

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202190685** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2021.07.07

(51) Int. Cl. *G01N 27/26* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2018.10.19

(54) **УСТРОЙСТВО ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ГАЛАКТОЗЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

(86) PCT/CN2018/111076

(72) Изобретатель:

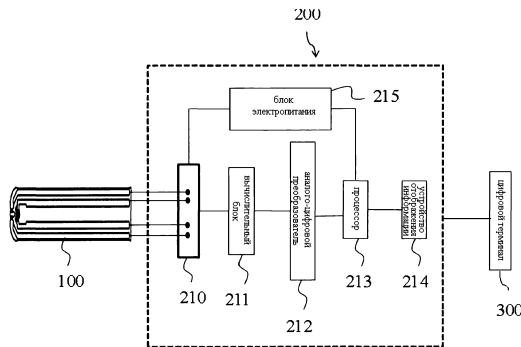
(87) WO 2020/077630 2020.04.23

**Ху Оливер Йоа-Пу, Чэнь Ш-Хау, Ян  
Пин, Линь Синь-Цзюй, Цэн По-Юань,  
Шень Томас Янь-Ши, Лау Джонсон  
Ю-Нам, Чу Чин-Юань (CN)**

(71) Заявитель:  
**АВАЛОН ХЕПАПОК ЛИМИТЕД  
(CN)**

(74) Представитель:  
**Виноградов С.Г. (BY)**

(57) Устройство для количественного экспресс-определения концентрации галактозы включает галактозную композицию, содержащую галактозу, буферный раствор 0-99% антиоксиданта, вводимую в организм человека, и после метаболизирования в печени, позволяющую получить биологическую пробу; тест-полоску или фильтровальную бумагу, включающую фермент, при этом фермент вступает в реакцию с биологической пробой, генерируя электрохимический сигнал; измерительный блок, включающий блок электропитания для подачи сигнала; разъем для приема сигнала, подаваемого блоком электропитания, и передачу сигнала на тест-полоску или фильтровальную бумагу, при этом сигнал, взаимодействующий с электрохимическим сигналом, генерирует соответствующий ответный сигнал, и разъем передает соответствующий ответный сигнал на измерительный блок; вычислительный блок для вычисления соответствующего ответного сигнала; аналого-цифровой преобразователь для приема соответствующего ответного сигнала из вычислительного блока, преобразование соответствующего ответного сигнала в оцифрованный сигнал реакции, вычисленный вычислительным блоком; и процессор для обработки оцифрованного сигнала реакции, устройство отображения информации для вывода на экран оцифрованного сигнала реакции; и цифровой терминал для приема оцифрованного сигнала реакции.



**A1**

**202190685**

**202190685**

**A1**

# **УСТРОЙСТВО ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГАЛАКТОЗЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

## **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

[0001] Изобретение относится к устройству для количественного определения галактозы, в частности, к экспресс-измерению концентрации галактозы в биологической пробе и к оценке степени нарушения функции печени.

## **ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0002] Печень играет важную роль в клиренсе многих лекарственных средств, которые могут быть выведены из организма различными метаболическими путями или с желчью. Изменения интенсивности выведения или скорости метаболизма лекарственных средств, вызванные отклонением от нормы биохимических показателей функционального состояния печени, могут вызвать накопление лекарственных средств в организме или препятствовать формированию активных метаболитов. Уровень галактозы в крови тесно коррелирует с отклонением от нормы биохимических показателей функционального состояния печени, и приведенные в научной литературе экспериментальные данные свидетельствуют о том, что значение концентрации галактозы в крови в существенной мере связано со степенью нарушения функции печени. Таким образом, оценку остаточной функции печени, связанной с отклонением от нормы биохимических показателей функционального состояния печени, можно провести на основе значения концентрации галактозы в крови.

[0003] Обычный способ количественного определения концентрации галактозы в крови применяют для внутривенного введения 0,5 г/кг галактозы после голодания в течение 8 часов и измерения концентрации галактозы в плазме спустя 60 минут (Tang H.S. et al. (1992) Digestion, 52: 222-231; Ranek L. Et al. (1983) Clin. Physiol. 3: 173-178). Способ измерения включает следующие этапы: построение кривой измерений на основе зависимости различных концентраций стандартных растворов галактозы от их значений поглощения света; добавление  $\text{HClO}_4$  к отобранной пробе крови и встряхивание для их перемешивания с последующим получением надосадочной жидкости путем центрифугирования; добавление КОН к надосадочной жидкости и встряхивание для их перемешивания с последующим получением надосадочной жидкости путем повторного центрифугирования; и далее добавление дегидрогеназы галактозы к надосадочной жидкости, выдерживание смеси в темном помещении в течение 60 минут с целью предотвращения возникновения погрешности при протекании цветной реакции для

подготовки пробы и измерение значения поглощения света пробой; и наконец, определение значения концентрации по кривой измерений. Однако, указанный способ определения концентрации галактозы является сложным и трудоемким, и для его осуществления требуется применение различных медицинских препаратов. Таким образом, получение результатов определения концентрации галактозы является длительной процедурой.

[0004] В патенте No. 1292478 Тайваня раскрываются способ получения исследуемой пробы, предназначенной для определения функции печени, и тест-полоски для пробы. Способ также предусматривает необходимость введения галактозы в организм субъекта и интервал ожидания в течение 60 минут для измерения концентрации галактозы в крови. Способ измерений включает следующие этапы: построение кривой измерений на основе зависимости различных концентраций стандартных растворов галактозы от их значений поглощения света; нанесение трихлоруксусной кислоты на индикаторную бумагу и встряхивание в течение 30 минут, далее удаление растворителя и нанесение на нее растворителя, содержащего дегидрогеназу галактозы, и встряхивание в течение 30 минут с последующим добавлением хромогенного вещества к полученному растворителю, и, наконец, измерение значения поглощения света пробой. При этом, способ основан на введении галактозы в организм человека в целях получения исследуемой пробы. Процесс количественного определения галактозы является сложным и трудоемким. Таким образом, в данной области техники возникла необходимость в создании простого экспресс-способа количественного определения галактозы для пациентов, у которых возникает необходимость в определении содержания галактозы в организме.

[0005] В патенте M488635 Тайваня раскрывается биологическая тест-полоска; в патенте США № US971995 раскрывается устройство для определения гематокритного числа, при этом устройство включает электрохимическую тест-полоску и измерительный блок. В соответствии с вышеописанным предшествующим уровнем техники широко распространенным способом контроля за состоянием организма человека является электрохимический способ. Именно ввиду нестабильности белка-фермента отсутствует возможность его сохранения в щелочной среде или в высушенном состоянии. Таким образом, как правило, фермент хранится в кислом растворе, например, он хранится в кислом растворе сульфата амина, при этом срок хранения фермента является исключительно ограниченным. Таким образом, другая проблема, которую необходимо решить в данной области техники, заключается в создании тест-полоски, которая может храниться в твердом состоянии в течение длительного периода времени.

**[0006] КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0007] Цель настоящего изобретения заключается в создании устройства для количественного экспресс-определения галактозы, включающего галактозную композицию, тест-полоску или фильтровальную бумагу и измерительный блок.

[0008] Галактозную композицию, включающую галактозу, буферный раствор и 0~99% антиоксиданта, вводят в организм человека и после ее метаболизирования получают биологическую пробу.

[0009] Тест-полоска или фильтровальная бумага включает фермент, при этом фермент вступает в реакцию с биологической пробой, тем самым обеспечивая получение электрохимического сигнала, несущего информацию.

[0010] Измерительный блок включает блок электропитания для подачи сигнала. Разъем используется для приема сигнала, подаваемого блоком электропитания и для передачи сигнала на тест-полоску или фильтровальную бумагу, при этом сигнал, взаимодействующий с электрохимическим сигналом, несущим информацию, генерирует соответствующий ответный сигнал, и разъем передает соответствующий ответный сигнал на измерительный блок. Вычислительный блок используется для вычисления соответствующего ответного сигнала. Аналого-цифровой преобразователь используется для приема соответствующего ответного сигнала от вычислительного блока, преобразование соответствующего ответного сигнала, вычисленного вычислительным блоком, в оцифрованный сигнал реакции. Процессор используется для обработки оцифрованного сигнала реакции. Устройство отображения информации используется для вывода на экран оцифрованного сигнала реакции, цифровой терминал используется для приема оцифрованного сигнала реакции.

[0011] Для достижения вышеуказанной цели буферный раствор выбран из группы, содержащей уксуснокислый буферный раствор, цитратный буферный раствор, фосфатный буферный раствор, ацетатный буферный раствор, карбонатный буферный раствор, буферный раствор аскорбиновой кислоты и триэтаноламиновый буферный раствор.

[0012] Для достижения вышеуказанной цели антиоксидант выбран из группы, содержащей витамин С и (или) бисульфит натрия, витамин А, витамин Е, флавоноиды, полифенолы, этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), диэтилентриаминпентауксусную кислоту (ДТРА) и NTA-нитрилотриуксусную кислоту (NTA).

[0013] Для достижения вышеуказанной цели галактоза выбрана из группы, содержащей D- (+) -галактозу, L- (-) -галактозу, стабильную изотопную галактозу, циклическую галактозу или производное галактозы.

[0014] Для достижения вышеуказанной цели галактозную композицию вводят перорально, инъекционно впрыскиванием, ингаляционно, буккально, ректально, суппозитарно или иным способом, приемлемым с медицинской точки зрения.

[0015] Для достижения вышеуказанной цели способ перорального введения позволяет пользователям заблаговременно принимать галактозную композицию, с последующим измерением содержания галактозы в организме путем измерения содержания галактозы в биологической пробе.

[0016] Для достижения вышеуказанной цели инъекционный способ введения позволяет пользователям заблаговременно инъекционно вводить галактозную композицию в организм, с последующим измерением содержания галактозы в организме путем измерения содержания галактозы в биологической пробе.

[0017] Другая цель настоящего изобретения заключается в создании тест-полоски, при этом тест-полоска включает изолирующую подложку, электродный блок, скомпонованный на изолирующей подложке, и первую изолирующую прокладку, покрывающую часть электродного блока и включающую канал реакционной зоны, расположенный на первой кромке изолирующей прокладки, при этом другая часть электродного блока контактирует с каналом реакционной зоны; и вторую изолирующую прокладку, включающую вторую кромку, при этом вторая изолирующая прокладка закрывает канал реакционной зоны первой изолирующей прокладки и первую кромку первой изолирующей прокладки, вторую кромку второй изолирующей прокладки, и все боковые кромки изолирующей подложки имеют выпуклую дугообразную форму, и кромка изолирующей подложки изгибается внутрь относительно передней части канала реакционной зоны; при этом канал реакционной зоны включает, по меньшей мере, реакционный слой, при этом реакционный слой закрыт электродным блоком в канале реакционной зоны, включающем, по меньшей мере, галактозу и проводящую среду для вступления в реакцию с биологической пробой в процессе протекания электрохимической реакции; при этом в тест-полоске используется выпуклая концевая часть второй кромки второй изолирующей прокладки и вогнутая конструкция изолирующей подложки относительно передней части канала реакционной зоны для уменьшения силы сцепления биологической пробы и обеспечивает быстрое продвижение вперед биологической пробы под воздействием капиллярного эффекта; при этом ферменты способны окислять, восстанавливать, разлагать и метаболизировать галактозу.

[0018] Для достижения вышеуказанной цели диапазон допустимых тестовых значений галактозы в тест-полоске составляет 50-2000 мкг/мл.

[0019] Для достижения вышеуказанной цели изолирующая подложка выбрана из группы, содержащей поливинилхлорид (ПВХ), стекловолокно (FR-4), полиэфирсульфон, бакелитовую пластину, полиэтилентерефталат (ПЭТ), поликарбонат (ПК), полипропилен (ПП), полиэтилен (ПЭ), полистирол (ПС), листовое стекло, керамику или их любое сочетание.

[0020] Для достижения вышеуказанной цели электродный блок выбран из группы, содержащей палладий, платину, коллоидное золото, титан, уголь, медь, золото и серебро.

[0021] Для достижения вышеуказанной цели реакционный слой выбран из группы, содержащей фермент, кофермент, буферный раствор, стабилизирующее вещество и поверхностно-активное вещество.

[0022] Для достижения вышеуказанной цели проводящая среда выбрана из группы, содержащей ферроцен, ферроцерий, метиленовый голубой, хлорид трис (ацетонитрил) рутения, дигидроксibenзохинон, феназинметосульфат, тетратиафульвалентетрацианохинодиметан, метилвиологен, толуидиновый синий, 5, 6-диамино-1, 10-фенантролин, 2, 2'-бипиридин.

[0023] Для достижения вышеуказанной цели проводящая среда дополнительно содержит соединение ионов металлов, при этом соединение ионов металлов выбрано из группы, содержащей  $MgCl_2$ ,  $BeCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $SrCl_2$ ,  $BaCl_2$  и их любое сочетание.

[0024] Для достижения вышеуказанной цели буферный раствор выбран из группы, содержащей трис, трис-hcl, фосфатно-солевой буфер (ФСБ), 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту (буфер MES), циклогексил-2-аминоэтансульфоновую кислоту (буфер CHES), борат, универсальные буферные смеси (СРВ), 3-[N-морфолино]пропансульфоновую кислоту (буфер MOPS), 2-[трис(гидроксиметил) метиламино]-1-этансульфоновую кислоту (буфер TES), N-2-гидроксиэтилпиперазин-п'-2-этансульфоновую кислоту (буфер HEPES), 3-N-трис(гидроксиметил)метиламино-2-гидроксипропансульфоновую кислоту (буфер TAPSO), Трицин, Бицин и [трис(гидроксиметил)метиламино] пропансульфоновую кислоту (буфер TAPS).

[0025] Для достижения вышеуказанной цели стабилизирующее вещество выбрано из группы, содержащей ксилитол, маннитол, поликсилозу, арабоксиан, маннан, трегалозу, ПЭГ, ПВС, ПЭО, Метоцел, агарозу, золь-гель, коллаген, хитозан, БСА, казеин, неопротейн, аминокислоту и их любое сочетание.

[0026] Для достижения вышеуказанной цели поверхностно-активное вещество выбрано из группы, содержащей катионное поверхностно-активное вещество, анионное

поверхностно-активное вещество, нейтральное ионное поверхностно-активное вещество, и неионное поверхностно-активное вещество.

[0027] Для достижения вышеуказанной цели обеспечивается сушка, отверждение и хранение фермента в нейтральной, кислотной или щелочной среде.

[0028] Другая цель настоящего изобретения заключается в создании способа для осуществления количественного экспресс-определения галактозы у пользователя, при этом способ включает:

[0029] (1) заблаговременный прием пользователем галактозной композиции;

[0030] (2) получение биологической пробы с использованием ручки-прокальвателя для взятия биологических проб;

[0031] (3) абсорбирование биологической пробы тест-полоской из ручки-прокальвателя для взятия биологических проб;

[0032] (4) размещение тест-полоски внутри измерительного блока; и

[0033] (5) считывание значения концентрации галактозы пользователем или профессиональными медицинскими работниками для определения заболевания или остаточной функции печени пользователя.

[0034] Для достижения вышеуказанной цели способ может быть осуществлен субъектом или профессиональным медицинским работником.

[0035] Для достижения вышеуказанной цели изобретение предусматривает диагностирование заболевания, представляющего собой неонатальную галактоземию.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

[0036] ФИГ. 1 – вид спереди устройства для количественного экспресс-определения галактозы.

[0037] ФИГ. 2 – блок-схема измерительного блока устройства для количественного экспресс-определения галактозы.

[0038] ФИГ. 3 – испытание на достоверность результатов измерений устройства для количественного экспресс-определения галактозы.

[0039] ФИГ. 4 – испытание на точность результатов измерений устройства для количественного экспресс-определения галактозы.

[0040] ФИГ. 5 – схематический вид конструкции тест-полоски.

[0041] ФИГ. 6 – анализ объемов проб крови с использованием фильтровальной бумаги общего назначения.

[0042] ФИГ. 7 – достоверность результатов испытаний тест-полосок для определения уровня галактозы при различных объемах проб крови.

[0043] ФИГ. 8 –результаты испытаний продолжительности хранения тест-полосок в днях.

[0044] ФИГ. 9 –результаты теста по оценке гематокритного числа.

[0045] ФИГ. 10 –результаты теста по оценке воспроизводимости тестов.

[0046] ФИГ. 11 –один тип корреляции между результатами значений одной точки внутривенно вводимой галактозы (GSP) и одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP).

[0047] ФИГ. 12 –другой тип корреляции между результатами значений одной точки внутривенно вводимой галактозы (GSP) и одной точки перорально вводимой галактозы (метод OGSP).

[0048] ФИГ. 13 –результаты теста, выполненного полуавтоматическим роботом-манипулятором, по определению концентрации и галактозы с использованием тест-полоски.

[0049]

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0050] Настоящее изобретение проиллюстрировано применительно к нижеприведенным вариантам осуществления, однако изобретение не ограничивается ими. Другими словами, все материалы, используемые в настоящем изобретении, доступны в продаже.

[0051] В устройстве для количественного экспресс-определения галактозы настоящего изобретения, проиллюстрированном на ФИГ. 1а, используют электрохимический метод определения содержания галактозы с использованием фермента. В устройстве преимущественно применена технология одноразового электрода с нанесенным на него сухим ферментом, используется галактоза или ее метаболиты, метаболизируемые печенью в организме человека, которые вступают в реакцию с ферментом, при этом в процессе электрохимической реакции генерируется микроток, далее величину концентрации галактозы определяют путем измерения величины микротока. Оценку остаточной функции печени проводят в соответствии со значением индикации. Устройство для количественного экспресс-определения галактозы настоящего изобретения не ограничено оценкой функции печени, кроме этого, данное устройство обеспечивает диагностику заболеваний, вызываемых галактозой, такого как неонатальная галактоземия. При этом, галактоза настоящего изобретения дополнительно включает галактозу и ее производные. Биологическая проба может являться кровью, слюной, мочой, жидкостью лаважа или любой иной физиологической жидкостью.



[0052] Вариант осуществления 1: Способ использования устройства для количественного экспресс-определения галактозы

[0053] 1-1 Использование тест-полоски для количественного определения галактозы

[0054] Тест-полоска для определения концентрации галактозы, проиллюстрированная на ФИГ. 1b, заключена в оболочку из алюминиевой фольги и хранится при температуре в диапазоне 4°C-10°C (39.2°F-51.2°F). Перед использованием тест-полоску необходимо подогреть в течение 20 минут. После вскрытия оболочки тест-полоску для определения галактозы необходимо использовать в течение 30 минут. После истечения указанного периода времени тест-полоска выбрасывается и не подлежит повторному использованию.


[0055] 1-2 Взятие и подготовка проб

[0056] Сначала пользователю необходимо перорально принять галактозную композицию, при этом содержание галактозы составляет 1%-80%, предпочтительно 4%-40% по весу от общей галактозной композиции, при этом буферный раствор может быть не добавлен или добавлен до доведения суммарного веса в пределах 0,001%-5%, и антиоксидант может быть не добавлен или добавлен до доведения суммарного веса в пределах 0,001%-5%. Соответствующий состав может быть приготовлен путем выбора буферного раствора и антиоксиданта и добавления следующих ингредиентов: 0,01M-1M антиоксиданта, выбранного из группы, содержащей витамин С, бисульфит натрия, витамин А, витамин Е, флавоноиды, полифенолы, этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), диэтилентриаминпентауксусную кислоту (DTPA) и NTA-нитрилотриуксусную кислоту (NTA); и (или) 0,01M-1M буферного раствора, выбранного из группы, содержащей уксуснокислый буферный раствор, цитратный буферный раствор, фосфатный буферный раствор, ацетатный буферный раствор, карбонатный буферный раствор, буферный раствор аскорбиновой кислоты и триэтаноламиновый буферный раствор с корректировкой значений pH в диапазоне 4,0-9,0. Устойчивый состав можно получить путем добавления 0,01% цитратного буферного раствора и 0,5% бисульфит натрия со значением pH 4,5. После перорального приема вышеуказанной галактозной композиции в течение 60 минут пальцы рук моют с мылом теплой водой, насухо вытирают и затем пальцы протирают спиртовым тампоном до проведения взятия биологических проб. После того, как пальцы полностью высохнут, отбирают биологические пробы с использованием устройства для взятия биологических проб, слегка проколов кончики пальцев, при этом необходимо избегать чрезмерного сжатия в процессе взятия биологических проб.

[0057] 1-3 Порядок использования



[0058] (1) Калибровка с использованием карты с паролем

[0059] С целью точного измерения значений концентрации галактозы измерительный блок уровня галактозы необходимо перекалибровывать каждый раз при использовании новой коробки тест-полосок для определения галактозы. В процессе калибровки разрешается использовать только карточку с паролем, прикрепленную к коробке, и подтвердить, что пароль, указанный в карточке с паролем, аналогичен паролю на коробке с тест-полосками, используемыми для количественного определения концентрации галактозы; затем необходимо вставить контактный электрод карточки с паролем в слот для карты с паролем измерительного блока уровня галактозы. После установки тест-полоски для определения галактозы в слоте для тест-полоски измерительного блока

измерительный блок автоматически включается и выводит пример на экран . Пользователю необходимо подтвердить, что пароль аналогичен паролю, указанному на карточке, и затем карточку с паролем извлекают из слота. На этом калибровка устройства завершается и можно проводить тест на определение уровня галактозы.

[0060] (2) Количественное определение галактозы

[0061] Сначала пользователь моет, затем тщательно насухо вытирает пальцы и далее закрепляет иглу для взятия биологических проб в устройстве для взятия биологических проб. После установки тест-полоски для определения галактозы в слоте для тест-полоски измерительного блока измерительный блок автоматически включается и выводит пример

на экран . Пользователь подтверждает, что пароль на экране аналогичен паролю на коробке с тест-полосками и может взять биологическую пробу при появлении на экране мигающего символа капли крови .

[0062] Перед взятием биологической пробы необходимо протереть пальцы спиртовым тампоном. После того, как пальцы полностью высохнут, берут биологические пробы с использованием устройства для взятия биологических проб, слегка проколов кончики пальцев. Как только биологическая проба слегка коснется отверстия тест-полоски для всасывания биологической пробы, тест-полоска автоматически всасывает биологическую пробу, перемещая ее к реакционной зоне. При полном окрашивании прозрачного контрольного окошка в реакционной зоне тест-полоски в красный цвет и при подаче кратковременного звукового сигнала биологическая проба из кончика пальца может быть перемещена. По завершению теста (приблизительно через 1 минуту) значение уровня галактозы выводится на экран устройства отображения информации. Кроме того, считываемые с экрана данные могут быть переданы другим лицам, в том числе

медицинским работникам через Bluetooth или аналогичное соединение на мобильный телефон или компьютер.

[0063] По завершению теста тест-полоску извлекают, и ее утилизируют надлежащим образом. Если дальнейшие тесты не проводятся, измерительный блок автоматически выключается через три минуты.

[0064] Вариант осуществления 2: Принцип работы устройства определения уровня галактозы и порядок проведения теста

[0065] Настоящее изобретение преимущественно предусматривает создание устройства для измерения содержания галактозы в биологической пробе. Пользователи заблаговременно принимают вышеуказанную галактозную композицию. После метаболизирования галактозной композиции печенью в организме человека галактоза или ее метаболиты появляются в крови. Пользователи берут пробу крови из кончиков пальцев и наносят пробу на тест-полоску, заявляемую настоящим изобретением. Ввиду наличия ферментов в тест-полоске фермент может вступать в реакцию с галактозой или ее метаболитами, в результате чего в процессе электрохимической реакции генерируется электрический ток. Тест-полоску вставляют в измерительный блок настоящего изобретения, измерительный блок определяет количество галактозы в организме человека путем детектирования сигнала электрического тока в тест-полоске. Благодаря этому пользователи имеют возможность контролировать состояние своего здоровья. Искключительная простота процесса определения концентрации галактозы позволяет сократить время определения уровня галактозы по сравнению со способами предшествующего уровня техники, обеспечивая при этом высокую достоверность и точность результатов измерений.

[0066] На ФИГ. 2 приведена блок-схема устройства для количественного определения галактозы в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения. Устройство включает тест-полоску 100 и измерительный блок 200. Измерительный блок 200 включает разъем 210, соединенный с внешним вычислительным блоком 211 для вычисления концентрации галактозы, аналого-цифровой преобразователь 212, процессор 213 и устройство отображения информации 214. При подаче блоком электропитания 215 сигнала (сигнал предпочтительно является сигналом прямоугольной формы частотой 1кГц-22кГц; напряжением 50 мВ-5 В, предпочтительно 300 мВ-800 мВ) на тест-полоску через разъем 210 галактоза или ее метаболит в биологической пробе и фермент в тест-полоске реагируют в процессе электрохимической реакции, в результате чего обеспечивается генерирование электрохимического сигнала. Сигнал, взаимодействующий с электрохимическим сигналом, генерирует соответствующий ответный сигнал, и

соответствующий ответный сигнал передается на вычислительный блок 211 измерительного блока 200 через разъем 210. Далее вычислительный блок 211 вычисляет соответствующий ответный сигнал, выводит соответствующий ответный сигнал на аналого-цифровой преобразователь 212 для преобразования соответствующего ответного сигнала в оцифрованный сигнал реакции, который далее обрабатывается процессором 213, и результаты измерений выводятся на устройство отображения информации 214. Кроме того, оцифрованный сигнал реакции может быть передан на цифровой терминал 300, например, сигнал данных о концентрации галактозы может быть направлен на мобильный телефон или компьютер через Bluetooth или по беспроводной связи.

[0067] 2-1 Тест на достоверность результатов измерений

[0068] Сначала приготавливают пять проб галактозы различных концентраций, составляющих соответственно 200 мкг/мл, 500 мкг/мл, 900 мкг/мл, 1200 мкг/мл и 1500 мкг/мл, по 24 в каждой группе, добавляют в них венозную кровь, затем используют измерительный блок настоящего изобретения для определения значений концентрации, вычисляют их среднее значение (мкг/мл), среднеквадратическое отклонение (СО) и коэффициенты вариации (%КВ) и создают диаграмму регрессионного анализа, при этом определение концентрации галактозы осуществляют в окружающей среде при комнатной температуре ( $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) и относительной влажности 20-60%, как проиллюстрировано на ФИГ. 3. Значения индикации измерительного блока настоящего изобретения обладают высоким коэффициентом корреляции до 0,98 фактической концентрации галактозы, что указывает на высокую достоверность результатов с помощью измерительного блока настоящего изобретения.

[0069] 2-2 Тест на точность результатов измерений

[0070] Сначала приготавливают пять проб галактозы различных концентраций, составляющих соответственно 200 мкг/мл, 500 мкг/мл, 900 мкг/мл, 1200 мкг/мл и 1500 мкг/мл при комнатной температуре ( $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) и относительной влажности 20-60%, по 3 в каждой группе, добавляют в них венозную кровь, затем используют измерительный блок настоящего изобретения для определения значений концентрации и повторяют тесты в течение восьми дней и вычисляют их среднее значение коэффициента вариаций (%КВ) (как проиллюстрировано на ФИГ. 4). Данные, приведенные на ФИГ. 4, показывают, что средний коэффициент вариаций (%КВ) пяти проб через восемь дней находился в диапазоне 6,5-7,5 и демонстрируют высокую точность результатов измерений диагностического прибора.

[0071] В свете вышеприведенных результатов процесс проведения измерений с использованием устройства для количественного определения галактозы настоящего

изобретения является простым и оперативным. Это обусловлено тем, что в организме человека печенью быстро метаболизируется состав галактозной композиции настоящего изобретения, в результате чего в крови или биологической жидкости организма содержится галактоза или ее метаболиты. Далее берут пробу крови из кончика пальца. Затем проба реагирует с ферментом в тест-полоске при протекании электрохимической реакции, и с помощью измерительного блока определяют концентрацию галактозы в течение 1 минуты без дополнительного приготовления исследуемой пробы. Указанный процесс позволяет сократить количество этапов определения концентрации галактозы, что в свою очередь обеспечивает сокращение интервала времени определения. Таким образом, настоящим изобретением предлагается способ оперативного, простого и высоко достоверного определения концентрации галактозы для пациентов, у которых существует необходимость в определении уровня галактозы.

[0072] Вариант осуществления 3: Определение уровня галактозы с помощью тест-полоски

[0073] На ФИГ. 5 приведен схематический вид тест-полоски в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения. Тест-полоска 100 включает изолирующую подложку 110, электродный блок 120, первую изолирующую прокладку 130 и вторую изолирующую прокладку 140. Тест-полоска содержит фермент, вступающий в электрохимическую реакцию с галактозой или ее метаболитами.

[0074] В данном варианте осуществления изолирующая подложка 110 имеет плоскую поверхность с нанесенной на нее электрической изоляцией, и теплостойкость подложки находится в пределах 40-120 °С. Материал изолирующей подложки 110 выбран из группы, содержащей поливинилхлорид (ПВХ), стекловолокно (FR-4), полиэфирсульфон, бакелитовую пластину, полиэтилентерефталат (ПЭТ), поликарбонат (ПК), полипропилен (ПП), полиэтилен (ПЭ), полистирол (ПС), листовое стекло, керамику или любое сочетание вышеприведенных материалов.

[0075] Как проиллюстрировано на ФИГ. 5, электродный блок 120 скомпонован на изолирующей подложке 110. Электродный блок 120 включает первый конец 122 и второй конец 124, размещенные противоположно друг другу. В настоящем варианте осуществления электродный блок 120 может состоять из нескольких изолированных друг от друга электродов. Материал электродного блока 120 может представлять собой любой токопроводящий материал, такой как клей на основе палладия, клей на основе платины, клей на основе золота, клей на основе титана, клей на основе угольного материала, клей на основе серебра, клей на основе меди, клей на основе золото-серебряной смеси, клей на основе угольно-серебряной смеси или любое сочетание вышеприведенных

токопроводящих материалов. В одном варианте осуществления электродный блок 120 состоит из слоя токопроводящего угольного порошка или металлического слоя. В другом варианте осуществления электродный блок 120 состоит из токопроводящего адгезивного слоя на основе серебра, поверх которого нанесен слой токопроводящего угольного порошка, при этом полное сопротивление слоя токопроводящего угольного порошка в целом существенно выше полного сопротивления адгезивного слоя на основе серебра или иных металлических слоев.

[0076] Материалы первой изолирующей прокладки 130 могут включать, в частности, поливинилхлоридную (ПВХ) клейкую изоляционную ленту, клейкую изоляционную ленту на основе этилен-эфиратерефталевой кислоты, просушенный изоляционный лак или отвержденный УФ-излучением изоляционный лак. Первая изолирующая прокладка 130 покрывает часть электродного блока 120 (а именно часть первого конца 122) и включает канал реакционной зоны 134, расположенный на первой кромке 132 первой изолирующей прокладки 130. Первый конец 122 контактирует с каналом реакционной зоны 134. Проба (например, кровь) является приемлемой для заполнения канала реакционной зоны 134 для проведения последующей электрохимической реакции. Две длинные стороны канала реакционной зоны 134 выполнены ступенчатыми, и при этом ширина канала реакционной зоны 134, примыкающей к первой кромке 132, превышает ширину на удалении от первой кромки 132.

[0077] Канал реакционной зоны 134 включает, по меньшей мере, один реакционный слой 150, покрывающий, по меньшей мере, один электродный блок 120 в канале реакционной зоны 134 и содержащий, по меньшей мере, один фермент галактозы и токопроводящую среду, с пробами (такими как кровь) для инициирования химической реакции. Реакционный слой 150 может дополнительно включать зону измерений фермента галактозы и зону измерений токопроводящей среды.

[0078] Композиция реакционного слоя 150 может представлять собой, в частности, фермент, софермент, токопроводящую среду, буферный раствор, стабилизирующее вещество и поверхностно-активное вещество. При этом токопроводящая среда используется для приема электронов, образовавшихся после того, как активное вещество прореагировало с пробой, проведения потока электронов на измерительный блок 200 через электродный блок 120 и включает, в частности, ферроцен, ферроцерий, метиленовый голубой, хлорид трис (ацетонитрил) рутения, 2, 5-дигидроксибензохинон, феназинметосульфат, тетратиафулвален, тетра-циано-хино-диметан, метилвиологен, толуидиновый синий, 5, 6-диамино-1, 10-фенантролин,  $[M(bpy)_3]^{2+}$  ( $M = Ru$  или  $Os$ ;  $bpy = 2, 2'$ -бипиридин). Кроме того, токопроводящая среда может представлять собой

соединение металлов с ионной связью, при этом соединение металлов с ионной связью включает, в частности,  $MgCl_2$ ,  $BeCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $SrCl_2$ ,  $BaCl_2$  или их сочетания, которые могут быть растворены в водном растворе с образованием ионов металла за счет абсорбционного действия между электронами и зарядами; буферный раствор включает, в частности, нейтральные и щелочные буферные растворы, такие как Трис, Трис-НСl, фосфатно-солевой буфер (буфер ФСБ), 2-(N-морфолино) этансульфоновую кислоту (буфер MES) циклогексил-2-аминоэтансульфоновую кислоту (буфер CHES), борат, универсальные буферные смеси (СРВ), 3-[N-морфолино]пропансульфоновую кислоту (буфер MOPS), 2-[трис (гидроксиметил) метиламино]-1-этансульфоновую кислоту (буфер tes), n-2-гидроксиэтилпиперазин-n'-2-этансульфоновую кислоту (буфер HEPES), 3-N-трис(гидроксиметил)метиламино-2-гидроксипропансульфоновую кислоту (буфер TAPSO), Трицин, Бицини ([трис (гидроксиметил) метиламино] пропансульфоновую кислоту) (буфер TAPS); стабилизирующее вещество включает, в частности, ксилитол, маннитол, поликсилозу, арабоксилан, маннан, трегалозу, ПЭГ, ПВС, ПЭО, метоцел, агарозу, золь-гель, коллаген, хитозан, БСА, казеин, неопротеин, аминокислоту или любое их сочетание; поверхностно-активное вещество включает, в частности, катионное поверхностно-активное вещество, анионное поверхностно-активное вещество, нейтральное ионное поверхностно-активное вещество и неионное поверхностно-активное вещество.

[0079] В настоящем варианте осуществления вторая изолирующая прокладка 140 покрывает первую изолирующую прокладку 130, часть электродного блока 120 и часть изолирующей подложки 110. Ввиду того, что вторая изолирующая прокладка 140 полностью покрывает канал реакционной зоны 134 первой изолирующей прокладки 130, верхняя, нижняя, правая и левая поверхности канала реакционной зоны 134 окружены поверхностями трех стенок, образуемых второй изолирующей прокладкой 140, изолирующей подложкой 110 и первой изолирующей прокладкой 130 вне канала реакционной зоны 134, тем самым формируя пятигранную закрытую трубку. При размещении пробы в канале реакционной зоны 134 через отверстие взятия биологических проб адгезивная сила биологической пробы в канале реакционной зоны 134 превышает адгезивную силу биологической пробы, в результате чего обеспечивается постоянное продвижение биологической пробы в направлении вперед.

[0080] В настоящем варианте осуществления первая кромка 132 первой изолирующей прокладки 130, вторая кромка 142 второй изолирующей прокладки 140 и аналогичная боковая кромка изолирующей подложки 110 в целом имеют выпуклую дугообразную форму. Кроме того, как проиллюстрировано на ФИГ. 5, кромка изолирующей подложки 110 изгибается внутрь относительно передней части канала реакционной зоны 134. В

данном варианте осуществления тест-полоска 100 предназначена для использования в выпуклой концевой части второй кромки 142 второй изолирующей прокладки 140 и в вогнутой конструкции изолирующей подложки относительно передней части канала реакционной зоны 134 для уменьшения силы сцепления биологической пробы и обеспечивает быстрое продвижение биологической пробы вперед под воздействием капиллярного эффекта. Кроме того, в данном варианте осуществления вторая изолирующая прокладка 140 дополнительно включает выпускное отверстие 144, расположенное на расстоянии от второй кромки 142, т.е. в конце канала реакционной зоны 134 первой изолирующей прокладки 130. Выпускное отверстие 144 предназначено для отвода воздуха из канала реакционной зоны 134 в том случае, если биологическая проба блокируется воздушным пузырьком и не может плавно перемещаться вперед по каналу реакционной зоны 134.

[0081] Ввиду нестабильности белка-фермента отсутствует возможность хранения фермента в щелочной среде или в высушенном состоянии. Таким образом, как правило, фермент хранится в кислом растворе, например, он хранится в кислом растворе сульфата амина, при этом срок хранения фермента является исключительно ограниченным. Фермент теряет свою активность непосредственно после высыхания, в результате чего не обеспечивается хранение фермента в твердом состоянии. Тем не менее, тест-полоска в настоящем изобретении, имеющая вышеприведенный состав и конструкцию, обеспечивает не только сохранение фермента в кислой среде, но и его отверждение и хранение в нейтральной или щелочной среде. Более того, фермент, имеющий указанный состав, может сохранить активность в сухом состоянии и храниться в течение длительного периода времени. Таким образом, настоящее изобретение позволило устранить предыдущие недостатки и обеспечило отверждение и высушивание фермента, при этом обеспечивается эффективное высушивание фермента непосредственно на тест-полоске без снижения его активности.

[0082] 3-1 Объем пробы крови, требуемый для определения галактозы с помощью тест-полоски

[0083] На ФИГ. 6 приведен капельный анализ объема биологической пробы на фильтровальной бумаге общего назначения. Результат показывает, что, по меньшей мере, 30 мкл объема взятой из пальца биологической пробы при проведении капельного анализа на фильтровальной бумаге может быть использован для обеспечения того, чтобы ошибка составила менее 15%. При этом тест-полоска настоящего изобретения позволяет определить наличие галактозы при малом объеме биологической пробы. Экспериментальный метод предусматривает приготовление трех проб с различной



концентрацией галактозы, составляющей 200 мкг/мл, 900 мкг/мл и 1500 мкг/мл, соответственно, при этом объем каждой из проб галактозы составляет 1, 2, 5, 7 и 10 мкл для определения значений данных (см. ФИГ. 7) и воспроизведения каждого процесса определения галактозы трижды с последующим вычислением средней концентрации (мкг/мл), среднеквадратического отклонение (S.D.) и коэффициента вариаций (% КВ), при этом приемлемое среднее значение КВ проб галактозы ниже концентрации 250 мкг/мл или менее составляет менее 20%, в то время как приемлемый средний КВ проб галактозы в диапазоне концентрации 251-1500 мкг/мл составляет менее 15%. На ФИГ. 7 показано, что среднее значение КВ проб галактозы при концентрации 200 мкг/мл в каждом объеме находится в диапазоне 3,03-8,15%, что не превышает 15%, в то время как средние значения КВ проб галактозы при концентрациях 900 мкг/мл и 1500 мкг/мл в каждом объеме находятся в диапазоне 3,14-6,54%, что не превышает 20%. Таким образом, тест-полоска настоящего изобретения способна определять концентрацию галактозы при объеме пробы более или равном 1 мкл.

[0084] 3-2 Испытание на долгосрочную стабильность тест-полоски

[0085] Для оценки условий использования тест-полоски в неблагоприятной среде оценка количества дней хранения осуществляется при температуре внешней среды 4°C. Приготавливали пять проб галактозы различной концентрации, составлявшей 200 мкг/мл, 500 мкг/мл, 1200 мкг/мл, 900 мкг/мл и 1500 мкг/мл соответственно, и указанные пробы были разделены на три группы, испытываемые при 30°C, 40°C и 45°C, соответственно, и затем поочередно анализировали значения индикации галактозы, при этом приемлемое среднее значение КВ проб галактозы ниже уровня концентрации 250 мкг/мл составляло менее 20%, в то время как приемлемое среднее значение КВ проб галактозы в диапазоне 251-1500 мкг/мл составляло менее 15%, и коэффициент корреляции (R) должен составлять более 0,9. В соответствии с результатами, приведенными на ФИГ. 8, тест-полоска настоящего изобретения может храниться при температуре 4°C в течение 545,32 дня (наиболее длительный период), при 30°C - в течение 30 дней, при 40°C - в течение 11 дней и при 45°C - в течение 7 дней. Предпочтительной средой хранения для тест-полоски настоящего изобретения является среда с температурным диапазоном 4°C-10°C. Из вышеизложенного очевидно, что тест-полоска остается стабильной в течение 180 дней при 4°C и в течение 60 дней при комнатной температуре. Ускоренные испытания позволили определить, что тест-полоска настоящего изобретения может оставаться стабильной в течение 545 дней при хранении при 4°C.

[0086] 3-3 Тест по оценке гематокритного числа

[0087] С целью оценки способности или неспособности тест-полоски обнаруживать различные гематокриты (НСТ) проб в нормальном диапазоне приготавливали пять биологических проб галактозы различной концентрации (200 мкг/мл, 450 мкг/мл, 800 мкг/мл, 1150 мкг/мл и 1500 мкг/мл, соответственно), и была приготовлена каждая проба гематокрита (20%, 30%, 40%, 50% и 60%). Поочередно анализировали значения индикации галактозы. Из них, приемлемое среднее значение КВ проб галактозы при концентрации ниже 250 мкг/мл составляло менее 20%, в то время как приемлемое среднее значение КВ проб галактозы при концентрации в диапазоне 251-1500 мкг/мл составляло менее 15%, и коэффициент корреляции (R) должен превышать 0,9. Как проиллюстрировано на ФИГ. 9, среднее значение КВ проб галактозы при концентрации в диапазоне 450-1500 мкг/мл составляло менее 15%, и среднее значение КВ проб галактозы при концентрации 200 мкг/мл составляло менее 20%. Таким образом, тест-полоска настоящего изобретения обеспечивает, по меньшей мере, определение гематокрита крови в биологической пробе в диапазоне, составляющем 20%-60%.

[0088] 3-4 Воспроизводимость результатов теста

[0089] С целью оценки того, являются ли результаты теста устройства для количественного экспресс-определения галактозы воспроизводимыми, проводят тест на воспроизводимость результатов следующим образом: приготавливали пять проб галактозы различной концентрации (200 мкг/мл, 450 мкг/мл, 900 мкг/мл, 1200 мкг/мл и 1500 мкг/мл, соответственно) для добавления к биологическим пробам, при этом пробу каждой концентрации проверяли тремя измерительными блоками, и тесты повторяли шесть раз с использованием каждого измерительного блока. Приемлемое среднее значение КВ проб галактозы ниже концентрации 250 мкг/мл составляло 20%, и приемлемое среднее значение КВ проб галактозы при концентрации в диапазоне 251-1500 мкг/мл составляло менее 15%. Исходя из результатов, приведенных на ФИГ. 10, среднее значение КВ проб галактозы в диапазоне 500-1500 мкг/мл находилось в диапазоне 7,12-9,83%, что составляло менее 15%; и среднее значение КВ проб галактозы при концентрации 200 мкг/мл составляло 14,58%, что составляло менее 20%. Таким образом, результаты тестов, полученных с помощью устройства для количественного экспресс-определения галактозы настоящего изобретения, являются воспроизводимыми.

[0090] С учетом вышеизложенного тест-полоска настоящего изобретения способна определять объем биологической пробы в размере, как минимум, 1 мкл. Благодаря вышеуказанному ферменту и составу тест-полоска может храниться в течение 60 дней при комнатной температуре и в течение 180 дней при 4°C. Это позволяет решить проблему, связанную с хранением тест-полосок. При этом, минимальный объем биологической

пробы, составляющий 1 мкл, позволяет избежать дискомфорта, вызываемого большой раной, получаемой при проведении каждого теста, при этом обеспечивается высокая достоверность результатов теста. Настоящее изобретение позволяет предоставить пользователям предпочтительный инструмент для определения уровня галактозы.

[0091] Вариант осуществления 4: Использование устройства для определения концентрации галактозы для оценки функции печени

[0092] 4-1 Корреляция результатов перорально вводимой галактозы (метод одной точки OGSP) и результатов внутривенно вводимой галактозы (метод одной точки GSP)

[0093] Как проиллюстрировано на ФИГ. 11 и 12, в общей сложности было протестировано 127 субъектов (56 субъектов с нормальной функцией печени 71 субъект с нарушенной функцией печени) с целью определения корреляции между результатами внутривенно вводимой галактозы (метод GSP) и результатами перорально вводимой галактозы (метод OGSP). Как следует из материалов «Digestion» 1992, 52: 222-231, субъекты, участвующие в тесте методом одной точки внутривенно вводимой галактозы (GSP) были разделены на три группы: субъекты с GSP менее 280 мкг/мл определены в группу с нормальной функцией печени; субъекты с GSP в диапазоне 280-480 мкг/мл определены в группу с умеренным нарушением функции печени; и субъекты с GSP более 480 мкг/мл определены в группу с тяжелым нарушением функции печени. Исходя из результатов, приведенных на ФИГ. 10 и 11, значение одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) превышает значение одной точки внутривенно вводимой галактозы (метод GSP), и значение одной точки перорально вводимой галактозы (метод OGSP) увеличивается по мере увеличения степени нарушения функции печени, при этом OGSP и GSP положительно коррелируют. Значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) у субъектов в группе с нормальной функцией печени находятся в диапазоне  $318 \pm 27$  мкг/мл (средняя  $\pm$  среднеквадратическая ошибка) при минимальном значении 18 мкг/мл и при максимальном значении 887 мкг/мл. Значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) у субъектов в группе с легким или умеренным нарушением функции печени находятся в диапазоне  $590 \pm 40$  мкг/мл при минимальном значении 294 мкг/мл и при максимальном значении 1282 мкг/мл. Значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) у субъектов в группе с тяжелым нарушением функции печени находятся в диапазоне  $777 \pm 48$  мкг/мл при минимальном значении 293 мкг/мл и при максимальном значении 1499 мкг/мл. В Таблице 5 приведены результаты внутривенно вводимой галактозы (метод GSP) и результаты перорально вводимой галактозы (метод OGSP) и трех групп субъектов, при этом показано, что значение одной точки перорально вводимой галактозы (метод OGSP) увеличивается по мере увеличения степени нарушения

функции печени. В частности, значение одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) превышает значение внутривенно вводимой галактозы (метод GSP). Исходя из данных, приведенных на ФИГ. 11, 12 и в Таблице 5, можно определить, что значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) у субъектов в группе с нормальной функцией печени преимущественно находятся в диапазоне 264-372 мкг/мл (средняя  $\pm$  2\*среднеквадратическая ошибка), и значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) субъектов в группе с легким или умеренным нарушением функции печени преимущественно находятся в диапазоне 510-670 мкг/мл. Значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) субъектов в группе с тяжелым нарушением функции печени находятся преимущественно в диапазоне 681-873 мкг/мл (средняя  $\pm$  2\* среднеквадратическая ошибка). Даже при отличающихся результатах у субъектов ввиду индивидуальных различий значения одной точки перорально вводимой галактозы (OGSP) у субъектов в группе с нормальной функцией печени в целом не превышает 670 мкг/мл и значения OGSP у субъектов в группах с нарушенной функцией печени в целом превышает 370 мкг/мл. Таким образом, существует необходимость в проведении дополнительных функциональных тестов печени у субъектов, значение OGSP которых превышает 370 мкг/мл. Дополнительно к внутривенному введению были получены аналогичные результаты с использованием других способов введения или приема.

[0094] Таблица 1 результатов внутривенно вводимой галактозы (метод GSP) и результатов перорально вводимой галактозы (метод OGSP) субъектов (средняя  $\pm$  среднеквадратическая ошибка)

[0095]

	Нормальная функция печени	Легкое или среднее нарушение функции печени	Тяжелое нарушение функции печени
Метод одной точки внутривенно вводимой галактозы (метод GSP) (мкг/мл) Digestion 1992; 52:222-231	247 $\pm$ 16.5***	423 $\pm$ 26***	630 $\pm$ 41.0***
Метод одной точки внутривенно вводимой галактозы(мкг/мл)	174 $\pm$ 8***	359 $\pm$ 10***	667 $\pm$ 29***
Метод одной точки перорально вводимой галактозы (метод OGSP) (мкг/мл)	318 $\pm$ 27***	590 $\pm$ 40***	777 $\pm$ 48***

[0096] \*\*\*P<0,005 (анализ дисперсии и минимально значимого различия (ANOVA&LSD))

[0097] Вариант осуществления 5: скрининг неонатальной галактоземии

[0098] Галактоземия является наследственным заболеванием, обусловленным тем, что в организме пациента имеется недостаточное содержание расщепляющего галактозу фермента, в результате чего галактоза накапливается в организме. Это приводит к возникновению симптомов сонливости, тошноты и рвоты, диареи, неспособности нормального роста, желтухе и т.д. В процессе скрининга новорожденных необходимо убедиться в том, что при вскармливании новорожденных грудным молоком не оказывается отрицательного воздействия на их организм. Устройство для количественного экспресс-определения галактозы настоящего изобретения может быть использовано для скрининга новорожденных для выявления у них неонатальной галактоземии. Неонатальный скрининг на галактоземию с проведением теста не опирается на выявление расщепления белка или лактозы, а в данном случае предусматривает использование первой биологической пробы новорожденных, в результате чего отсутствует необходимость в приеме галактозной композиции перед проведением скрининга ввиду того, что биологическую пробу берут из большого пальца ноги. При определении значения уровня галактозы в биологической пробе, превышающего 100 мкг/мл, что указывает на риск развития неонатальной галактоземии у новорожденного, и требуется проведение дальнейшего обследования.

[0099] Вариант осуществления 6: анализ работы полуавтоматического робота-манипулятора

[0100] На ФИГ. 13 приведено сравнение между ферментным анализом с использованием известной фильтровальной бумаги и ферментным анализом с использованием устройства для количественного экспресс-определения галактозы, выполненным полуавтоматическим роботом-манипулятором с применением метода одной точки галактозы. Анализ разделен на внутривенно вводимую галактозу (методGSP) и перорально вводимую галактозу (методOGSP), при этом коэффициент корреляции известного капельного анализа фермента и анализа фермента устройства для количественного экспресс-определения внутривенно вводимой галактозы (методGSP) составляет 0,96, и коэффициент корреляции перорально вводимой галактозы (методOGSP) составляет 0,927. В заключение необходимо отметить, что как метод одной точки внутривенно вводимой галактозы (метод GSP), так и метод одной точки перорально вводимой галактозы (метод OGSP) имеют высокий коэффициент корреляции, превышающий 0,9. Таким образом, устройство для количественного экспресс-определения галактозы настоящего изобретения может быть внедрено в серийное производство.

[0101] Таким образом, устройство для количественного экспресс-определения галактозы, предлагаемое изобретением, уже прошло испытания на достоверность и точность измерений и может быть применено для определения функции печени и проведения исследований по диагностике заболеваний, связанных с нарушением обмена галактозы, таких как скрининг новорожденных на наличие галактоземии, и позволяет определить физическое состояние пациентов медицинским персоналом для последующего принятия решения о необходимости проведения дополнительного обследования.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Устройство для количественного экспресс-определения галактозы, включающее: галактозную композицию, содержащую галактозу, буферный раствор и 0~99% антиоксиданта, вводимую в организм человека, и обеспечивающую получение биологической пробы после метаболизма в печени; тест-полоску или фильтровальную бумагу, содержащую фермент, при этом фермент вступает в реакцию с биологической пробой, тем самым обеспечивая получение электрохимического сигнала, несущего информацию; измерительный блок, включающий блок электропитания для подачи сигнала; разъем для приема сигнала, подаваемого блоком электропитания, и передачи сигнала на тест-полоску или на фильтровальную бумагу, при этом сигнал, взаимодействующий с электрохимическим сигналом, несущим информацию, генерирует соответствующий ответный сигнал, и разъем передает соответствующий ответный сигнал на измерительный блок; вычислительный блок для вычисления соответствующего ответного сигнала; аналого-цифровой преобразователь для приема соответствующего ответного сигнала, поступающего из вычислительного блока, преобразования соответствующего ответного сигнала, вычисленного вычислительным блоком, в оцифрованный сигнал реакции; процессор для обработки оцифрованного сигнала реакции; устройство отображения информации для вывода на экран оцифрованного сигнала реакции; и цифровой терминал для приема оцифрованного сигнала реакции.

2. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что буферный раствор выбран из группы, содержащей буферизованный витамин С, цитратный буферный раствор, фосфатный буферный раствор, ацетатный буферный раствор, карбонатный буферный раствор и триэтаноламиновый буферный раствор.

3. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что антиоксидант выбран из группы, содержащей витамин С и(или) бисульфит натрия, витамин А, витамин Е, флавоноиды, полифенолы, этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), диэтилентриаминпентауксусную кислоту (DTPA) и нитрилотриуксусную кислоту (NTA).

4. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что галактоза включает D- (+) - галактозу, L- (-) -галактозу, стабильную изотопную галактозу, циклическую галактозу или производное галактозы.

5. Устройство по п. 1, отличающееся тем, что галактозную композицию вводят перорально, инъекционно, впрыскиванием, ингаляционно, буккально, ректально, суппозитарно или иным способом, приемлемым с медицинской точки зрения.

6. Устройство по п. 5, отличающееся тем, что способ перорального введения позволяет пользователям заблаговременно принимать галактозную композицию с последующим измерением содержания галактозы в организме путем измерения содержания галактозы в биологической пробе.

7. Устройство по п. 5, отличающееся тем, что инъекционный способ введения позволяет пользователям заблаговременно инъекционно вводить галактозную композицию в организм с последующим измерением содержания галактозы в организме путем измерения содержания галактозы в биологической пробе.

8. Тест-полоска по п. 1, отличающаяся тем, что тест-полоска включает: изолирующую подложку, электродный блок, скомпонованный на изолирующей подложке, и первую изолирующую прокладку, покрывающую часть электродного блока и включающую канал реакционной зоны, расположенный на первой кромке изолирующей прокладки, при этом другая часть электродного блока контактирует с каналом реакционной зоны; и вторую изолирующую прокладку, включающую вторую кромку, при этом вторая изолирующая прокладка закрывает канал реакционной зоны первой изолирующей прокладки и первую кромку первой изолирующей прокладки, вторую кромку второй изолирующей прокладки, и все боковые кромки изолирующей подложки имеют выпуклую дугообразную форму, и кромка изолирующей подложки изгибается внутрь относительно передней части канала реакционной зоны; при этом канал реакционной зоны включает, по меньшей мере, реакционный слой, при этом реакционный слой закрыт электродным блоком в канале реакционной зоны, включающем, по меньшей мере, галактозу и проводящую среду для вступления в реакцию с биологической пробой в процессе протекания электрохимической реакции; при этом в тест-полоске используется выпуклая концевая часть второй кромки второй изолирующей прокладки и вогнутая конструкция изолирующей подложки относительно передней части канала реакционной зоны для уменьшения силы сцепления биологической пробы, и тест-полоска обеспечивает быстрое продвижение вперед биологической пробы под воздействием капиллярного эффекта; при этом ферменты способны окислять, восстанавливать, разлагать и метаболизировать галактозу.

9. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что изолирующая подложка выбрана из группы, содержащей поливинилхлорид (ПВХ), стекловолокно (FR-4), полиэфирсульфон, бакелитовую пластину, полиэтилентерефталат (ПЭТ), поликарбонат (ПК), полипропилен (ПП), полиэтилен (ПЭ), полистирол (ПС), листовое стекло, керамику или их любое сочетание.



10. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что электродный блок выбран из группы, содержащей палладий, платину, коллоидное золото, титан, уголь, медь, золото и серебро.

11. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что реакционный слой выбран из группы, содержащей фермент, кофермент, буферный раствор, стабилизирующее вещество и поверхностно-активное вещество.

12. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что проводящая среда выбрана из группы, содержащей ферроцен, ферроцерий, метиленовый голубой, хлорид трис (ацетонитрил) рутения, дигидроксibenзохинон, феназинметосульфат, тетрагидрофульвалентетрацианохинодиметан, метилвиологен, толуидиновый синий, 5, 6-диамино-1, 10-фенантролин, 2, 2'-бипиридин.

13. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что проводящая среда дополнительно содержит соединение ионов металлов, при этом соединение ионов металлов выбрано из группы, содержащей  $MgCl_2$ ,  $BeCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $SrCl_2$ ,  $BaCl_2$  и их любое сочетание.

14. Тест-полоска по п. 11, отличающаяся тем, что буферный раствор выбран из группы, содержащей Трис, Трис-НСl (Трис-гидрохлорид), фосфатно-солевой буфер (ФСБ), 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту (буфер MES), циклогексил-2-аминоэтансульфоновую кислоту (буфер CHES), борат, универсальные буферные смеси (СРВ), 3-[N-морфолино]пропансульфоновую кислоту (буферMOPS), 2-[ТРИС (гидроксиметил) метиламино]-1-этансульфоновую кислоту (буфер TES), N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновую кислоту (буфер HEPES), 3-N-трис(гидроксиметил)метиламино-2-гидроксипропансульфоновую кислоту (буфер TAPSO), Трицин, Бицини ([трис (гидроксиметил) метиламино] пропансульфоновую кислоту) (буфер TAPS).

15. Тест-полоска по п. 11, отличающаяся тем, что стабилизирующее вещество выбрано из группы, содержащей ксилитол, маннитол, поликсилозу, арабоксилан, маннан, трегалозу, ПЭГ, ПВС, ПЭО, Метоцел, агарозу, золь-гель, коллаген, хитозан, БСА, казеин, неопротейн, аминокислоту и их любое сочетание.

16. Тест-полоска по п. 11, отличающаяся тем, что поверхностно-активное вещество выбрано из группы, содержащей катионное поверхностно-активное вещество, анионное поверхностно-активное вещество, нейтральное ионное поверхностно-активное вещество и неионное поверхностно-активное вещество.

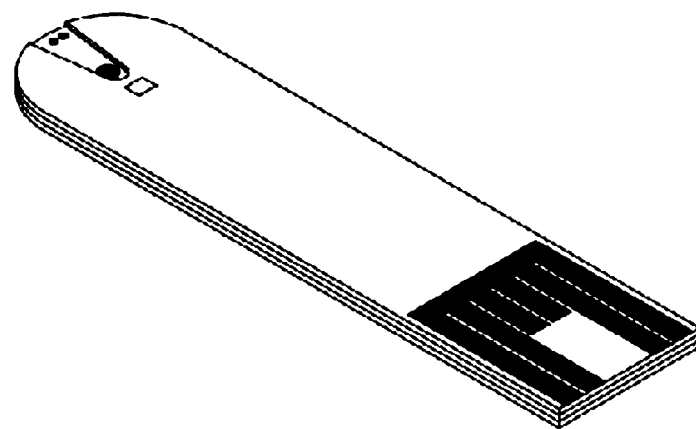
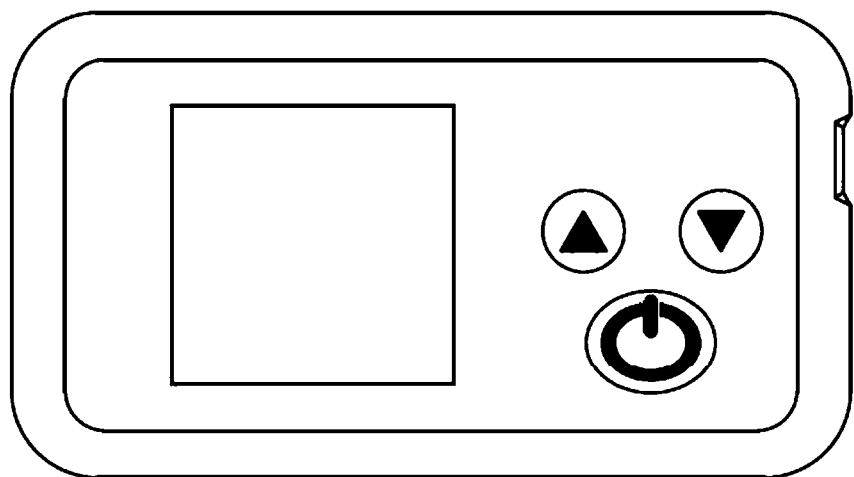
17. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что диапазон допустимых тестовых значений галактозы в тест-полоске составляет 50-2000 мкг/мл.

18. Тест-полоска по п. 8, отличающаяся тем, что обеспечивается сушка, отверждение и хранение фермента в нейтральной, кислотной или щелочной среде.

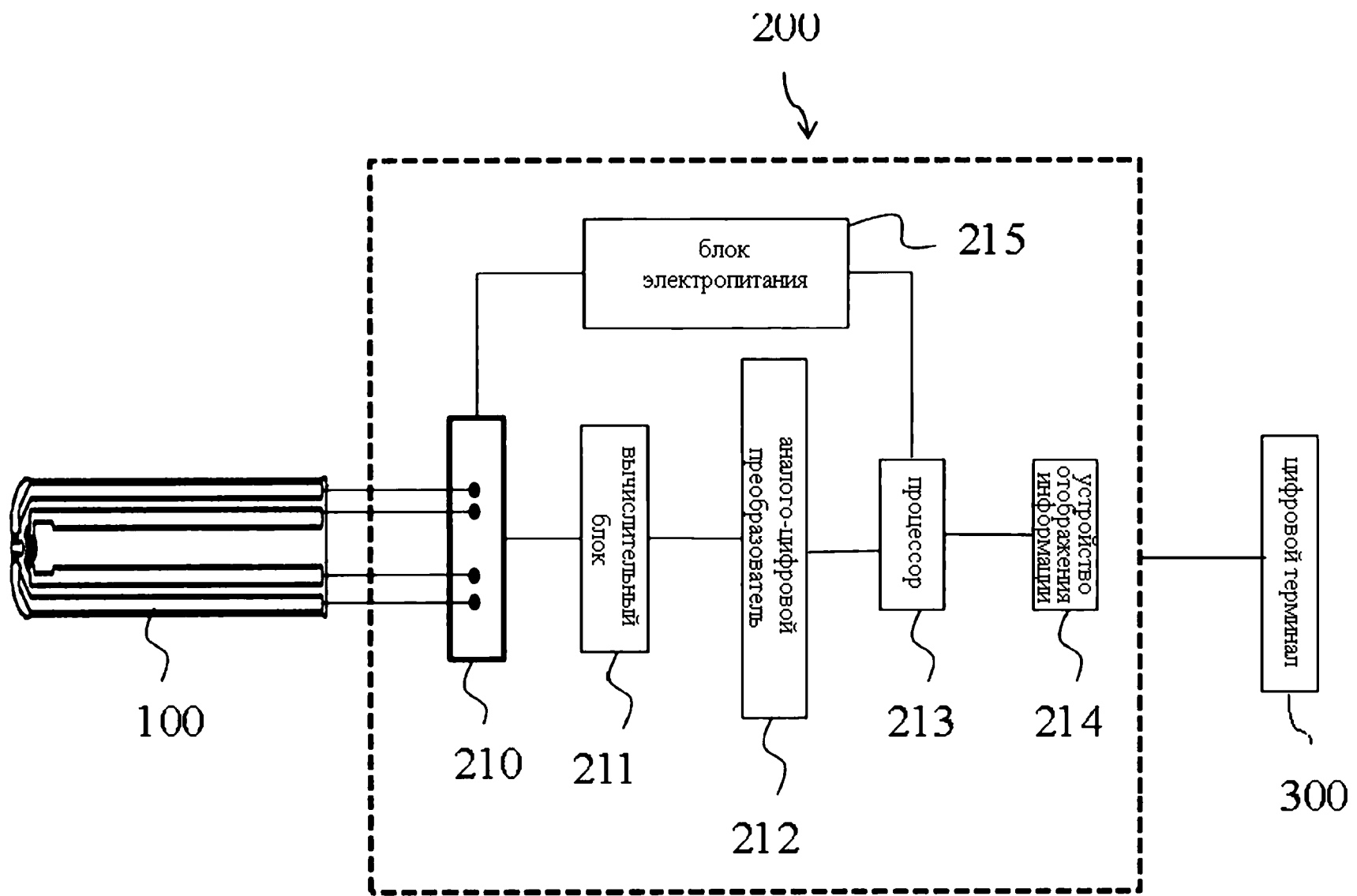
19. Способ для реализации устройства по п. 1 пользователем, включающий следующие этапы: (1) заблаговременной прием пользователем препарата, содержащего композицию, включающую галактозу; (2) получение биологической пробы с использованием устройства для взятия биологических проб; (3) поглощение биологической пробой тест-полоской из устройства для взятия биологических проб; (4) установка тест-полоски в измерительный блок; и (5) считывание пользователем или профессиональными медицинскими работниками значений концентрации галактозы для выявления заболевания или остаточной функции печени пользователя.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что способ может быть осуществлен субъектом или профессиональным медицинским работником.

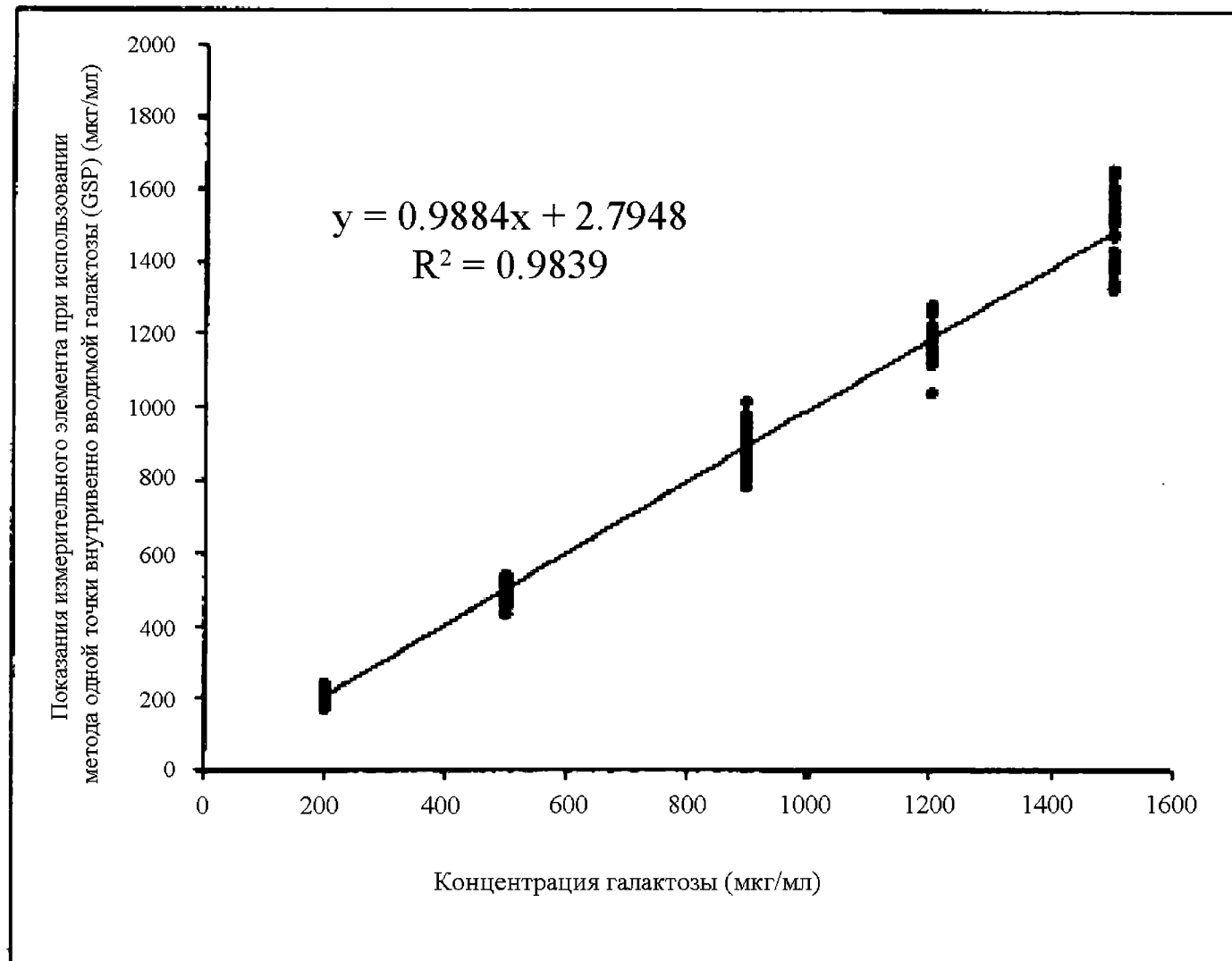
21. Способ по п. 19, отличающийся тем, что заболевание является неонатальной галактоземией.



Фиг. 1



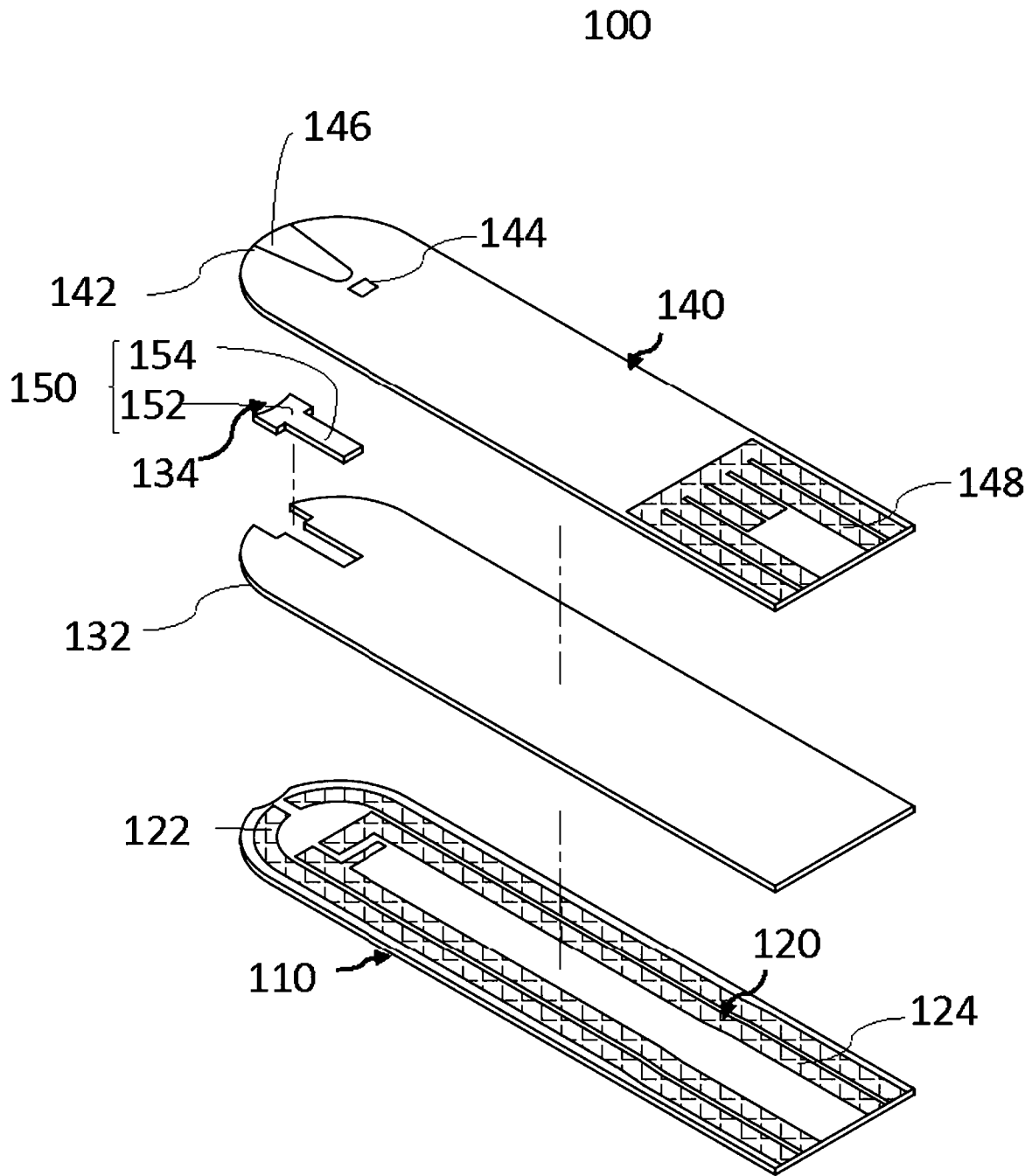
Фиг. 2



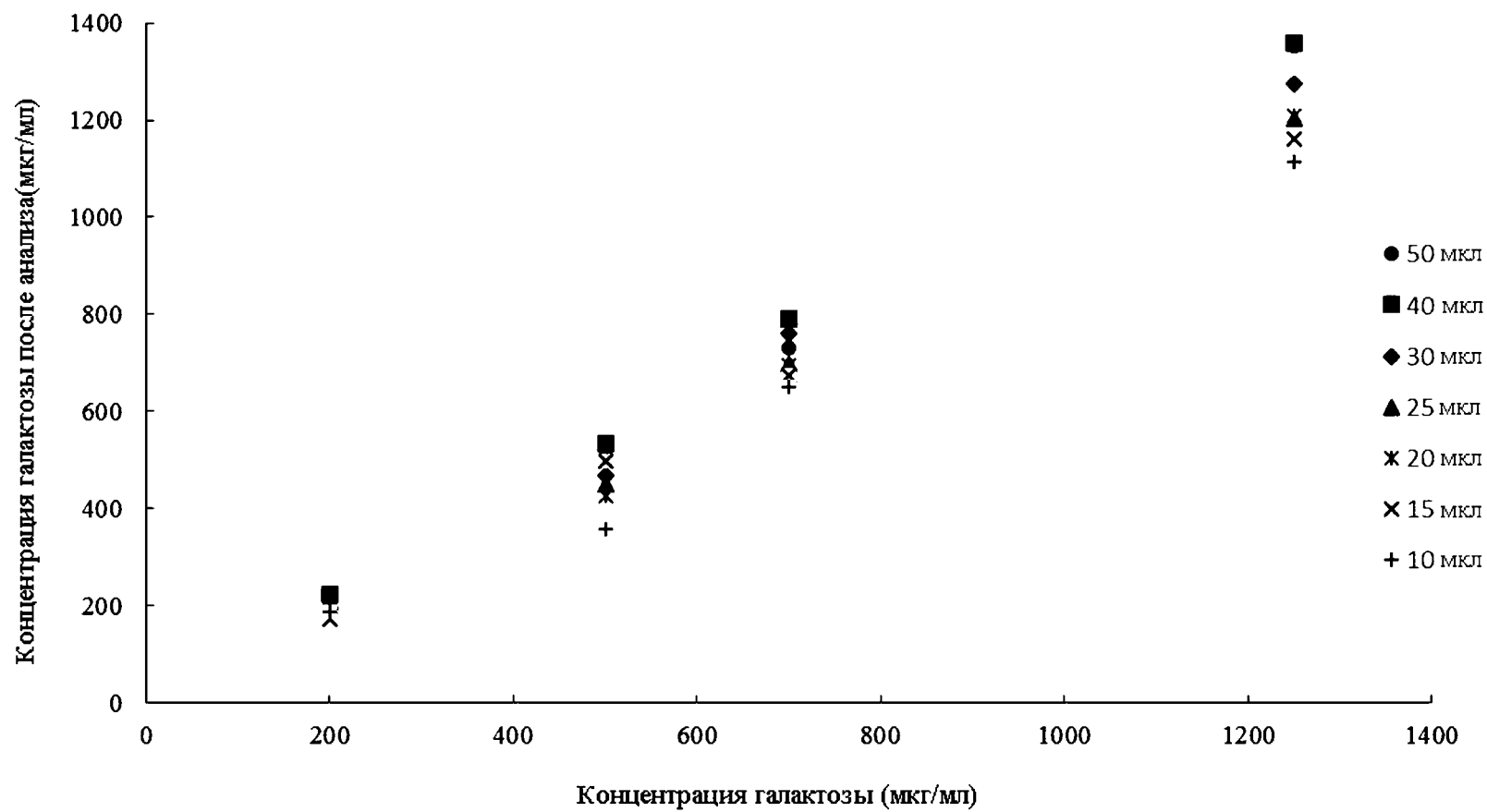
Фиг. 3

№8		Уровень 1 (200мкг/мл)	Уровень 2 (500мкг/мл)	Уровень 3 (900мкг/мл)	Уровень 4 (1200мкг/мл)	Уровень 5 (1500мкг/мл)
День первый	Среднее	215.37	466.66	887.59	1269.36	1461.03
	СО	28.87	31	84.31	72.98	12.68
	Коэффициент вариации %	13.41	6.64	9.50	5.75	0.87
День второй	Среднее	224.6	476.66	878.49	1214.23	1506.02
	СО	3.73	14.77	67.63	162.83	175.96
	Коэффициент вариации %	1.66	3.1	7.7	13.41	11.68
День третий	Среднее	262.47	478.2	821.75	1158.45	1579.12
	СО	5.99	10.6	69.52	105.63	113.53
	Коэффициент вариации %	2.28	2.22	8.46	9.12	7.19
День четвёртый	Среднее	235.65	464.66	851.38	1260.56	1487.75
	СО	10.68	6.58	34.05	72.12	69.41
	Коэффициент вариации %	4.53	1.42	4	5.72	4.67
День пятый	Среднее	173.98	499.59	945.76	1222.6	1458.07
	СО	12.42	40.1	41.99	74.58	102
	Коэффициент вариации %	7.14	8.03	4.44	6.1	7
День шестой	Среднее	210.68	495.24	868.33	1232.95	1492.81
	СО	30.68	27.42	89.29	36.39	157.33
	Коэффициент вариации %	14.56	5.54	10.28	2.95	10.54
День седьмой	Среднее	200	497.81	895.77	1215.73	1490.68
	СО	16.59	41.1	49.73	90.19	83.83
	Коэффициент вариации %	8.29	8.26	5.55	7.42	5.62
День восьмой	Среднее	262.47	478.2	821.75	1158.45	1579.12
	СО	5.99	10.6	69.52	105.63	113.53
	Коэффициент вариации %	2.28	2.22	8.46	9.12	7.19
Усредненный коэффициент вариации %		6.77	4.68	7.3	7.45	6.85

Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6

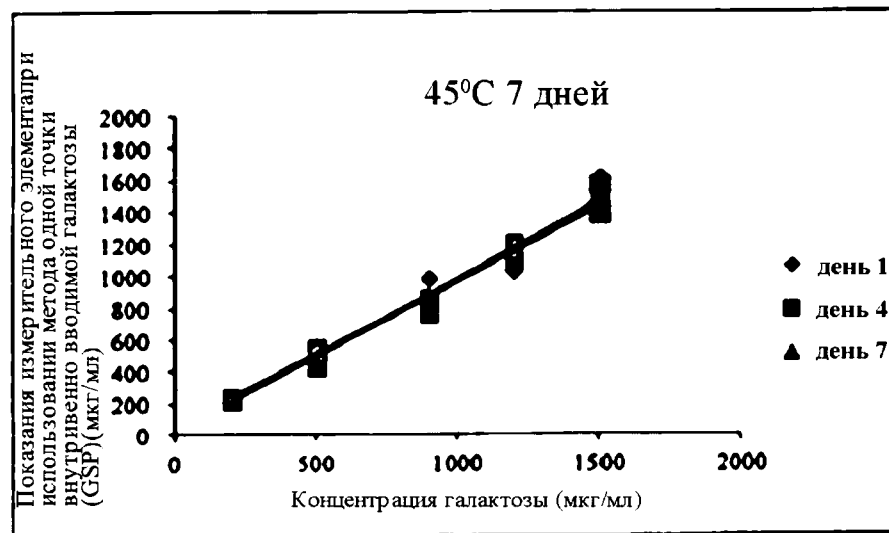
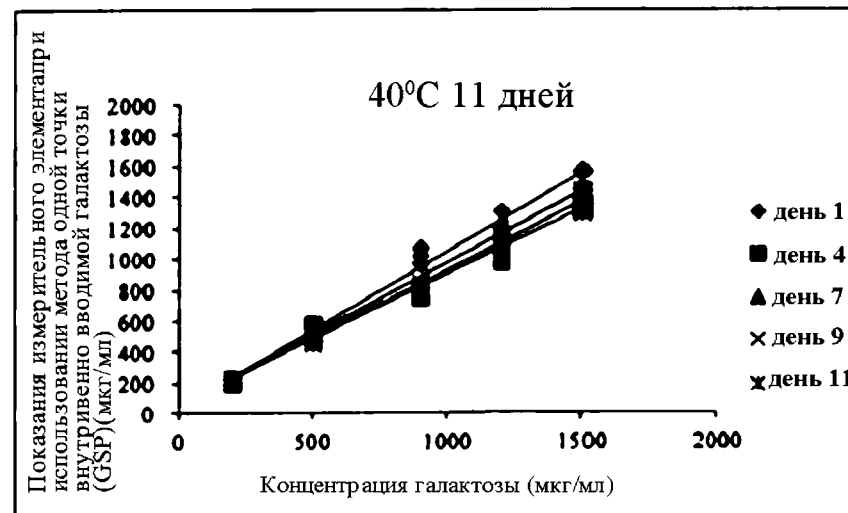
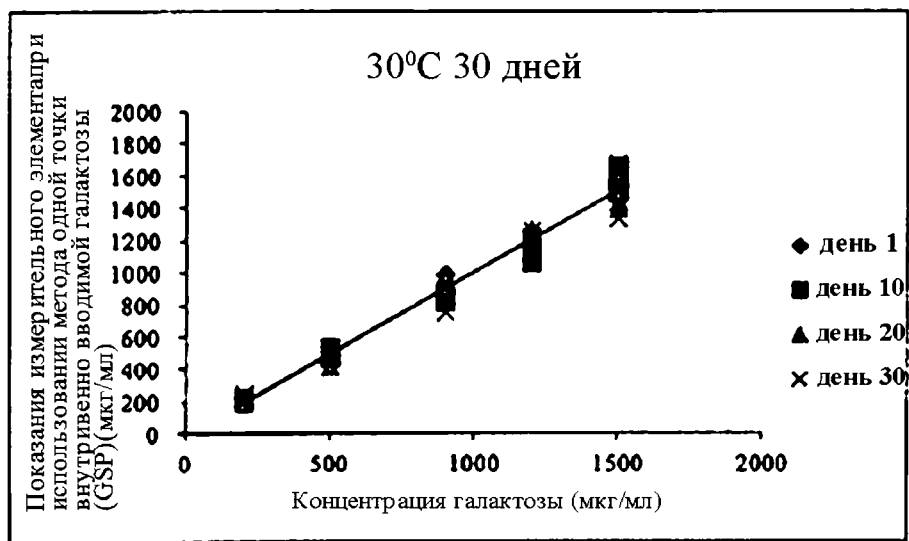


N=3	Концентрация галактозы 200 (мкг/мл)				
Объем пробы	1 мкл	2 мкл	5 мкл	7 мкл	10 мкл
Среднее	254.15	252.56	254.89	279.13	214.75
CO	20.72	9.19	10.79	8.45	15.5
KB%	8.15	3.64	4.23	3.03	7.22

N=3	Концентрация галактозы 900 (мкг/мл)				
Объем пробы	1 $\mu$ L	2 $\mu$ L	5 $\mu$ L	7 $\mu$ L	10 $\mu$ L
Среднее	853.34	882.29	881.55	885.96	907.77
CO	35.81	27.7	34.47	31.76	30.59
KB%	4.2	3.14	3.91	3.58	3.37

N=3	Концентрация галактозы 1500 (мкг/мл)				
Объем пробы	1 $\mu$ L	2 $\mu$ L	5 $\mu$ L	7 $\mu$ L	10 $\mu$ L
Среднее	1477.16	1534.44	1534.44	1472.02	1497.3
CO	92.64	72.02	72.02	86.64	97.87
KB%	6.27	4.69	4.69	5.89	6.54

Фиг. 7



Фиг. 8

Таблица 1. Результаты теста по оценке гематокритного числа

Порядковый номер измерительных элементов при использовании метода GSP: MG 0001-0003					
Номер партии полосок GSP: RDT161103					
Температура: 24 °C			Относительная влажность: 51%		
Концентрация: 200 мкг/мл					
Гематокрит, %					
Измерительное устройство	20%	30%	40%	50%	60%
№ 1	244	266	241	271	262
№ 2	228	250	210	261	310
№ 3	223	246	250	213	265
среднее	232	254	234	248	279
CO	11.34	10.46	20.85	31.14	27.09
KB%	4.89	4.12	8.93	12.55	9.70
Концентрация: 450 мкг/мл					
Измерительное устройство	20%	30%	40%	50%	60%
№ 1	427	448	502	472	418
№ 2	465	469	405	431	376
№ 3	481	413	424	392	354
среднее	458	444	444	432	383
CO	27.58	28.11	51.33	40.40	32.47
KB%	6.03	6.34	11.57	9.36	8.49
Концентрация: 800 мкг/мл					
Измерительное устройство	20%	30%	40%	50%	60%
№ 1	745	836	738	719	717
№ 2	714	686	679	770	788
№ 3	757	654	760	794	710
среднее	739	725	726	761	739
CO	22.00	96.87	41.57	38.47	42.82
KB%	2.98	13.35	5.73	5.05	5.80

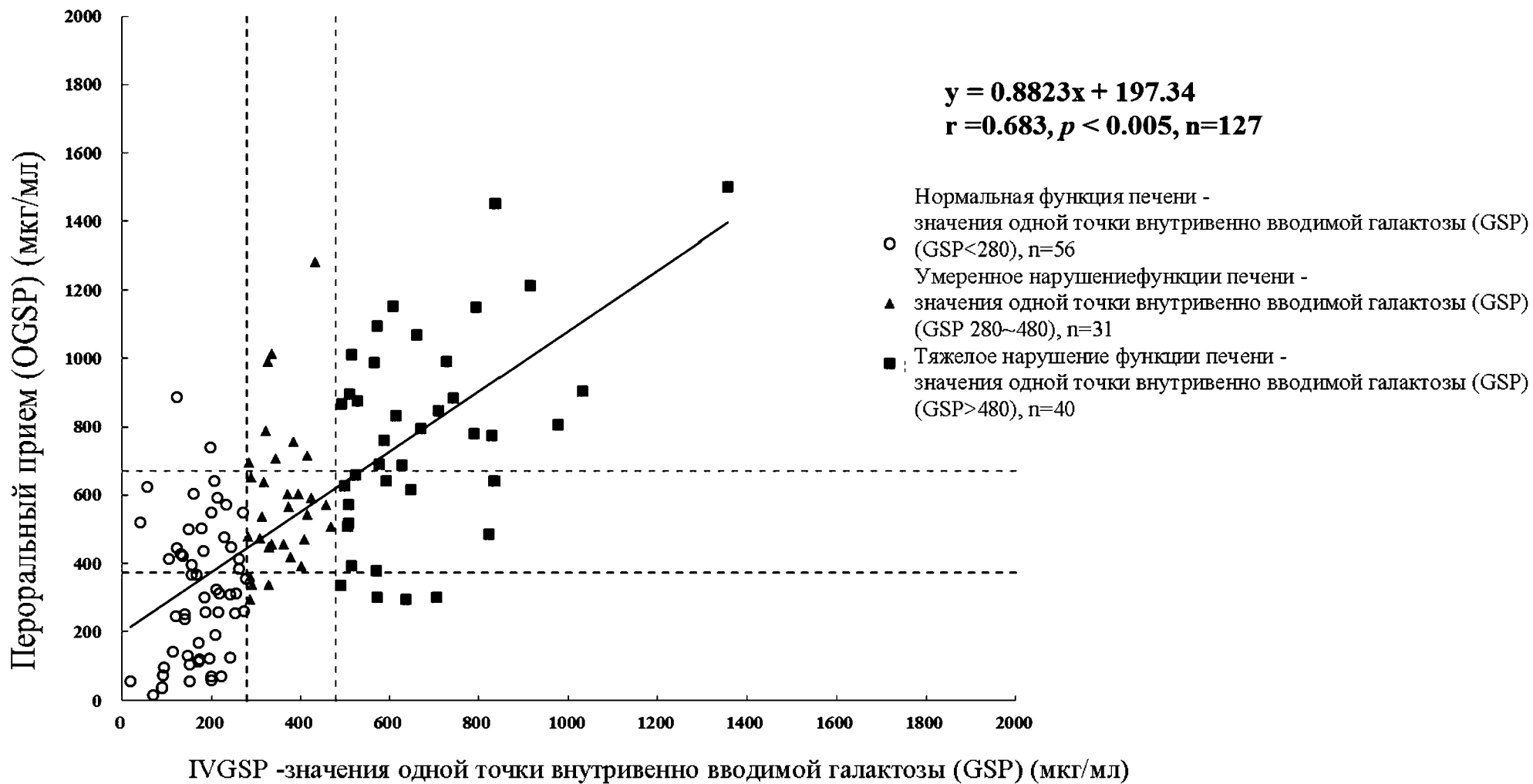
Таблица 1. Результаты теста по оценке гематокритного числа

Порядковый номер измерительных элементов при использовании метода GSP: MG 0001-0003					
Номер партии полосок GSP: RDT161103					
Температура: 24 °C			Относительная влажность: 51%		
Концентрация: 1150 мкг/мл					
Гематокрит, %					
Измерительное устройство	20%	30%	40%	50%	60%
№ 1	1209	1130	1229	1022	1260
№ 2	1127	1046	1073	1140	1135
№ 3	1061	1182	1199	1151	1148
среднее	1132	1119	1167	1104	1181
CO	74.46	68.81	82.69	71.81	68.93
KB%	6.58	6.15	7.09	6.50	5.84
Концентрация: 1500 мкг/мл					
Измерительное устройство	20%	30%	40%	50%	60%
№ 1	1627	1690	1542	1400	1497
№ 2	1593	1507	1560	1507	1548
№ 3	1399	1478	1470	1757	1511
среднее	1540	1558	1524	1555	1519
CO	123.36	115.05	47.41	183.25	26.19
KB%	8.01	7.38	3.11	11.79	1.72

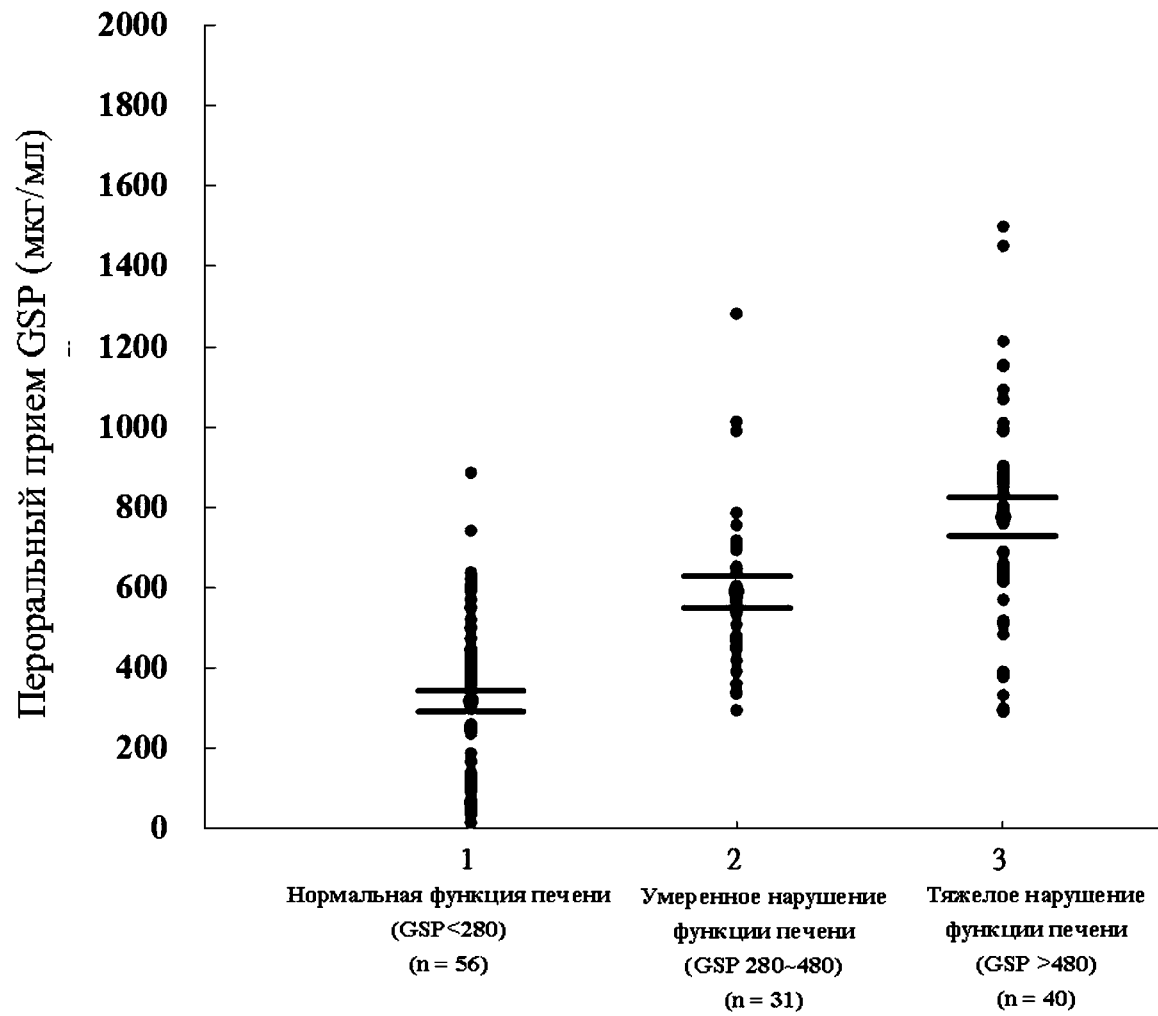
Фиг. 9

Концентрация галактозы	C1	C2	C3	C4	C5
	200 мкг/мл	500 мкг/мл	900 мкг/мл	1200 мкг/мл	1500 мкг/мл
Среднее	207	499	902	1214	1496
СО	30.13	49.03	70.01	92.95	106.51
КВ %	14.58	9.83	7.76	7.66	7.12

Фиг. 10

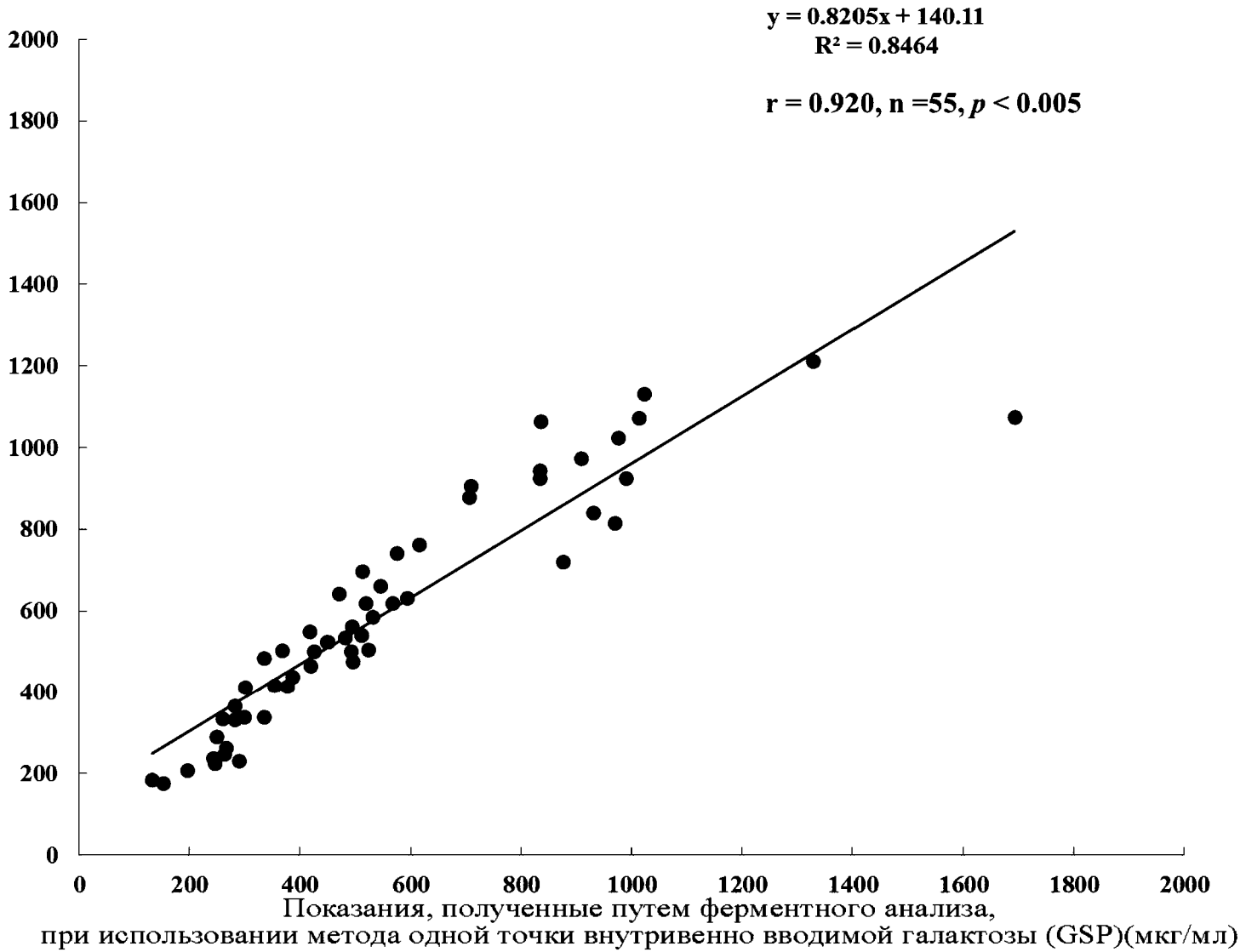


Фиг. 11



Фиг. 12

Показания измерительного элемента при использовании метода одной точки  
внутривенно вводимой галактозы (GSP)(мкг/мл)



Фиг. 13