

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 578**

51 Int. Cl.:

G01N 33/52 (2006.01)

C12Q 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2006 E 06827740 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2013 EP 1949101**

54 Título: **Reactivo de sensor de ensayo que tiene polímeros de celulosa**

30 Prioridad:

14.11.2005 US 736537 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

06.05.2013

73 Titular/es:

**BAYER HEALTHCARE, LLC (100.0%)
555 WHITE PLAINS ROAD
TARRYTOWN, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**CHU, AMY, H.;
EDELBROCK, ANDREW, J. y
SPRADLIN, HOPE, G.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 402 578 T3

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

Reactivo de sensor de ensayo que tiene polímeros de celulosa

La presente invención se refiere a una composición de reactivo de sensores de ensayo y más particularmente, a una composición de reactivo que comprende de un 3,6% en peso a un 6,0% en peso de un polímero de hidroxietil
 5 celulosa, de un 1% en peso a un 4% en peso de una enzima de glucosa oxidasa, de un 15% en peso a un 20% en peso de un mediador de ferricianuro y de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de una arcilla de esmectita.

Antecedentes de la invención

La determinación cuantitativa de analitos en los fluidos corporales es de gran importancia en la diagnosis y
 10 mantenimiento de determinadas anomalías fisiológicas. Por ejemplo, se deberían controlar lactato, colesterol y bilirrubina en determinadas personas. En particular, la determinación de glucosa en los fluidos corporales es importante para las personas diabéticas que deben comprobar frecuentemente el nivel de glucosa en sus fluidos corporales con el fin de regular la captación de glucosa en sus dietas. Se pueden usar los resultados de dichos
 15 ensayos para determinar qué insulina u otra medicación es necesaria administrar, si es que hay que administrar alguna. En un tipo de sistema de ensayo de glucosa en sangre, se usan sensores de ensayo para ensayar un fluido tal como una muestra de sangre.

Un sensor de ensayo contiene un biosensor o un material de reactivo que reaccionará con el analito de interés, tal como glucosa en sangre. Se adapta el final del ensayo del sensor de ensayo con el fin de ser colocado en el fluido
 20 objeto de ensayo, por ejemplo, sangre que se ha acumulado en el dedo de una persona una vez producida una punción en el mismo. Se introduce el fluido en el interior de un conducto capilar que se extiende en el sensor de ensayo desde el extremo de ensayo hasta el material de reactivo por medio de la acción capilar, de manera que una cantidad suficiente de fluido objeto de ensayo sea introducida en el interior del sensor de ensayo. En algunos
 25 sensores de ensayo, posteriormente el fluido reacciona químicamente con el material de reactivo en el sensor de ensayo, dando lugar a una señal eléctrica indicativa del nivel de glucosa en el fluido objeto de ensayo.

Un problema con los sensores de ensayo actuales es que los reactivos pueden contener componentes que
 25 interfieren con la estabilidad del sensor. En particular, algunos componentes, tales como óxido de polietileno ("PEO"), pueden ser incompatibles con otros componentes, tales como la enzima y el mediador de transferencia de electrones, que son importantes para los sensores de ensayo. Los sensores de ensayo que tienen reactivos que se formulan con los componentes que, por ejemplo, son incompatibles con la enzima y el medio de transferencia de
 30 electrones pueden exhibir una pobre estabilidad del sensor de ensayo con el tiempo. Esta inestabilidad resulta especialmente evidente cuando el tiempo total de ensayo es menor de 35 segundos. De este modo, sería deseable disponer de un reactivo de sensor de ensayo que tuviera componentes que mejorasen la estabilidad del sensor de ensayo.

El documento DE 10 2004 003 793 A1 desvela una capa de vehículo de reactivo para un biosensor electroquímico
 35 que contiene una membrana de dos capas, cuya primera capa contiene una dispersión de polímero acuoso con reactivos incorporados y la segunda capa una capa superficial permeable resistente al agua. Las dispersiones poliméricas apropiadas para la primera capa de la membrana de dos capas son todas dispersiones poliméricas acuosas conocidas. Los reactivos necesarios para el procedimiento de detección, es decir, normalmente enzimas, se pueden incorporar fácilmente por medio de la fase acuosa de la dispersión polimérica. También se pueden
 40 incorporar sustancias auxiliares adicionales, tales como tampones, detergentes, aditivos reológicos y mediadores en la presente formulación de reactivo. Para la producción de la segunda capa, se pueden usar soluciones poliméricas, y preferentemente soluciones poliméricas acuosas. En una primera capa basada en una dispersión polimérica aniónica, la capa de polielectrolito doble se puede formar por medio de aplicación de una solución polimérica catiónica, tal como por ejemplo polialilaminohidrocloreto (PAH), poli(cloruro de dialildimetilamonio) (poliDADMAC),
 45 poli(hidrocloruros de etilenimina) (PEI.HCl) o polímeros de celulosa catiónicos tales como hidrocloruros de dietilaminoetil celulosa o hidrocloruros de quitosamina. No obstante, la fabricación de un sensor de ensayo electroquímico que tenga una membrana de dos capas requiere más etapas de fabricación que la membrana de capa sencilla. Por tanto, sería deseable tener una composición de reactivo en una capa sencilla, que tenga
 50 componentes que mejoren la estabilidad del sensor de ensayo. B. Alp. et al. "Glow-discharge-treated cellulose acetate (CA) membrane for a high linearity single-layer glucose electrode in the food industry", Food Research International, vol 33 (2000), páginas 107-112, Toronto, Canada desvela un estudio con el objetivo de desarrollar un electrodo de enzima de glucosa de capa sencilla con linealidad ampliada para ser usado en la industria alimentaria con el fin de determinar el contenido de glucosa. Se usó un electrodo de enzima de glucosa de tipo sonda basada en
 55 amperímetro con un electrodo de trabajo de Pt y un electrodo de referencia de Ag/AgCl polarizado a + 650 mV. En el presente estudio, se investigaron el comportamiento selectivo de permeabilidad de diferentes membranas poliméricas (acetato de celulosa, poliuretano, poliéter sulfona) y policarbonato tratado químicamente y disponible desde el punto de vista comercial, a diferentes valores de pH (pH 4, 6, 7,4, 10) para estimar la magnitud de las interferencias provocadas por un grupo de compuestos electroactivos diferentes. Los ensayos de selectividad mostraron que las membranas de acetato de celulosa fueron la estructura más apropiada para establecer la capa de reconocimiento de membrana sencilla.

Sumario de la invención

De acuerdo con una realización, la invención va destinada a una composición de reactivo de un sensor de ensayo, comprendiendo la composición de reactivo de un 3,6% en peso a un 6,0% en peso de un polímero de hidroxietil celulosa, de un 1% en peso a un 4% en peso de una enzima de glucosa oxidasa, de un 15% en peso a un 20% en peso de un mediador de ferricianuro y de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de una arcilla de esmectita.

De acuerdo con otra realización de la invención, el procedimiento para determinar una concentración de analito de una muestra de fluido comprende las acciones de proporcionar un sensor de ensayo electroquímico que comprende una pluralidad de electrodos incluyendo un contra electrodo y un electrodo de trabajo, un área de recepción del fluido y una composición de reactivo que comprende de un 3,6% en peso a un 6,0% en peso de un polímero de hidroxietilcelulosa, de un 1% en peso a un 4% en peso de una enzima de glucosa oxidasa, de un 15% en peso a un 20% en peso de un mediador de ferricianuro y de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de una arcilla de esmectita. El procedimiento también incluye la acción de determinar la concentración de analito en un tiempo de ensayo menor de 35 segundos.

De acuerdo con otra realización de la invención, el procedimiento para determinar la concentración de analito de una muestra de fluido comprende las acciones adicionales de recoger la muestra de fluido, colocar la muestra de fluido que tiene al menos un analito dentro de un sensor de ensayo, poner en contacto la muestra de fluido con la composición de reactivo y determinar la concentración de analito de la muestra de fluido, usando la señal eléctrica, que procede de dicho analito en dicha muestra de fluido que reacciona químicamente con el material de reactivo del sensor de ensayo.

No se pretende que el sumario anterior de la presente invención represente cada realización, o cada aspecto, de la presente invención. Características adicionales y ventajas de la presente invención resultarán evidentes de la siguiente descripción detallada, figuras y reivindicaciones explicadas a continuación.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una vista en perspectiva de un instrumento dispensador-sensor de ensayo en posición abierta que muestra un envase de sensor que se encuentra insertado de acuerdo con una realización.

La Figura 2a es una vista frontal de un cartucho desechable con una pluralidad de sensores de ensayo apilados de acuerdo con una realización.

La Figura 2b es una vista frontal de un instrumento dispensador-sensor de acuerdo con una realización que se adapta para recibir el cartucho de la Figura 2a.

La Figura 3 es una vista despiezada de los componentes de un sensor de ensayo de acuerdo con otra realización.

La Figura 4 es una vista frontal del sensor de ensayo electroquímico de la Figura 3.

La Figura 5 es una gráfica que compara los porcentajes de recuperación de glucosa oxidasa para sensores de ensayo que tienen una composición de reactivo basada en HEC y una composición de reactivo basada en PEO de acuerdo con una realización de la presente invención.

La Figura 6 es una gráfica que compara la estabilidad de mediador como función del tiempo de almacenamiento de reactivo para sensores de ensayo que tienen una composición de reactivo basada en HEC y un reactivo basado en PEO de acuerdo con una realización de la presente invención.

Las Figuras 7a-7b y 7c-7d son una serie de gráficas que comparan la desviación de ensayo y el % de desviación de ensayo basado en ensayo de 10 segundos y ensayos de 30 segundos, respectivamente, para sensores de ensayo que tienen una composición de reactivo basada en HEC y una composición de reactivo basada en PEO de acuerdo con una realización de la presente invención.

Descripción de las realizaciones ilustradas

La presente invención se dirige a una composición reactiva para ser usada en un instrumento de sensor sencillo o un instrumento dispensador-sensor que contiene una pluralidad de sensores de ensayo electroquímicos u ópticos. Los sensores de ensayo electroquímicos u ópticos se usan para determinar las concentraciones de glucosa en un fluido.

La glucosa puede estar, por ejemplo, en una muestra de sangre, una muestra de suero sanguíneo, una muestra de plasma sanguíneo u otros fluidos corporales tales como ISF (fluido intersticial) y orina.

Las Figuras 1 a 4 y la descripción de acuerdo con las mismas revelan información sobre los sensores de ensayo que se adaptan al uso de la composición de reactivo de acuerdo con la invención y sobre los sensores de ensayo que se pueden usar en el procedimiento de acuerdo con la invención. Típicamente, se almacena la pluralidad de sensores de ensayo en un cartucho desechable o recipiente. En una realización, la pluralidad de sensores de

ensayo se puede almacenar en un envase de sensor en el cual los sensores se encuentran envasados de forma individual en cavidades de sensor (por ejemplo, un envase de tipo ampolla). La Figura 1 muestra un ejemplo de cartucho desechable 10 que está colocado en un instrumento de dispensador-sensor 20. El cartucho desechable 10 es un ejemplo de envase de tipo ampolla. El cartucho 10 incluye una pluralidad de sensores de ensayo 12 que están almacenados de forma individual en cada una de las respectivas cavidades de sensor 14. Se contempla que también se pueden usar otros envases de sensor que albergan los sensores de forma individual.

En una realización alternativa, se puede apilar la pluralidad de sensores de ensayo en un cartucho desechable tal como se muestra en la Figura 2a. En referencia a la Figura 2a, el cartucho desechable 50 incluye un alojamiento 52 y una pluralidad de sensores de ensayo 54 apilados que se mueven en la dirección de la flecha A por medio del muelle 56. El cartucho 50 también incluye una pluralidad de precintos 58 a, b que protegen los sensores de ensayo 54 apilados frente a la humedad. Los sensores de ensayo 54, uno a uno, abandonan el cartucho 50, a través de la abertura 60. Se puede almacenar el cartucho desechable 50 en un instrumento dispensador-sensor 70 de la Figura 2b. Se contempla que se pueden usar otros cartuchos además de los cartuchos 10, 50 con la presente invención.

Los cartuchos 10, 50 de las Figuras 1 y 2a o un recipiente de sensores de ensayo individuales pueden variar en el número de sensores que se encuentran incluidos con el fin de abordar las necesidades de los diferentes usuarios. Típicamente, los cartuchos o recipientes contienen de 10 a 100 sensores de ensayo y, más específicamente, contienen de 25 a 50 sensores de ensayo. Debido al limitado período de caducidad y vida útil de los sensores de ensayo, se prevé que un usuario que se somete a ensayo de manera infrecuente probablemente precisaría de un cartucho o recipiente con menos sensores de ensayo que otro usuario que se somete a ensayo de manera más frecuente.

En algunas realizaciones, típicamente, los sensores de ensayo que se pueden usar en los cartuchos o recipientes están provistos de un conducto capilar que se extiende desde la parte frontal o el final de ensayo del sensor de ensayo hasta el biosensor o material de reactivo dispuesto en el sensor de ensayo. Cuando el extremo de ensayo del sensor de ensayo se coloca en el interior de un fluido (por ejemplo, sangre que se ha acumulado en el dedo de la persona tras punción), se introduce una parte del fluido en el interior del conducto capilar por medio de la acción capilar. Posteriormente, el fluido reacciona químicamente con el reactivo del sensor de ensayo de forma que se genera una señal eléctrica indicativa del nivel de analito (por ejemplo, glucosa) en el fluido objeto de ensayo y posteriormente se transmite a un conjunto eléctrico.

La composición de reactivo de acuerdo con la invención se puede aplicar a un sustrato por medio de un procedimiento de serigrafía. El procedimiento de serigrafía permite aplicar una capa fina de reactivo a un sensor de ensayo plano y pequeño, tal como el sensor de ensayo que se muestra en la Figura 4. Este procedimiento usa un elemento de serigrafía típicamente fabricado bien con acero inoxidable estirado o bien con una retícula de poliéster y un revestimiento de emulsión foto-sensible que queda expuesto con el patrón deseado. Típicamente, se aplica la tinta de reactivo al elemento de serigrafía y se usa una cuchilla de rasqueta para hacer pasar el reactivo a través del elemento de serigrafía con el patrón deseado. El patrón deseado puede incluir una parte del elemento de serigrafía que tiene la emulsión foto-sensible y otra parte del elemento de serigrafía que no tiene la emulsión foto-sensible. En una realización, la parte del elemento de serigrafía sin la emulsión foto-sensible se pone en contacto con la tinta del reactivo.

La composición del reactivo que se aplica al sensor de ensayo puede tener influencia sobre aspectos tales como el tiempo necesario para llevar a cabo el ensayo con el fin de determinar la concentración de analito (es decir, el tiempo de ensayo), la estabilidad del sensor de ensayo y la facilidad de aplicación del reactivo por medio del procedimiento de serigrafía. La composición de reactivo de la presente invención incluye ingredientes que proporcionan las características deseadas de sensor de ensayo, tales como una mayor estabilidad del sensor de ensayo, menor tiempo total de ensayo y mejor adherencia del reactivo al sustrato.

La composición de reactivo de la presente invención que proporciona dichas características deseadas incluye una composición de reactivo que tiene polímeros de celulosa. Los polímeros de celulosa sirven como aglutinante para los componentes de la capa de reactivo y contribuyen a aumentar la viscosidad de la composición de reactivo. También se ha comprobado que el uso de polímeros de celulosa en la composición de reactivo mejora la estabilidad del sensor de ensayo. El polímero de celulosa incluye polímero de hidroxietilcelulosa ("HEC"). HEC es deseable debido a sus propiedades de estabilización. De manera específica, cuando se usa HEC en lugar de otros materiales poliméricos, se reduce la degradación de glucosa oxidasa, así como también la presencia de la reducción del mediador. La reducción de estas reacciones conduce a una mejor estabilidad del sensor de ensayo por medio de la reducción de la corriente de fondo del sensor de ensayo.

De acuerdo con la presente invención, de manera general, la composición de reactivo comprende de un 3% en peso a un 6% en peso de polímeros de celulosa de pesos moleculares entre 300.000 y 1.000.000. Los polímeros de celulosa se encuentran disponibles comercialmente a partir de varios suministradores. Por ejemplo, Natrasol®, un polímero de HEC, se encuentra disponible en Hercules Inc., en Wilmington, Delaware.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, además de los polímeros de celulosa descritos anteriormente, la composición de reactivo incluye componentes adicionales tales como una enzima, un mediador de

transferencia de electrones y aditivos reológicos.

Para ensayar los niveles de glucosa en sangre, se usa la enzima glucosa oxidasa. La enzima glucosa oxidasa reacciona con glucosa en la muestra de sangre y produce una señal eléctrica que indica la concentración de glucosa. Se pueden medir las actividades de enzima en términos de la unidad de actividad (U) que se define como la cantidad de enzima que catalizará la transformación de un micromol de un sustrato por minuto en condiciones convencionales. La composición de reactivo comprende de un 1,0% en peso hasta un 4,0% en peso de enzima de glucosa oxidasa.

La enzima glucosa oxidasa se puede obtener comercialmente a partir de compañías tales como Biozyme Laboratories International Ltd., San Diego, California, Genzyme Corporation de Cambridge, Massachusetts y Amano Enzyme Inc., de Elgin, Illinois.

Como se ha descrito anteriormente, la composición de reactivo también incluye un mediador de transferencia de electrones. El mediador que se usa con la presente invención incluye ferricianuro, además de otros mediadores. Este mediador de transferencia de electrones es un compuesto de valencia mixta capaz de formar pares redox. De manera general, la composición de reactivo comprende de un 15% en peso a un 20% en peso de mediador de transferencia de electrones. En la presente invención, el mediador de transferencia de electrones es un mediador de ferricianuro. Los mediadores de ferricianuro, así como también otros mediadores de transferencia de electrones, se encuentran disponibles comercialmente a partir de varios suministradores tales como Sigma Aldrich Co. Se contempla que se pueden usar otros mediadores de transferencia de electrones, además de los mediadores de ferricianuro, en la presente invención.

Los aditivos reológicos que se incluyen en la composición de reactivo incluyen arcilla de esmectita tales como arcillas de montmorillonita, hectorita o bentonita u otros materiales naturales o sintéticos apropiados. La hectorita está formada por minerales de arcilla y se encuentra disponible comercialmente como Bentone® de Elements Specialities Inc. de Hightston, New Jersey o como OPTIGEL® SH Synthetic Hectorite que se encuentra disponible comercialmente en Sud-Chemie Inc. de Louisville, Kentucky.

De manera deseable, los aditivos reológicos que se pueden usar en la composición de reactivo de la presente invención son tixotrópicos o materiales que modifican la viscosidad. Dichos materiales mejoran las propiedades de serigrafía de la composición de reactivo. De manera específica, los aditivos tixotrópicos de la presente invención incluyen materiales que exhiben una disminución de viscosidad con el tiempo. De manera adicional, la viscosidad de los aditivos tixotrópicos de la presente invención también disminuye cuanto mayor es la cizalladura experimentada por los aditivos. Los aditivos reológicos de la composición de reactivo también pueden servir como aglutinante o materiales de relleno.

En una realización, la composición de reactivo comprende de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de arcilla de esmectita. La cantidad y el tipo de aditivo reológico que se usa puede variar dependiendo del polímero que se use en la composición de reactivo, así como también de si el reactivo es de base acuosa o de base orgánica.

En otras realizaciones de la presente invención, la composición de reactivo puede incluir componentes adicionales, tales como un tampón y un agente humectante. Ejemplos de tampones que se pueden usar incluyen ácido cítrico, citrato de sodio y otros tampones apropiados, tales como tampones de fosfato. La composición de reactivo puede comprender de 10 mMolar a 500 mMolar del tampón y, de manera deseable, de 25 mMolar a 200 mMolar. Otros tampones apropiados pueden incluir acetato de sodio, tampón Hepes, etc. El tampón que se usa en la composición de reactivo puede estar seleccionado en base al mediador de transferencia de electrones que se usa. Por ejemplo, si se incluye un mediador de ferricianuro en la composición de reactivo, resulta deseable un tampón que mantenga un nivel de pH bajo y que no reaccione con el mediador de ferricianuro.

Agentes humectantes apropiados pueden incluir tensioactivos basados en fluorocarburos o hidrocarburos. Algunos ejemplos de tensioactivos que se pueden usar con la presente invención incluyen tensioactivos Triton™ de The Dow Chemical Company de Midland, Michigan y aditivos de Surfynol® de Air Products and Chemicals, Inc. de Allentown, Pennsylvania. La composición de reactivo puede comprender de un 0,01% en peso a un 0,3% en peso de un tensioactivo basado en fluorocarburo y, de manera deseable, de un 0,02% en peso a un 0,06% en peso. De manera adicional, o de manera alternativa, la composición de reactivo puede comprender de un 0,1% en peso a un 5,0% en peso de un tensioactivo basado en hidrocarburo, y de manera deseable de un 1,0% en peso a un 3,0% en peso.

El resto de la formulación puede contener agua u otros disolventes apropiados que pueden variar dependiendo de la enzima y del mediador de transferencia de electrones escogidos. El disolvente debería ser inerte frente a la enzima y el mediador de transferencia de electrones.

Las Figuras 3 y 4 muestran otra realización del sensor de ensayo que está adaptado al uso del reactivo comentado anteriormente. La Figura 3 es una vista despiezada de un sensor de ensayo electroquímico. El sensor de ensayo 110 comprende una base aislante 112 sobre la cual se encuentra impreso un patrón de conductor eléctrico de forma secuencial (típicamente por medio de técnicas de serigrafía) que incluye una primera y segunda conducciones 114a, 114b (contactos de baja resistencia), un patrón de electrodo que incluye un electrodo de trabajo 116, un contra

electrodo 118, una capa aislante 120 (dieléctrico) que incluye una abertura 122 y un conducto 125, y una capa de reacción 124.

La capa de reacción 124 incluye la composición de reactivo que convierte el analito de interés (por ejemplo, glucosa) en una especie química que se puede medir electroquímicamente, en términos de la corriente eléctrica que produce, por medio de los componentes del patrón de electrodo 116, 118. La capa de reacción 124 se encuentra dispuesta sobre la abertura 122 y el conducto 125 de la capa aislante 120. De este modo, la parte de la capa de reacción 124 expuesta al patrón de electrodo 116, 118 queda definida por la abertura 122 y el conducto 125 de la capa aislante 120. El electrodo de trabajo 116 se encuentra acoplado eléctricamente a la primera conducción 114a, y el contra electrodo 118 se encuentra acoplado eléctricamente a la segunda conducción 114b. Una subunidad 119 de electrodo contador y accionador se encuentra acoplada eléctricamente al electrodo contador 118 y sirve como electrodo de detección imperfecciones de un sistema de dos electrodos.

El sensor de ensayo 110 incluye una tapa 130 que tiene una parte cóncava 132 que forma un conducto capilar cuando se une con la capa aislante 120 para mover la muestra de líquido desde una entrada 134 hasta el sensor de ensayo 110. El extremo aguas abajo del conducto capilar incluye una o más aberturas 136 para purgar la muestra de fluido del conducto capilar que fluye desde la entrada 134 hasta el sensor de ensayo 110 hacia la abertura 136. Durante el uso, el sensor de ensayo 110 recoge la muestra de fluido (por ejemplo, una muestra de sangre del dedo del paciente) poniendo en contacto la entrada 134 de conducto capilar con la muestra de fluido.

Se puede usar la composición de reactivo de la presente invención descrita en la presente memoria en una variedad de sensores de ensayo. Algún ejemplo de sensores de ensayo que pueden usar la formulación de reactivo son las Bandas de Ensayo de Glucosa en Sangre Glucodisc y Ascensia™ Autodisc™ que están diseñadas para ser usadas por el Medidor de Glucosa en Sangre Ascensia™ BREEZE™ y el Medidor de Glucosa en Sangre Ascensia™ DEX®2/DEX® de Bayer Healthcare LLC de Tarrytown, New York.

Como se ha mencionado anteriormente, se mejora la estabilidad del sensor por medio del uso de composiciones de reactivo que comprenden un polímero de hidroxietil celulosa. Esto es particularmente cierto para los ensayos de menos de 35 segundos, y especialmente deseable para los ensayos de menos de 25 segundos. La estabilidad mejorada del sensor de ensayo conduce a un período de caducidad y una vida útil del sensor más prolongados.

Ejemplos

Con el fin de comparar la estabilidad del sensor, los cambios en el nivel de fondo de reactivo como función del tiempo y la temperatura y estabilidad térmica, se proporcionó un grupo de sensores de ensayo que tenía una composición de reactivo basada en HEC como se describe a continuación en el Ejemplo 1. Se proporcionó otro grupo de sensores de ensayo que tenía una composición de reactivo basado en PEO como se describe a continuación en el Ejemplo 2. Los resultados del ensayo se describen en los Ejemplo 3, 4 y 5 y se muestran en las Figuras 5, 6 y 7a-7d.

Ejemplo de la Invención 1: Reactivo Basado en HEC

COMPONENTE DE REACTIVO	% EN PESO
Agua purificada	60-80
Arcilla de Esmectita	0,2-1,6
Tampón de Citrato	25-200 mMolar
Tensioactivo de Fluorocarburo	0,02-0,1
Hidroxietil Celulosa	3,6-6,0
Ferricianuro de Potasio	15-20
Enzima Glucosa Oxidasa	1,0-4,0
* A menos que se indiquen otras unidades	

Ejemplo de la Invención 2: Reactivo Basado en PEO

COMPONENTE DE REACTIVO	% EN PESO
Agua purificada	60-80
Arcilla de Esmectita	0,2-2,2
Tampón de Citrato	25-200 mMolar
Tensioactivo de Fluorocarburo	0,02-0,1
Tensioactivo de Hidrocarburo	0,2-3,0
Poli(óxido de etileno)	3,0-9,0

(continuación)

COMPONENTE DE REACTIVO	% EN PESO
Ferricianuro de Potasio	15-20
Enzima Glucosa Oxidasa	1,0-4,0
* A menos que se indiquen otras unidades	

Ejemplo 3

Para evaluar la estabilidad del sensor, se llevó a cabo un ensayo sobre dos lotes de sensores de ensayo para determinar el porcentaje de recuperación de glucosa oxidasa que tuvo lugar después de almacenar los sensores de ensayo a -20 grados centígrados y 50 grados centígrados durante dos y cuatro semanas. Se comparó un lote de sensores de ensayo que tenía un reactivo basado en HEC con un segundo lote de sensores de ensayo que tenía un reactivo basado en PEO. Al final del período de almacenamiento del sensor de ensayo, se extrajeron los sensores de ensayo con un tampón y se analizó la actividad de glucosa oxidasa en los extractos de sensor de ensayo usando procedimientos convencionales de análisis de actividad enzimática.

Los resultados del ensayo se muestran en la Figura 5. Aunque se formularon ambos lotes de sensores de ensayo con la misma cantidad de glucosa oxidasa en el reactivo, la recuperación de actividad de glucosa oxidasa para el reactivo basado en HEC fue mayor que la recuperación de actividad de glucosa oxidasa para el reactivo basado en PEO. Esto resultó cierto tanto para los lotes de sensores de ensayo que se almacenaron a -20 grados centígrados como para 50 grados centígrados durante períodos de dos y cuatro semanas. Los resultados de la tabla indicaron que los sensores de ensayo que contenían el reactivo basado en PEO presentaron más cantidad de glucosa oxidasa no reactiva. Estos resultados indicaron que la actividad de glucosa oxidasa fue más estable a diferentes temperaturas y durante períodos de tiempo largos, en algunos casos una recuperación próxima a 100%, para sensores de ensayo con reactivos que contenían HEC. Esto se trasladó a un sensor de ensayo más estable durante el período de caducidad del sensor de ensayo.

Ejemplo 4

La Figura 6 ilustra los resultados de ensayo para evaluar el cambio de nivel de fondo de reactivo en los sensores de ensayo que tenían un reactivo basado en HEC y en los sensores de ensayo que tenían un reactivo basado en PEO, como función del tiempo de almacenamiento a 5 grados C durante seis semanas. El aumento de nivel de fondo del reactivo como función del tiempo de almacenamiento del reactivo es el resultado de la conversión no relacionada con glucosa de ferricianuro en ferrocianuro. En cada punto de control de estabilidad, se analizó el nivel de fondo del reactivo con un sistema de inyección de flujo para cuantificar la cantidad relativa de ferrocianuro generado durante el almacenamiento. Se calculó el porcentaje de aumento de nivel de fondo de reactivo por medio de comparación de la corriente de nivel de fondo del reactivo en cada punto de control con la corriente de nivel de fondo del reactivo en el punto de control inicial. Como se puede observar en la Fig. 6, el reactivo basado en HEC mostró un menor aumento del nivel de fondo durante un período de seis semanas, en comparación con el reactivo basado en PEO.

Ejemplo 5

Las Figuras 7a, 7b, 7c y 7d muestran una comparación de la desviación de ensayo para sensores de ensayo sometidos a tensión formulados con reactivos basados en HEC y basados en PEO. Para evaluar la estabilidad térmica de los sensores de ensayo, se almacenaron los sensores de ensayo a -20 grados C y 50 grados C durante dos y cuatro semanas. Al final de los períodos de almacenamiento de los sensores de ensayo, se evaluaron éstos con sangre con un 40% de hematocrito a concentraciones de glucosa de 50, 100 y 400 mg/dl. Se recogieron veinte réplicas para las muestras usando protocolos de ensayo de 30 segundos y 10 segundos. Se calculó la diferencia en los resultados de ensayos de glucosa entre los sensores de ensayo sometidos a tensión de 50 grados C y los sensores de ensayo sometidos a tensión de -20 grados C. Para las muestras con glucosa de 50 mg/dl, se expresó la diferencia en cuanto a los resultados de ensayo como "desviación de ensayo" (véase Figuras 7a y 7c) y para las muestras con 100 mg/dl, se expresó la diferencia en los resultados de ensayo como "% de desviación de ensayo" (véase Figuras 7b y 7d).

La mejora de estabilidad de los sensores de ensayo alcanzó el valor más notable a niveles de glucosa menores debido a la menor deriva del nivel de fondo del sensor de ensayo. Los resultados mostraron que las diferencias en cuanto a la desviación de ensayo y el % de desviación de ensayo fueron más notables cuando se modificó el tiempo total de ensayo desde 30 segundos hasta 10 segundos. El reactivo basado en HEC redujo drásticamente la desviación de ensayo entre los sensores de ensayo de 50 grados C y -20 grados C. Esto se observó tanto para los ensayos de 30 segundos como para los de 10 segundos.

Aunque se ha descrito la composición de reactivo de sensor de ensayo de la presente invención para su uso principalmente con un sensor de ensayo electroquímico, se contempla que también se puede adaptar la composición de reactivo del sensor de ensayo para su uso con otros sensores de ensayo, tal como sensores de ensayo ópticos.

5 Aunque la invención es susceptible de diversas modificaciones y formas alternativas, se han mostrado sus realizaciones específicas a modo de ejemplo en los dibujos y se describen con detalle en la presente memoria. No obstante, deberá entenderse, que no se pretende limitar la invención a las formas particulares desveladas, sino que, por el contrario, se pretende que la invención abarque todas las modificaciones, equivalentes y alternativas que se encuentren comprendidas en el alcance de la invención que viene definido por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición de reactivo de un sensor de ensayo, comprendiendo la composición de reactivo de un 3,6% en peso a un 6,0% en peso, de polímero de hidroxietil celulosa, de un 1% en peso a un 4% en peso de una enzima glucosa oxidasa, de un 15% en peso a un 20% en peso de un mediador de ferricianuro y de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de una arcilla de esmectita.
2. La composición de reactivo de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la arcilla de esmectita incluye bentonita, hectorita, montmorillonita o una de sus combinaciones.
3. La composición de reactivo de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en la que la composición de reactivo además comprende de 10 mMolar a 500 mMolar de un tampón de citrato.
- 10 4. La composición de reactivo de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el tampón de citrato comprende ácido cítrico, citrato de sodio o una de sus combinaciones.
5. La composición de reactivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición de reactivo además comprende de un 0,02% en peso a un 0,1% en peso de un tensioactivo de fluorocarburo.
- 15 6. La composición de reactivo de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición de reactivo además comprende de un 1,0% en peso a un 3,0% en peso de un tensioactivo de hidrocarburo.
7. Un procedimiento para determinar una concentración de analito de una muestra de fluido que comprende las acciones de:
 - 20 proporcionar un sensor de ensayo electroquímico, comprendiendo el sensor de ensayo electroquímico una pluralidad de electrodos que incluyen un contra electrodo y un electrodo de trabajo, un área de recepción de fluido y una composición de reactivo que comprende de un 3,6% en peso a un 6,0% en peso de un polímero de hidroxietil celulosa, de un 1% en peso a un 4% en peso de una enzima de glucosa oxidasa, de un 15% en peso a un 20% en peso de un mediador de ferricianuro y de un 0,2% en peso a un 1,6% en peso de una arcilla de esmectita; y
 - determinar la concentración de analito en un tiempo de ensayo menor que 35 segundos.
- 25 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la arcilla de esmectita comprende bentonita, hectorita, montmorillonita o sus combinaciones.
9. El procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 7 ó 8, en el que el tiempo de ensayo se reduce a menos de 25 segundos.
- 30 10. Un procedimiento para determinar una concentración de analito de una muestra de fluido, el procedimiento según una de las reivindicaciones 7 a 9, comprende las acciones adicionales de:
 - 35 recoger la muestra de fluido;
 - colocar la muestra de fluido dentro del sensor de ensayo,
 - presentando la muestra de fluido al menos un analito;
 - poner en contacto la muestra de fluido con la composición de reactivo en el sensor de ensayo; y
 - determinar el analito usando la señal eléctrica, que resulta de la reacción química de dicho analito en dicha muestra de fluido con el material de reactivo en el sensor de ensayo.
11. El procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 7 a 10, en el que el sensor de ensayo es un sensor de ensayo óptico.

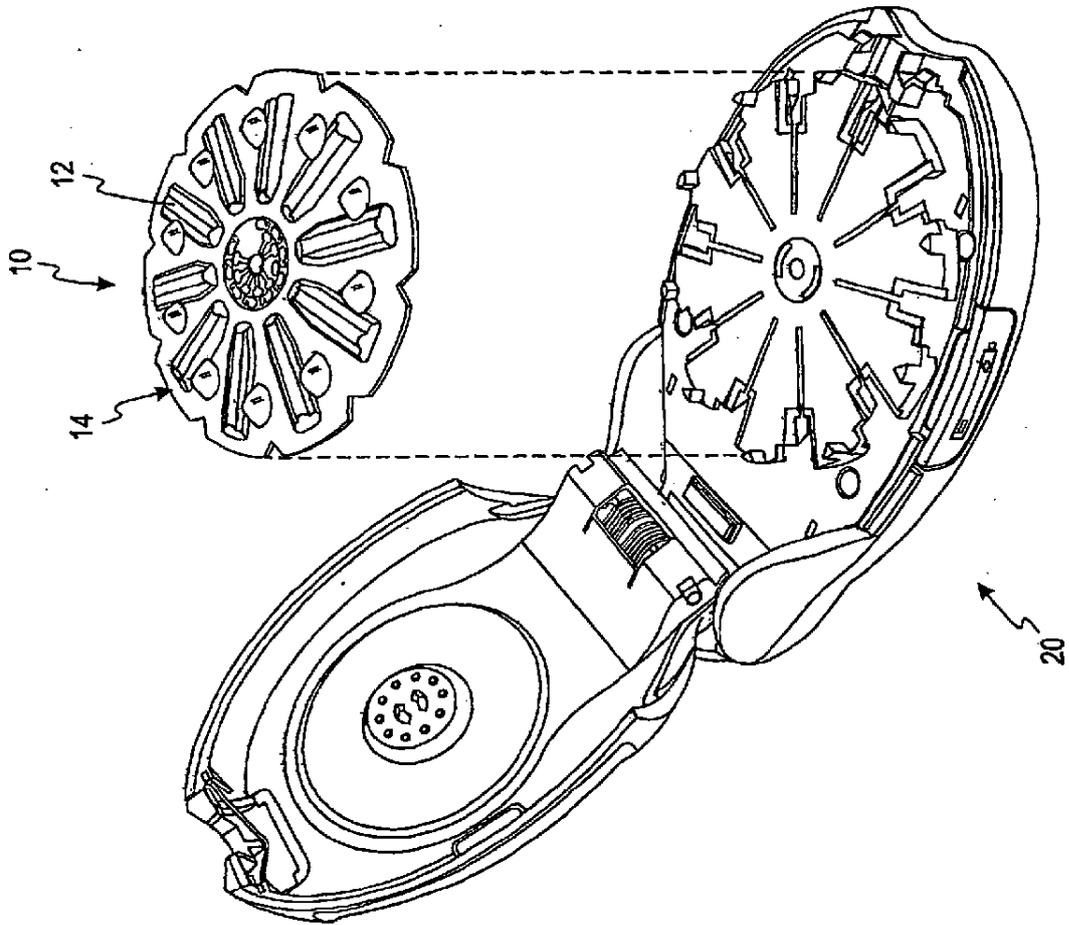


Fig. 1

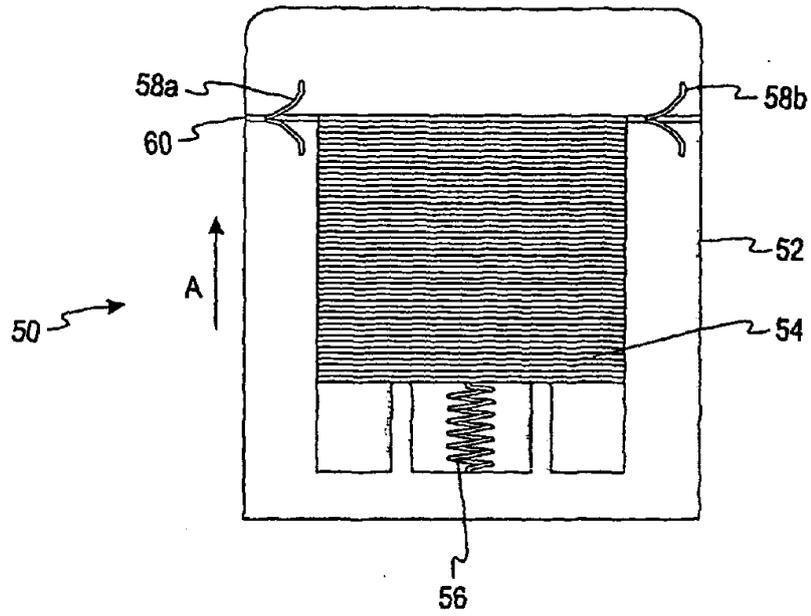


Fig. 2a

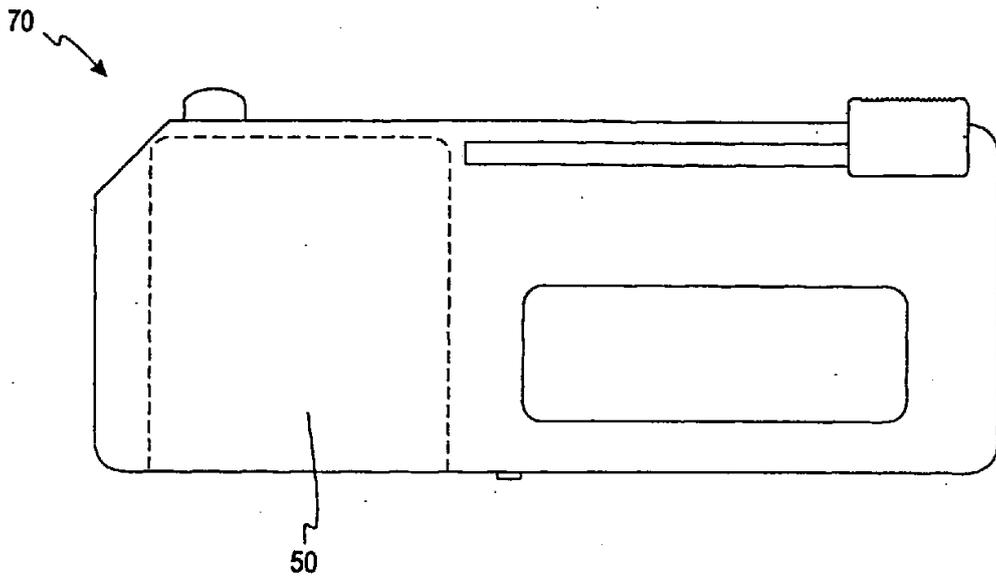


Fig. 2b

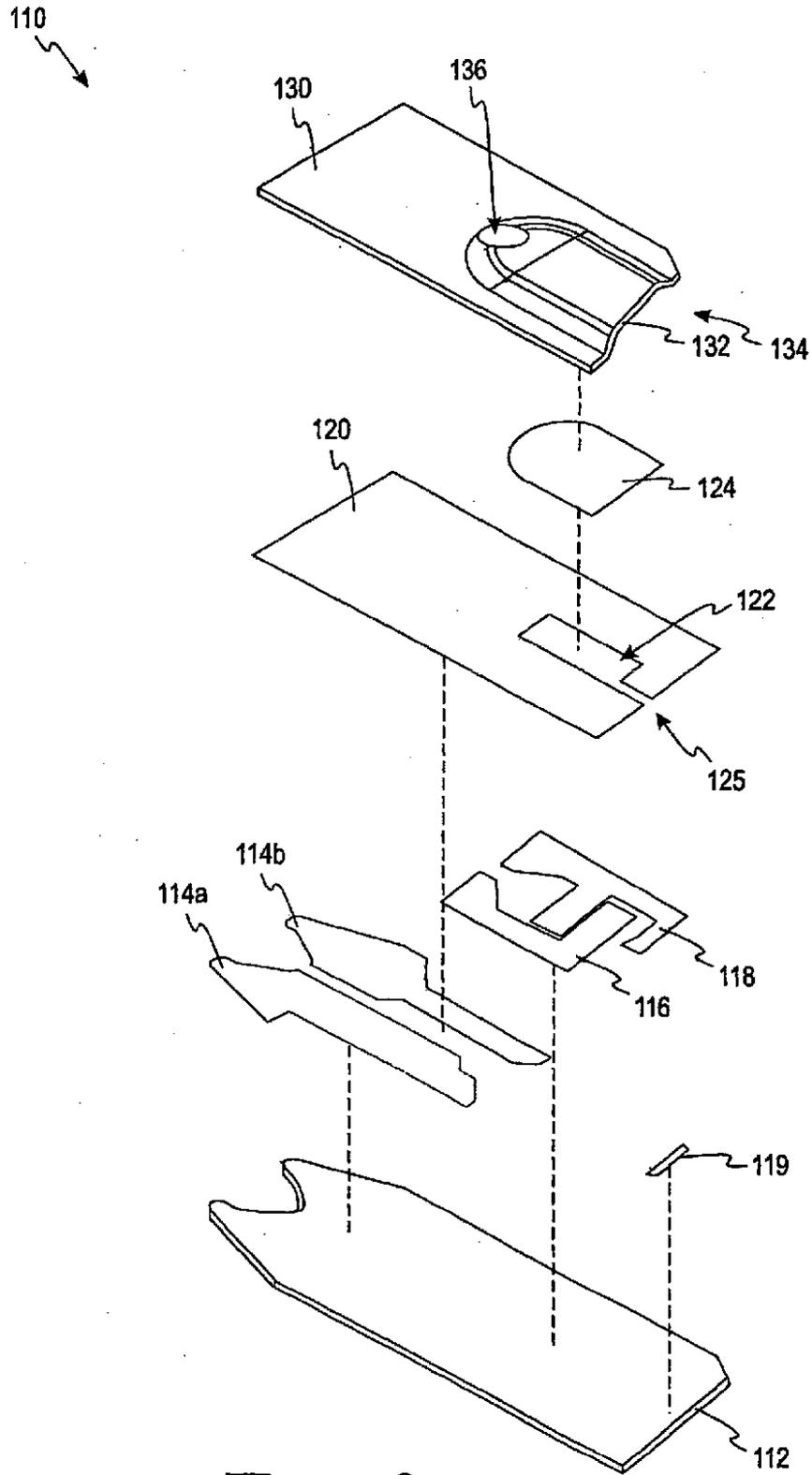


Fig. 3

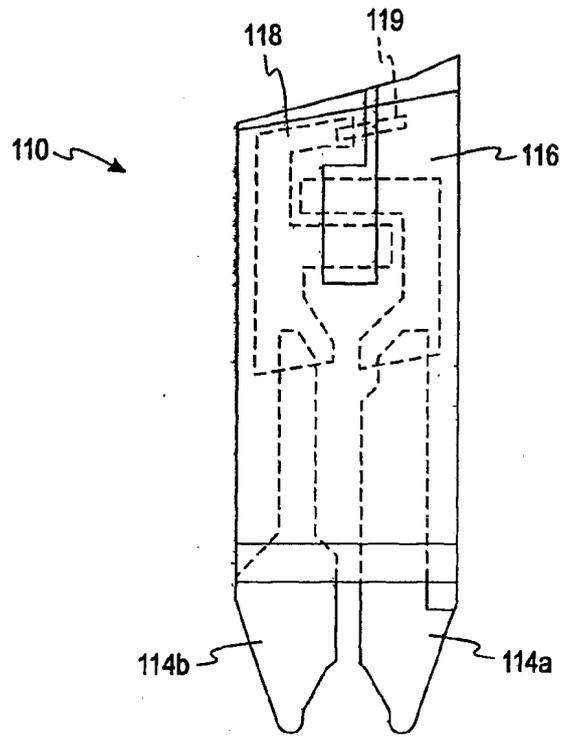


Fig. 4

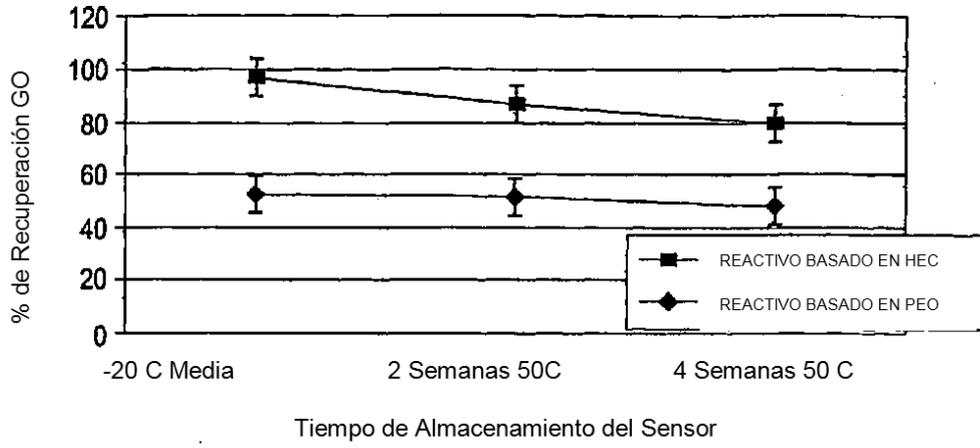


Fig. 5

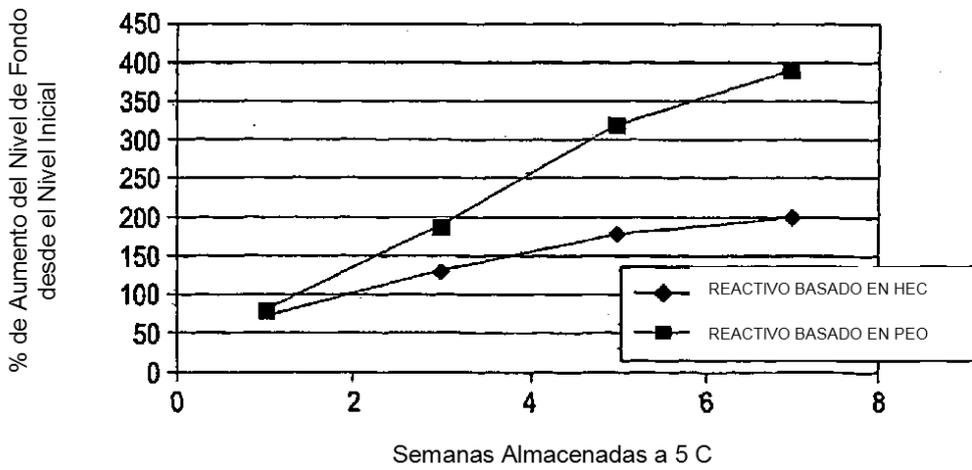


Fig. 6

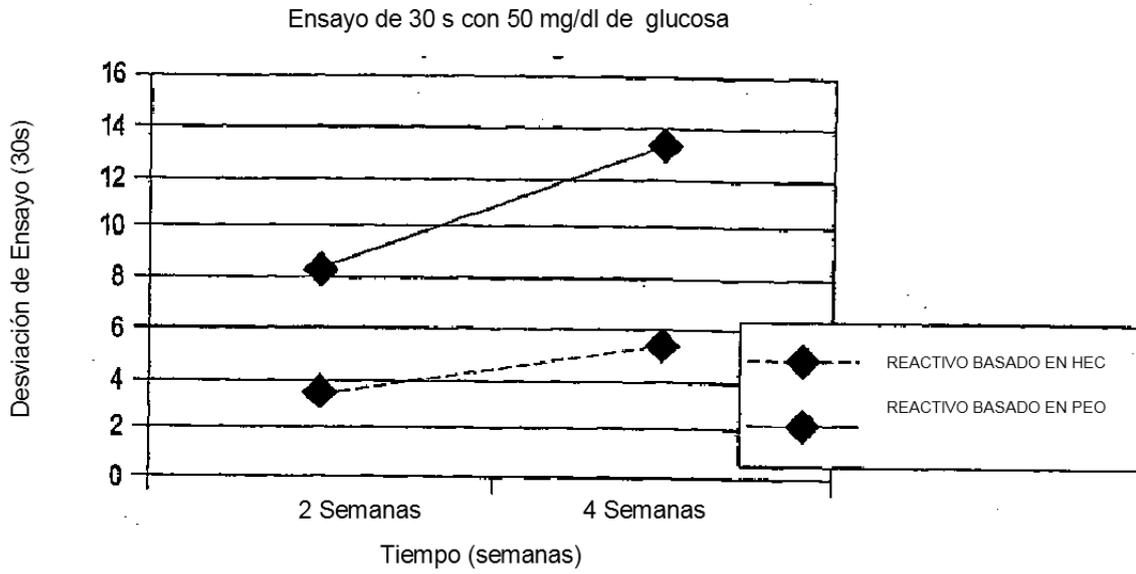


Fig. 7a

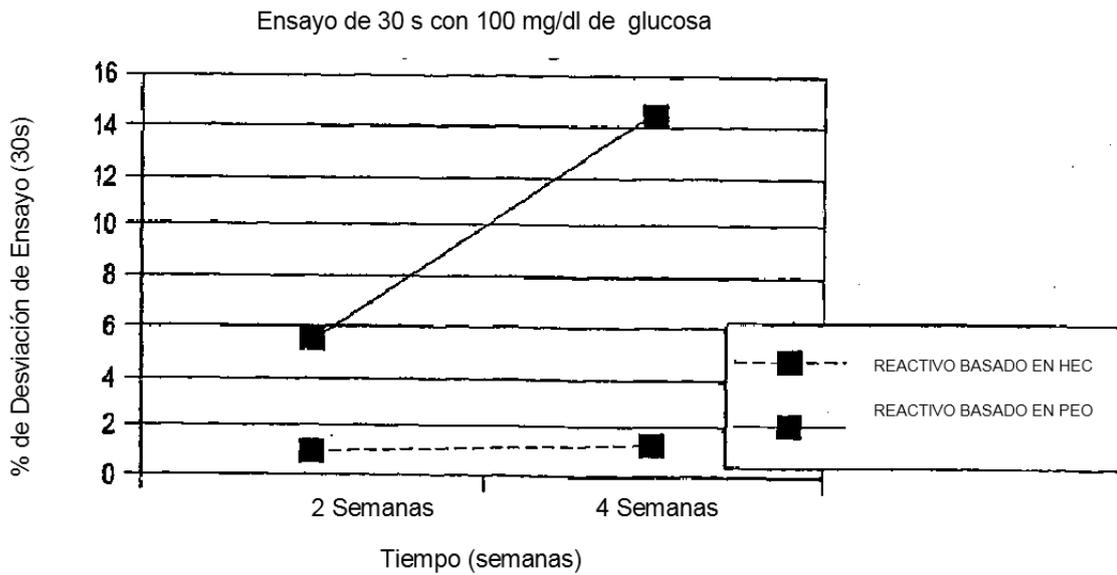


Fig. 7b

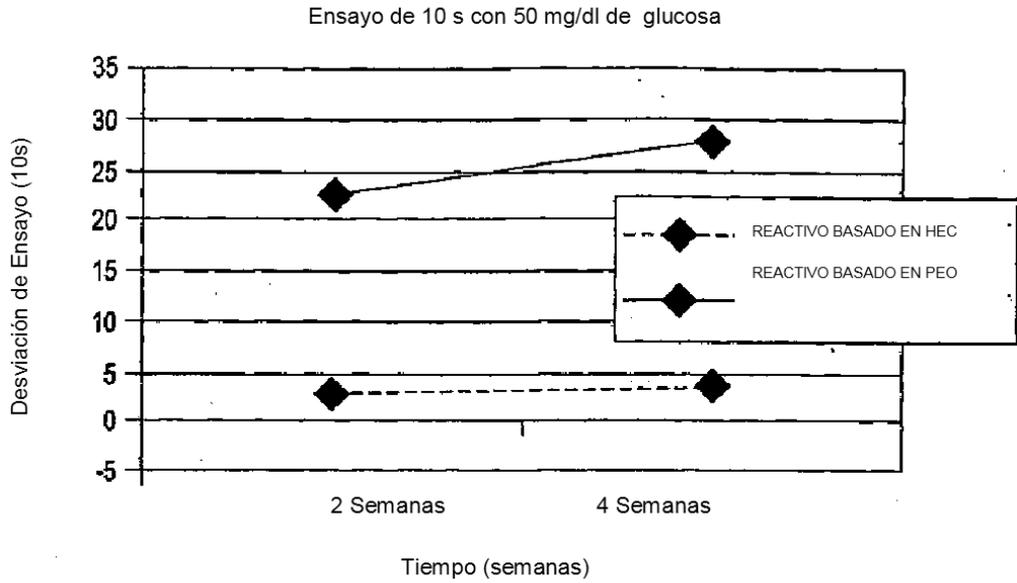


Fig. 7c

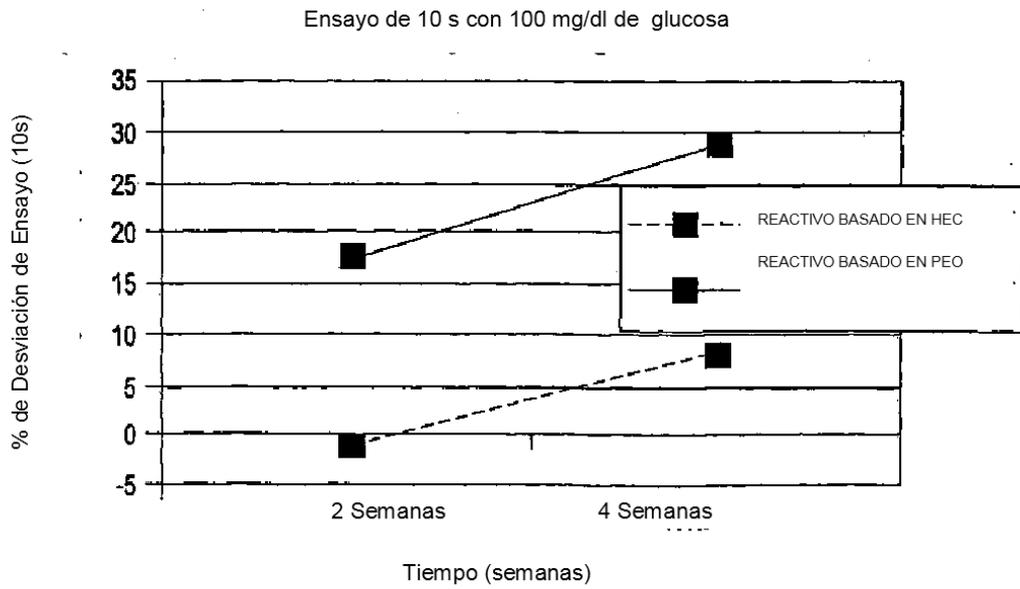


Fig. 7d