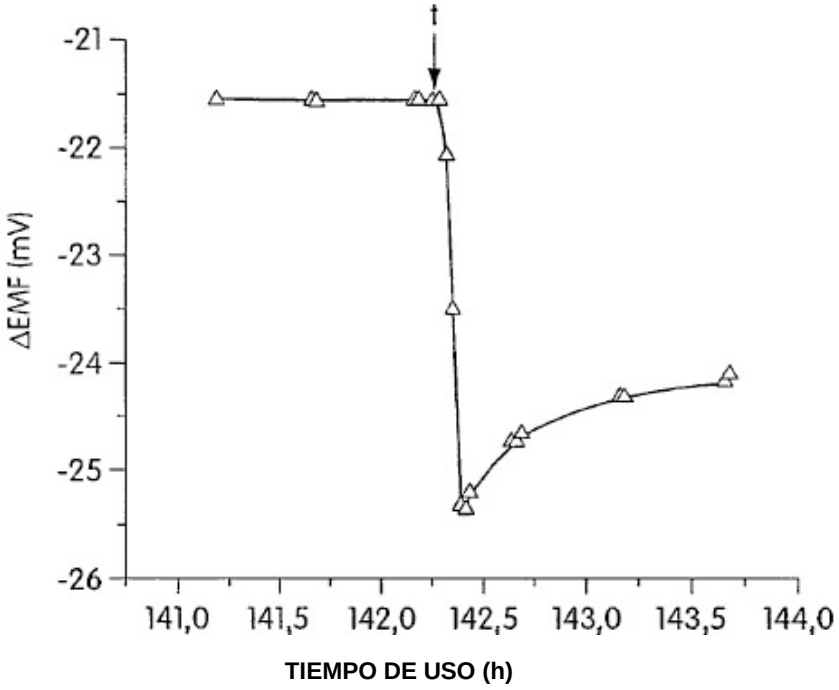


Figura 11

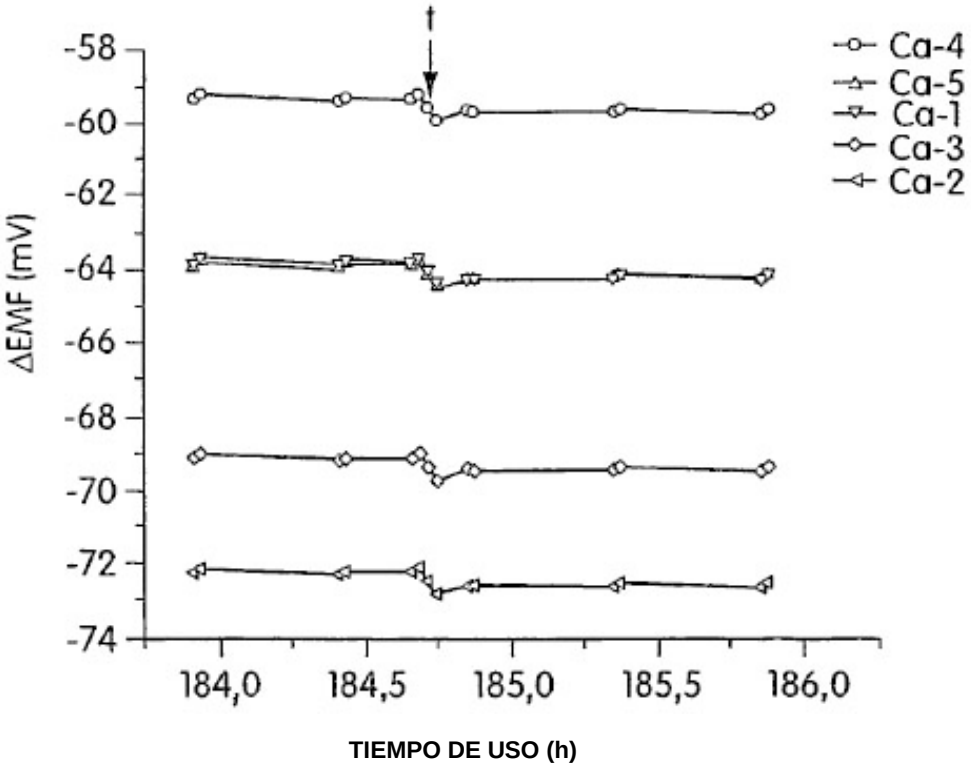


Figura 12

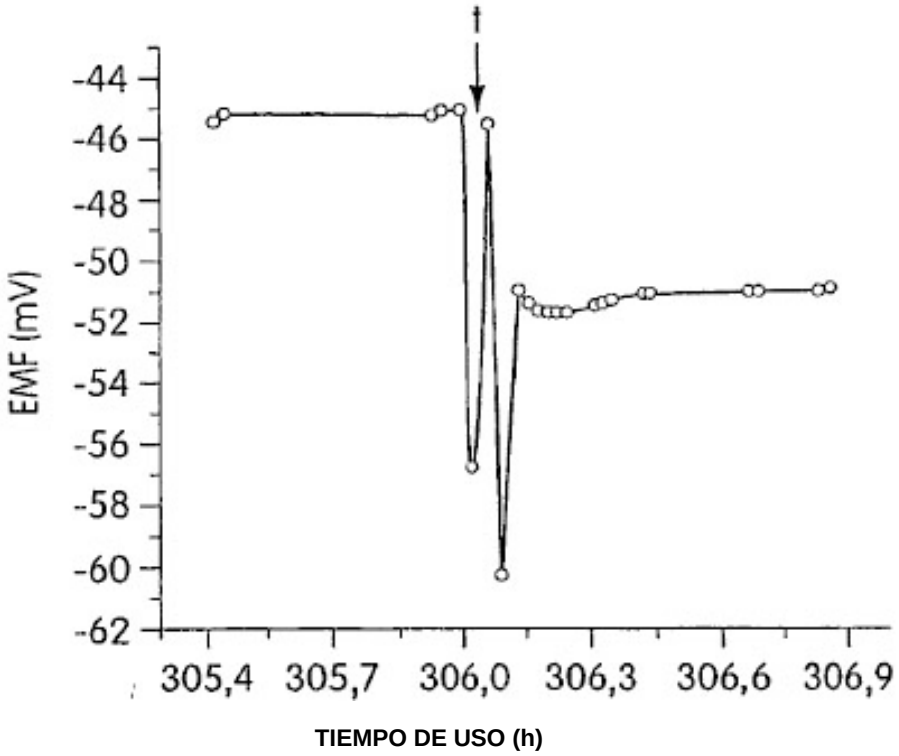


Figura 13

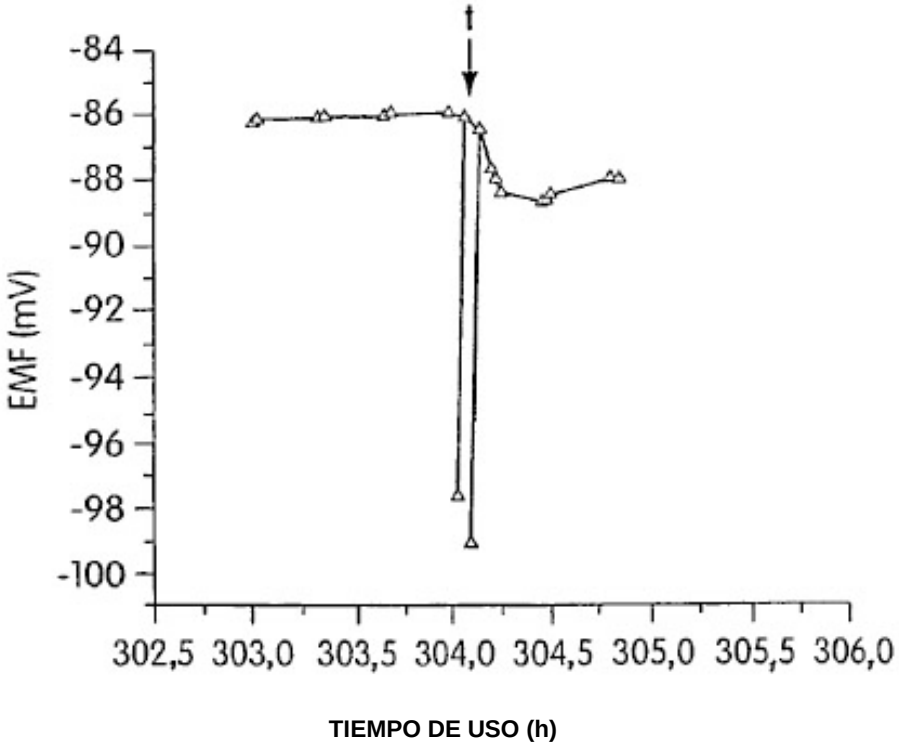


Figura 14

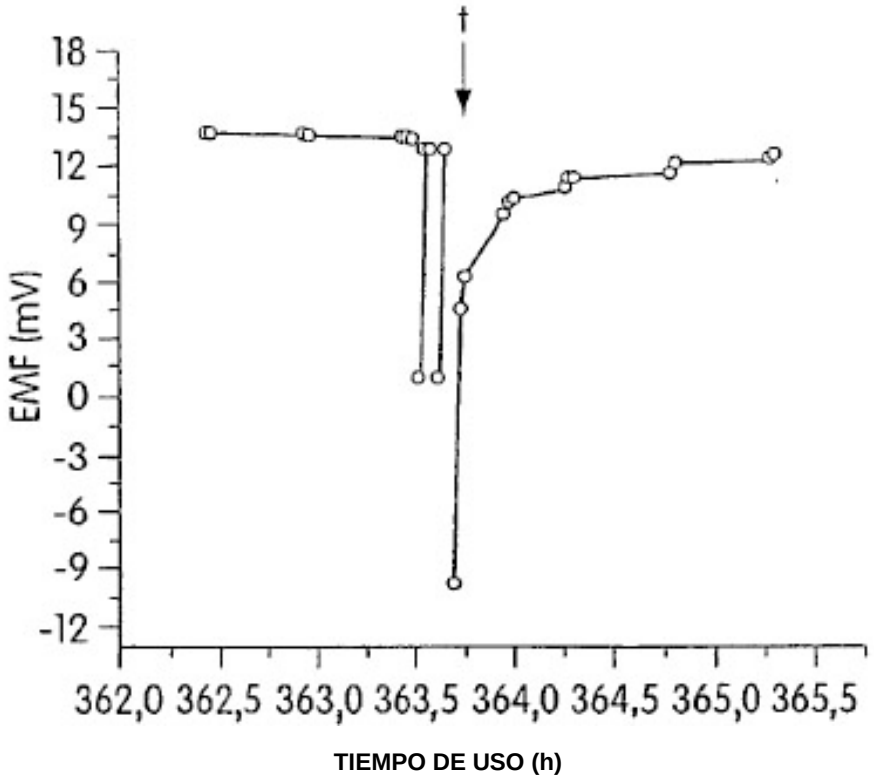


Figura 15

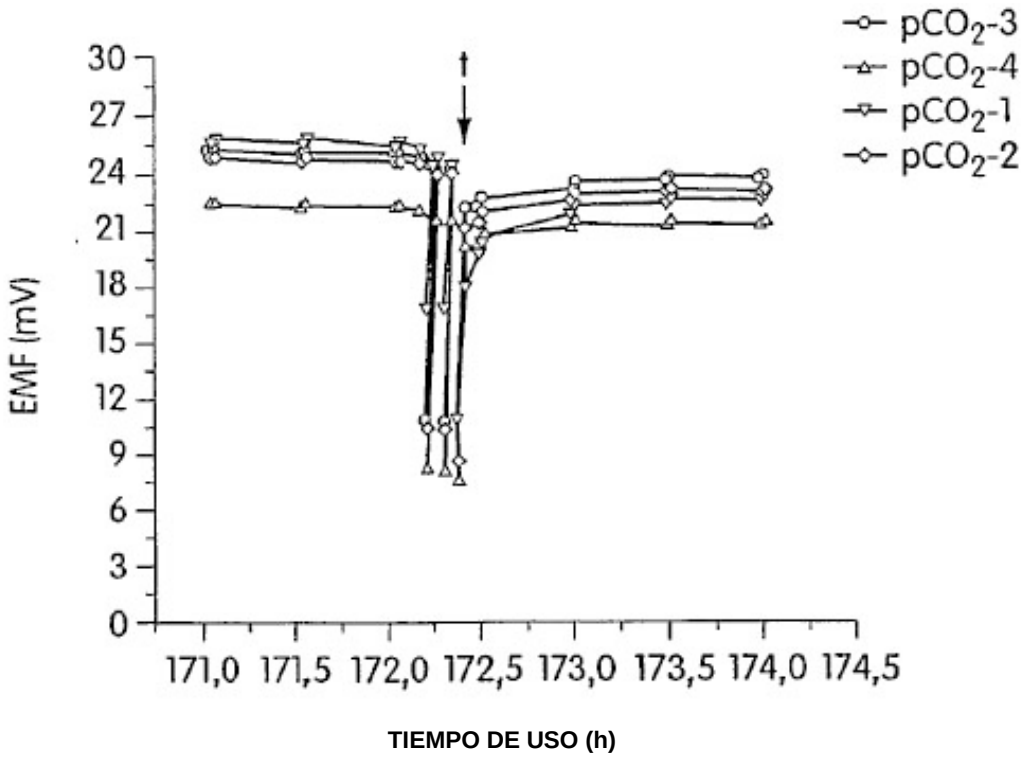


Figura 16

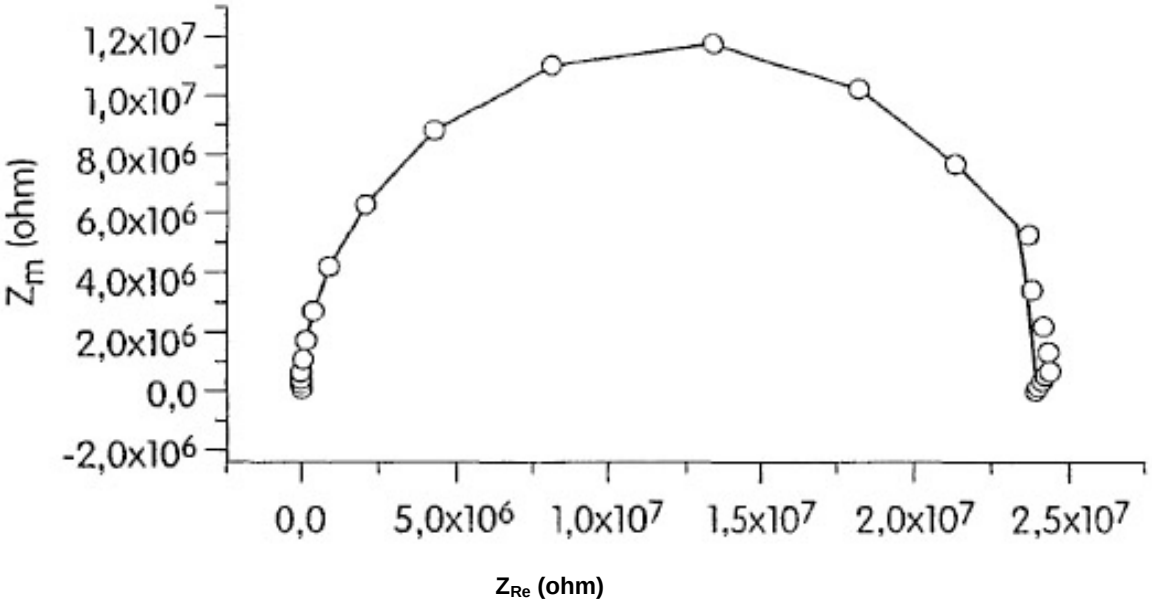


Figura 17

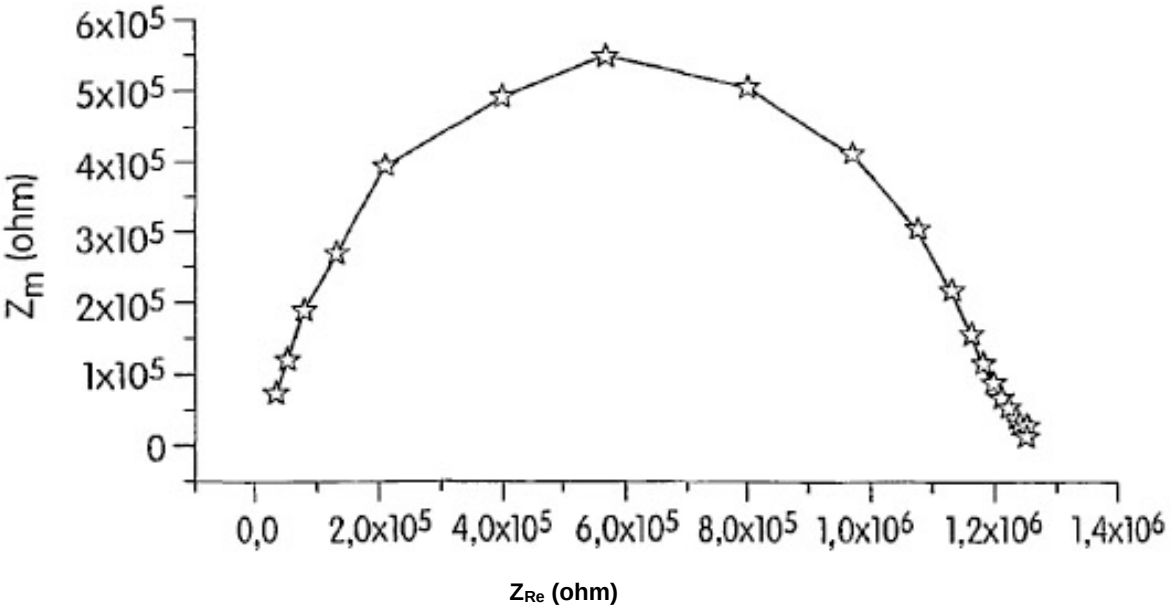
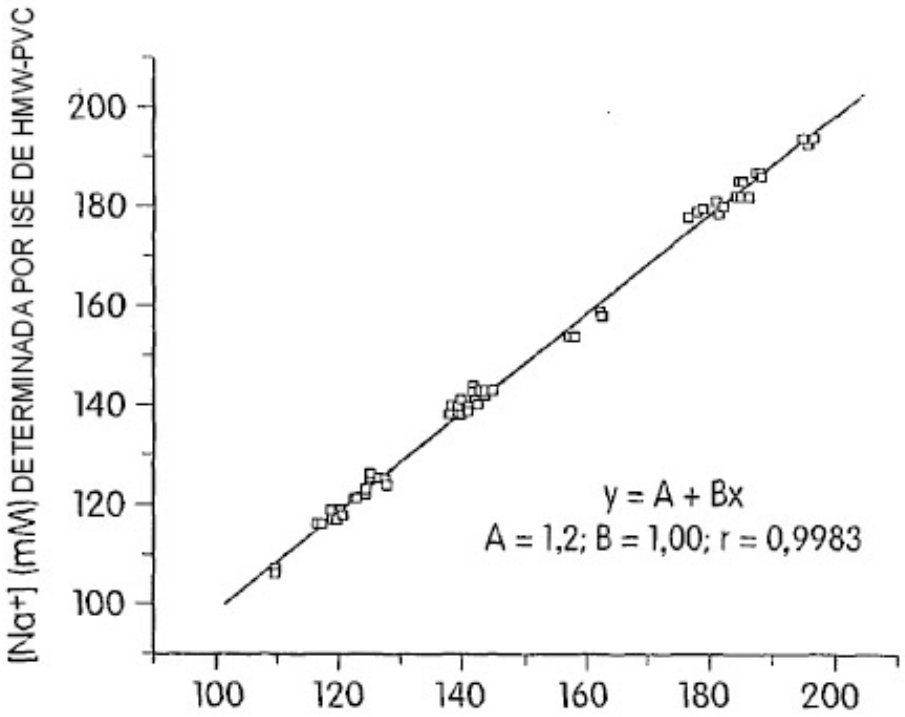
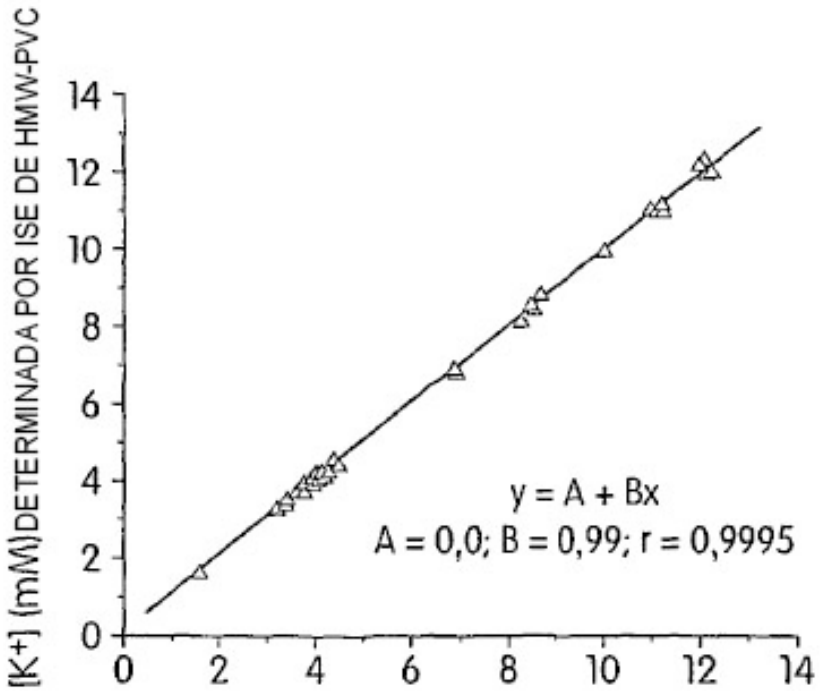


Figura 18



[Na^+] (mM) DETERMINADA POR ISE DE PVC-COOH

Figura 19



[K^+] (mM) DETERMINADA POR ISE DE PVC-COOH

Figura 20

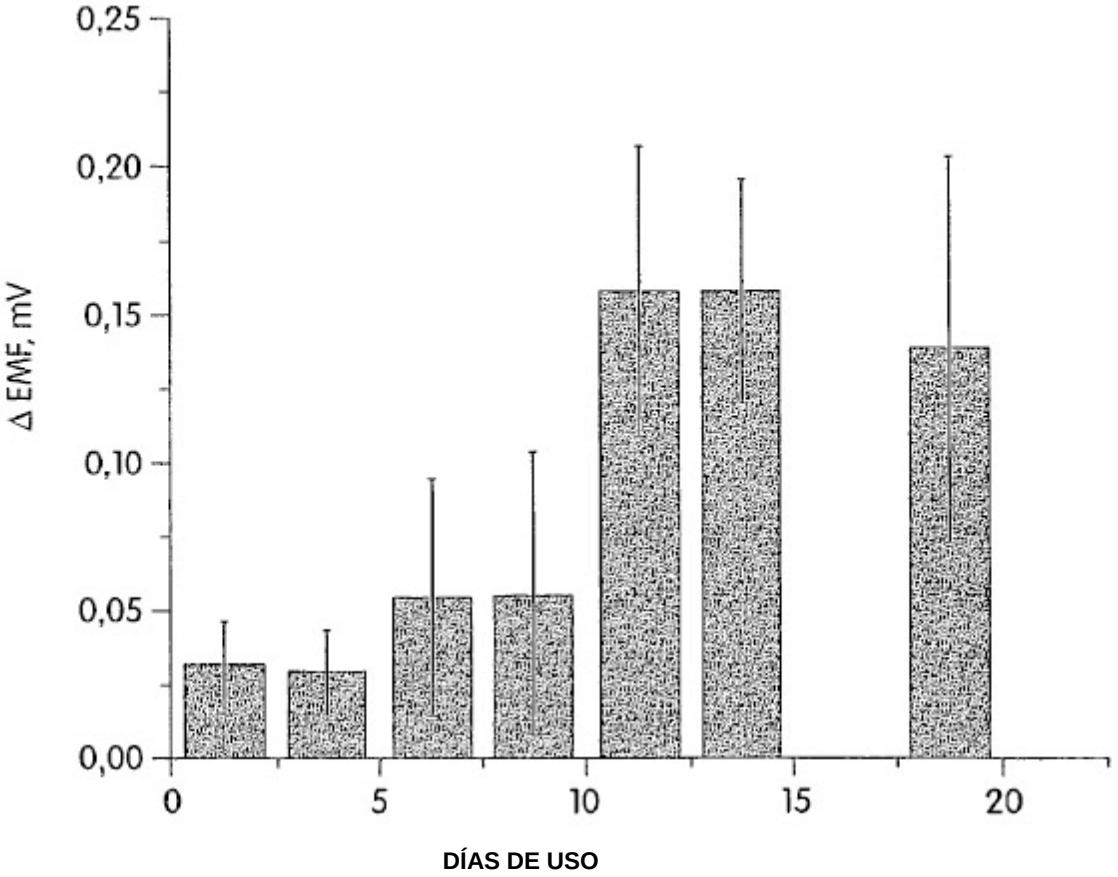


Figura 21