



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 10 003 T2 2004.04.22**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 077 634 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 10 003.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/10380**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 921 908.2**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/058051**

(86) PCT-Anmeldetag: **11.05.1999**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.11.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **28.02.2001**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **30.07.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **22.04.2004**

(51) Int Cl.7: **A61B 5/00**
A61N 1/30

(30) Unionspriorität:
85373 P 13.05.1998 US

(73) Patentinhaber:
Cygnus, Inc., Redwood City, Calif., US

(74) Vertreter:
Vossius & Partner, 81675 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:
**BERNER, Bret, El Granada, US; CHIANG,
Chia-Ming, Foster City, US; GARRISON, D.,
Michael, Seattle, US; JONA, Jana, Bear, US;
POTTS, O., Russell, San Francisco, US; TAMADA,
Janet, Mountain View, US; TIERNEY, J., Michael,
San Jose, US**

(54) Bezeichnung: **ÜBERWACHUNG PHYSIOLOGISCHER ANALYTE**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Allgemein betrifft die Erfindung die Messung der Konzentration chemischer Zielanalyte, die in einem biologischen System vorhanden sind. Eine wichtige Anwendung der Erfindung beinhaltet die Überwachung von Blutzuckerkonzentrationen.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Routinemäßig führt man eine Reihe diagnostischer Tests am Menschen durch, um die Menge oder das Vorhandensein von Stoffen zu bewerten, die in Blut oder anderen Körperflüssigkeiten vorliegen. Normalerweise beruhen diese diagnostischen Tests auf physiologischen Flüssigkeitsproben, die einem Subjekt mit einer Spritze oder durch Hauteinstich entnommen werden. Zu einem speziellen diagnostischen Test gehört die Selbstüberwachung von Blutzuckerwerten durch Diabetiker.

[0003] Diabetes ist ein großes gesundheitliches Problem, und die Behandlung der schwereren Form des Leidens, (Insulinmangel-) Diabetes vom Typ I, erfordert eine oder mehrere Insulininjektionen am Tag. Insulin steuert die Glucose- oder Zuckerverwertung im Blut und verhindert Hyperglykämie, die ohne Korrektur zu Ketose führen kann. Andererseits kann eine falsche Insulintherapieverabreichung zu Hypoglykämieanfällen führen, die Koma und Tod bewirken können. Hyperglykämie bei Diabetikern bringt man mit mehreren Langzeiteffekten von Diabetes in Verbindung, z. B. Herzleiden, Atherosklerose, Blindheit, Schlaganfall, Hypertonie und Nierenversagen.

[0004] Der Wert einer häufigen Blutzuckerüberwachung als Weg zur Vermeidung oder zumindest Minimierung der Komplikationen des Diabetes vom Typ I ist vielfach nachgewiesen. Auch Patienten mit (insulinunabhängigem) Diabetes vom Typ II können von einer Blutzuckerüberwachung bei der Milderung ihres Leidens mittels Diät und körperlicher Betätigung profitieren.

[0005] Herkömmliche Verfahren zur Blutzuckerüberwachung erfordern allgemein die Entnahme einer Blutprobe (z. B. durch Fingerbeerenpunktion) für jeden Test und eine Bestimmung des Glucosewerts mit einem Instrument, das Glucosekonzentrationen durch elektrochemische oder kolorimetrische Verfahren abliest. Diabetiker vom Typ I müssen täglich mehrere Blutzuckermessungen durch Fingerbeerenpunktion vornehmen, um eine strenge glykämische Kontrolle zu wahren. Durch die mit dieser Blutprobenahme einhergehenden Schmerzen und Beschwerden zusammen mit der Furcht vor Hypoglykämie kommt es jedoch zu schlechter Compliance seitens der Patienten, obwohl überzeugend nachgewiesen ist, daß sich durch strenge Kontrolle Langzeitkomplikationen bei Diabetes dramatisch reduzieren lassen. Tatsächlich können solche Aspekte oft dazu führen, daß sich der Diabetiker dem Überwachungsprozeß entzieht. Siehe hierzu z. B. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993), New Eng. J. Med. 329: 977-1036.

[0006] In letzter Zeit wurden verschiedene Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von Blutanalyten ohne Blutentnahme entwickelt. Zum Beispiel beschreibt die US-A-5267152 (Yang et al.) eine nichtinvasive Technik zur Messung der Blutzuckerkonzentration durch Laserspektroskopie mit diffus reflektierter Strahlung im nahen IR-Bereich. Ähnliche spektrometrische Vorrichtungen im nahen IR-Bereich sind auch in der US-A-5086229 (Rosenthal et al.) und in der US-A-4975581 (Robinson et al.) beschrieben.

[0007] Die US-A-5139023 (Stanley) beschreibt eine transdermale Blutzucker-Überwachungsvorrichtung, die auf einem Permeabilitätsverstärker (z. B. einem Gallensalz) beruht, um den transdermalen Glucosetransport entlang einem Konzentrationsgradienten zu erleichtern, der zwischen Zwischengewebeflüssigkeit und einem Aufnahmemedium besteht. Die US-A-5036861 (Sembrowich) beschreibt einen passiven Glucosemonitor, der Perspiration über ein Hautpflaster auffängt, wobei ein Cholinergikum dazu dient, Perspirationsekretion aus der ekkrinen Schweißdrüse zu stimulieren. Ähnliche Vorrichtungen zum Auffangen von Perspiration sind in der US-A-5076273 (Schoendorfer) und in der US-A-5140985 (Schroeder) beschrieben.

[0008] Außerdem beschreibt die US-A-5279543 (Glikfeld) den Einsatz von Iontophorese, um eine Stoffprobe durch die Haut in einen Auffangbehälter auf der Hautoberfläche nichtinvasiv zu entnehmen. Glikfeld lehrt, daß dieses Probenahmeverfahren mit einem glucosespezifischen Biosensor oder glucosespezifischen Elektroden gekoppelt sein kann, um Blutzucker zu überwachen. Schließlich beschreibt die WO 96/00110 (Tamada) eine iontophoretische Vorrichtung zur transdermalen Überwachung einer Zielsubstanz, wobei eine iontophoretische Elektrode verwendet wird, einen Analyt in ein Auffangreservoir zu transportieren, und ein Biosensor dazu dient, den im Reservoir vorhandenen Zielanalyt zu detektieren.

Zusammenfassung der Erfindung

[0009] Die Erfindung stellt ein Probenahmesystem zur Messung der Konzentration eines in einem biologischen System vorhandenen Analyten nach Anspruch 6 sowie einen zur Messung der Konzentration des Ana-

lyten programmierten Mikroprozessor nach Anspruch 1 bereit. Zum Gebrauch der Erfindung gehören allgemein die Probenahme und Detektion eines Analyten aus dem biologischen System und die Ableitung eines detektierbaren Signals von ihm, wobei das Signal spezifisch auf den Analyt bezogen ist. Das Signal kann mit einem Meßwert als Anzeige der Analytkonzentration korreliert werden, die im biologischen System vorliegt. Probenahmesystemkonfigurationen und/oder Meßtechniken kommen zum Einsatz, um den Effekt von Störspesies auf eine spezielle Meßeinrichtung zu minimieren.

[0010] Die Analytprobenahme erfolgt mit einem transdermalen Probenahmesystem, das in betrieblichem Kontakt mit einer Haut- oder Schleimhautoberfläche plaziert wird. In bevorzugten Ausführungsformen entnimmt das Probenahmesystem den Analyt transdermal aus dem biologischen System mittels Iontophorese. Das transdermale Probenahmesystem kann in betrieblichem Kontakt mit der Haut- oder Schleimhautoberfläche gehalten werden, um für eine wiederholte oder ständige Analytmessung zu sorgen.

[0011] Der Analyt kann jede spezifische Substanz oder Komponente sein, die in einer chemischen, physikalischen, enzymatischen oder optischen Analyse detektiert und/oder gemessen werden soll. Zu solchen Analyten gehören u. a. Aminosäuren, Enzymsubstrate oder Produkte als Hinweis auf einen Krankheitszustand oder ein Leiden, andere Markierungsstoffe von Krankheitszuständen oder Leiden, Suchtmittel, therapeutische und/oder pharmakologische Mittel, Elektrolyte, interessierende physiologische Analyte (z. B. Calcium, Kalium, Natrium, Chlorid, Bicarbonat (CO₂), Glucose, Harnstoff (Blutharnstoffstickstoff), Laktat, Hämatokrit und Hämoglobin), Lipide u. ä.). In bevorzugten Ausführungsformen ist der Analyt ein interessierender physiologischer Analyt, z. B. Glucose, oder eine Chemikalie, die eine physiologische Wirkung hat, z. B. ein Medikament oder pharmakologisches Mittel.

[0012] In einem Aspekt der Vorrichtungen der Erfindung kann ein Ladungsentmischungsschritt dazu dienen, das Vorhandensein von Störspesies an der Sensoreinrichtung zu reduzieren. Zum Beispiel kann der Meßzyklus einen Ladungsentmischungsschritt aufweisen, wobei die Messung an der Kathode stattfindet und sich bestimmte Störspesies vorzugsweise an der Anode sammeln, oder umgekehrt.

[0013] Eine weitere Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Probenahmesystem zur Messung eines in einem biologischen System vorhandenen Analyten bereitzustellen. Das Probenahmesystem weist in betrieblicher Kombination auf: (a) eine Probenahmeeinrichtung zum Extrahieren des Analyten aus dem biologischen System, (b) eine Meßeinrichtung in betrieblichem Kontakt mit dem durch die Probenahmeeinrichtung extrahierten Analyt und (c) eine Mikroprozessoreinrichtung in betrieblicher Kommunikation mit der Probenahme- und Meßeinrichtung. Die Probenahmeeinrichtung ist zum Extrahieren des Analyten über eine Haut- oder Schleimhautoberfläche eines biologischen Systems geeignet. In bevorzugten Ausführungsformen kommt die Probenahmeeinrichtung zum Einsatz, um den Analyten wiederholt oder kontinuierlich zu extrahieren. Die Meßeinrichtung dient zum Erhalten eines detektierbaren Signals aus dem extrahierten Analyt, wobei sich das Signal spezifisch auf den Analyt bezieht. Die Mikroprozessoreinrichtung wird verwendet, um die Probenahmeeinrichtung und die Meßeinrichtung zu steuern und für einen oder mehrere Meßzyklen zu sorgen.

[0014] In einem Aspekt der Erfindung weist das Probenahmesystem auf: (a) ein erstes Auffangreservoir, das ein ionenleitfähiges Medium enthält, eine erste iontophoretische Probenahmeeinrichtung zum Extrahieren von Stoffen, u. a. des Analyten, aus dem biologischen System in das erste Auffangreservoir und ein erstes Sensorelement, wobei die erste Probenahmeeinrichtung und das erste Sensorelement in betrieblichem Kontakt mit dem ersten Auffangreservoir stehen; und (b) ein zweites Auffangreservoir, das ein ionenleitfähiges Medium aufweist, eine zweite iontophoretische Probenahmeeinrichtung zum Extrahieren von Stoffen, u. a. des Analyten, aus dem biologischen System in das zweite Auffangreservoir und ein zweites Sensorelement, wobei die zweite Probenahmeeinrichtung und das zweite Sensorelement in betrieblichem Kontakt mit dem zweiten Auffangreservoir stehen. In diesem Probenahmesystem steuert der Mikroprozessor einen Meßzyklus, der aufweist: (a) Betreiben der ersten iontophoretischen Probenahmeeinrichtung als iontophoretische Kathode während einer ersten Phase des Extraktionsschritts, (b) Detektieren von in das erste Reservoir extrahierten Stoffen mit dem ersten Sensorelement während einer ersten Phase des Meßschritts, um ein erstes Signal zu erhalten, (c) Entfernen eines Restsignals aus dem Probenahmesystem in einem Spülschritt, (d) Betreiben der zweiten iontophoretischen Probenahmeeinrichtung als iontophoretische Kathode während einer zweiten Phase des Extraktionsschritts und (e) Detektieren von in das zweite Reservoir extrahierten Stoffen mit dem zweiten Sensorelement während einer zweiten Phase des Meßschritts, um ein zweites Signal zu erhalten. Das erste und/oder das zweite Signal weist eine analytspezifische Signalkomponente auf.

[0015] In einem weiteren Aspekt können die Vorrichtungen der Erfindung eine Verstärkung der Hautpermeabilität durch Einstechen von Mikronadeln in die Haut aufweisen, wenn das biologische System Haut oder z. B. eine Schleimhautoberfläche aufweist. Ein solches Einstechen mit Mikronadeln kann die Extraktion eines interessierenden Analyten aus dem biologischen System erleichtern.

[0016] Zusätzliche Aufgaben, Vorteile und neue Merkmale der Erfindung gehen teils aus der nachfolgenden Beschreibung hervor und werden dem Fachmann teils aus der nachfolgenden Offenbarung deutlich sein oder lassen sich durch praktische Umsetzung der Erfindung erfassen.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0017] **Fig. 1A** zeigt eine Draufsicht auf eine iontophoretische Auffangreservoir-Elektroden-Anordnung zur Verwendung in einer erfindungsgemäß aufgebauten transdermalen Probenahmeverrichtung.

[0018] **Fig. 1B** zeigt die Seitenansicht der iontophoretischen Auffangreservoir-Elektroden-Anordnung von **Fig. 1A**.

[0019] **Fig. 2** ist eine bildliche Darstellung einer iontophoretischen Probenahmeverrichtung, die die iontophoretische Auffangreservoir-Elektroden-Anordnung von **Fig. 1A** und **1B** aufweist.

[0020] **Fig. 3** ist eine explodierte bildliche Darstellung von Komponenten aus einer bevorzugten Ausführungsform des automatischen Probenahmesystems der Erfindung.

[0021] **Fig. 4** ist eine Darstellung einer Ausführungsform einer Konstruktion mit Bimodalelektrode. Gezeigt ist eine schematische Draufsicht auf die Elektrodenanordnung **43**. In der Zeichnung ist die Bimodalelektrode bei **40** gezeigt und kann z. B. eine iontophoretische/Gegenelektrode aus Ag/AgCl sein. Die Meß- oder Arbeitselektrode (z. B. aus Platin hergestellt) ist bei **41** gezeigt. Die Referenzelektrode ist bei **42** gezeigt und kann z. B. eine Ag/AgCl-Elektrode sein. Die Komponenten sind auf einem geeigneten nichtleitenden Substrat **44** angeordnet, z. B. Kunststoff oder Keramik. Die zur Anschlußstelle **45** führenden Leiterbahnen **47** sind durch ein zweites nichtleitendes Stück **46** aus ähnlichem oder unterschiedlichem Material abgedeckt. In diesem Beispiel einer solchen Elektrode beträgt die Arbeitselektrodenfläche etwa 1,35 cm². Die Strichlinie in **Fig. 4** stellt die Ebene der in **Fig. 5** gezeigten schematischen Querschnittansicht dar.

[0022] **Fig. 5** zeigt eine schematische Querschnittansicht der Bimodalelektroden wie sie im Zusammenhang mit einer Referenzelektrode und einem Hydrogelkissen verwendet werden können. In der Darstellung sind die Komponenten wie folgt: Bimodalelektroden **50** und **51**; Meßelektroden **52** und **53**; Referenzelektroden **54** und **55**; ein Substrat **56**; sowie Hydrogelkissen **57** und **58**.

Nähere Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen

[0023] Vor einer näheren Beschreibung der Erfindung sollte verständlich sein, daß die Erfindung nicht auf spezielle Zusammensetzungen oder biologische Systeme beschränkt ist, da diese natürlich variieren können. Außerdem sollte klar sein, daß die hier verwendete Terminologie nur zur Beschreibung spezieller Ausführungsformen dient und keine Einschränkung darstellen soll.

[0024] In dieser Beschreibung und den beigefügten Ansprüchen gehören zu den Singularformen des unbestimmten und bestimmten Artikels auch die Denotate im Plural, sofern der Inhalt nicht eindeutig etwas anderes verlangt. So gehört z. B. zu "eine Störspesies" zwei oder mehr solche Spesies, und zu "ein Analyt" gehören Mischungen von Analyten u. ä.

[0025] Sofern nicht anders festgelegt, haben alle hier verwendeten technischen und wissenschaftlichen Termini die Bedeutung, die dem Fachmann der Technik allgemein geläufig ist, auf die sich die Erfindung bezieht. Obwohl beliebige Verfahren und Materialien, die den hier beschriebenen ähneln oder mit ihnen gleichwertig sind, in der Testpraxis der Erfindung zum Einsatz kommen können, sind die bevorzugten Materialien und Verfahren hier beschrieben.

[0026] In der Beschreibung und den Ansprüchen der Erfindung wird die folgende Terminologie in Übereinstimmung mit den nachstehend aufgeführten Begriffsbestimmungen verwendet.

Begriffsbestimmungen

[0027] Im Gebrauch hierin bezeichnen "Analyt" und "Zielanalyt" jeden interessierenden physiologischen Analyt, der eine spezifische Substanz oder Komponente ist, die in einer chemischen, physikalischen, enzymatischen oder optischen Analyse detektiert und/oder gemessen wird. Ein detektierbares Signal (z. B. ein chemisches Signal oder elektrochemisches Signal) kann aus einem solchen Analyt oder seinen Derivaten direkt oder indirekt erhalten werden. Außerdem werden "Analyt", "Stoff" und "Substanz" hier gegenseitig austauschbar verwendet und sollen dieselbe Bedeutung haben, weshalb sie jeden interessierenden Stoff erfassen. In bevorzugten Ausführungsformen ist der Analyt ein interessierender physiologischer Analyt, z. B. Glucose, oder eine Chemikalie, die eine physiologische Wirkung hat, z. B. ein Medikament oder pharmakologisches Mittel.

[0028] "Probenahmeverrichtung" oder "Probenahmesystem" bezeichnet jede Vorrichtung zum Erhalten einer Probe aus einem biologischen System zwecks Bestimmung der Konzentration eines interessierenden Analyten. Im Gebrauch hierin bezeichnet "Probenahme" eine invasive, minimal invasive oder nichtinvasive Entnahme eines Stoffs aus dem biologischen System, allgemein über eine Membran, z. B. die Haut oder Schleimhaut. Die Membran kann natürlich oder künstlich und kann pflanzlicher oder tierischer Art sein, z. B. natürliche oder künstliche Haut, Blutgefäßgewebe, Darmgewebe u. ä. Normalerweise steht die Probenahmeverrichtung in betrieblichem Kontakt mit einem "Reservoir" oder "Auffangreservoir", wobei die Probenahmeverrichtung zum Entnehmen des Analyten aus dem biologischen System in das Reservoir dient, um den Analyt im Reservoir zu

erhalten. Zu einem "biologischen System" gehören sowohl lebende als auch künstlich aufrechterhaltene Systeme. Zu Beispielen für minimal invasive und nichtinvasive Probenahmetechniken gehören Iontophorese, Sonophorese, Absaugen, Elektroporation, thermische Poration, passive Diffusion, mikrofeine (Miniatur-) Lanzen oder Kanülen, subkutane Implantate oder Einsätze sowie Laservorrichtungen. Die Sonophorese nutzt Ultraschall zum Erhöhen der Permeabilität der Haut (siehe z. B. Menon et al. (1994) *Skin Pharmacology* 7: 130–139). Geeignete Sonophorese-Probenahmesysteme sind in der WO 91/ 12772, veröffentlicht am 5. September 1991, beschrieben. Mit passiver Diffusion arbeitende Probenahmeverrichtungen sind z. B. in den WO 97/38126 (veröffentlicht am 16. Oktober 1997), WO 97/42888, WO 97/42886, WO 97/42885 und WO 97/42882 (alle veröffentlicht am 20. November 1997) sowie in der WO 97/43962 (veröffentlicht am 27. November 1997) beschrieben. Laservorrichtungen nutzen einen kleinen Laserstrahl, um ein Loch durch die obere Schicht der Patientenhaut zu brennen (siehe z. B. Jacques et al. (1978) *J. Invest. Dermatology* 88: 88–93). Zu Beispielen für invasive Probenahmetechniken zählen traditionelle Vorrichtungen mit Nadeln und Spritzen oder mit Vakuum-Probenahmeröhrchen.

[0029] "Auffangreservoir" dient zur Beschreibung jeder geeigneten Einschlußeinrichtung zum Aufnehmen einer Probe, die einem biologischen System entnommen wird. Zum Beispiel kann das Auffangreservoir ein Behälter sein, das ein Material enthält, welches ionenleitfähig ist (z. B. Wasser mit Ionen darin), oder es kann alternativ ein solches Material wie ein schwammartiges Material oder hydrophiles Polymer sein, um das Wasser festzuhalten. Solche Auffangreservoirs können die Form eines Hydrogels haben (z. B. die Form einer Scheibe oder eines Kissens). Normalerweise bezeichnet man Hydrogele als "Auffangeinsätze". Zu anderen geeigneten Auffangreservoirs gehören u. a. Röhrchen, Fläschchen, Kapillarauffangvorrichtungen, Kanülen sowie miniaturisierte geätzte, abgetragene oder geformte Strömungswege.

[0030] Ein "Gehäuse" für das Probenahmesystem kann ferner eine geeignete Elektronik (z. B. Mikroprozessor, Speicher, Anzeige und andere Schaltungskomponenten) sowie Stromquellen zum Betreiben des Probenahmesystems auf automatische Weise aufweisen.

[0031] Im Gebrauch hierin bezeichnet "Überwachungssystem" ein System, das zum Wiederholten oder kontinuierlichen Messen eines in einem biologischen System vorhandenen physiologischen Analyten von Nutzen ist. Normalerweise gehören zu einem solchen System u. a. eine Probenahmereinrichtung, eine Meßeinrichtung und eine Mikroprozessoreinrichtung in betrieblicher Kommunikation mit der Probenahmereinrichtung und der Meßeinrichtung.

[0032] In der Verwendung hierin bezeichnet "künstlich" eine Aggregation von Zellen mit Einschicht- oder größerer Dicke, die in vivo oder in vitro gezüchtet oder kultiviert sind und die als Gewebe eines Organismus funktionieren, aber nicht wirklich aus einer zuvor existierenden Quelle oder einem Wirt abgeleitet oder herausgeschnitten sind.

[0033] "Subjekt" umfaßt jedes warmblütige Tier, insbesondere u. a. einen Angehörigen der Klasse Mammalia, z. B. unter anderem Menschen und nichthumane Primaten, z. B. Schimpansen und andere Menschenaffen- und Affenspezies; landwirtschaftliche Nutztiere, z. B. Rinder, Schafe, Schweine, Ziegen und Pferde; Haussäuger, z. B. Hunde und Katzen; Labortiere, u. a. Nager wie Mäuse, Ratten und Meerschweinchen u. ä. Der Terminus bezeichnet kein spezielles Alter oder Geschlecht. So sollen also erwachsene und neugeborene Subjekte wie auch Föten, unabhängig davon, ob sie männlich oder weiblich sind, erfaßt sein.

[0034] Hierin soll "wiederholte Messung" eine Folge von zwei oder mehr Messungen bezeichnen, die aus einem speziellen biologischen System erhalten werden, wobei die Messungen mit einer einzelnen Vorrichtung erhalten werden, die mit dem biologischen System über die Zeitspanne in betrieblichem Kontakt bleibt, in der die Folge von Messungen erhalten wird. Somit erfaßt dieser Terminus auch kontinuierliche Messungen.

[0035] Zu "transdermal" gehören in der Verwendung hierin sowohl durch die Haut (transdermal) als auch durch die Schleimhaut (transmukosal) gehende Techniken, d. h. die Entnahme eines Zielanalyten über Haut- oder Schleimhautgewebe. Sofern nicht anderes festgelegt, sollen Aspekte der Erfindung, die hierin im Kontext von "transdermal" beschrieben werden, sowohl für transdermale als auch transmukosale Techniken gelten.

[0036] "Transdermale Entnahme (Extraktion)" oder "transdermal entnommen (extrahiert)" bezeichnet jedes nichtinvasive oder zumindest minimal invasive Probenahmeverfahren, bei dem es zum Entnehmen und/oder Transportieren eines Analyten von einer Stelle unter einer Gewebeoberfläche durch Haut- oder Schleimhautgewebe kommt. Somit gehört dazu die Entnahme eines Analyten mit Hilfe von Iontophorese (Rückiontophorese), Elektroosmose, Sonophorese, Mikrodialyse, Absaugen und passiver Diffusion. Natürlich können diese Verfahren mit der Anwendung von Hautpenetrationsverstärkern oder einer die Hautpermeabilität verstärkenden Technik gekoppelt sein, z. B. Bandstrippen oder Einstechen mit Mikronadeln. Zudem umfaßt "transdermal extrahiert" Entnahmetechniken, die thermische Poration, Elektroporation, mikrofeine Lanzen, mikrofeine Kanülen, subkutane Implantate oder Einsätze u. ä. verwenden.

[0037] "Iontophorese" bezeichnet ein Verfahren zum Transportieren von Stoffen durch Gewebe durch Anlegen von elektrischer Energie am Gewebe. Bei der herkömmlichen Iontophorese ist ein Reservoir an der Gewebeoberfläche vorgesehen, um als Behälter für zu transportierendes Material zu dienen. Iontophorese kann mit Standardverfahren durchgeführt werden, die dem Fachmann bekannt sind, z. B. durch Herstellen eines

elektrischen Potentials mit Hilfe eines Gleichstroms (GS) zwischen festen "iontophoretischen Elektroden" als Anode und Kathode, durch Alternierenlassen eines Gleichstroms zwischen iontophoretischen Elektroden als Anode und Kathode oder mit Hilfe einer komplexeren Wellenform, z. B. durch Anlegen eines Stroms mit alternierender Polarität (AP) zwischen iontophoretischen Elektroden (so daß jede Elektrode abwechselnd eine Anode oder eine Kathode ist).

[0038] "Rückiontophorese" bezieht sich auf die Bewegung einer Substanz aus einer biologischen Flüssigkeit über eine Membran mittels eines angelegten elektrischen Potentials oder Stroms. Bei der Rückiontophorese ist ein Reservoir an der Gewebeoberfläche vorgesehen, um das entnommene Material aufzunehmen.

[0039] "Elektroosmose" bezeichnet die Bewegung eines Stoffs durch eine Membran mit Hilfe einer durch ein elektrisches Feld induzierten Konvektionsströmung. Die Termini Iontophorese, Rückiontophorese und Elektroosmose werden hierin untereinander austauschbar genutzt, um eine Bewegung ionisch geladener oder ungeladener Stoffe über eine Membran (z. B. eine Epithelmembran) beim Anlegen eines elektrischen Potentials an der Membran durch ein ionenleitfähiges Medium zu bezeichnen.

[0040] Der Terminus "Meßvorrichtung", "Meßeinrichtung" oder "Biosensorvorrichtung" schließt jede Vorrichtung ein, die zur Messung der Konzentration eines interessierenden Analyten oder dessen Derivats verwendet werden kann. Zu bevorzugten Meßvorrichtungen zur Detektion von Blutanalyten gehören allgemein elektrochemische Vorrichtungen und chemische Vorrichtungen. Zu Beispielen für elektrochemische Vorrichtungen zählen das Clark-Elektrodensystem (siehe z. B. Updike et al., (1967) Nature 214: 986–988) und andere amperometrische, coulometrische oder potentiometrische Vorrichtungen. Zu Beispielen für chemische Vorrichtungen gehören herkömmliche Reaktionen auf Enzymbasis, die im Lifescan®-Glucosemonitor (Johnson and Johnson, New Brunswick, NJ) verwendet werden (siehe z. B. die US-A-4935346 (Phillips, et al.)).

[0041] Zu einem "Biosensor" oder einer "Biosensorvorrichtung" gehört u. a., ein "Sensorelement", das u. a. eine "Biosensorelektrode" oder "Meßelektrode" oder "Arbeitslektrode" aufweist, was die Elektrode bezeichnet, die überwacht wird, um die elektrische Signalgröße zu einem Zeitpunkt oder über eine bestimmte Zeitspanne zu bestimmen, wobei das Signal dann mit der Konzentration einer chemischen Verbindung korreliert wird. Die Meßelektrode weist eine reaktionsfähige Oberfläche auf, die den Analyt oder dessen Derivat in ein elektrisches Signal umwandelt. Die reaktionsfähige Oberfläche kann jedes elektrisch leitende Material aufweisen, z. B. unter anderem Metalle der Platingruppe (mit Platin, Palladium, Rhodium, Ruthenium, Osmium und Iridium), Nickel, Kupfer, Silber und Kohlenstoff sowie deren Oxide, Dioxide, Kombinationen oder Legierungen. Einige katalytische Materialien, Membranen und Fertigungstechnologien, die zum Aufbau amperometrischer Biosensoren geeignet sind, wurden von Newman, J. D., et al. (Analytical Chemistry 67(24), 4594–4599, 1995) beschrieben.

[0042] Das "Sensorelement" kann Komponenten zusätzlich zu einer Biosensorelektrode aufweisen, z. B. kann es eine "Referenzelektrode" und eine "Gegenelektrode" aufweisen. Im Gebrauch hierin soll "Referenzelektrode" eine Elektrode bezeichnen, die ein Referenzpotential bildet, z. B. kann ein Potential zwischen einer Referenzelektrode und einer Arbeitslektrode hergestellt sein. Mit "Gegenelektrode" soll eine Elektrode in einer elektrochemischen Schaltung bezeichnet werden, die als Stromquelle oder -senke agiert, um die elektrochemische Schaltung zu vervollständigen. Obwohl es nicht wesentlich ist, eine Gegenelektrode einzusetzen, wo eine Referenzelektrode in der Schaltung vorgesehen ist und die Elektrode die Funktion einer Gegenelektrode erfüllen kann, ist bevorzugt, eine getrennte Gegen- und Referenzelektrode zu haben, da das durch die Referenzelektrode gelieferte Referenzpotential am stabilsten ist, wenn es sich im Gleichgewicht befindet. Soll die Referenzelektrode auch als Gegenelektrode wirken, kann der die Referenzelektrode durchfließende Strom dieses Gleichgewicht stören. Folglich sind getrennte Elektroden, die als Gegen- und Referenzelektrode wirken, am stärksten bevorzugt.

[0043] In einer Ausführungsform weist die "Gegenelektrode" des "Sensorelements" eine "Bimodalelektrode" auf. Normalerweise bezeichnet "Bimodalelektrode" im Gebrauch hierin eine Elektrode, die nicht gleichzeitig z. B. sowohl als Gegenelektrode (des "Sensorelements") als auch als iontophoretische Elektrode (der "Probenahmeeinrichtung") fungieren kann.

[0044] Die Termini "reaktionsfähige Oberfläche" und "reaktionsfähige Fläche" werden hierin gegenseitig austauschbar genutzt und bezeichnen die Oberfläche der Meßelektrode, die: (1) mit der Oberfläche eines elektrolythaltigen Materials (z. B. Gel) in Kontakt steht, das einen Analyt enthält oder durch das ein Analyt oder dessen Derivat aus dessen Quelle fließt; (2) ein katalytisches Material (z. B. Kohlenstoff, Platin, Palladium, Rhodium, Ruthenium oder Nickel und/oder deren Oxide, Dioxide und Kombinationen oder Legierungen) oder ein Material aufweist, das Stellen zur elektrochemische Reaktion bildet; (3) ein chemisches Signal (z. B. Wasserstoffperoxid) in ein elektrisches Signal umwandelt (z. B. einen elektrischen Strom); und (4) die Elektrodenoberfläche bildet, die bei Zusammensetzung aus einem reaktionsfähigen Material ausreicht, die elektrochemische Reaktion mit einer Geschwindigkeit voranzutreiben, die ausreicht, ein detektierbares, reproduzierbar meßbares, elektrisches Signal zu erzeugen, das mit der im Elektrolyt vorhandenen Analytmenge korrelierbar ist.

[0045] "Auffangreservoir" und "Auffangeinsatz" dienen zur Beschreibung jeder geeigneten Einschlußeinrichtung zum Aufnehmen einer Probe, die einem biologischen System entnommen wird. Das Reservoir kann ein

Material aufweisen, das ionenleitfähig ist (z. B. Wasser mit Ionen darin), wobei ein weiteres Material, z. B. ein schwammartiges Material oder hydrophiles Polymer, zum Festhalten des Wassers dient. Solche Auffangreservoirre können die Form eines Hydrogels haben (z. B. die Form einer Scheibe oder eines Kissens). Zu anderen geeigneten Auffangreservoirre gehören u. a. Röhrchen, Fläschchen, Kapillarauffangvorrichtungen, Kanülen sowie miniaturisierte geätzte, abgetragene oder geformte Strömungswege.

[0046] "Ionenleitfähiges Material" bezeichnet jedes Material, das für Ionenleitfähigkeit sorgt und durch das elektrochemisch aktive Spezies diffundieren können. Beispielsweise kann das innenleitfähige Material ein festes, flüssiges oder halbfestes (z. B. in Form eines Gels vorliegendes) Material sein, das einen Elektrolyt enthält, der sich primär aus Wasser und Ionen (z. B. Natriumchlorid) zusammensetzen kann und allgemein mindestens 50 Gew.-% Wasser aufweist. Das Material kann die Form eines Gels, Schwamms oder Kissens (z. B. mit einer elektrolytischen Lösung getränkt) oder jedes anderen Materials haben, das einen Elektrolyt enthalten kann und den Durchgang elektrochemisch aktiver Spezies, besonders des interessierenden Analyten, ermöglicht.

[0047] Der Terminus "physiologischer Effekt" beinhaltet im Subjekt erzeugte Effekte, die den beabsichtigten Zweck einer Therapie erreichen. In bevorzugten Ausführungsformen bedeutet ein physiologischer Effekt, daß die Symptome des behandelten Subjekts verhindert oder gemildert werden. Zum Beispiel wäre ein physiologischer Effekt einer, der zu verlängertem Überleben eines Patienten führt.

[0048] Im Gebrauch hierin bezeichnet "Laminat" Strukturen, die mindestens zwei verbundene Schichten aufweisen. Die Schichten können durch Schweißen oder mittels Verwendung von Klebern verbunden sein. Zu Beispielen für Schweißen gehören u. a. die folgenden: Ultraschallschweißen, Wärmeverbinden und induktiv gekoppelte lokalisierte Erwärmung, der sich lokalisiertes Fließen anschließt. Zu Beispielen für übliche Kleber gehören u. a. Haftkleber, wärmehärtende Kleber, Cyanoacrylatkleber, Epoxidharze, Kontaktkleber und wärmeempfindliche Kleber.

[0049] Im Gebrauch hierin bezeichnet "Auffanganordnung" Strukturen mit mehreren Schichten, wobei die Anordnung mindestens einen Auffangeinsatz aufweist, z. B. ein Hydrogel. Ein Beispiel für eine Auffanganordnung der Erfindung ist eine Maskenschicht, Auffangeinsätze und eine Rückhalteschicht, wobei die Schichten in geeigneter Funktionsbeziehung zueinander gehalten werden, aber nicht unbedingt ein Laminat sind, d. h. die Schichten sind möglicherweise nicht miteinander verbunden. Beispielsweise können die Schichten durch ineinandergreifende Geometrie oder Reibung zusammengehalten werden.

[0050] Mit "Autosensoranordnung" werden hierin Strukturen bezeichnet, die allgemein eine Maskenschicht, Auffangeinsätze, eine Rückhalteschicht, eine Elektrodenanordnung und einen Stützboden aufweisen. Die Autosensoranordnung kann auch Trennlagen aufweisen. Die Schichten der Anordnung werden in geeigneter Funktionsbeziehung zueinander gehalten.

[0051] Vorzugsweise bestehen die Masken- und Rückhalteschicht aus Materialien, die im wesentlichen undurchlässig für den Analyt (chemisches Signal) sind, der zu detektieren ist (z. B. Glucose); jedoch kann das Material für andere Stoffe durchlässig sein. "Im wesentlichen undurchlässig" bedeutet, daß das Material chemischen Signaltransport (z. B. durch Diffusion) reduziert oder beseitigt. Das Material kann einen geringen Grad von chemischem Signaltransport unter der Voraussetzung ermöglichen, daß das chemische Signal, das das Material durchläuft, keine wesentlichen Flankeneffekte an der Meßelektrode hervorruft.

[0052] Im Gebrauch hierin gehört zu "im wesentlichen eben" eine ebene Oberfläche, die eine leicht gewölbte Oberfläche kontaktiert, z. B. einen Unter- oder Oberarm eines Subjekts. Eine "im wesentlichen ebene" Oberfläche ist z. B. eine Oberfläche mit einer Form, an die sich Haut anpassen kann, d. h. den Kontakt zwischen der Haut und der Oberfläche herstellt.

[0053] In der Verwendung hierin bezeichnet "aufgedruckt" eine im wesentlichen gleichmäßige Abscheidung einer Elektrodenformulierung auf eine Oberfläche eines Substrats (d. h. des Basisträgers). Dem Fachmann wird klar sein, daß vielfältige Techniken zum Einsatz kommen können, eine im wesentlichen gleichmäßige Abscheidung eines Materials auf ein Substrat zu bewirken, z. B. Tiefdruck, Extrusionsbeschichten, Siebbeschichten, Spritzen, Anstreichen o. ä.

[0054] "Signal-Rausch-Verhältnis" beschreibt die Beziehung zwischen dem eigentlichen Signal, das gemessen werden soll, und der Signalvariation bei Fehlen des Analyten. Die Termini "S/R" und "SRV" werden ebenfalls zur Bezeichnung des Signal-Rausch-Verhältnisses verwendet. Im Gebrauch hierin bezeichnet "Rauschen" jedes unerwünschte Signal, das zusammen mit dem Sollsignal gemessen wird.

[0055] Eine "Störpezies" ist im Gebrauch hierin weitgefaßt als jeder Anteil in einer entnommenen Probe definiert, der zu Signalrauschen führt und bei dem es sich nicht um den Zielanalyt handelt. Somit gehört dazu jede Komponente einer extrahierten Probe, die ein Signal ohne Beziehung zum Zielanalyt liefert.

[0056] "Enzym" bezeichnet jede Verbindung oder jedes Material, das eine Reaktion zwischen Molekülen katalysiert, um ein oder mehrere Reaktionsprodukte zu erzeugen. Somit gehören dazu Proteinenzyme oder deren enzymatisch aktive Abschnitte (Fragmente), wobei die Proteine und/oder Proteinfragmente aus einer natürlichen Quelle isoliert oder rekombinant oder synthetisch erzeugt sein können. Außerdem umfaßt der Terminus maßgeschneiderte synthetische enzymanaloge Substanzen.

[0057] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum transdermalen Extrahieren und Messen der Konzentration eines in einem biologischen System vorhandenen Zielanalyten. In bevorzugten Ausführungsformen weist die Meßvorrichtung einen Biosensor auf. Die Probenahmeverrichtung dient zum Entnehmen kleiner Mengen eines Zielanalyten aus dem biologischen System und zum anschließenden Messen und/oder Quantifizieren der Konzentration des Zielanalyten. Die Messung mit dem Biosensor und/oder die Probenahme mit der Probenahmeverrichtung kann wiederholt oder kontinuierlich erfolgen. In einer speziellen Ausführungsform wird ein Biosensor verwendet, der ein elektrochemisches Meßelement aufweist.

[0058] Der Analyt kann jede spezifische Substanz oder Komponente sein, die in einer chemischen, physikalischen, enzymatischen oder optischen Analyse detektiert und/oder gemessen werden soll. Zu solchen Analyten gehören u. a. Aminosäuren, Enzymsubstrate oder Produkte als Anzeige eines Krankheitszustands oder Leidens, andere Markierungsstoffe von Krankheitszuständen oder Leiden, Suchtmittel, therapeutische und/oder pharmakologische Mittel (z. B. Theophyllin, Medikamente gegen HIV, Lithium, Antiepileptika, Cyclosporin, Chemotherapeutika), Elektrolyte, interessierende physiologische Analyte (z. B. Urate/Harnsäure, Carbonat, Calcium, Kalium, Natrium, Chlorid, Bicarbonat (CO_2), Glucose, Harnstoff (Blutharnstoffstickstoff), Laktat/Milchsäure, Hydroxybutyrat, Cholesterol, Triglyceride, Creatin, Creatinin, Insulin, Hämatokrit und Hämoglobin), Blutgase (Kohlendioxid, Sauerstoff, pH), Lipide, Schwermetalle (z. B. Blei, Kupfer) u. ä.. In bevorzugten Ausführungsformen ist der Analyt ein interessierender physiologischer Analyt, z. B. Glucose, oder eine Chemikalie, die eine physiologische Wirkung hat, z. B. ein Medikament oder pharmakologisches Mittel.

[0059] Zur leichteren Detektion des Analyten kann ein Enzym im Auffangreservoir angeordnet sein, oder bei Verwendung mehrerer Auffangreservoirs kann das Enzym in mehreren oder allen Reservoirs angeordnet sein. Das ausgewählte Enzym kann eine Reaktion mit dem entnommenen Analyt (in diesem Fall Glucose) so weit katalysieren, daß ein Produkt dieser Reaktion gemessen werden kann, z. B. anhand der Erzeugung eines Stroms elektrochemisch detektiert werden kann, wobei der Strom detektierbar und proportional zur Konzentration oder Menge des umgesetzten Analyten ist. Ein geeignetes Enzym ist Glucoseoxidase, die Glucose zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid oxidiert. Die anschließende Detektion von Wasserstoffperoxid an einer geeigneten Biosensorelektrode erzeugt zwei Elektronen je Wasserstoffperoxidmolekül, die einen Strom erzeugen, der detektiert und mit der in die Vorrichtung eintretenden Glucosemenge in Beziehung gesetzt werden kann. Glucoseoxidase (GOx) ist im Handel problemlos erhältlich und hat bekannte katalytische Kennwerte. Allerdings können auch andere Enzyme verwendet werden, solange sie eine Reaktion mit einem Analyt oder interessierendem Stoff spezifisch katalysieren, um ein detektierbares Produkt proportional zur so umgesetzten Analytmenge zu erzeugen.

[0060] Gleichermaßen kann eine Anzahl anderer analytspezifischer Enzymsysteme in der Erfindung zum Einsatz kommen, wobei die Enzymsysteme weitgehend nach den gleichen allgemeinen Techniken arbeiten. Zum Beispiel kann eine Biosensorelektrode, die Wasserstoffperoxid detektiert, genutzt werden, um Ethanol unter Verwendung eines Alkoholoxidaseenzymsystems zu detektieren, oder ähnlich Harnsäure mit einem Uratoxidasesystem, Harnstoff mit einem Ureasesystem, Cholesterol mit einem Cholesteroloxidasesystem und Theophyllin mit einem Xanthinoxidasesystem.

[0061] Außerdem kann das Oxidaseenzym (das zur Detektion auf der Grundlage von Wasserstoffperoxid dient) durch ein anderes Redoxsystem ersetzt sein, z. B. das Dehydrogenase-Enzym NAD-NADH, was einen separaten Weg für die Detektion zusätzlicher Analyte eröffnet. Dehydrogenasebasierte Sensoren können aus Gold oder Kohlenstoff hergestellte Arbeitselektroden verwenden (über vermittelte Chemie). Zu Beispielen für Analyten, die für diese Art von Überwachung geeignet sind, gehören u. a. Cholesterol, Ethanol, Hydroxybutyrat, Phenylalanin, Triglyceride und Harnstoff. Ferner kann das Enzym eliminiert sein, und die Detektion kann auf direkter elektrochemischer oder potentiometrischer Detektion eines Analyten beruhen. Zu solchen Analyten gehören u. a. Schwermetalle (z. B. Cobalt, Eisen, Blei, Nickel, Zink), Sauerstoff, Carbonat/Kohlendioxid, Chlorid, Fluorid, Lithium, pH, Kalium, Natrium und Harnstoff. Außerdem kann das hier beschriebene Probenahmesystem zur therapeutischen Medikamentenüberwachung dienen, z. B. zur Überwachung von Antiepileptika (z. B. Phenyton), Chemotherapie (z. B. Adriamycin), Hyperaktivität (z. B. Ritalin) und Verhinderung von Organabstoßung (z. B. Cyclosporin).

[0062] Ein Problem im Zusammenhang mit dem Einsatz transdermaler Extraktionstechniken betrifft das Vorhandensein von Störspesies in einer entnommenen Probe, wobei die Spesies durch das transdermale Probenahmeverfahren extrahiert sein, passiv durch die Haut diffundieren und/oder in Perspiration oder Sebum abgesondert sein können. Diese Störspesies (d. h. jede durch einen Sensor detektierte Spesies, die nicht der interessierende Analyt ist, oder jede Spesies, die ein analytspezifisches Signal stört oder reduziert) können zu erheblichen Hintergrundstörungen führen, was das gesamte Signal-Rausch-Verhalten des Sensors verringert. Da außerdem transdermale Probenahmetechniken allgemein sehr kleine Analytmengen extrahieren, müssen Sensorvorrichtungen, die zum Messen und/oder Quantifizieren des extrahierten Analyten dienen, mit kleinen Analytkonzentrationen (z. B. im Sub-mM-Bereich) zuverlässig und reproduzierbar arbeiten, die weit unter de-

nen liegen, die man mit herkömmlichen Detektionstechniken mißt (die allgemein im mM-Bereich liegen). Hierbei bezeichnet "Sub-mM" jede Konzentration unter 1 mM. Dadurch können Hintergrundstörungen, die in anderen Anwendungen eventuell unproblematisch sind, kritische Störungen mit transdermalen Probenahmesystemen erzeugen, die Sub-mM-Konzentrationen aus dem entnommenen Analyt messen. Die Erfindung betrifft die Senkung solcher Störungen.

[0063] Der Meßzyklus weist ein Verfahren zum selektiven Favorisieren analytspezifischer Signalkomponenten gegenüber Signalkomponenten infolge von Störspezies auf, wobei das Verfahren folgendes beinhalten kann: (a) ein Differenzsignalverfahren, das Nicht-Analytsignalkomponenten vom Meßsignal subtrahiert, (b) einen Verzögerungsschritt, der zwischen dem Extraktions- und Meßschritt durchgeführt wird, (c) ein selektives elektrochemisches Detektionsverfahren, das während des Meßschritts durchgeführt wird, (d) einen Spülschritt, der nach dem Meßschritt durchgeführt wird, (e) einen Ladungsentmischungsschritt (z. B. wandert Harnsäure zur Anode und Glucose zur Kathode wie im Beispiel 1) und (f) eine Kombination der Verfahren von (a) bis (e).

[0064] Die zur Entnahme der Probe verwendete transdermale Probenahmeverrichtung kann jede geeignete minimal invasive oder nichtinvasive Probenahmetechnik verwenden, u. a. beispielsweise Iontophorese, Sonophorese, Absaugen, Elektroporation, thermische Poration, passive Diffusion, Verwendung mikrofeiner (Miniatur-) Lanzen oder Kanülen, Verwendung subkutaner Implantate oder Einsätze sowie Verwendung von Laservorrichtungen. Der Meßschritt kann unter Einsatz jeder geeigneten Meßmethodik durchgeführt werden, z. B. farbmetrische, chemische (z. B. enzymbasierte Reaktionen), elektrochemische (z. B. amperometrische, coulometrische oder potentiometrische) Verfahren.

[0065] Das Differenzsignalverfahren kann auf mehrere Arten durchgeführt werden. Zum Beispiel kann die entnommene Probe in zwei Anteile aufgeteilt werden, wobei ein erster Anteil mit dem Sensor in Kontakt gebracht wird, um ein Signal zu erhalten, das vorwiegend Signalkomponenten infolge von Störspezies und Hintergrundvariationen enthält. Der zweite Anteil wird mit dem Sensor in Kontakt gebracht, um ein Meßsignal zu erhalten, das analytspezifische Signalkomponenten enthält, wonach das erste Signal vom zweiten subtrahiert wird, um ein verfeinertes Signal zu erhalten, das spezifisch analytbezogen ist. Ein analytspezifisches Signal läßt sich mit einem Enzym leicht erhalten, das spezifisch mit dem Analyt reagiert, um ein detektierbares Signal zu erzeugen. Ist der Analyt z. B. Glucose, kann das Enzym Glucoseoxidase mit dem zweiten Probenanteil in Kontakt gebracht werden. Dieses Enzym katalysiert eine Reaktion mit Glucose, um Wasserstoffperoxid zu erzeugen, das dann mit herkömmlichen elektrochemischen Biosensoren detektiert werden kann.

[0066] Alternativ läßt sich das Differenzsignalverfahren durchführen, indem zwei Proben aus dem biologischen System entnommen werden, wobei mindestens eine der Proben den Zielanalyt enthält. Danach werden die Proben mit einem geeigneten Sensor in Kontakt gebracht, wodurch ein erstes Signal aus einer der Proben erhalten wird, das vorwiegend Signalkomponenten infolge von Störspezies und Hintergrundvariationen enthält (z. B. ein Leersignal). Ein zweites Signal wird aus der anderen Probe erhalten und enthält analytspezifische Signalkomponenten (z. B. ein aktives Signal). Durch Subtraktion des ersten Signals vom zweiten erhält man ein verfeinertes Signal, das spezifisch auf den Analyt bezogen ist. Hier läßt sich wiederum ein analytspezifisches Signal mit einem Enzym erhalten, das spezifisch mit dem Analyt in der zweiten Probe reagiert, um ein detektierbares Signal zu erzeugen. Die erste Probe kann mit einer beliebigen transdermalen Probenahmetechnik erhalten werden, u. a. sowohl passive als auch aktive Auffangtechniken, während die zweite Probe allgemein mit aktiven Probenahmetechniken erhalten wird, z. B. Iontophorese oder Sonophorese. Der oder die Sensoren, die zum Erhalten des Signals verwendet werden, können natürlich an der im Extraktionsschritt verwendeten Probenahmeverrichtung angebracht oder in sie integriert sein oder können Teil einer einzelnen Meßvorrichtung sein.

[0067] Das selektive elektrochemische Detektionsverfahren kann gemäß der nachfolgenden Beschreibung durchgeführt werden. Die elektrochemische Detektion unter Verwendung von Biosensoren ermöglicht vielfältige selektive Detektionsverfahren, bei denen die Elektroden mit abgesenkten oder erhöhten Potentialen betrieben werden können, um die Detektion eines analytspezifischen elektrochemischen Signals gegenüber einem Signal infolge von Störspezies oder Hintergrundvarianz zu begünstigen. Zum Beispiel lassen sich durch Betreiben einer elektrochemischen Biosensorelektrode mit einem Potential von höchstens etwa 0,5 V Signalkomponenten als Folge verbreiteter Störspezies vermeiden, die mit transdermalen Probenahmeverrichtungen aufgefangen werden.

[0068] In bestimmten Ausführungsformen der Erfindung werden ein oder mehrere zusätzliche Auffangreservoirs im transdermalen Probenahmesystem verwendet. Diese zusätzlichen Auffangreservoirs werden auch mit einer Elektrode in Kontakt gebracht, die einen ausreichenden Strom erzeugt, um Stoffe aus dem Gewebe in das Auffangreservoir zu extrahieren.

[0069] Die Auffangreservoirs, die mit dem iontophoretischen Probenahmesystem verwendet werden, enthalten allgemein eine innenleitfähige Flüssigkeit oder ein ionenleitfähiges flüssigkeitshaltiges Medium. Vorzugsweise ist das leitfähige Medium ein Hydrogel, das ionische Stoffe in ausreichender Menge enthalten kann, um hohe Ionenleitfähigkeit zu erzeugen. Das Hydrogel ist aus einem festen oder flüssigen Material (Gelöstes) hergestellt, das in Kombination mit Wasser ein Gel durch Bildung einer Struktur bildet, die Wasser hält, u. a. mit-

einander verbundene Zellen und/oder eine durch das Gelöste gebildete Netzstruktur. Geeignete Hydrogelformulierungen sind in den WO 97/02811, veröffentlicht am 30. Januar 1997, und WO 96/00110, veröffentlicht am 4. Januar 1996, beschrieben.

[0070] Da das Probenahmesystem der Erfindung bei sehr geringen (elektrochemischen) Hintergrundrauschwerten betrieben werden soll, enthalten alle Komponenten des Systems, die mit der extrahierten Probe in Kontakt kommen (z. B. die Auffangreservoirs), vorzugsweise keine erheblichen elektrochemisch empfindliche Komponenten und/oder Verunreinigungsstoffe oder steuern diese bei. Daher werden Komponenten des Systems allgemein mit einer wohlüberlegten Auswahl von Materialien und Reagenzien formuliert, die keine wesentlichen Mengen elektrochemischer Verunreinigungsstoffe zum Endsystem beitragen.

[0071] Zur leichteren Detektion des Analyten kann ein Enzym im Auffangreservoir angeordnet sein, oder bei Verwendung mehrerer Auffangreservoirs kann das Enzym in mehreren oder allen Reservoiren angeordnet sein. Das ausgewählte Enzym kann eine Reaktion mit dem entnommenen Analyt (in diesem Fall Glucose) so weit katalysieren, daß ein Produkt dieser Reaktion gemessen werden kann, z. B. anhand der Erzeugung eines Stroms elektrochemisch detektiert werden kann, wobei der Strom detektierbar und proportional zur Konzentration oder Menge des umgesetzten Analyten ist. Ein geeignetes Enzym ist Glucoseoxidase, die Glucose zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid oxidiert. Die anschließende Detektion von Wasserstoffperoxid an einer geeigneten Biosensorelektrode erzeugt zwei Elektronen je Wasserstoffperoxidmolekül, die einen Strom erzeugen, der detektiert und mit der in die Vorrichtung eintretenden Glucosemenge in Beziehung gesetzt werden kann. Glucoseoxidase (GOx) ist im Handel problemlos erhältlich und hat bekannte katalytische Kennwerte. Allerdings können auch andere Enzyme verwendet werden, solange sie eine Reaktion mit einem Analyt oder interessierendem Stoff spezifisch katalysieren, um ein detektierbares Produkt proportional zur so umgesetzten Analytmenge zu erzeugen.

[0072] Gleichermaßen kann eine Anzahl anderer analytspezifischer Enzymsysteme in der Erfindung zum Einsatz kommen, wobei die Enzymsysteme weitgehend nach den gleichen allgemeinen Techniken arbeiten. Zum Beispiel kann eine Biosensorelektrode, die Wasserstoffperoxid detektiert, genutzt werden, um Ethanol unter Verwendung eines Alkoholoxidaseenzymensystems zu detektieren, oder ähnlich Harnsäure mit einem Uratoxidasesystem, Cholesterol mit einem Cholesteroloxidasesystem und Theophyllin mit einem Xanthinoxidasesystem.

[0073] Mit erneutem Bezug auf das hier exemplarisch dargestellte Glucoseprobenahmesystem reagiert der Glucoseanalyt, wenn er transdermal in das Auffangreservoir extrahiert wird, mit dem GOx im Reservoir, um Wasserstoffperoxid zu erzeugen. Vorhandenes Wasserstoffperoxid erzeugt einen Strom an der Biosensorelektrode, der direkt proportional zur Wasserstoffperoxidmenge im Reservoir ist. Dieser Strom liefert ein Signal, das detektiert und durch eine zugeordnete Systemsteuerung interpretiert werden kann, um einen Glucosekonzentrationswert zur Anzeige zu erzeugen.

[0074] Bei Bedarf kann der detektierte Strom mit der Blutzuckerkonzentration des Subjekts so korreliert werden, daß die Systemsteuerung die Ist-Blutzuckerkonzentration des Subjekts in der Messung durch das Probenahmesystem anzeigen kann. Beispielsweise kann das System auf die Ist-Blutzuckerkonzentration des Subjekts kalibriert werden, indem Blut dem Subjekt während eines Standard-Glucosetoleranztests entnommen und der Blutzucker sowohl mit einem Standard-Blutzuckermonitor als auch mit dem Probenahmesystem der Erfindung analysiert wird. Dadurch lassen sich durch das Probenahmesystem erhaltene Messungen mit Ist-Werten unter Verwendung bekannter statistischer Techniken korrelieren.

[0075] Die iontophoretische Extraktion läßt sich wie folgt durchführen: Eine erste iontophoretische Elektrode wird mit dem Auffangreservoir (das mit einer Zielgewebeoberfläche in Berührung steht) in Kontakt gebracht, und eine zweite iontophoretische Elektrode wird entweder mit einem zweiten Auffangreservoir in Berührung mit der Gewebeoberfläche oder mit einem anderen ionenleitfähigen Medium in Berührung mit dem Gewebe in Kontakt gebracht. Eine Stromquelle erzeugt ein elektrisches Potential zwischen den beiden Elektroden, um die Rückiontophorese auf technisch bekannte Weise durchzuführen.

[0076] Ein elektrisches Potential (Gleichstrom oder eine komplexere Wellenform) wird zwischen den beiden iontophoretischen Elektroden so angelegt, daß Strom von der ersten Elektrode durch das erste leitfähige Medium in die Haut und zurück aus der Haut durch das zweite leitfähige Medium zur zweiten Elektrode fließt. Dieser Stromfluß extrahiert Stoffe durch die Haut in den einen oder die mehreren Auffangreservoirs durch das Verfahren der Rückiontophorese oder Elektroosmose. Anlegen läßt sich das elektrische Potential gemäß der Beschreibung in der WO 96/00110, veröffentlicht am 4. Januar 1996. Jedes geeignete iontophoretische Elektrodensystem kann zum Einsatz kommen, wobei aber bevorzugt ist, ein Silber/Silberchlorid (Ag/AgCl) Elektrodensystem zu verwenden.

[0077] Gemäß **Fig. 1A** und **1B** ist eine spezielle iontophoretische Auffangreservoir-Elektroden-Anordnung zur Verwendung in solchen transdermalen Meßvorrichtungen allgemein mit **2** bezeichnet. Die Anordnung verfügt über zwei iontophoretische Auffangreservoirs **4** und **6** mit jeweils einem leitfähigen Medium **8** und **10** (vorzugsweise zylindrische Hydrogellkissen), die jeweils darin angeordnet sind. Eine erste und eine zweite ringförmige Elektrode **12** und **14** sind mit dem leitfähigen Medium **8** bzw. **10** verbunden. Die erste iontophoretische Elek-

trode **12** umgibt drei Biosensorelektroden, die auch mit dem leitfähigen Medium **8** in Kontakt stehen, d. h. eine Arbeitselektrode **16**, eine Referenzelektrode **18** und eine Gegenelektrode **20**. Ein Schutzring **22** trennt die Biosensorelektroden von der iontophoretischen Elektrode **12**, um Rauschen aus der iontophoretischen Schaltung zu minimieren. Leitfähige Kontakte sorgen für die Kommunikation zwischen den Elektroden und einer zugeordneten Stromquellen- und Steuereinheit, die später näher beschrieben wird. Eine ähnliche Biosensorelektrodenanordnung kann mit dem leitfähigen Medium **10** in Kontakt gebracht sein, oder das Medium kann keine Sensoreinrichtung haben, die mit ihm in Kontakt steht.

[0078] Gemäß **Fig. 2** ist die iontophoretische Auffangreservoir-Elektroden-Anordnung **2** von **Fig. 1A** und **1B** in Explosionsansicht in Kombination mit einem geeigneten Gehäuse **32** der iontophoretischen Probenahmeverrichtung gezeigt. Das Gehäuse kann eine Kunststoffhülle oder ein anderer geeigneter Aufbau sein, der vorzugsweise so konfiguriert ist, daß er am Arm eines Subjekts ähnlich wie eine Armbanduhr getragen wird. Darstellungsgemäß sind die leitfähigen Medien **8** und **10** (Hydrogelkissen) von der Anordnung **2** trennbar; aber beim Zusammenbau der Anordnung **2** und des Gehäuses **32**, um eine betriebsfähige iontophoretische Probenahmeverrichtung **30** zu bilden, werden die Medien mit den Elektroden in Kontakt gebracht, um einen elektrischen Kontakt mit ihnen herzustellen.

[0079] In **Fig. 3** ist eine Explosionsansicht der Hauptkomponenten einer Ausführungsform eines iontophoretischen Probenahmesystems gezeigt. Zu den Probenahmesystemkomponenten gehören zwei Biosensor-/iontophoretische Elektrodenanordnungen **304** und **306**, von denen jede eine mit **308** bzw. **310** bezeichnete ringförmige iontophoretische Elektrode hat, die einen Biosensor **312** und **314** umschließt. Die Elektrodenanordnungen **304** und **306** sind auf ein Polymersubstrat **316** aufgedruckt, das in einer Sensorschale **318** gehalten wird. Eine Auffangreservoiranordnung **320** ist über den Elektrodenanordnungen plaziert, wobei die Auffangreservoiranordnung zwei Hydrogeleinsätze **322** und **324** aufweist, die durch eine Gelhalteschicht **326** und eine Maskenschicht **328** festgehalten werden.

[0080] In einer Ausführungsform können die Elektrodenanordnungen Bimodalelektroden gemäß **Fig. 4** aufweisen.

[0081] Die in der Explosionsansicht von **Fig. 3** gezeigten Komponenten sind zur Verwendung in einer automatischen Probenahmeverrichtung bestimmt, die so konfiguriert ist, daß sie wie eine gewöhnliche Armbanduhr getragen wird. Wie in der WO 96/00110, veröffentlicht am 4. Januar 1996, beschrieben ist, enthält das Armbanduhrgehäuse (nicht gezeigt) Leiterbahnen, die mit den iontophoretischen Elektroden und den Biosensorelektroden kommunizieren, um den Zyklusbetrieb zu steuern und Strom zu den iontophoretischen Elektroden zu führen und um elektrochemische Signale zu detektieren, die an den Biosensorelektrodenoberflächen erzeugt werden. Ferner kann das Armbanduhrgehäuse eine geeignete Elektronik (z. B. Mikroprozessor, Speicher, Anzeige und andere Schaltungskomponenten) und Stromquellen zum Betreiben des automatischen Probenahmesystems aufweisen.

[0082] Dem Fachmann werden Abwandlungen an der Ausführungsform von **Fig. 3** anhand der Lehren dieser Beschreibung deutlich sein.

[0083] Eine Stromquelle (z. B. eine oder mehrere wiederaufladbare oder nicht wiederaufladbare Batterien) kann im Gehäuse **32** oder in den Bändern **34** angeordnet sein, mit denen die Vorrichtung in Kontakt mit einer Haut- oder Schleimhautoberfläche eines Subjekts gehalten wird. Im Gebrauch wird ein elektrisches Potential (Gleichstrom oder eine komplexere Wellenform) zwischen den beiden iontophoretischen Elektroden **12** und **14** so angelegt, daß Strom von der ersten iontophoretischen Elektrode **12** durch das erste leitfähige Medium **8** in die Haut- oder Schleimhautoberfläche und zurück durch das zweite leitfähige Medium **10** zur zweiten iontophoretischen Elektrode **14** fließt. Der Stromfluß reicht aus, Stoffe, u. a. den interessierenden Analyt, durch die Haut in einen oder beide Auffangreservoirs **4** und **6** zu extrahieren. Das elektrische Potential kann mit jeder geeigneten Technik angelegt werden, z. B. kann die angelegte Stromdichte im Bereich von etwa 0,01 bis 0,5 mA/cm² liegen. In einer bevorzugten Ausführungsform dient die Vorrichtung zur wiederholten oder kontinuierlichen Überwachung, und die Polarität der iontophoretischen Elektroden **12** und **14** wird mit einer Geschwindigkeit von etwa einer Umschaltung je 10 Sekunden bis etwa einer Umschaltung je Stunde alterniert, so daß jede Elektrode abwechselnd eine Kathode oder eine Anode ist. Ferner kann das Gehäuse **32** ein optionales Temperaturmeßelement (z. B. eine Thermistor-, Thermometer- oder Thermopaarvorrichtung) aufweisen, die die Temperatur an den Auffangreservoirs überwacht, damit eine Temperaturkorrektur von Sensorsignalen erfolgen kann. Außerdem kann das Gehäuse ein optionales Leitfähigkeitsmeßelement (z. B. ein integriertes Elektrodenpaar) aufweisen, das die Leitfähigkeit an der Haut- oder Schleimhautoberfläche überwacht, damit eine Datenklassierungskorrektur oder Ungültigmachung von Sensorsignalen erfolgen kann.

[0084] Nach einer geeigneten iontophoretischen Extraktionsperiode können einer oder beide Sensorelektrodenansätze aktiviert werden, um extrahierte Stoffe, u. a. den interessierenden Analyt, zu detektieren.

[0085] Ferner kann die Probenahmeverrichtung in einem alternierenden Polaritätsmodus unter Verwendung einer ersten und einer zweiten Bimodalelektrode (**Fig. 5, 50 und 51**) und zweier Auffangreservoirs (**Fig. 5, 57 und 58**) arbeiten. Jede Bimodalelektrode (**Fig. 4, 40; Fig. 5, 50 und 51**) erfüllt zwei Funktionen je nach Betriebsphase: (1) als elektroosmotische Elektrode (oder iontophoretische Elektrode), die dazu dient, Analyt aus einer

Quelle in ein Auffangreservoir mit Wasser und einem Elektrolyt sowie zum Bereich der Elektrodenteilanordnung elektrisch abzuziehen; und (2) als Gegenelektrode für die erste Meßelektrode, an der die chemische Verbindung an der Fläche der Meßelektrode katalytisch umgewandelt wird, um ein elektrisches Signal zu erzeugen.

[0086] Die Referenz- (**Fig. 5, 54 und 55; Fig. 4, 42**) und Meßelektroden (**Fig. 5, 52 und 53; Fig. 4, 41**) sowie die Bimodalelektrode (**Fig. 5, 50 und 51; Fig. 4, 40**) sind beim Messen mit einer Standard-Potentiostatschaltung verbunden. Allgemein erfordern praktische Einschränkungen des Systems, daß die Bimodalelektrode nicht gleichzeitig sowohl als Gegen- als auch als iontophoretische Elektrode arbeitet.

[0087] Der allgemeine Betrieb eines iontophoretischen Probenahmesystems in dieser Ausführungsform besteht aus der zyklischen Wiederholung zweier Phasen: (1) einer rückiontophoretischen Phase, gefolgt von (2) einer Meßphase. Im Verlauf der rückiontophoretischen Phase wirkt die erste Bimodalelektrode (**Fig. 5, 50**) als iontophoretische Kathode, und die zweite Bimodalelektrode (**Fig. 5, 51**) wirkt als iontophoretische Anode, um die Schaltung zu vervollständigen. Analyt wird in den Reservoiren aufgefangen, z. B. einem Hydrogel (**Fig. 5, 57 und 58**). Am Ende der rückiontophoretischen Phase wird der iontophoretische Strom ausgeschaltet. Während der Meßphase wird im Fall von Glucose ein Potential zwischen der Referenzelektrode (**Fig. 5, 54**) und der Meßelektrode (**Fig. 5, 52**) angelegt. Das chemische Signal reagiert katalytisch auf der katalytischen Fläche der ersten Meßelektrode (**Fig. 5, 52**), was einen elektrischen Strom erzeugt, während die erste Bimodalelektrode (**Fig. 5, 50**) als Gegenelektrode wirkt, um die elektrische Schaltung zu komplettieren.

[0088] Die beschriebene Elektrode ist besonders zur Verwendung in Verbindung mit einem Hydrogel-Auffangreservoirsystem zur Überwachung von Glucosewerten in einem Subjekt über die Reaktion von aufgefangener Glucose mit dem Enzym Glucoseoxidase geeignet, das in der Hydrogelmatrix vorhanden ist.

[0089] Vorzugsweise weist die Bimodalelektrode Ag/AgCl auf. Die elektrochemische Reaktion, die an der Oberfläche dieser Elektrode auftritt, dient als strukturunempfindliche Quelle oder Senke für elektrischen Strom. Besonders wichtig ist diese Eigenschaft für die Iontophoresefunktion der Elektrode. Ohne diese Reaktion könnte der Iontophoresestrom bewirken, daß es zur Hydrolyse von Wasser an den Iontophoreseelektroden kommt, was pH-Änderungen und mögliche Gasblasenbildung bewirkt. Die pH-Änderungen zu einem sauren oder basischen pH-Wert könnten Hautreizungen oder -verbrennungen bewirken. Die Fähigkeit einer Ag/AgCl-Elektrode, leicht als Quelle von Senkenstrom zu wirken, ist auch ein Vorteil für ihre Gegenelektrodenfunktion. Damit eine elektrochemische Zelle mit drei Elektroden ordnungsgemäß funktioniert, sollte die Stromerzeugungskapazität der Gegenelektrode nicht die Geschwindigkeit der Reaktion an der Meßelektrode beschränken. Im Fall einer großen Meßelektrode sollte Gegenelektrode fähig sein, als Quelle für proportional größere Ströme zu dienen.

[0090] Die Gestaltung des Probenahmesystems sieht eine größere Meßelektrode (siehe z. B. **Fig. 4**) als frühere Gestaltungen vor. Folglich muß die Größe der Bimodalelektrode ausreichend sein, so daß beim Wirken als Gegenelektrode im Hinblick auf die Meßelektrode die Gegenelektrode nicht die Geschwindigkeit der katalytischen Reaktion an der katalytischen Oberfläche der Meßelektrode begrenzt.

[0091] Es gibt zwei Verfahren, um sicherzustellen, daß die Gegenelektrode nicht den Strom an der Meßelektrode beschränkt: (1) Die Bimodalelektrode wird viel größer als die Meßelektrode hergestellt, oder (2) es wird für eine strukturunempfindliche Gegenreaktion gesorgt.

[0092] In der rückiontophoretischen Phase liefert die Stromquelle einen Stromfluß zur ersten Bimodalelektrode, um die Extraktion des chemischen Signals in das Reservoir zu erleichtern. In der Meßphase dient die Stromquelle zur Spannungszufuhr zur ersten Meßelektrode, um die Umwandlung des im Reservoir gehaltenen chemischen Signals in ein elektrisches Signal an der katalytischen Fläche der Meßelektrode voranzutreiben. Zudem wahrt die Stromquelle ein Festpotential an der Elektrode, wo z. B. Wasserstoffperoxid in molekularen Sauerstoff, Wasserstoffionen und Elektronen umgewandelt wird, was mit dem Potential der Referenzelektrode während der Meßphase verglichen wird. Während eine Meßelektrode im Meßmodus arbeitet, ist sie mit der benachbarten Bimodalelektrode elektrisch verbunden, die als Gegenelektrode wirkt, an der Elektronen verbraucht werden, die an der Meßelektrode erzeugt wurden.

[0093] Die Elektrodenteilanordnung kann durch elektrisches Verbinden der Bimodalelektroden so betrieben werden, daß jede Elektrode sowohl als iontophoretische Elektrode als auch als Gegenelektrode zusammen mit einer oder mehreren geeigneten Meßelektroden und Referenzelektroden wirken kann, um einen Standard-Potentiostatschaltungsaufbau zu erzeugen.

[0094] Ein Potentiostat ist eine elektrische Schaltung, die bei elektrochemischen Messungen in elektrochemischen Zellen mit drei Elektroden zum Einsatz kommt. Ein Potential wird zwischen der Referenzelektrode und der Meßelektrode angelegt. Der an der Meßelektrode erzeugte Strom fließt durch Schaltungsbestandteile zur Gegenelektrode (d. h. kein Strom fließt durch die Referenzelektrode, um ihr Gleichgewichtspotential zu ändern). Zwei unabhängige Potentiostatschaltungen können zum Betreiben der beiden Biosensoren verwendet werden. Für das vorliegende Probenahmesystem ist der an der Meßelektrodenteilanordnung gemessene elektrische Strom der Strom, der mit einer chemischen Signalgröße korreliert wird.

[0095] Für den wiederholten Betrieb über längere Zeiträume sind Ag/AgCl-Elektroden vorgesehen, die wie-

derholt ein reversibles Paar bilden können, das ohne unerwünschte elektrochemische Nebenreaktionen arbeitet (die zu pH-Änderungen und zur Freisetzung von Wasserstoff und Sauerstoff infolge von Wasserhydrolyse führen könnten). So sind die Ag/AgCl-Elektroden des Probenahmesystems so formuliert, daß sie wiederholten Stromdurchgangszyklen im Bereich von etwa 0,01 bis 1,0 mA je Quadratzentimeter Elektrodenfläche widerstehen. Für hohe elektrochemische Reinheit sind die Ag/AgCl-Komponenten in einem geeigneten Polymerbindemittel dispergiert, um eine Elektrodenzusammensetzung zu bilden, die gegenüber Angriff (z. B. Plastifizierung) durch Komponenten im Auffangreservoir, z. B. der Hydrogelzusammensetzung, nicht anfällig ist. Außerdem sind die Elektrodenzusammensetzungen mit Hilfe von Reagenzien und Lösungsmitteln in Analyse- oder Elektronikgüte formuliert, und die Polymerbindemittelzusammensetzung ist so ausgewählt, daß sie frei von elektrochemisch aktiven Verunreinigungsstoffen ist, die zum Biosensor diffundieren und einen Hintergrundstrom erzeugen könnten.

[0096] Da die iontophoretischen Ag/AgCl-Elektroden zum wiederholten Zyklusbetrieb über längere Zeitspannen fähig sein müssen, können die in den Elektroden verfügbaren Absolutmengen von Ag und AgCl sowie das gesamte Ag/AgCl-Verfügbarkeitsverhältnis so eingestellt sein, daß für den Durchgang hoher Ladungsmengen gesorgt ist. Obwohl dies keine Einschränkung im hier beschriebenen Probenahmesystem darstellt, kann das Ag/AgCl-Verhältnis eins nahekommen. Um im bevorzugten System zu arbeiten, das einen Biosensor mit einer geometrischen Fläche von 0,1 bis 3 cm² verwendet, sind die iontophoretischen Elektroden so konfiguriert, daß sie eine ungefähre Elektrodenfläche von 0,3 bis 1,0 cm², vorzugsweise etwa 0,85 cm² haben. Diese Elektroden sorgen für reproduzierbare, wiederholte Ladungsdurchgangszyklen bei Stromdichten im Bereich von etwa 0,01 bis 1,0 mA/cm² Elektrodenfläche. Insbesondere sind Elektroden, die gemäß den o. g. Formulierungsparametern aufgebaut sind und eine ungefähre Elektrodenfläche von 0,85 cm² haben, zu einem reproduzierbaren Gesamtladungsdurchgang (sowohl in Anoden- als auch Kathodenrichtung) von 270 mC bei einem Strom von etwa 0,3 mA (Stromdichte 0,35 mA/cm²) für mindestens etwa 48 Zyklen in einer 24-Stunden-Periode fähig.

[0097] Sobald sie formuliert ist, wird die Ag/AgCl-Elektrodenzusammensetzung an einer geeigneten starren oder flexiblen nichtleitenden Oberfläche wie in der obigen Beschreibung für die Biosensor-Elektrodenzusammensetzung befestigt. Zunächst wird eine Silber- (Ag) Unterlage auf die Oberfläche aufgetragen, um für gleichmäßige Leitung zu sorgen. Danach wird die Ag/AgCl-Elektrodenzusammensetzung über der Ag-Unterlage in jedem geeigneten Muster oder jeder geeigneten Geometrie mit verschiedenen Dünnschichttechniken, z. B. Aufstäuben, Aufdampfen, Dampfphasenabscheidung o. ä. oder mit verschiedenen Dickfilmtechniken aufgetragen, z. B. Filmlaminieren, Elektroplattieren o. ä. Alternativ kann die Ag/AgCl-Zusammensetzung mit Hilfe von Siebdruck, Kissendruck, Tintenstrahlverfahren, Transferwalzendruck oder ähnlichen Techniken aufgetragen werden. Vorzugsweise werden sowohl die Ag-Unterlage als auch die Ag/AgCl-Elektrode mit Siebdruck bei niedriger Temperatur auf ein Polymersubstrat aufgetragen. Dieser Siebdruck bei niedriger Temperatur kann bei etwa 125 bis 160°C mit einer geeigneten Maschengröße im Maschenzahlbereich von etwa 100 bis 400 durchgeführt werden.

[0098] In einer Ausführungsform der Erfindung kann das Probenahmesystem zwei Auffangreservoirire haben, die z. B. ein aktives Auffangreservoir mit dem GOx-Enzym und ein Leerauffangreservoir (ohne das GOx-Enzym); oder in einer Alternative zwei aktive Reservoirire, d. h. zwei das Enzym GOx enthaltende Reservoirire, aufweisen. Im Fall eines aktiven Auffangreservoirs und eines Leerauffangreservoirs kann das Signal durch Subtrahieren des Leerreservoirsignals von dem Signal eingestellt werden, das aus dem aktiven Reservoir erhalten wird. Im Fall zweier aktiver Auffangreservoirire können die Signale summiert und Bemittelt werden, oder eine Gesamtsumme der beiden Signale kann verwendet werden. Danach wird dieses Signal, z. B. der detektierte Strom allein oder in Kombination mit anderen Faktoren (z. B. Glucosekonzentration an einem Kalibrierpunkt, Hauttemperatur, Leitfähigkeit, Spannung, Zeit seit Kalibrierung des Systems usw.) verwendet werden, um einen Glucosekonzentrationswert zu liefern. Ferner kann der Meßzyklus ein Verfahren zum selektiven Favorisieren analytspezifischer Signalkomponenten gegenüber Signalkomponenten infolge von Störspezies aufweisen (später beschrieben). Zu einem solchen Verfahren kann u. a. folgendes gehören: (a) ein Differenzsignalverfahren, das Nicht-Analytsignalkomponenten vom Meßsignal subtrahiert, (b) einen Verzögerungsschritt, der zwischen dem Extraktions- und Meßschritt durchgeführt wird, (c) ein selektives elektrochemisches Detektionsverfahren, das während des Meßschritts durchgeführt wird, (d) einen Spülschritt, der nach dem Meßschritt durchgeführt wird, (e) einen Ladungsentmischungsschritt (z. B. wandert Harnsäure zur Anode und Glucose zur Kathode wie im Beispiel 1) und (f) alle Kombinationen von (a) bis (e).

[0099] In speziellen Ausführungsformen kann der detektierte Strom mit der Blutzuckerkonzentration des Subjekts korreliert werden (normalerweise mit Hilfe statistischer Algorithmen, die einem Mikroprozessor zugeordnet sind), so daß die Systemsteuerung die Ist-Blutzuckerkonzentration des Subjekts in der Messung durch das Probenahmesystem anzeigen kann. Beispielsweise kann das System auf die Ist-Blutzuckerkonzentration des Subjekts kalibriert werden, indem dem Subjekt Blut während eines Standard-Glucosetoleranztests entnommen und der Blutzucker sowohl mit einem Standard-Blutzuckermonitor als auch mit dem Probenahmesystem der Erfindung analysiert wird. Zusätzlich oder alternativ kann das Probenahmesystem zu einem Kalibrierzeitpunkt kalibriert werden, an dem das vom Probenahmesystem erhaltene Signal mit der Blutzuckerkonzentration zu

diesem Zeitpunkt in der Bestimmung durch direkte Bluttestung korreliert wird (z. B. kann die Glucosekonzentration mit einem klinischen Analysegerät Hemocue® (Hemocue AB, Schweden) bestimmt werden. Dadurch lassen sich durch das Probenahmesystem erhaltene Messungen mit Ist-Werten mittels bekannter statistischer Techniken korrelieren. Solche statistischen Techniken können als Algorithmus (Algorithmen) formuliert und in einen Mikroprozessor eingearbeitet sein, der dem Probenahmesystem zugeordnet ist.

[0100] Der Betrieb der iontophoretischen Probenahmeverrichtung **30** wird optional durch eine Steuerung **36** (z. B. einen Mikroprozessor) gesteuert, die mit den iontophoretischen Elektroden, den Sensorelektroden, der Stromversorgung, den optionalen Temperatur- und/oder Leitfähigkeitsmeßelementen, einer Anzeige und anderen Elektronikkomponenten gekoppelt ist. Zum Beispiel kann die Steuerung **36** einen programmierbaren gesteuerten Quellen/Senken-Schaltungstreiber zum Ansteuern der iontophoretischen Elektroden aufweisen. Strom und Referenzspannung werden zu den Sensorelektroden geführt, und Signalverstärker können eingesetzt sein, um das Signal von der oder den Arbeitselektroden zu verarbeiten. Allgemein unterbricht die Steuerung die iontophoretische Stromansteuerung im Verlauf von Meßperioden. Eine Sensorvertrauensschleife kann zum wiederholten Überwachen des Probenahmesystems vorgesehen sein, um ordnungsgemäße Betriebsabläufe zu gewährleisten.

[0101] Die Benutzersteuerung den kann mit Hilfe von Tastschaltern erfolgen, die auf dem Gehäuse **32** plaziert sind, und eine optionale Flüssigkristallanzeige (LCD) kann visuelle Eingabeaufforderungen, Werte und optische Alarmanzeigen liefern. Allgemein verwendet der Mikroprozessor eine Reihe programmierter Abfolgen, um die Betriebsabläufe der Probenahmeverrichtung zu steuern, wobei diese Abfolgen im Lesespeicher (ROM) des Mikroprozessors gespeichert sein können. Eingebettete Software (Firmware) steuert die Aktivierung von Meß- und Anzeigevorgängen, die Kalibrierung von Analytwerten, die Einstellung und Anzeige von Alarmen für hohe und niedrige Analytwerte, die Anzeige und Einstellung von Zeit- und Datumsfunktionen, die Alarmzeit sowie die Anzeige gespeicherter Werte. Von den Sensorelektroden erhaltene Sensorsignale lassen sich vor Speicherung und Anzeige durch eine oder mehrere Signalverarbeitungsfunktionen oder -algorithmen verarbeiten, die durch die eingebettete Software bereitgestellt sind. Weiterhin kann der Mikroprozessor einen elektronisch löschbaren, programmierbaren Lesespeicher (EEPROM) zum Speichern von Kalibrierparametern, Benutzereinstellungen und allen herunterladbaren Abfolgen aufweisen.

[0102] Ferner kann das Probenahmesystem so vorprogrammiert sein, daß es die Durchführung seiner Signalmessungen (oder anderer Funktionen) zu einer festgelegten Zeit beginnt. Eine Anwendung dieses Merkmals ist, das Probenahmesystem in Kontakt mit einem Subjekt zu haben und das Probenahmesystem so zu programmieren, daß es die Abarbeitung der Abfolgen in der Nacht beginnt, so daß es unmittelbar nach Aufwachen zur Kalibrierung verfügbar ist. Ein Vorteil dieses Merkmals besteht darin, daß somit nicht mehr darauf gewartet werden muß, daß sich das Probenahmesystem aufwärmt, bevor man es kalibriert.

[0103] Wie zuvor diskutiert wurde, kann die Empfindlichkeit solcher iontophoretischer Extraktions- und elektrochemischer Detektionsmethodiken durch das Vorhandensein von Störspesies in einer entnommenen Probe beeinträchtigt sein. Diese Störspesies können durch das iontophoretische Probenahmeverfahren extrahiert sein, passiv durch die Haut diffundieren oder können in Perspiration oder Sebum entnommen sein und können zu erheblichen Hintergrundstörungen führen, was die gesamte Sensorreaktion verringert. Zum Beispiel ist im hier exemplarisch dargestellten glucosespezifischen Überwachungssystem das Enzym GOx stark glucosespezifisch. Allerdings oxidiert die Biosensorelektrode alle in der extrahierten Probe vorhandenen Störspesies, die beim angelegten Potential oxidierbar sind, was zu Störung mit dem Wasserstoffperoxidssignal führt.

[0104] Insbesondere kann eine Anzahl von Stoffen, die man gewöhnlich in iontophoretisch extrahierten Körperflüssigkeiten vorfindet, das Wasserstoffperoxidssignal stören. Mehrere dieser Störspesies, z. B. Ascorbinsäure, Harnsäure und bestimmte Aminosäuren (z. B. Tryptophan und Tyrosin), können mit der reaktiven Oberfläche des Biosensors reagieren und führen zu wesentlicher Signalstörung. Diese Hauptstörspesies lassen sich in zwei große Klassen einteilen, die sich bei einem angelegten elektrischen Potential unterschiedlich verhalten; das heißt, sie sind entweder geladene (ionische) Stoffe oder ungeladene (im wesentlichen neutrale) Stoffe. Ascorbinsäure und Harnsäure sind negativ geladene (anionische) Stoffe. Tryptophan und Tyrosin sind im wesentlichen neutrale Substanzen. Während der iontophoretischen Probenahme werden negativ geladene Spezies vorzugsweise zur Anodenelektrode extrahiert, während positiv geladene und neutrale Spezies vorzugsweise zur Kathodenelektrode extrahiert werden. Diese und andere Störspesies sind auch in jeder transdermal entnommenen Probe vorhanden, die aus einem Subjekt erhalten wird.

[0105] Im Gebrauch der Erfindung kommt ein iontophoretisches Probenahmesystem zum Einsatz, um die Konzentration des Analyten im biologischen System zu messen. Das iontophoretische Probenahmesystem ist mit zwei Auffangreservoirien konfiguriert und sorgt für einen selektiven Extraktionsschritt wie folgt: Jedes Reservoir steht mit einer einzelnen iontophoretischen Elektrode in Kontakt, und ein Gleichstrom dient zur Bildung eines elektrischen Potentials zwischen den beiden Elektroden während der iontophoretischen Extraktion. Damit dient die Elektrode in einem ersten Reservoir als iontophoretische Anode, und die Elektrode im zweiten Reservoir dient als iontophoretische Kathode. Nur das zweite (kathodische) Auffangreservoir enthält auch die Biosensorelektrode. Dadurch erfolgt die Analytdetektion mit einer extrahierten Probe, die eine verringerte Men-

ge von Störspezies hat, da negativ geladene Spezies (z. B. Ascorbinsäure und Harnsäure) vorzugsweise in das anodische Auffangreservoir extrahiert werden.

[0106] Die sich durch diese selektive Extraktionstechnik ergebenden Nutzeffekte lassen sich durch Verwendung einer beliebigen oder einer Kombination der folgenden Techniken verstärken: In einer Ausführungsform ist die selektive kathodische Extraktion mit einer Einrichtung zum Erhalten eines "Leer"-Signals kombiniert, das genutzt werden kann, einen Anteil des kathodischen Signals zu subtrahieren, der aus den positiv geladenen und/oder neutralen Störspezies abgeleitet ist. Insbesondere dient das zuvor beschriebene iontophoretische Probenahmesystem mit zwei Auffangreservoirien zur Durchführung einer kathodenselektiven Detektion auf wiederholte Weise. Jedes Reservoir steht mit einer einzelnen iontophoretischen Elektrode in Kontakt, und ein Gleichstrom dient zur Bildung eines elektrischen Potentials zwischen den beiden Elektroden während der iontophoretischen Extraktion. Außerdem enthalten beide Reservoirie eine Biosensorelektrode; die Glucosedetektion erfolgt aber nur im kathodischen Reservoir, das das GOx-Enzym enthält. Eine Anzahl von Meßzyklen wird wiederholt oder kontinuierlich über eine Betriebsperiode von mindestens etwa 1 bis 24 Stunden durchgeführt. Zur Erhöhung der Betriebslebensdauer der Auffangreservoirie und iontophoretischen Elektroden während dieser wiederholten oder kontinuierlichen Probenahme kann die Polarität der Reservoirie so umgeschaltet werden, daß jedes Reservoir mindestens in einem Abschnitt eines Meßzyklus (d. h. nach jedem iontophoretischen Halbzyklus) als Anode dient.

[0107] In einem bevorzugten Gebrauch dieses Systems wird ein Detektionszyklus nach jedem iontophoretischen Halbzyklus durchgeführt. Beispielsweise beinhaltet jeder Meßzyklus folgendes: Eine iontophoretische Extraktion wird für eine erste Phase des Extraktionsschritts durchgeführt, wobei das erste Auffangreservoir als Kathode dient; danach erfolgt ein Detektionsschritt während einer ersten Phase des Meßschritts, um Stoffe zu detektieren, die während der ersten Phase der Extraktion entnommen wurden; eine iontophoretische Extraktion wird für eine zweite Phase des Extraktionsschritts durchgeführt, wobei das zweite Auffangreservoir als Kathode dient; und danach erfolgt ein zweiter Detektionsschritt während einer zweiten Phase des Meßschritts. Aufgezeichnet werden nur Biosensormessungen von der Kathode. Jedoch ist eine Aktivierung der Biosensorelektroden in den Anodenreservoirien wirksam, die Konzentration von Stoffen (u. a. Störspezies) abzureichern (z. B. spülen), die darin durch chemische Reaktion mit der reaktionsfähigen Oberfläche der Elektrode aufgefangen wurden. So trägt die Aktivierung der Biosensorelektrode im Anodenreservoir dazu bei, das Probenahmesystem zu spülen und Restsignalkomponenten im wesentlichen daraus zu entfernen.

[0108] Die Detektion wird für eine ausreichende Zeit durchgeführt, um zu gewährleisten, daß sämtliche im kathodischen Reservoir aufgefangene Glucose einer Reaktion unterzogen wurde und daher nicht mehr detektierbar ist, und der in der Kathode erzeugte Biosensorstrom wird zur Konzentration von Glucose im Subjekt etwa zur Zeit der Probenahme in Beziehung gesetzt. Zusätzlich sollte die Dauer jedes Detektionsschritts ausreichen, die Störspezies zu beseitigen oder im wesentlichen zu entfernen, die vorzugsweise im anodischen Reservoir aufgefangen werden. Wie dem Fachmann anhand der Offenbarung deutlich sein wird, können abwechselnde Extraktions-/Detektionszyklen, ein zusätzlicher Spülschritt im Verlauf eines oder mehrerer der Meßzyklen durchgeführt werden, wobei die Biosensorelektroden zwischen einem Detektionsschritt und vor einem anschließenden Extraktionsschritt (z. B. zwischen einer ersten Phase des Detektionsschritts und einer zweiten Phase des Extraktionsschritts) aktiviert werden, um Restsignalkomponenten (sowohl analytspezifische als auch Signale infolge von Störspezies) aus dem Probenahmesystem zu spülen. Wie zuvor beschrieben, kommt es durch Aktivierung der Biosensorelektrode zur Abreicherung sowohl des Restanalytsignals als auch des Signals infolge von Reststörspezies durch chemische Reaktion mit der reaktionsfähigen Oberfläche der Elektrode. Im Spülschritt kann die Biosensorelektrode mit einem Potential von mindestens etwa 0,6 V betrieben werden, um sicherzustellen, daß das Spülen im wesentlichen abgeschlossen ist.

[0109] In einem bevorzugten Gebrauch des Systems wird das iontophoretische Probenahmesystem so betrieben, daß es für einen Meßzyklus mit den folgenden Komponenten sorgt einer ersten Phase des Extraktionsschritts, in der das erste Reservoir als iontophoretische Kathode betrieben wird; einer ersten Phase des Meßschritts, in der ein elektrochemisches Signal aus dem ersten Reservoir erhalten wird; einem Spülschritt, um Restsignale aus dem Probenahmesystem zu entfernen; einer zweiten Phase des Extraktionsschritts, in der das zweite Reservoir als iontophoretische Kathode betrieben wird; und einer zweiten Phase des Meßschritts, in der ein elektrochemisches Signal aus dem zweiten Reservoir erhalten wird. Bei Bedarf kann das Enzym aus dem ersten Reservoir ausgeschlossen sein, so daß das erste Signal vorwiegend Signalkomponenten infolge von Störspezies und Hintergrundvariationen enthält und das zweite Signal analytspezifische Signalkomponenten enthält. Auf diese Weise kann auch ein Subtraktionsschritt genutzt werden, um ein Signal zu erhalten, das auch spezifisch auf den Analyt bezogen ist, z. B. wenn das erste Signal vom zweiten Signal subtrahiert wird.

[0110] Alternativ können beide Reservoirie das Enzym enthalten, so daß kathodische Signale erhalten werden können, um zwei "aktive" analytspezifische Signale zu erzeugen. Für Anwendungen mit kontinuierlicher oder wiederholter Überwachung kann der Spülschritt einmal oder mehrmals während der wiederholten oder kontinuierlichen Überwachungsperiode durchgeführt werden. In einem Aspekt wird der Spülschritt zwischen jedem Meßschritt und einem anschließenden Extraktionsschritt durchgeführt. Wie dem Fachmann anhand der

Beschreibung klar sein wird, können die hier beschriebenen Vorzugsextraktionstechniken, die das Messen entnommener Stoffe an der Kathode beinhalten, um analytspezifische Informationen zu gewinnen, zum Überwachen jeder positiv geladenen oder neutralen Substanz zum Einsatz kommen.

[0111] In einem weiteren verwandten Aspekt, der die o. g. abwechselnden Extraktions-/Detektionszyklen verwendet, kann ferner eine Verzögerungsperiode genutzt werden, um das detektierbare Glucosesignal zu maximieren. Insbesondere wird eine Verzögerungsperiode zwischen jeder iontophoretischen Halbzyklusextraktion und ihrem entsprechenden Meßschritt eingefügt. Während dieser Verzögerungsperiode wird der Glucoseanalyt in das Wasserstoffperoxidsignal umgewandelt, und der Effekt des geschwindigkeitsbegrenzenden Verfahrens im Zusammenhang mit Mutarotation von Glucose wird reduziert. Die Verzögerung kann jede geeignete Zeitperiode betragen, z. B. etwa 15 Sekunden bis etwa 20 Minuten, vorzugsweise etwa 1 bis 7 Minuten. Durch eine solche Sensorverzögerung läßt sich die Biosensordetektionszeit verkürzen, wobei die Detektion auf etwa 10 Sekunden bis etwa 30 Minuten, vorzugsweise etwa 30 Sekunden bis etwa 10 Minuten und am stärksten bevorzugt etwa 90 Sekunden bis etwa 5 Minuten begrenzt werden kann. Die Kombination aus Sensorverzögerung und verkürzter Detektionszeit reduziert das mit der Biosensormessung erhaltene Gesamttrauschen, sorgt aber für das gleiche Analytsignal, was das Signal-Rausch-Verhältnis der Analytmessung verbessert. Wie zuvor beschrieben, kann die Biosensorelektrode optional für eine längere Periode eingeschaltet bleiben (z. B. während eines Spülschritts), um Signale infolge von Restanalyt und/oder Störspezies in den Auffangreservoir im wesentlichen zu erschöpfen.

[0112] In noch einem weiteren Aspekt ist die bevorzugte (selektive kathodische) Extraktion mit einer Einrichtung zum Reduzieren des Signals kombiniert, das durch die Störspezies Tryptophan und Tyrosin erzeugt wird, die im kathodischen Reservoir aufgefangen werden. Dazu verwendet das hier beschriebene iontophoretische Probenahmesystem vorzugsweise einen Biosensor mit einer platinhaltigen Elektrode, die gegenüber dem durch das Enzym GOx erzeugten Wasserstoffperoxidsignal hochempfindlich ist. Allgemein ist das Potential solcher Biosensorelektroden auf etwa 0,6 V eingestellt, wo die Strom-Spannungs-Kurve von Wasserstoffperoxid ein Plateau hat. Allerdings läßt sich bei diesem Arbeitspotential das Signal anhand von Tryptophan und Tyrosin nicht vom (glucosespezifischen) Wasserstoffperoxidsignal unterscheiden.

[0113] Somit ist in diesem Aspekt das Potential der Biosensorelektrode reduziert, um das Nichtglucosesignal zu verringern. Insbesondere kann das Potential auf etwa 0,5 V oder darunter reduziert sein, wobei bei diesen Potentialen das Signal anhand von Tryptophan und Tyrosin stark reduziert ist, ohne daß damit eine Verringerung des analytspezifischen (Wasserstoffperoxid-) Signals einhergeht. In einem speziellen Aspekt ist das Potential auf etwa 0,42 V reduziert, um die Signalkomponente infolge der Störspezies Tryptophan und Tyrosin im wesentlichen zu eliminieren.

[0114] Jede der Techniken, die in den zuvor beschriebenen iontophoretischen Probenahmeverrichtungen mit zwei Reservoiren zum Einsatz kommt, kann auf Probenahmeverrichtungen mit drei oder mehr derartigen Reservoiren angewendet werden.

[0115] Ist es in Kontakt mit einer Haut- oder Schleimhautoberfläche plaziert, extrahiert das iontophoretische Probenahmesystem Stoffe, u. a. den Analyt, in das erste und zweite Auffangreservoir. Die erste iontophoretische Elektrode wird als Kathode während des Extraktionsschritts betrieben. Ferner verfügt das Probenahmesystem über eine Einrichtung zum passiven Auffangen von Stoffen, die aus dem Subjekt diffundieren oder von ihm abgesondert werden. Passiv extrahierte Stoffe werden in einem dritten Auffangreservoir aufgefangen, das in betrieblichem Kontakt mit einer Haut- oder Schleimhautoberfläche des Subjekts steht. Geeignete passive Auffangsysteme sind in der Technik bekannt, z. B. Hautpflaster, die Perspiration auffangen (mit oder ohne Verwendung eines Cholinergikums oder permeationsverstärkenden Mittels), u. ä. Der Analyt, der in das erste Auffangreservoir extrahiert wird, wird mit dem Sensor in einem Meßschritt in Kontakt gebracht, um ein aktives Signal zu erhalten, und die im dritten Auffangreservoir ausgefangenen Stoffe werden mit dem Sensor in Kontakt gebracht, um ein Leersignal zu erhalten. Danach gewinnt man ein analytspezifisches Signal durch Subtrahieren des Leersignals vom aktiven Signal. Beim Überwachen eines negativ geladenen Analyten wird die erste iontophoretische Elektrode im Extraktionsschritt als Anode betrieben.

[0116] In einem verwandten Aspekt wird der Analyt mit Hilfe eines iontophoretischen Probenahmesystems extrahiert, das ein erstes, zweites und drittes Auffangreservoir aufweist, die in betrieblichem Kontakt mit einer ersten, zweiten bzw. dritten iontophoretischen Elektrode stehen. Werden dieser Reservoir mit einer Haut- oder Schleimhautoberfläche eines Subjekts in Kontakt gebracht, dient die Probenahmeeinrichtung zum Extrahieren von Stoffen, u. a. des Analyten, aus dem biologischen System in das erste, zweite und dritte Auffangreservoir. Die erste und zweite iontophoretische Elektrode werden im Extraktionsschritt als Kathoden betrieben (d. h. der Iontophoresestrom wird gleichmäßig zwischen den Kathoden aufgeteilt). Die Messung erfolgt nur an den Kathoden, wobei der in das erste Auffangreservoir extrahierte Analyt mit einem Sensor in Kontakt gebracht wird, um ein aktives Signal zu erhalten, und die in das zweite Auffangreservoir extrahierten Stoffe mit dem Sensor in Kontakt gebracht werden, um ein Leersignal zu erhalten. Danach wird das Leersignal vom aktiven Signal subtrahiert, um ein analytspezifisches Signal zu liefern. Bei Bedarf kann das erste Auffangreservoir ein analytspezifisches Enzym enthalten (z. B. Glucoseoxidase, wenn Glucose überwacht wird), um das aktive Signal

zu liefern, und das zweite Reservoir kann mit der Ausnahme im wesentlichen identisch sein, daß das Enzym aus ihm ausgeschlossen ist, um das Leersignal zu erhalten. Alternativ können sowohl das erste als auch das zweite Auffangreservoir verwendet werden, um aktive Signale zu erhalten (z. B. wenn beide ein analytspezifisches Enzym enthalten), um mehrere analytspezifische Signale zu erhalten. Ferner können die erste und zweite iontophoretische Elektrode als Anoden betrieben werden, wenn der interessierende Analyt negativ geladen ist.

[0117] In noch einem weiteren Aspekt wird ein iontophoretisches Probenahmesystem bereitgestellt, das eine kathodenselektive Messung mit sowohl Aktiv-Leer-Subtraktions- als auch alternierenden Polaritätstechniken kombinieren kann, um für eine wesentliche Verringerung des Effekts von Störspesies auf die Sensorempfindlichkeit zu sorgen. Insbesondere wird ein Auffangsystem mit zwei Reservoiren genutzt, wobei die Auffangreservoirire als Aktiv-/Leersystem hergestellt sind und identische Komponenten (iontophoretische Elektrode, Biosensorelektrode) mit der Ausnahme haben, daß ein Reservoir das GOx-Enzym enthält (aktives Reservoir), während das andere das Enzym GOx nicht enthält (Leerreservoir). Während der iontophoretischen Entnahme werden diese beiden Auffangreservoirire mit abwechselnder Polarität betrieben.

[0118] Ein Mikroprozessor wird zur Steuerung der Extraktions- und Meßbetriebsabläufe der Vorrichtung verwendet, um für einen Meßzyklus zu sorgen, der in einem mindestens vierstufigen Protokoll wie folgt durchgeführt werden kann: Eine erste Phase des Extraktionsschritts dient zur Erzeugung des Leersignals. Während dieser Phase wird das Leerreservoir als iontophoretische Kathode verwendet, und Glucose (zusammen mit positiv geladenen und neutralen Störspesies) wird vorzugsweise im Leerreservoir aufgefangen. Die negativ geladenen Störspesies werden vorzugsweise im aktiven Reservoir aufgefangen, das als iontophoretische Anode betrieben wird. Nach einer geeigneten Extraktionszeit wird die Biosensorelektrode im Leerreservoir genutzt, um ein Leersignal zu erhalten. Danach wird ein Spülschritt durchgeführt, wobei die aktive/Leer-Biosensorelektrode aktiviert sind, um Restglucose und/oder Reststörspesies zu verbrauchen, insbesondere die negativ geladenen Störspesies, die bei der anodischen Extraktion vorzugsweise im aktiven Reservoir aufgefangen wurden. Anschließend wird die Polarität der Aktiv-/Leerreservoirire umgeschaltet, und das kathodische Auffangen erfolgt im aktiven Reservoir. Nach dieser zweiten Extraktion wird der Glucoseanalyt im aktiven Reservoir detektiert, um das aktive Signal zu liefern. Bei Bedarf kann auch eine Sensorverzögerung zwischen dem kathodischen Extraktions- und kathodischen Detektionsschritt der Auffang- und Analysephase verwendet werden, um das Glucosesignal zu maximieren. Natürlich können diese Schritte umgekehrt werden, wobei z. B. das aktive Signal zuerst im Meßzyklus erhalten werden soll. Zudem kann ein zweifach aktives System (beide Reservoire enthalten das GOx-Enzym) genutzt werden, um mehrere aktive Signale zu erhalten. Jedes der o. g. Probenahmesysteme kann kontinuierlich oder wiederholt betrieben werden, wobei zusätzliche Spülschritte verwendet werden, um die Reservoire zwischen Meßschritten und anschließenden Extraktionsschritten zu leeren.

[0119] Jede der zuvor beschriebenen iontophoretischen Probenahmesystemkonfigurationen und Meßtechniken kann allein oder in jeder Kombination eingesetzt werden, um den Effekt von Störspesies auf die Biosensorempfindlichkeit zu reduzieren. Diese nichtinvasiven Glucoseüberwachungssysteme ermöglichen die Messung von Analytwertänderungen in einem Subjekt über einen breiten Bereich von Analytkonzentrationen. Zudem kann das Probenahmesystem kontinuierlich mit dem Subjekt in Kontakt gebracht sein und erhält automatisch Proben, um die Analytkonzentration in vorprogrammierten Intervallen zu messen. Andere Abwandlungen und Zusätze zu den o. g. Ausführungsformen werden dem Fachmann anhand der vorliegenden Offenbarung deutlich sein.

Beispiele

[0120] Die folgenden Beispiele dienen dem Fachmann zur vollständigen Offenbarung und Beschreibung, wie die Vorrichtung und Rezepte der Erfindung herzustellen und zu verwenden sind, und sollen nicht den Schutzzumfang der Erfindung einschränken. Versucht wurde, die Genauigkeit im Hinblick auf verwendete Zahlenangaben (z. B. Mengen, Temperatur usw.) zu wahren, wobei aber gewisse experimentelle Fehler und Abweichungen berücksichtigt werden sollten. Sofern nicht anders angegeben, sind Teile in Gewichtsteilen, Molekulargewicht als mittleres Molekulargewicht und Temperatur in Grad Celsius angegeben, und der Druck liegt auf atmosphärischem Druck oder in dessen Nähe.

Beispiel 1

Selektive Extraktion zur Reduzierung von Störspesies

[0121] Zum Nachweis, daß bestimmte Störspesies vorzugsweise an der Anode eines Anoden/Kathoden-Auffangsystems aufgefangen werden, wurde die im folgenden beschriebene Untersuchung durchgeführt. Eine iontophoretische Probenahme erfolgte an einem Subjekt mit Hilfe eines iontophoretischen Prototyp-Probenahmesystems. Das iontophoretische Probenahmesystem hat zwei iontophoretische Auffangreservoirire mit jeweils

einer iontophoretischen Elektrode.

[0122] Das Subjekt nahm 250 mg Ascorbinsäure zu folgenden Zeitpunkten auf: (1) zwei Stunden vor Beginn der Probenahme; (2) eine Stunde vor Beginn der Probenahme und (3) zur Zeit des Erstbeginns der Probenahme. Die iontophoretische Probenahme (Rückiontophorese) wurde in 15-minütigen Extraktionsphasen durchgeführt, denen eine 5-minütige Periode folgte, in der Pufferprobe aus den iontophoretischen Auffangkammern entfernt und durch frischen Puffer ersetzt wurde. Proben wurden zwei Stunden lang alle 20 Minuten entnommen. Der Iontophoresestrom wurde im Gleichstrommodus eingesetzt, so daß die iontophoretische Anode und Kathode dasselbe Auffangreservoir für jede Probe waren. Unmittelbar nach dem Auffangen wurden die Proben mit Hochdruckflüssigkeitschromatografie analysiert. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in der nachfolgenden Tabelle 1 aufgeführt, in der die Konzentration von Ascorbinsäure, Harnsäure, Tyrosin und Tryptophan sowohl im Anoden- als auch im Kathodenreservoir für jeden der sechs Auffangzeitpunkte angegeben ist.

Probe	Ascorbinsäure	Harnsäure	Tyrosin	Tryptophan
A1	5,1947	2,8066	4,0392	0,3481
A2	2,5519	2,8623	1,7218	0,1096
A3	2,0226	2,632	1,1308	0,0726
A4	1,7966	2,5704	1,1026	0,0766
A5	1,7094	2,5064	1,1184	0,0617
A6	1,6663	2,4746	1,349	0,067
C1	n. b.	0,392	6,2655	0,3161
C2	n. b.	0,0776	2,8673	0,1213
C3	n. b.	0,0311	3,2719	0,0954
C4	n. b.	0,0175	2,5316	0,1017
C5	n. b.	0,0215	2,2356	0,0932
C6	n. b.	0,0106	2,148	0,0838

n. b.: nicht bestimmt

[0123] Gemäß Tabelle 1 wird Ascorbinsäure ausschließlich an der Anode aufgefangen (der Ascorbinsäurewert in den Kathodenproben ist in allen Proben nicht detektierbar). Auf gleiche Weise wird Harnsäure vorwiegend an der Anode aufgefangen, obwohl ein geringer Harnsäurewert an der Kathode detektierbar war. Das Anoden-Kathoden-Verhältnis der Ascorbin- und Harnsäuresammlung ist recht hoch und variiert von etwa 7,16 bis 233,45 zu 1. Tyrosin und Tryptophan werden mit im wesentlichen gleichen Konzentrationen an der Anode und Kathode aufgefangen. Allerdings ist der mittlere Fluß an der Kathode größer als an der Anode, was für eine neutrale Spezies zu erwarten war.

Beispiel 2

Verringerte Empfindlichkeit gegenüber Störspezies bei geringerem Biosensor-Betriebspotential

[0124] Zum Nachweis, daß eine bestimmte Verringerung des Biosensor-Arbeitspotentials die Empfindlichkeit gegenüber Störspezies reduzieren kann, wurde die nachfolgende Untersuchung durchgeführt: Die iontophoretische Probenahme erfolgte erneut mit Hilfe eines iontophoretischen Prototyp-Probenahmesystems. Vergleiche wurden angestellt zwischen Signalen, die mit einer Platin-Biosensorelektrode erhalten wurden, die mit 0,6 V oder 0,5 V arbeitete. Insbesondere wurden Signale für Wasserstoffperoxid, Tyrosin und Tryptophan bei jedem Arbeitspotential erhalten. In der nachfolgenden Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Untersuchung aufgeführt. Der Anstieg betrifft die lineare Beziehung zwischen dem detektierten Strom bei 30 Sekunden und der Konzentration der reagierenden Spezies.

Tabelle 2		
Spezies	30 s Anstieg bei 0,6 V	30 s Anstieg bei 0,5 V
Wasserstoff- peroxid	112,9	115
Tyrosin	33,9	3,28
Tryptophan	15,23	0,39

[0125] Wie ersichtlich ist, reduziert das Betreiben der Pt-Elektrode mit einem geringeren Potential (0,5 V) wesentlich Sensorsignale, die sich aus Störspezies (Tyrosin und Tryptophan) ergeben, während das analytenspezifische Sensorsignal (Wasserstoffperoxid) unbeeinträchtigt bleibt.

Patentansprüche

1. Mikroprozessor (36), der programmiert ist, die Konzentration eines in einem biologischen System vorhandenen Analyten zu messen, wobei der Mikroprozessor (36) programmiert ist, ein Meßsignal einem Verfahren zum selektiven Favorisieren analytenspezifischer Signalkomponenten gegenüber Signalkomponenten infolge von Störspezies zu unterziehen, wobei das Verfahren aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus folgendem besteht: (a) einem Differenzsignalverfahren, das Nichtanalytsignalkomponenten vom Meßsignal subtrahiert, (b) einem Verzögerungsschritt, der zwischen dem Extraktions- und dem Meßschritt durchgeführt wird, (c) einem selektiven elektrochemischen Detektionsverfahren, das während des Meßschritts durchgeführt wird, (d) einem Spülschritt, der nach dem Meßschritt durchgeführt wird, (e) einem Ladungsentmischungsschritt und (f) einer Kombination daraus.

2. Mikroprozessor (36) nach Anspruch 1, wobei das Differenzsignalverfahren aufweist: Subtrahieren eines ersten Signals, das vorwiegend Signalkomponenten infolge von Störspezies und Hintergrundvariation aufweist, von einem Meßsignal, das analytenspezifische Signalkomponenten aufweist, um ein Signal zu erhalten, das sich spezifisch auf den Analyt bezieht.

3. Mikroprozessor (36) nach Anspruch 1, wobei der Spülschritt aufweist: Betreiben einer Biosensorelektrode für eine ausreichende Zeitperiode, um Restsignalkomponenten aus einem Auffangreservoir (8, 10) im wesentlichen zu entfernen, nachdem ein Meßschritt durchgeführt wurde.

4. Mikroprozessor (36) nach Anspruch 1, wobei ein Leersignal, das Folge diffundierter oder extrahierter Stoffe ist, von einem aktiven Signal, das Folge von extrahiertem Analyt ist, subtrahiert wird, um ein analytenspezifisches Signal zu bilden.

5. Mikroprozessor (36) nach Anspruch 1, wobei der Mikroprozessor (36) programmiert ist, eine Probenahmereinrichtung (8, 10, 12, 14) und eine Meßeinrichtung (16, 18, 20) zu steuern, um einen Meßzyklus vorzusehen, in dem analytenspezifische Signalkomponenten in Abwesenheit von Signalkomponenten infolge von Störspezies detektiert werden.

6. Probenahmesystem zum Messen eines in einem biologischen System vorhandenen Analyten, wobei das System in betrieblicher Kombination aufweist:

- (a) eine Probenahmereinrichtung (8, 10, 12, 14) zum transdermalen Extrahieren des Analyten aus dem biologischen System über eine Haut- oder Schleimhautoberfläche des biologischen Systems; und
- (b) eine Meßeinrichtung (16, 18, 20) in betrieblichem Kontakt mit dem durch die Probenahmereinrichtung (8, 10, 12, 14) extrahierten Analyt, wobei die Meßeinrichtung (16, 18, 20) ein detektierbares Signal aus dem extrahierten Analyt erhält und sich das Signal spezifisch auf den Analyt bezieht;
- (c) dadurch gekennzeichnet, daß das System ferner den Mikroprozessor (36) nach Anspruch 5 in betrieblicher Kommunikation mit der Probenahmereinrichtung (8, 10, 12, 14) und der Meßeinrichtung (16, 18, 20) aufweist.

7. Probenahmesystem nach Anspruch 6, wobei:

- (a) das Probenahmesystem ein iontophoretisches Probenahmesystem ist, das aufweist: (i) ein erstes Auffangreservoir (8), das ein ionenleitfähiges Medium aufweist, eine erste iontophoretische Probenahmereinrichtung (12) zum Extrahieren von Stoffen, u. a. des Analyten, aus dem biologischen System in das erste Auffangreservoir (8), und ein erstes Sensorelement (16, 18, 20), wobei die erste Probenahmereinrichtung (12) und das erste

Sensorelement (**16, 18, 20**) in betrieblichem Kontakt mit dem ersten Auffangreservoir (**8**) stehen; und (ii) ein zweites Auffangreservoir (**10**), das ein ionenleitfähiges Medium aufweist, eine zweite iontophoretische Probenahmeeinrichtung (**14**) zum Extrahieren von Stoffen, u. a. des Analyten, aus dem biologischen System in das zweite Auffangreservoir (**10**), und ein zweites Sensorelement, wobei die zweite Probenahmeeinrichtung (**14**) und das zweite Sensorelement in betrieblichem Kontakt mit dem zweiten Auffangreservoir (**10**) stehen; und (b) der Mikroprozessor (**36**) einen Meßzyklus steuert, der aufweist: (i) Betreiben der ersten iontophoretischen Probenahmeeinrichtung (**12**) als iontophoretische Kathode während einer ersten Phase des Extraktionsschritts, (ii) Detektieren von in das erste Reservoir (**8**) extrahierten Stoffen mit dem ersten Sensorelement (**16, 18, 20**) während einer ersten Phase des Meßschritts, um ein erstes Signal zu erhalten, (iii) Entfernen von Restsignalkomponenten aus dem Probenahmesystem in einem Spülschritt, (iv) Betreiben der zweiten iontophoretischen Probenahmeeinrichtung (**14**) als iontophoretische Kathode während einer zweiten Phase des Extraktionsschritts, und (v) Detektieren von in das zweite Reservoir (**10**) extrahierten Stoffen mit dem zweiten Sensorelement während einer zweiten Phase des Meßschritts, um ein zweites Signal zu erhalten, wobei das erste und/oder das zweite Signal eine analytspezifische Signalkomponente aufweist.

8. Probenahmesystem nach Anspruch 7, wobei das erste (**16, 18, 20**) und zweite Sensorelement eine erste bzw. zweite elektrochemische Biosensorelektrode sind.

9. Probenahmesystem nach Anspruch 8, wobei das zweite Auffangreservoir (**10**) ein Enzym aufweist.

10. Probenahmesystem nach Anspruch 8, wobei das erste (**8**) und zweite (**10**) Auffangreservoir ein Enzym aufweisen.

11. Probenahmesystem nach Anspruch 9 oder Anspruch 10, wobei das Enzym Glucoseoxidase ist.

12. Probenahmesystem nach Anspruch 8, wobei der Meßzyklus einen Ladungsentmischungsschritt aufweist, wobei das Messen an der Kathode stattfindet und sich bestimmte Störspesies vorzugsweise an der Anode sammeln.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

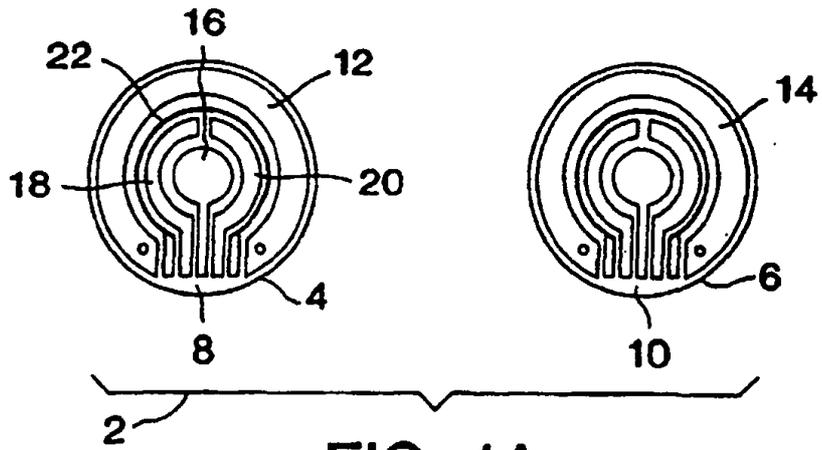


FIG. 1A

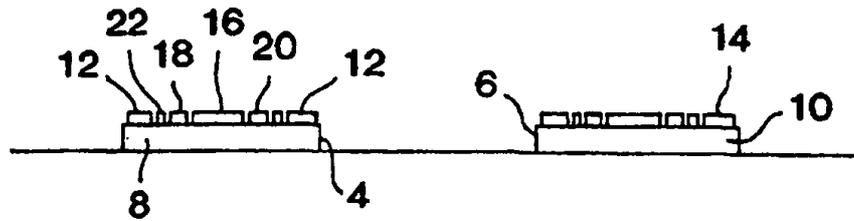


FIG. 1B

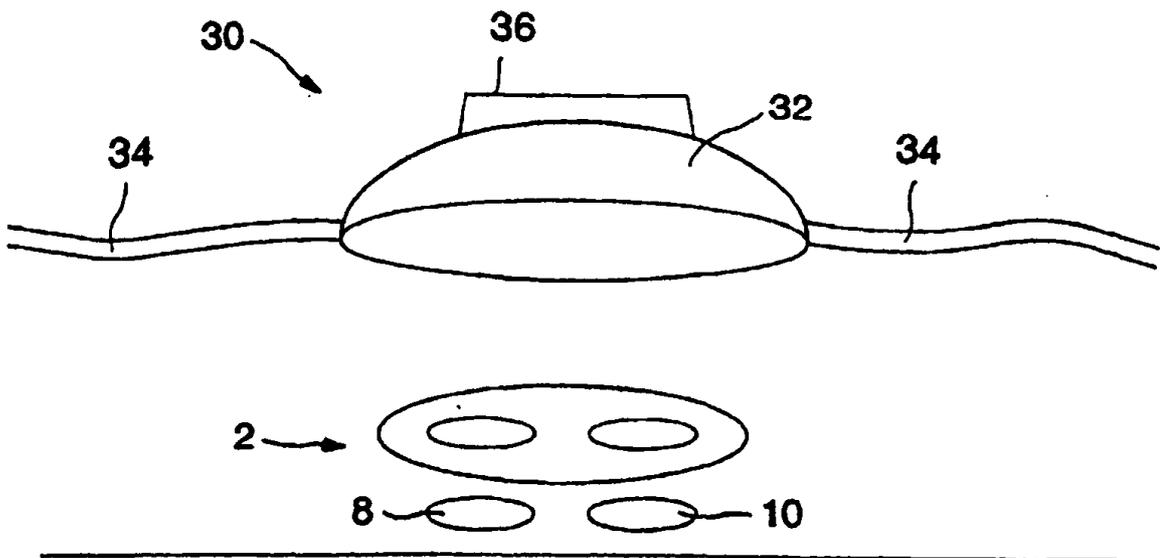


FIG. 2

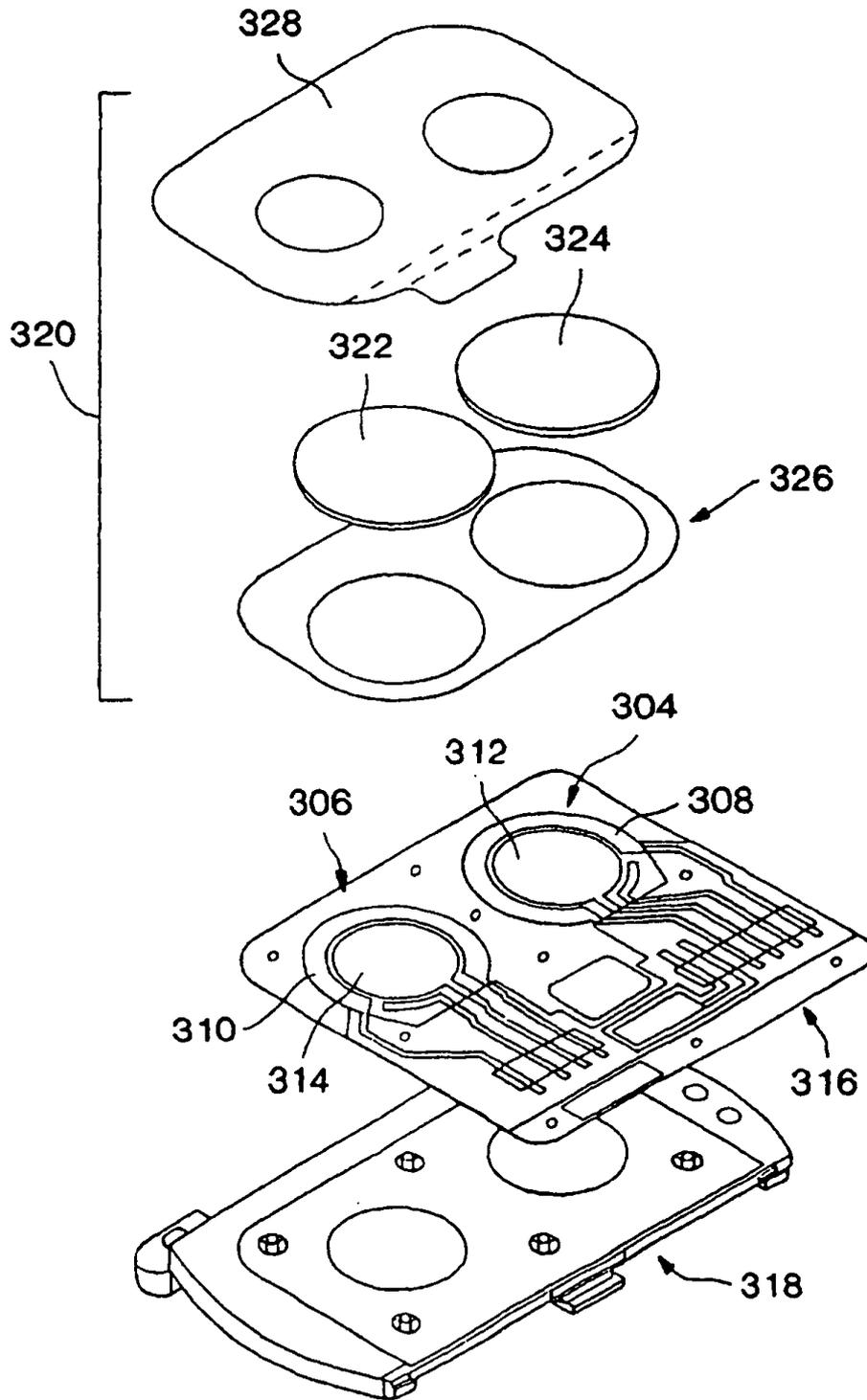


FIG. 3

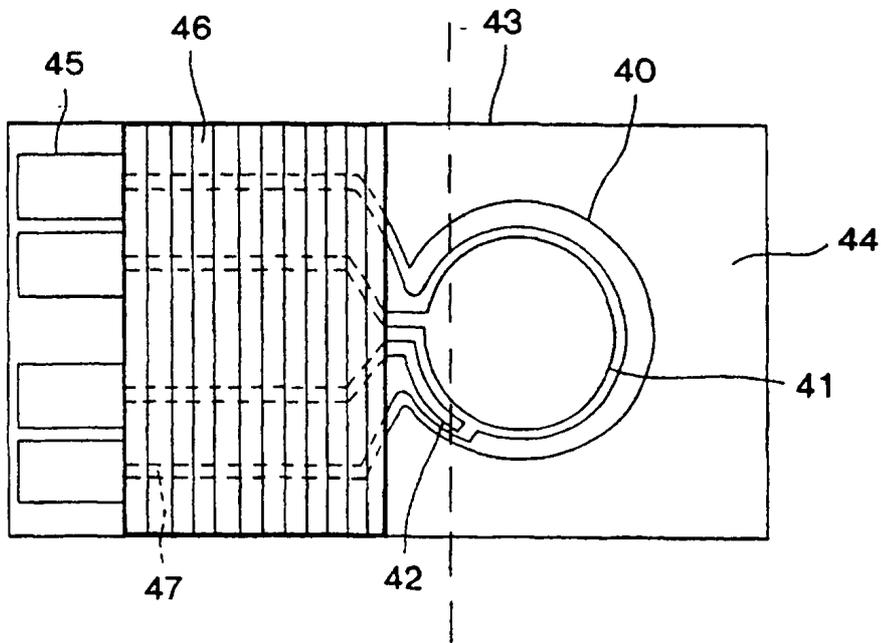


FIG. 4

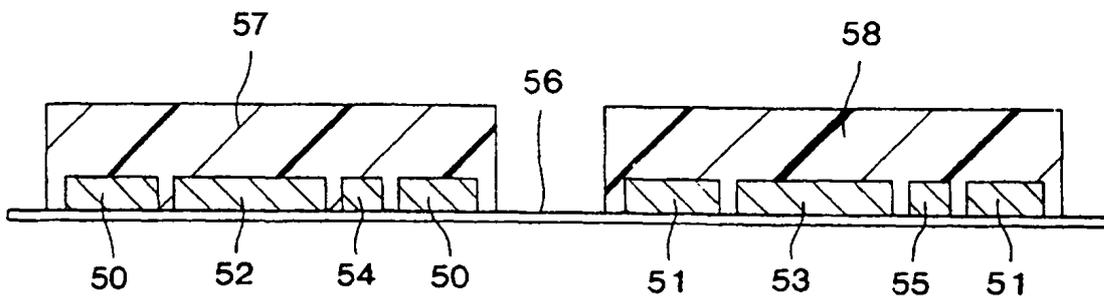


FIG. 5