

(11) Número de Publicação: **PT 2373805 E**

(51) Classificação Internacional:
C12Q 1/00 (2015.01) **G01N 33/543** (2015.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2009.12.07**

(30) Prioridade(s): **2008.12.08 US 201242 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2011.10.12**

(45) Data e BPI da concessão: **2015.11.04**
254/2015

(73) Titular(es):

BAYER HEALTHCARE LLC
100 BAYER BOULEVARD WHIPPANY, NJ 07981-0915
US

(72) Inventor(es):

AMY, H. CHU US
HUAN-PING WU US
BORU ZHU US

(74) Mandatário:

MARIA TERESA DELGADO
AVENIDA DA LIBERDADE, Nº 69, 3º D 1250-140 LISBOA PT

(54) Epígrafe: COMPOSIÇÕES DE REAGENTES DE BAIXO TEOR DE SAL TOTAL E SISTEMAS PARA BIOSSENSORES

(57) Resumo:

É DIVULGADO UM SISTEMA BIOSENSOR PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE UM ANALITO NUMA AMOSTRA QUE INCLUI UM MEIO DE REAÇÃO PARA DESEMPENHAR SELETIVAMENTE UMA REAÇÃO REDOX DE UM ANALITO, E UM MEIO DE MEDIÇÃO PARA MEDIR UMA TAXA DA REAÇÃO REDOX DO ANALITO. O MEIO DE REAÇÃO INCLUI UM LIGANTE, UM SAL DE TAMPÃO, UM MEDIADOR INCLUINDO UM SAL INORGÂNICO METÁLICO NÃO DE TRANSIÇÃO A UM MÁXIMO DE 20% (P/P), E UM SISTEMA ENZIMÁTICO. O MEIO DE MEDIÇÃO INCLUI PELO MENOS DOIS CONDUTORES. O MEIO DE MEDIÇÃO MEDE UM VALOR DE SINAL DE SAÍDA A PARTIR DO MEIO DE REAÇÃO A DESEMPENHO CINÉTICO MÁXIMO NUM MÁXIMO DE 7 SEGUNDOS APÓS INTRODUZIR UMA AMOSTRA NO MEIO DE REAÇÃO, ONDE O VALOR DO SINAL DE SAÍDA É RESPONSIVO À CONCENTRAÇÃO DO ANALITO NA AMOSTRA, E O MEIO DE MEDIÇÃO DETERMINA PELO MENOS UM VALOR ΔS RESPONSIVO A PELO MENOS UM PARÂMETRO DE ERRO. O MEIO DE MEDIÇÃO DETERMINA ADICIONALMENTE A CONCENTRAÇÃO DE ANALITO NA AMOSTRA A PARTIR DE UMA EQUAÇÃO DE COMPENSAÇÃO INCLUINDO PELO MENOS UMA CORRELAÇÃO DE REFERÊNCIA E O PELO MENOS UM VALOR ΔS, ONDE A EQUAÇÃO DE COMPENSAÇÃO TEM UM VALOR R2 DE PELO MENOS 0,5.

RESUMO**"COMPOSIÇÕES DE REAGENTES DE BAIXO TEOR DE SAL TOTAL E SISTEMAS
PARA BIOSSENSORES"**

É divulgado um sistema biossensor para determinação da concentração de um analito numa amostra que inclui um meio de reação para desempenhar seletivamente uma reação redox de um analito, e um meio de medição para medir uma taxa da reação redox do analito. O meio de reação inclui um ligante, um sal de tampão, um mediador incluindo um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p), e um sistema enzimático. O meio de medição inclui pelo menos dois condutores. O meio de medição mede um valor de sinal de saída a partir do meio de reação a desempenho cinético máximo num máximo de 7 segundos após introduzir uma amostra no meio de reação, onde o valor do sinal de saída é responsivo à concentração do analito na amostra, e o meio de medição determina pelo menos um valor ΔS responsivo a pelo menos um parâmetro de erro. O meio de medição determina adicionalmente a concentração de analito na amostra a partir de uma equação de compensação incluindo pelo menos uma correlação de referência e o pelo menos um valor ΔS , onde a equação de compensação tem um valor R^2 de pelo menos 0,5.

DESCRIÇÃO

“COMPOSIÇÕES DE REAGENTES DE BAIXO TEOR DE SAL TOTAL E SISTEMAS PARA BIOSSENSORES”

REFERÊNCIA A PEDIDOS RELACIONADOS

ANTECEDENTES

Os biosensores proporcionam uma análise de um fluido biológico, tal como sangue inteiro, soro, plasma, urina, saliva, fluido intersticial, ou intracelular. Tipicamente, os biosensores têm um dispositivo de medição que analisa uma amostra situada num sensor de teste. A amostra encontra-se habitualmente em forma líquida e pode ser um fluido biológico ou um derivado de um fluido biológico, tal como um extrato, uma diluição, um filtrado, ou um precipitado reconstituído. A análise realizada por parte do biosensor determina a presença e/ou concentração de um ou mais analitos no fluido biológico. Exemplos de analitos incluem álcool, glucose, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina, ácidos gordos livres, triglicerídeos, proteínas, cetonas, fenilalanina, ou enzimas. A análise pode ser útil no diagnóstico e tratamento de anormalidades fisiológicas. Por exemplo, um indivíduo diabético pode utilizar um biosensor para determinar o nível de glucose no sangue inteiro, e esta informação pode ser utilizada no ajuste da dieta/e ou medicação do indivíduo.

Os biosensores podem ser desenhados para analisar um ou mais analitos e podem utilizar diferentes volumes de amostra. Alguns biosensores podem analisar uma única gota de sangue inteiro, tal como desde 0,25-15 microlitros (μ l) de volume. Os biosensores podem ser implementados utilizando dispositivos de medição de bancada, portáteis, e semelhantes. Os dispositivos de medição portáteis podem ser manuais e permitir a identificação e/ou quantificação de um ou mais analitos numa amostra. Exemplos de dispositivos de medição portáteis incluem os medidores Ascensia Breeze® e Elite® da Bayer HealthCare em

Tarrytown, Nova Iorque, enquanto exemplos de dispositivos de medição de bancada incluem o Electrochemical Workstation disponível da CH Instruments em Austin, Texas. Biossensores proporcionando tempos de análise mais curtos, enquanto proporcionando a exatidão e/ou precisão desejadas, proporcionam um benefício substancial ao utilizador.

Em biossensores eletroquímicos, a concentração de analito é determinada a partir de um sinal elétrico gerado através de uma reação de oxidação/redução ou redox do analito, ou de uma espécie responsiva ao analito, quando um sinal de entrada é aplicado à amostra. O sinal de entrada pode ser aplicado como um único pulso elétrico ou em pulsos, sequências, ou ciclos múltiplos. Uma oxidorredutase, tal como uma enzima ou espécie semelhante, pode ser adicionada à amostra para potenciar a transferência de eletrões a partir de uma primeira espécie até uma segunda espécie durante a reação redox. A enzima ou espécie semelhante pode reagir com um único analito, consequentemente proporcionando especificidade a uma porção do sinal de entrada gerado.

Os biossensores eletroquímicos incluem habitualmente um dispositivo de medição tendo contactos elétricos que conectam com condutores elétricos no sensor de teste. O sensor de teste pode ser adaptado para utilização fora, dentro, ou parcialmente dentro de um organismo vivo. Quando utilizado fora de um organismo vivo, uma amostra do fluido biológico é introduzida num reservatório de amostra no sensor de teste. O sensor de teste pode ser colocado no dispositivo de medição antes, depois, ou durante a introdução da amostra para análise. Quando dentro ou parcialmente dentro de um organismo vivo, o sensor de teste pode ser continuamente imerso na amostra, ou a amostra pode ser introduzida de forma intermitente no sensor de teste. O sensor de teste pode incluir um reservatório que isola parcialmente um volume da amostra, ou o sensor de teste pode encontrar-se aberto à amostra. De forma semelhante, a amostra pode fluir continuamente através do sensor de teste ou ser

interrompida para análise.

Para os biosensores eletroquímicos, os condutores podem ser fabricados a partir de materiais condutores, tais como metais sólidos, pastas metálicas, carbono condutor, pastas de carbono condutor, polímeros condutores, e semelhantes. Os condutores elétricos conectam-se tipicamente a elétrodos de trabalho, contraelétrodos, de referência, e/ou outros elétrodos que se estendem até um reservatório de amostra. Um ou mais condutores elétricos podem também estender-se até ao reservatório de amostra para proporcionar funcionalidade não proporcionada por parte dos elétrodos.

O sensor de teste pode ser formado dispendo ou imprimindo elétrodos num substrato de isolamento utilizando múltiplas técnicas, tais como aquelas descritas na Patente U.S. Nº 6.531.040; 5.798.031; e 5.120.420. Os elétrodos podem ser formados dispendo uma ou mais composições de reagentes num ou mais dos condutores. Mais de um dos condutores pode ser revestido pela mesma composição de reagentes, tal como quando os elétrodos de trabalho e contraelétrodos são pela mesma composição. Podem ser utilizadas múltiplas técnicas conhecidas por parte dos peritos na especialidade para dispor a composição de reagentes no sensor de teste. A composição de reagente pode ser disposta nos condutores como um fluido de reagentes e posteriormente seca. Quando a amostra é introduzida no sensor de teste, a composição de reagentes começa a reidratar-se.

Podem ser dispostas diferentes composições de reagentes nos condutores. Consequentemente, a composição de reagentes do elétrodo de trabalho pode conter a enzima, o mediador, e um ligante enquanto a composição de reagentes do contraelétrodo contém um mediador, que pode ser o mesmo ou diferente do mediador do elétrodo de trabalho, e um ligante. A composição de reagentes pode incluir um agente ionizante para facilitar a oxidação ou redução do analito, tal como uma oxidorredutase, bem como quaisquer mediadores ou outras substâncias que auxiliam na transferência de eletrões entre o analito e o

eléktrodo de trabalho. Adicionalmente à ligação dos reagentes entre si, o ligante pode auxiliar na filtração de glóbulos vermelhos, prevenindo-os de revestir a superfície do condutor, e estabilizando a oxidorredutase, por exemplo.

Quanto antes seja obtido um sinal de entrada a partir do sensor de teste, onde a concentração do analito pode ser determinada com exatidão a partir do sinal de saída, antes a análise pode ser completada. Consequentemente, biossensores incluindo composições de reagentes proporcionando tempos de análise mais curtos, enquanto proporcionando a exatidão e/ou precisão desejadas, podem proporcionar um benefício substancial ao utilizador.

O desempenho de medição de um sistema biossensor é definido em termos de exatidão e/ou precisão. Os aumentos da exatidão e/ou precisão proporcionam uma melhoria do desempenho de medição do sistema. A exatidão pode ser expressa em termos de desvios da leitura de analitos do sistema sensor em comparação com uma leitura de analitos de referência, com maiores valores de desvios representando menor exatidão. A precisão pode ser expressa em termos da dispersão ou variância dos desvios entre várias leituras de analitos em relação a uma média. Desvios são a diferença entre um ou mais valores determinados a partir do sistema biossensor e um ou mais valores de referência aceites para a concentração de analito no fluido biológico. Consequentemente, um ou mais erros na análise medida resultam no desvio da concentração de analito determinada de um sistema biossensor. O desvio pode ser expresso em termos de "desvio absoluto" ou "desvio percentual". O desvio absoluto pode ser expresso nas unidades da medida, tais como mg/dl, enquanto o desvio percentual pode ser expresso como uma percentagem do valor do desvio absoluto sobre o valor de referência. Podem ser obtidos valores de referência aceites com um instrumento de referência, tal como o YSI 2300 STAT PLUS™ disponível da YSI Inc., Yellow Springs, Ohio.

Os sistemas de biossensor podem proporcionar um sinal

de saída durante a análise do fluido biológico que inclui um ou vários erros. Estes erros podem ser refletidos num sinal de saída anormal, tal como quando uma ou mais porções do sinal de saída inteiro são não responsivas ou inadequadamente responsivas à concentração de analito da amostra. Estes erros podem partir de um ou mais contribuintes, tais como as características físicas da amostra, os aspetos ambientais da amostra, as condições de funcionamento do sistema, substâncias interferentes, e semelhantes. As características físicas da amostra incluem concentração do hematócrito (glóbulos vermelhos) e semelhantes. Aspetos ambientais da amostra incluem temperatura e semelhantes. Condições de funcionamento do sistema incluem condições de preenchimento insuficiente quando o tamanho da amostra não é suficientemente grande, preenchimento lento da amostra, contacto elétrico intermitente entre a amostra e um ou mais elétrodos no sensor de teste, degradação dos reagentes que interagem com o analito, e semelhantes. Substâncias interferentes incluem ácido ascórbico, ácido úrico, acetaminofeno, e semelhantes. Podem existir outros contribuintes ou uma combinação de contribuintes que causam erros.

Vários sistemas biossensores incluem um ou mais métodos para corrigir erros associados com uma análise. Os valores de concentração obtidos a partir de uma análise com um erro podem ser inexatos. Consequentemente, a capacidade de corrigir estas análises inexatas pode aumentar a exatidão dos valores de concentração obtidos. Um sistema de correção de erros pode compensar um ou mais erros, tais como a temperatura de uma amostra ou teor de hematócrito de uma amostra, que é diferente de uma temperatura de referência ou valor de hematócrito de referência. Por exemplo, podem ser configurados sistemas biossensores convencionais para relatar concentrações de glucose assumindo um valor de hematócrito de 40% (v/v) para uma amostra de sangue inteiro, independentemente do teor de hematócrito real da amostra. Nestes sistemas, qualquer medição

da glucose realizada numa amostra de sangue contendo hematócrito a menos ou mais do que 40% incluirá erro e consequentemente terá desvio atribuível ao efeito do hematócrito.

O documento WO 2008/036516 refere-se a tiras de sensor eletroquímico e métodos de determinar a concentração de um analito numa amostra ou melhorar o desempenho da determinação de uma concentração. As tiras de sensor eletroquímico podem incluir um mediador a um máximo de 8 mg/mm². As tiras, a camada de reagente das tiras, ou os métodos podem proporcionar a determinação de um valor de concentração tendo pelo menos um de um desvio de estabilidade de menos de $\pm 10\%$ após armazenamento a 50 °C durante 4 semanas em comparação com uma tira de comparação armazenada a 20 °C durante 4 semanas, um desvio de hematócrito de menos de $\pm 10\%$ para amostras de sangue inteiro incluindo hematócrito a desde 20% até 60%, e uma razão de interceção para declive de um máximo de 20 mg/dl.

Consequentemente, existe uma necessidade em curso de sistemas biossensores melhorados, especialmente aqueles que possam proporcionar determinação cada vez mais exata e/ou precisa da concentração do analito da amostra. Além disso, existe uma necessidade de sistemas biossensores melhorados que possam proporcionar tempos de análise cada vez mais curtos, enquanto proporcionando a exatidão e/ou precisão desejadas. Os sistemas e sensores de teste da presente invenção superam pelo menos uma das desvantagens associadas com sistemas biossensores convencionais.

SUMÁRIO

É divulgado um sistema biossensor para determinação da concentração de um analito numa amostra que inclui um meio de reação para desempenhar seletivamente uma reação redox de um analito, e um meio de medição para medir uma taxa da reação redox do analito. O meio de reação inclui um ligante; um sal de tampão; um mediador incluindo um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); e um sistema enzimático.

O meio de medição inclui pelo menos dois condutores. O meio de medição mede um valor de sinal de saída a partir do meio de reação a desempenho cinético máximo num máximo de 7 segundos após introduzir uma amostra no meio de reação, onde o valor do sinal de saída é responsivo à concentração do analito na amostra, e o meio de medição determina pelo menos um valor ΔS responsivo a pelo menos um parâmetro de erro. O meio de medição determina adicionalmente a concentração de analito na amostra a partir de uma equação de compensação incluindo pelo menos uma correlação de referência e o pelo menos um valor ΔS , onde a equação de compensação tem um valor R^2 de pelo menos 0,5.

É divulgado um sensor de teste para determinar a concentração de um analito numa amostra que inclui pelo menos dois condutores, onde um dos condutores é um elétrodo de trabalho, e uma composição de reagentes disposta em ou perto do elétrodo de trabalho. A composição de reagentes tem uma área de superfície de composição de reagentes média e inclui um ligante; um sal de tampão a uma concentração de um máximo de 9,54 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes; um mediador a uma concentração de um máximo de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes; onde o mediador inclui um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); um sistema enzimático; e um tensioativo não iônico.

É divulgado um sensor de teste para determinar a concentração de um analito numa amostra que inclui pelo menos dois condutores, onde um dos condutores é um elétrodo de trabalho; um reservatório tendo um volume de reservatório; e uma composição de reagentes disposta em ou perto do elétrodo de trabalho. A composição de reagentes inclui um ligante; um sal de tampão a uma concentração de um máximo de 67 nmol por ml do volume do reservatório; um mediador a uma concentração de um máximo de 40 nmol por ml do volume do reservatório; onde o mediador inclui um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); um sistema enzimático; e um

tensioativo não iônico.

É divulgado um sensor de teste para determinar a concentração de um analito numa amostra que inclui pelo menos dois condutores, onde um dos condutores é um elétrodo de trabalho tendo uma área de elétrodo de trabalho, e uma composição de reagentes disposta em ou perto do elétrodo de trabalho. A composição de reagentes inclui um ligante; um sal de tampão a uma concentração de um máximo de 167 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho; um mediador a uma concentração de um máximo de 80 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, onde o mediador inclui um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); um sistema enzimático; e um tensioativo não iônico.

É divulgado um método de determinar a concentração de um analito numa amostra que inclui a introdução de uma amostra aquosa incluindo pelo menos um analito numa composição de reagentes, reidratação da composição de reagentes com a amostra aquosa; aplicação de um sinal de entrada entre condutores, a amostra proporcionando comunicação elétrica entre o analito, a composição de reagentes, e os condutores; e determinação da concentração de um ou mais analitos na amostra a partir de um ou mais valores de sinal de saída, os valores de sinal de saída medidos a partir dos condutores num máximo de 7 segundos após a introdução da amostra aquosa na composição de reagentes. A composição de reagentes tem uma área de superfície de composição de reagentes média e pode incluir um ligante; um sal de tampão presente a uma concentração de um máximo de 9,54 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes; um mediador presente a uma concentração de um máximo de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes; onde o mediador inclui um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); um sistema enzimático; e um tensioativo não iônico.

É divulgado um método de determinar a concentração de um analito numa amostra que inclui gerar pelo menos um valor de

sinal de saída responsivo à concentração do analito na amostra, determinar pelo menos um valor ΔS a partir de pelo menos um parâmetro de erro, compensar o pelo menos um valor de sinal de saída com pelo menos uma correlação de referência e pelo menos um valor ΔS , e determinar a concentração de analito na amostra a partir do pelo menos um valor de sinal de saída.

É divulgado um fluido de reagentes para formar composições de reagentes que inclui água; um ligante; um sal de tampão presente a uma concentração de um máximo de 115 mM; um mediador presente a uma concentração de um máximo de 90 mM, onde o mediador inclui um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); um sistema enzimático; e um tensioativo não iônico. O fluido pode ter um pH desde 4,5 até 7,5.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A invenção pode ser mais bem entendida com referência aos seguintes desenhos e descrição. Os componentes das figuras não se encontram necessariamente à escala, sendo em vez disso enfatizada a ilustração dos princípios da invenção.

A FIG. 1A é uma representação em perspetiva de um sensor de teste montado.

A FIG. 1B é uma representação da vista superior do sensor de teste da FIG. 1A, com a tampa removida.

A FIG. 2 é uma representação da vista inferior do sensor de teste da FIG. 1B.

A FIG. 3 representa um método analítico eletroquímico para determinar a presença e/ou concentração de um analito numa amostra em contacto com uma composição de reagentes de baixo teor total de sal.

A FIG. 4 ilustra os sinais de saída a partir de um sensor de teste para uma amostra de sangue inteiro tendo uma concentração de glucose de 400 mg/dl e tendo um teor de hematócrito de 70%.

A FIG. 5A ilustra um gráfico de tempos de pico para sensores de teste tendo as composições de reagentes listadas no Quadro 1, em contacto com amostras de sangue contendo glucose a 50

mg/dl e tendo diferentes níveis de hematócritico.

A FIG. 5B ilustra um gráfico de tempos de pico para sensores de teste tendo as composições de reagentes listadas no Quadro 1, em contacto com amostras de sangue tendo glucose a 100 mg/dl e tendo diferentes níveis de hematócritico.

A FIG. 6A ilustra um gráfico das correlações de ΔS_{total} para amostras como uma função de um índice de relação simples, conforme medido 5 segundos após colocar em contacto um sensor de teste tendo a composição de reagentes **A** com a amostra.

A FIG. 6B ilustra um gráfico das correlações de ΔS_{total} para amostras como uma função de um índice de relação simples, conforme medido 5 segundos após colocar em contacto um sensor de teste tendo a composição de reagentes **B** com a amostra.

A FIG. 6C ilustra um gráfico das correlações de ΔS_{total} para amostras como uma função de um índice de relação simples, conforme medido 5 segundos após colocar em contacto um sensor de teste tendo a composição de reagentes **C** com a amostra.

A FIG. 6D ilustra um gráfico das correlações de ΔS_{total} para amostras como uma função de um índice de relação simples, conforme medido 5 segundos após colocar em contacto um sensor de teste tendo a composição de reagentes **D** com a amostra.

A FIG. 6E ilustra um gráfico das correlações de ΔS_{total} para amostras como uma função de um índice de relação simples, conforme medido 5 segundos após colocar em contacto um sensor de teste tendo a composição de reagentes **E** com a amostra.

A FIG. 7 ilustra gráficos dos valores de R^2 a 21,8 °C como uma função do tempo de ensaio para sensores de teste tendo as composições de reagentes listadas no Quadro 1.

A FIG. 8 ilustra um gráfico dos índices $R5/4$ a 16 °C como uma função dos níveis de hematócritico para as composições de reagentes de baixo teor total de sal **F** e **G**.

A FIG. 9 ilustra uma representação esquemática de um biosensor que determina a concentração de um analito numa amostra de um fluido biológico utilizando um sinal de entrada amperométrico controlado.

DESCRÍÇÃO DETALHADA

É divulgada uma composição de reagentes para um sensor de teste que inclui uma menor concentração de sal total do que composições de reagentes convencionais para sensores de teste. A concentração total de sal das composições de reagentes de baixo teor de sal total, incluindo sal de tampão e sal inorgânico metálico não de transição, pode ser metade ou menos da concentração total dos sais num sensor convencional. As composições de reagentes de baixo teor de sal total podem incluir um tensioativo não iônico, e podem adicionalmente incluir um tensioativo iônico.

O sinal de saída a partir de um sensor de teste que inclui uma composição de reagentes de baixo teor de sal total pode estar correlacionado de forma exata com a concentração de analito de amostras de sangue inteiro sobre uma gama ampla de teores de hematócrito. Isto é uma melhoria substancial sobre sensores de teste convencionais tendo concentrações mais elevadas de sal total na composição de reagentes, que podem proporcionar medições exatas sobre uma gama mais ampla de teor de hematócrito.

O sinal de saída a partir de um sensor de teste que inclui uma composição de reagentes de baixo teor de sal total pode estar correlacionado de forma exata com a concentração de analito de uma amostra em cerca de sete segundos. Isto é uma melhoria substancial sobre sensores de teste convencionais tendo concentrações mais elevadas de sal total na composição de reagentes, que podem requerer mais de sete segundos para proporcionar um sinal de saída para correlação exata com a concentração de analito da amostra.

As FIGs. 1A e 1B ilustram um sensor de teste **100**. A FIG. 1A é uma representação em perspetiva do sensor de teste montado **100** incluindo uma base de sensor **110** pelo menos parcialmente coberta por uma tampa **120**, e incluindo um respiradouro **130**, uma área de cobertura de amostra **140**, e uma abertura terminal de entrada **150**. É formado um reservatório parcialmente encerrado

160 entre a base **110** e a tampa **120**. Podem também ser utilizados outros desenhos de sensores de teste.

Uma amostra líquida para análise pode ser transferida para o reservatório **160** introduzindo o líquido na abertura **150**. O líquido preenche o reservatório **160** enquanto expulsando o ar previamente contido através do respiradouro **130**. O reservatório **160** pode conter uma composição de retenção (não mostrada) que auxilia na retenção da amostra líquida no reservatório. Exemplos de composições de retenção incluem polímeros que gelificam na presença de água, tais como carboximetil celulose e polietilenoglicol; e matrizes poliméricas porosas, tais como dextrano e poliacrilamida.

A FIG. 1B representa uma vista superior do sensor de teste **100**, com a tampa **120** removida. Os condutores **170** e **180** podem estender-se sob uma camada dielétrica **190** a partir de uma interface de dispositivo de medição **155** até um elétrodo de trabalho **175** e um contraelétrodo **185**, respectivamente. Os elétrodos de trabalho e contraelétrodo **175**, **185** podem encontrar-se substancialmente no mesmo plano, conforme ilustrado na figura, ou em planos diferentes (não mostrado). Os elétrodos de trabalho e contraelétrodo **175**, **185** podem estar separados de uma parte superior da tampa **120** por pelo menos 100 mm. A camada dielétrica **190** pode cobrir parcialmente os elétrodos **175**, **185** e pode ser fabricada a partir de qualquer material dielétrico adequado, tal como um polímero de isolamento.

O contraelétrodo **185** pode suportar a atividade eletroquímica do elétrodo de trabalho **175** do sensor de teste **100**. O potencial para suportar a atividade eletroquímica do elétrodo de trabalho **175** pode ser proporcionada ao sistema sensor através da formação do contraelétrodo **185** a partir de um material inerte, tal como carbono, e incluindo uma espécie redox solúvel, tal como um mediador de ferricianeto, dentro do reservatório **160**. O potencial no contraelétrodo **185** pode ser um potencial de referência alcançado através da formação do

contraelétrodo **185** a partir de um par redox, tal como Ag/AgCl, para proporcionar um contraelétrodo de referência combinado. Alternativamente, o sensor de teste **100** pode ser proporcionado com um terceiro condutor e eléktrodo (não mostrado) para proporcionar um potencial de referência ao sistema sensor.

A área do eléktrodo de trabalho **175** pode ser a mesma que a área do contraeléktrodo **185**, ou um dos eléktrodos pode ter uma área maior do que o outro eléktrodo. Atualmente, é preferido que a área do eléktrodo de trabalho seja menor do que a área do contraeléktrodo. Preferivelmente a relação da área do contraeléktrodo para a área do eléktrodo de trabalho é pelo menos 1, mais preferivelmente pelo menos 1,1, mais preferivelmente pelo menos 1,2, mais preferivelmente pelo menos 1,3, mais preferivelmente pelo menos 1,4, e mais preferivelmente pelo menos 1,5.

A FIG. 2 representa um diagrama de vista inferior do sensor de teste da FIG. 1B mostrando as estruturas em camadas do eléktrodo de trabalho **175** e do contraeléktrodo **185**. Os condutores **170** e **180** podem ser dispostos diretamente na base **110**. Podem opcionalmente ser dispostas camadas condutoras de superfície **270** e **280** nos condutores **170** e **180**, respectivamente. As camadas condutoras de superfície **270**, **280** podem ser fabricadas a partir do mesmo ou de diferentes materiais que os condutores **170**, **180**.

O material ou materiais utilizados para formar os condutores **170**, **180** e as camadas condutoras de superfície **270**, **280** podem incluir qualquer condutor elétrico. Condutores elétricos preferíveis são não ionizantes, de tal forma que o material não é submetido a uma oxidação líquida ou uma redução líquida durante a análise da amostra. Os condutores **170**, **180** incluem preferivelmente uma fina camada de uma pasta metálica ou metal, tal como ouro, prata, platina, paládio, cobre, ou tungsténio. As camadas condutoras de superfície **270**, **280** incluem preferivelmente carbono, ouro, platina, paládio, ou combinações dos mesmos. Se uma camada condutora de superfície não está presente num condutor, o condutor é preferivelmente

fabricado a partir de um material não ionizável.

O material condutor de superfície pode ser disposto nos condutores **170**, **180** através de quaisquer meios convencionais compatíveis com o funcionamento do sensor de teste, incluindo deposição por folha metalizada, deposição por vapor químico, deposição por pasta, e semelhantes. No caso de deposição por pasta, a mistura pode ser aplicada como uma tinta aos condutores **170**, **180**, conforme descrito na Patente US N° 5.798.031, por exemplo.

As composições de reagentes **275** e **285** podem ser dispostas sobre ou perto dos condutores **170** e **180**, respetivamente. O termo "sobre" é definido como "por cima de" e refere-se à orientação sendo descrita. Por exemplo, se um primeiro elemento é depositado sobre pelo menos uma porção de um segundo elemento, o primeiro elemento é dito como estando "sobre" o segundo. Noutro exemplo, se um primeiro elemento está presente por cima de pelo menos uma porção de um segundo elemento, o primeiro elemento é dito como estando "sobre" o segundo. A utilização do termo "sobre" não exclui a presença de substâncias entre os elementos superiores e inferiores sendo descritos. Por exemplo, um primeiro elemento pode ter um revestimento sobre a sua superfície superior, porém um segundo elemento sobre pelo menos uma porção do primeiro elemento e o seu revestimento superior pode ser descrito como "sobre" o primeiro elemento. Consequentemente, a utilização do termo "sobre" pode ou não significar que os dois elementos sendo relacionados se encontram em contacto físico.

As composições de reagentes incluem reagentes e um ligante. O ligante inclui pelo menos um material polimérico que é substancialmente hidrossolúvel, e pode opcionalmente incluir partículas porosas substancialmente não hidrossolúveis. As partículas porosas podem proporcionar estrutura física adicional ao material polimérico. O ligante pode formar um gel ou material semelhante a gel quando hidratado por parte da amostra. Uma camada opcional **290** pode ser disposta no condutor

170 e/ou no condutor de superfície **270**. A camada opcional **290** pode carecer de um ou mais constituintes da composição de reagentes **275**.

As composições de reagentes **275** e **285** podem incluir o mesmo ou diferentes reagentes. Ao incluir os mesmos reagentes, as composições de reagentes **275** e **285** podem ser a mesma composição. Ao incluir diferentes reagentes, os reagentes presentes na primeira composição **275** podem ser selecionados para utilização com o eléktrodo de trabalho **175**, enquanto os reagentes presentes na segunda composição **285** podem ser selecionados para utilização com o contraeléktrodo **185**. Por exemplo, os reagentes da composição **285** podem incluir um mediador para facilitar o fluxo livre de eletrões entre a amostra e o condutor **180**. De forma semelhante, os reagentes da composição **275** podem incluir um sistema enzimático e opcionalmente um mediador para facilitar a reação do analito.

O sistema enzimático incluído na composição de reagentes **275** pode ser específico do analito e pode facilitar a reação do analito enquanto potenciando a especificidade do sistema sensor ao analito, especialmente em amostras biológicas complexas. O sistema enzimático pode incluir uma ou mais enzimas, cofatores, e/ou outra fração que participa numa reação redox com o analito. Por exemplo, pode ser utilizada uma álcool oxidase para proporcionar um sensor de teste que é sensível à presença de álcool numa amostra. Um tal sistema poderia ser útil na medição de concentrações de álcool no sangue. Noutro exemplo, podem ser utilizadas glucose desidrogenase ou glucose oxidase para proporcionar um sensor de teste que é sensível à presença de glucose numa amostra. Este sistema poderia ser útil na medição de concentrações de glucose no sangue, por exemplo em pacientes conhecidos ou suspeitos como tendo diabetes.

As composições de reagentes **275**, **285** podem ser dispostas através de quaisquer meios convenientes, tais como impressão, deposição líquida, ou deposição por jato de tinta. Por exemplo, um ou mais fluidos de reagentes podem ser depositados no sensor

de teste, e o(s) fluido(s) de reagentes pode(m) ser seco(s) para formar as composições de reagentes **275, 285**. São divulgados exemplos de dispositivos e métodos para deposição de um fluido de reagentes num elétrodo de um sensor de teste, por exemplo, na Publicação de Patente U.S. 2009/0145756 A1, com requerente Boru Zhu *et al.*

Uma série de fatores podem afetar as dimensões resultantes das composições de reagentes **275, 285**. Exemplos de tais fatores incluem a viscosidade de um fluido de reagentes sendo aplicado, a combinação de tamanho da tela e emulsão, e as dimensões das características do sensor no qual o fluido de reagentes é depositado. Quando são preferidas composições de reagentes mais finas, podem ser utilizados métodos para além de impressão, tais como micro-pipetagem, jato de tinta ou deposição por pinos. Estes métodos proporcionam tipicamente às composições de reagentes secas uma espessura de micrómetros ou sub-micrómetros, tal como 1-10 mm. Por exemplo, os métodos de deposição por pinos podem proporcionar espessuras da composição de reagentes médias de 1 mm. A espessura da composição de reagentes resultante da deposição por pinos, por exemplo, pode ser controlada através da quantidade de ligante incluído na composição de reagentes, com teor de ligante mais elevado proporcionando composições de reagentes mais espessas.

Os ingredientes de uma composição de reagentes, tal como **275, 285**, podem ser quantificados em relação às dimensões da composição, ou os ingredientes podem ser quantificados em relação a outra dimensão de um sensor sobre o qual a composição é disposta, tal como o volume de reservatório ou a área do elétrodo de trabalho. Num exemplo, um ingrediente de uma composição de reagentes pode ser quantificada em termos de microgramas (μg), nanogramas (ng), nanomoles (nmol), ou unidades enzimáticas (U) por milímetro quadrado (mm^2) da área de superfície da composição de reagentes, onde a área de superfície da composição de reagentes é a área bidimensional da composição de reagentes. Noutro exemplo, um ingrediente de

uma composição de reagentes pode ser quantificada em termos de microgramas (μg), nanomoles (nmol), ou unidades enzimáticas (U) por microlitro (μl) do volume do reservatório. Noutro exemplo, um ingrediente de uma composição de reagentes pode ser quantificada em termos de microgramas (μg), nanomoles (nmol), ou unidades enzimáticas (U) por milímetro quadrado (mm^2) da área do elétrodo de trabalho.

Uma composição de reagentes inclui um ligante. Materiais poliméricos substancialmente hidrossolúveis adequados para utilização como o ligante podem incluir poli(óxido de etileno) (PEO), carboximetil celulose (CMC), álcool polivinílico (PVA), hidroxietileno celulose (HEC), hidroxipropil celulose (HPC), etil hidroxietil celulose, carboximetil etil celulose, polivinil pirrolidona (PVP), poliaminoácidos tais como polilisina, sulfonato de poliestireno, gelatina, ácido acrílico, ácido metacrílico, sais de anidrido maleico dos mesmos, derivados dos mesmos, e combinações dos mesmos. Materiais poliméricos incluem monómeros, prepolímeros, e outros materiais que formam ou têm unidades repetidas. Podem ser utilizados outros materiais poliméricos.

Entre estes materiais poliméricos, são preferidos PEO, PVA, CMC, e HEC, com HEC sendo mais preferido atualmente. Para HEC, são preferidas massas moleculares médias ponderadas (M_m) desde cerca de 8.000 até cerca de 1.000.000, com M_m desde cerca de 15.000 até cerca de 500.000 sendo mais preferidas, e M_m desde cerca de 90.000 até cerca de 300.000 sendo mais preferidas. Atualmente, uma mistura de HEC tendo M_m de cerca de 90.000 e de HEC tendo M_m de cerca de 300.000 é especialmente preferida.

A composição de reagentes inclui preferivelmente um ligante a desde cerca de 0,14 até cerca de 0,43 μg por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 0,17 até cerca de 0,38 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, e mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 0,22 até cerca de 0,35 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$. A composição de reagentes inclui preferivelmente um ligante a desde cerca

de 1 até cerca de 3 μg por μl do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 1,2 até cerca de 2,6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, e mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 1,5 até cerca de 2,3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. A composição de reagentes inclui preferivelmente um ligante a desde cerca de 1 até cerca de 7,5 μg por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 1,2 até cerca de 6,5 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, e mais preferivelmente inclui um ligante a desde cerca de 1,5 até cerca de 5,7 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$.

A composição de reagentes inclui opcionalmente partículas porosas substancialmente não hidrossolúveis. Preferivelmente, se as partículas porosas estão presentes na composição de reagentes, é mantida uma relação de cerca de 1:10 (p/p) entre as partículas porosas e o ligante. Podem ser utilizadas outras relações para proporcionar diferentes propriedades à composição de reagentes. São divulgados exemplos de partículas porosas para composições de reagentes, por exemplo, na Publicação de Patente U.S. 2009/0178936 A1, com requerente Boru Zhu.

A composição de reagentes inclui um sal de tampão. Quando a composição de reagentes é colocada em contacto com a amostra aquosa, o sal de tampão mantém preferivelmente o pH da mistura desde cerca de 4,5 até cerca de 7,5, mais preferivelmente desde cerca de 6 até cerca de 7. O pH e sal(is) de tampão preferidos para a composição de reagentes podem ser eleitos para manter a atividade da enzima. São atualmente preferidos tampões à base de fosfato, mas podem ser utilizados outros. Preferivelmente o sal de tampão inclui Na_2HPO_4 .

A composição de reagentes inclui preferivelmente um sal de tampão a desde cerca de 2,30 até cerca de 9,54 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 2,80 até cerca de 6,43 nmol/ mm^2 , e mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 3,40 até cerca de 4,77 nmol/ mm^2 . A composição de reagentes inclui preferivelmente um sal de

tampão a desde cerca de 16 até cerca de 67 nmol por μ l do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 20 até cerca de 45 nmol/ μ l, e mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 24 até cerca de 34 nmol/ μ l. A composição de reagentes inclui preferivelmente um ligante a desde cerca de 16 até cerca de 167 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 20 até cerca de 113 nmol/ mm^2 , e mais preferivelmente inclui um sal de tampão a desde cerca de 24 até cerca de 84 nmol/ mm^2 .

A composição de reagentes inclui um mediador substancialmente hidrossolúvel de um ou dois eletrões. Os mediadores podem ser separados em dois grupos com base na sua atividade eletroquímica. Os mediadores de transferência de um eletrão são frações químicas capazes de aceitar um eletrão adicional durante as condições da reação eletroquímica, enquanto os mediadores de transferência de dois eletrões são frações químicas capazes de aceitar dois eletrões adicionais durante as condições da reação. Exemplos de mediadores de transferência de um eletrão incluem compostos, tais como 1,1'-dimetilferroceno, ferrocianeto e ferricianeto, e hexamina de ruténio (III) e ruténio (II).

Enquanto podem ser utilizados outros mediadores, podem ser preferidos mediadores de transferência de dois eletrões devido à sua capacidade de transferir aproximadamente o dobro dos eletrões a partir do sistema enzimático até ao elétrodo de trabalho para a mesma quantidade molar de mediador em relação com mediadores de transferência de um eletrão. Consequentemente, em comparação com mediadores de transferência de um eletrão, podem ser utilizadas quantidades menores de mediadores de transferência de dois eletrões na composição de reagentes. Por exemplo, a quantidade de um mediador de transferência de dois eletrões pode ser metade da quantidade de mediador de transferência de um eletrão.

Exemplos de mediadores de transferência de dois eletrões

incluem as quinonas e hidroquinonas orgânicas, tais como fenatrolina quinona; derivados de fenotiazina e fenoxazina; 3-(fenilamino)-3H-fenoxazinas; fenotiazinas; e 7-hidroxi-9,9-dimetil-9H-acridin-2-ona e derivados da mesma. Mediadores de transferência de dois eletrões preferidos incluem 3-fenilimino-3H-fenotiazinas (PIPT) e 3-fenilimino-3H-fenoxazinas (PIPO). Mediadores de transferência de dois eletrões mais preferidos incluem o ácido carboxílico ou sal, tais como sais de amónio, de derivados de fenotiazina. Atualmente, mediadores de transferência de dois eletrões especialmente preferidos incluem ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfônico, ácido (E)-5-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)isoftálico, (E)-3-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)-5-carboxibenzoato de amónio, e combinações dos mesmos. Exemplos de mediadores de transferência de dois eletrões adicionais incluem as moléculas orgânicas eletroativas descritas nas Patentes U.S. N.ºs 5.393.615; 5.498.542; e 5.520.786.

Os mediadores de transferência de dois eletrões listados acima podem incluir sal inorgânico metálico não de transição como uma impureza. O sal metálico de não transição inorgânico é tipicamente sal de um metal alcalino ou metal alcalinoterroso do ião sulfato, $[\text{SO}_4]^{2-}$. Por exemplo, o ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfônico pode incluir sal metálico de não transição inorgânico como uma impureza, com uma percentagem de massa em relação ao mediador desde 1% (p/p) até 50% (p/p), tal como desde 3% (p/p) até 30% (p/p), desde 4% (p/p) até 25% (p/p), e desde 5% (p/p) até 21% (p/p).

A composição de reagentes inclui preferivelmente um mediador a desde cerca de 1,70 até cerca de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 2,30 até cerca de 5,14 nmol/ mm^2 , e mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 2,80 até cerca de 4,00 nmol/ mm^2 . A

composição de reagentes inclui preferivelmente um mediador a desde cerca de 12 até cerca de 40 nmol por μ l do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 16 até cerca de 36 nmol/ μ l, e mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 20 até cerca de 28 nmol/ μ l. A composição de reagentes inclui preferivelmente um mediador a desde cerca de 12 até cerca de 100 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 16 até cerca de 90 nmol/ mm^2 , e mais preferivelmente inclui um mediador a desde cerca de 20 até cerca de 70 nmol/ mm^2 . A composição de reagentes inclui preferivelmente um mediador a um máximo de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, um mediador a um máximo de 40 nmol por μ l do volume do reservatório, ou um mediador a um máximo de 100 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho.

A composição de reagentes inclui também um sistema enzimático substancialmente hidrossolúvel. Enzimas preferidas para utilização no sistema enzimático da composição de reagentes incluem álcool desidrogenase, lactato desidrogenase, β -hidroxibutirato desidrogenase, glucose-6-fosfato desidrogenase, glucose desidrogenase, formaldeído desidrogenase, malato desidrogenase, e 3-hidroxiesteróide desidrogenase. Sistemas enzimáticos preferíveis são independentes de oxigénio, consequentemente não substancialmente oxidados por oxigénio.

Uma tal família enzimática independente de oxigénio é a glucose desidrogenase (GDH). Utilizando diferentes coenzimas ou cofatores, a GDH pode ser mediada de forma diferente por mediadores diferentes. Dependendo da sua associação com a GDH, um cofator, tal como dinucleótido de adenina e flavina (FAD), pode ser mantido firmemente por parte da enzima hospedeira, tal como no caso de FAD-GDH; ou um cofator, tal como Pirroloquinolinoquinona (PQQ), pode estar ligado covalentemente à enzima hospedeira, tal como com PQQ-GDH. O

cofator em cada um destes sistemas enzimáticos pode ou encontrar-se permanentemente mantido por parte da enzima hospedeira ou a coenzima e a apoenzima podem ser reconstituídas anteriormente ao sistema enzimático ser adicionado ao fluido de reagentes. A coenzima pode também ser independentemente adicionada à fração da enzima hospedeira no fluido de reagentes para auxiliar na função catalítica da enzima hospedeira, tal como nos casos do dinucleótido de nicotinamida e adenina NAD/NADH⁺ ou fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina NADP/NADPH⁺.

A composição de reagentes preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,07 até cerca de 0,3 unidades ativas (U, conforme especificado por parte do fabricante) por mm² da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,09 até cerca de 0,25 U/mm², e mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,1 até cerca de 0,2 U/mm². A composição de reagentes inclui preferivelmente um sistema enzimático a desde cerca de 0,5 até cerca de 1,8 U por µl do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,6 até cerca de 1,6 U/µl, e mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,8 até cerca de 1,4 U/µl. A composição de reagentes inclui preferivelmente um sistema enzimático a desde cerca de 0,5 até cerca de 5 U por mm² da área do eletrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,6 até cerca de 4 U/mm², e mais preferivelmente inclui um sistema enzimático a desde cerca de 0,8 até cerca de 3,5 U/mm².

A composição de reagentes inclui um tensioativo não iônico. O tensioativo pode ser qualquer tensioativo não iônico que auxilia na formação de uma suspensão coloidal da viscosidade e estabilidade desejadas e que é compatível com o método e a análise da deposição. Exemplos de tensioativos não iônicos incluem tensioativos à base de sacarídeos, tais como

N- heptanoil-N-metilglucamina, N-octanoil-N-metilglucamina, N-nonanoil-N-metilglucamina, N-decanoil-N-metilglucamina, octil β -D-glucopiranósido, hexil β -D-glucopiranósido, e n-heptil β -D-glucopiranósido. Atualmente, são preferidos tensioativos à base de sacarídeos tais como N-octanoil-N-metil-D-glucamina (vendida como MEGA 8 e disponível da DOJINDO, Gaithersburg, MD). Este tensioativo inclui aproximadamente oito unidades de oxietileno por molécula, por exemplo. Outros tensioativos preferidos são os tensioativos neutros à base de etoxilato, tais como os tensioativos de PEG-30 tetrametil decinodiol (SURFYNOL 485, por exemplo, conforme disponível da Air Products, Allentown, PA). São preferidos tensioativos que aumentam a taxa de preenchimento da amostra do sensor e/ou auxiliam na estabilização do sistema enzimático.

A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,04 até cerca de 0,24 μg por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,07 até cerca de 0,21 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, e mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,09 até cerca de 0,18 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$. A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,3 até cerca de 1,7 μg por μl do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,5 até cerca de 1,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, e mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,6 até cerca de 1,3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,3 até cerca de 4,3 μg por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,5 até cerca de 3,8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, e mais preferivelmente inclui um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,6 até cerca de 3,2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$.

A composição de reagentes inclui um tensioativo aniónico. O tensioativo pode ser qualquer tensioativo aniónico

que auxilia na formação de um perímetro bem definido da composição de reagentes e que é compatível com o método e a análise da deposição. Exemplos de tensioativos aniónicos incluem ésteres de fosfato, tais como fosfatos de alquilfenol etoxilato, sulfatos, tais como sulfatos de alquilfenol etoxilato, e sulfonatos, tais como sulfonatos de alquilo e heteroalquilo. Exemplos específicos de tensioativos aniónicos incluem os fosfatos de nonilfenol etoxilato Phospholan CS131 e Phospholan CS141, sulfato de nonilfenol etoxilato de sódio (Witcolate D-51-53), taurato de metil cocoilo de sódio (Geropon TC-42) e sulfosuccinato de dioctilo de sódio.

A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo aniónico a desde cerca de 3 até 16 nanogramas (ng) por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 4 até cerca de 12 ng/ mm^2 , mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 5,5 até cerca de 9 ng/ mm^2 . A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo aniónico a desde cerca de 20 até 140 ng por μl do volume do reservatório, mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 30 até cerca de 80 ng/ μl , e mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 35 até cerca de 60 ng/ μl . A composição de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo aniónico a desde cerca de 10 até 350 ng por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 30 até cerca de 220 ng/ mm^2 , mais preferivelmente inclui um tensioativo aniónico a desde cerca de 40 até cerca de 150 ng/ mm^2 .

A composição de reagentes é uma composição de reagentes de baixo teor de sal total, que tem uma concentração menor de sal de tampão e/ou uma concentração menor de outros sais do que uma composição de reagentes convencional. Preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 9,54 nmol por mm^2 da área de

superfície da composição de reagentes, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 20% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 6,43 nmol por mm² da área de superfície da composição de reagentes, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 10% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 4,77 nmol por mm² da área de superfície da composição de reagentes, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 5% (p/p) no mediador.

Preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 67 nmol por μ l do volume do reservatório, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 20% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 45 nmol por μ l do volume do reservatório, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 10% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 34 nmol por μ l do volume do reservatório, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 5% (p/p) no mediador.

Preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 167 nmol por mm² da área do elétrodo de trabalho, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 20% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 113 nmol por mm² da área do elétrodo de trabalho, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 10% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a composição de reagentes de baixo teor de sal total inclui um sal de tampão a um máximo de 84 nmol por mm² da área do elétrodo de trabalho, e um sal metálico de não transição inorgânico a um máximo de 5% (p/p) no mediador.

Exemplos de composições de reagentes são listadas no Quadro 1, abaixo. Estas composições foram dispostas nos elétrodos de trabalho e contraeléctrodo de sensores de teste, onde o elétrodo de trabalho teve um diâmetro médio desde cerca de 0,2 mm² até cerca de 0,5 mm², e a relação do diâmetro do contraeléctrodo para o diâmetro do elétrodo de trabalho foi pelo menos 1,2. O volume do reservatório dos sensores de teste foi cerca de 0,5 µl. O diâmetro médio de cada uma das composições de reagentes foi cerca de 2,1 mm, proporcionando uma área de superfície da composição de reagentes média de cerca de 3,5 mm².

Quadro 1 - Composições de Reagentes

	A	B	C	D	E
Mediador ¹	14 nmol*	14 nmol *	14 nmol **	14 nmol **	14 nmol **
Enzima FAD-GDH	0,67 U	0,67 U	0,67 U	0,67 U	0,67 U
Ligante HEC (300k)	0,83 µg	0,83 µg	0,83 µg	0,83 µg	0,83 µg
Sal de tampão Na ₂ HPO ₄	33,4 nmol	16,7 nmol	33,4 nmol	25,1 nmol	16,7 nmol
Tensioativo MEGA-8	0,64 µg	0,64 µg	0,64 µg	0,64 µg	0,64 µg

¹ ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfónico

* Inclui sal inorgânico metálico não de transição a 5% (p/p)

** Inclui sal inorgânico metálico não de transição a 20,6% (p/p)

As composições de reagentes **A** e **B** listadas no Quadro 1 foram composições de reagentes de baixo teor de sal total. As composições **A** e **B** incluíram sal de tampão a um máximo de 9,64 nmol por mm² da área de superfície da composição de reagentes, e o mediador nestas composições incluiu sal inorgânico metálico não de transição a menos de 20% (p/p). Em contraste, as composições de reagentes **C**, **D** e **E** listadas no Quadro 1 não foram composições de reagentes de baixo teor de sal total. Embora as composições **C**, **D** e **E** incluíssem sal de tampão a um máximo de 9,64 nmol por mm² da área de superfície da composição de reagentes, o mediador nestas composições incluiu sal inorgânico metálico não de transição a mais de 20% (p/p).

Exemplos de composições de reagentes de baixo teor de sal total são listadas no Quadro 2, abaixo. Estas composições foram dispostas nos elétrodos de trabalho e contraeléctrodo de sensores de teste, onde o elétrodo de trabalho teve um diâmetro

médio desde cerca de 0,2 mm² até cerca de 0,5 mm², e a relação do diâmetro do contraeléktrodo para o diâmetro do eléktrodo de trabalho foi pelo menos 1,2. O volume do reservatório dos sensores de teste foi cerca de 0,5 µl. O diâmetro médio de cada uma das composições de reagentes **F** e **G** foi cerca de 2,3 mm, proporcionando uma área de superfície da composição de reagentes média de cerca de 4,2 mm². O diâmetro médio de cada uma das composições de reagentes **H - K** foi cerca de 2,1 mm, proporcionando uma área de superfície da composição de reagentes média de cerca de 3,5 mm².

Quadro 2 - Composições de Reagentes de Baixo Teor de Sal Total

	F	G	H	J	K
Mediador ¹	20 nmol	20 nmol	18 nmol	18 nmol	16 nmol
Enzima FAD-GDH	0,85 U	0,85 U	0,4 U	0,4 U	0,4 U
Ligante HEC (300k)	1,28 µg	1,28 µg	0,4 µg	0,4 µg	0,4 µg
Ligante HEC (90k)	--	--	0,726 µg	0,726 µg	0,726 µg
Sal de tampão Na ₂ HPO ₄	25,5 nmol	25,5 nmol	22,5 nmol	22,5 nmol	22,5 nmol
Tensioativo MEGA-8	0,5 µg	0,5 µg	0,45 µg	0,45 µg	0,45 µg
Tensioativo iônico	--	Geropon ² 0,07 µg	Geropon ² 0,02 µg	Phospholan ³ 0,043 µg	Geropon ² 0,02 µg

¹ Ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfônico, incluindo não de transição inorgânico sal metálico a 4% (p/p)

² Geropon TC-42 (taurato de metil cocoilo de sódio)

³ Phospholan CS131 (fosfato de nonilfenol etoxilato)

As composições de reagentes listadas no Quadro 1, acima, foram formadas através de deposição e secagem de fluidos de reagentes tendo volumes depositados de 0,35 µl. Os fluidos de reagentes **A' - E'** utilizados para formar as composições de reagentes listadas no Quadro 1 encontram-se listados no Quadro 3, abaixo.

Quadro 3 - Fluidos de Reagentes para Composições de Reagentes

	A'	B'	C'	D'	E'
Mediador ¹	40 mM *	40 mM *	40 mM **	40 mM **	40 mM **
Enzima FAD-GDH	2 U/μl				
Ligante HEC (300k) (p/p)	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%
Sal de tampão Na ₂ HPO ₄	100 mM	50 mM	100 mM	75 mM	50 mM
Tensioativo MEGA-8 (p/p)	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%

¹ ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfônico

* Inclui sal inorgânico metálico não de transição a 5% (p/p)

** Inclui sal inorgânico metálico não de transição a 20,6% (p/p)

As composições de reagentes **F** e **G** listadas no Quadro 2, acima, foram formadas através de deposição e secagem de fluidos de reagentes tendo volumes depositados de 0,34 μl. As composições de reagentes **H** - **K** listadas no Quadro 2, acima, foram formadas através de deposição e secagem de fluidos de reagentes tendo volumes depositados de 0,2 μl. Os fluidos de reagentes utilizados para formar as composições de reagentes listadas no Quadro 1 encontram-se listados no Quadro 4, abaixo.

Quadro 4 - Fluidos de Reagentes para Composições de Reagentes

	F'	G'	H'	J'	K'
Mediador ¹	65 mM	60 mM	90 mM	90 mM	80 mM
Enzima FAD-GDH	2,5 U/μl	2,5 U/μl	3,75 U/μl	3,75 U/μl	3,75 U/μl
Ligante HEC (300k) (p/p)	0,375%	0,375%	0,2%	0,2%	0,2%
Ligante HEC (90k) (p/p)	--	--	0,362%	0,362%	0,362%
Sal de tampão Na ₂ HPO ₄	75 mM	75 mM	112,5 mM	112,5 mM	112,5 mM
Tensioativo MEGA-8 (p/p)	0,15%	0,15%	0,225%	0,225%	0,225%
Tensioativo iônico (p/p)	--	Geropon ² 0,02%	Geropon ² 0,01%	Phospholan ³ 0,02%	Geropon ² 0,01%

¹ Ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-dissulfônico, incluindo sal metálico não de transição a 4% (p/p)

² Geropon TC-42 (taurato de metil cocoilo de sódio)

³ Phospholan CS131 (fosfato de nonilfenol etoxilato)

Um fluido de reagentes preferido pode ser proporcionado através da combinação de um ligante, um sal de tampão, um

mediador, um tensioativo, e um sistema enzimático. Podem também ser proporcionados fluidos de reagentes preferidos que excluem um ou ambos mediador e sistema enzimático. Pode então ser adicionada água para formar uma mistura tendo a estabilidade desejada. O fluido de reagentes pode incluir menos ingredientes ou ingredientes adicionais.

O fluido de reagentes inclui preferivelmente um ligante a desde cerca de 0,1 até cerca de 1% (p/p), mais preferivelmente desde cerca de 0,2 até cerca de 0,8% (p/p). Atualmente, um fluido de reagentes especialmente preferido inclui o ligante a desde cerca de 0,3 até cerca de 0,6% (p/p). Se estão presentes partículas porosas opcionais no fluido de reagentes, é mantida uma relação de cerca de 1:10 (p/p) entre a suspensão de partículas porosas e o material polimérico. Podem ser utilizadas outras relações para proporcionar diferentes viscosidades ao fluido de reagentes. São divulgados exemplos de partículas porosas para fluidos de reagentes, por exemplo, na Publicação de Patente U.S. N.º 2009/0178936.

O fluido de reagentes inclui preferivelmente o sal de tampão para manter o pH da mistura desde cerca de 4,5 até cerca de 7,5, mais preferivelmente desde cerca de 6 até cerca de 7. O pH e tampão ou tampões preferidos para o fluido de reagentes podem ser eleitos para manter a atividade da enzima. A concentração de sal de tampão introduzido no fluido de reagentes pode variar desde cerca de 30 até cerca de 115 milimolar (mM). Preferivelmente a concentração de sal de tampão introduzido no fluido de reagentes é desde cerca de 40 até 100 mM, mais preferivelmente desde cerca de 25 até cerca de 75 mM, mais preferivelmente desde cerca de 30 até cerca de 60 mM, e mais preferivelmente é um máximo de 50 mM. Podem ser utilizadas soluções de tampão tendo outras concentrações.

O fluido de reagentes pode incluir um mediador substancialmente hidrossolúvel de transferência de um ou dois eletrões. A concentração de mediador no fluido de reagente pode variar desde cerca de 25 até cerca de 90 mM. Preferivelmente

a concentração de sal de tampão introduzido no fluido de reagentes é desde cerca de 30 até 60 mM, e mais preferivelmente desde cerca de 35 até cerca de 40 mM. Preferivelmente a quantidade de sal inorgânico metálico não de transição é um máximo de 20% (p/p) no mediador. Mais preferivelmente a quantidade de sal inorgânico metálico não de transição é um máximo de 15% (p/p), um máximo de 10% (p/p), um máximo de 5% (p/p) no mediador, e um máximo de 4% (p/p) no mediador.

O fluido de reagentes pode também incluir um sistema enzimático substancialmente hidrossolúvel tendo um intervalo de atividade em unidades conforme especificado por parte do fabricante desde cerca de 1 unidade ativa por microlitro (μ l) do fluido de reagentes até cerca de 4 unidades ativas por μ l do fluido de reagentes, mais preferivelmente desde cerca de 1,5 unidades ativas por μ l do fluido de reagentes até cerca de 2 unidades ativas por μ l do fluido de reagentes. Já que a massa sólida da enzima requerida para proporcionar uma atividade em unidades específica pode variar substancialmente segundo o lote de formulação e o fabricante, a atividade em unidades proporcionada por parte do fabricante para uma massa específica do fluido enzimático seco é preferivelmente utilizada para determinar a quantidade de adição.

O fluido de reagentes inclui preferivelmente um tensioativo não iônico a desde cerca de 0,05 até cerca de 0,7% (p/p), mais preferivelmente desde cerca de 0,07 até cerca de 0,5% (p/p). Atualmente, um tensioativo a desde cerca de 0,1 até cerca de 0,3% (p/p) é especialmente preferido. O tensioativo pode ser qualquer tensioativo que auxilia na formação de uma suspensão coloidal da viscosidade e estabilidade desejadas e que é compatível com o método e a análise da deposição. O fluido de reagentes inclui opcionalmente um tensioativo aniónico a desde cerca de 0,005 até cerca de 0,03% (p/p), mais preferivelmente desde cerca de 0,01 até cerca de 0,02% (p/p).

A FIG. 3 representa um método analítico eletroquímico **300** para determinar a presença e/ou concentração de um analito numa

amostra em contacto com uma composição de reagentes de baixo teor total de sal. Em **310**, a amostra é introduzida no biosensor incluindo a composição de reagentes de baixo teor de sal total. Em **320**, o sistema biosensor gera um sinal de saída em resposta a uma espécie identificável por luz ou a uma reação de oxidação/redução (redox) de um analito numa amostra de um fluido biológico. Em **330**, o sistema biosensor mede o sinal de saída. Em **340**, é determinado pelo menos um valor ΔS responsivo a pelo menos um parâmetro de erro. Em **350**, a concentração de analito é determinada a partir de uma equação de compensação incluindo pelo menos uma correlação de referência e pelo menos um valor ΔS . Em **360**, a concentração pode ser exibida, armazenada, ou semelhantes.

Em 310, a amostra é introduzida na porção de sensor do biosensor, tal como um sensor de teste. O sensor de teste inclui pelo menos um elétrodo de trabalho e pelo menos um contraelétrodo. Os elétrodos podem incluir uma ou mais composições de reagentes, onde pelo menos uma composição de reagentes é um fluido de reagentes de baixo teor de sal total. A mesma composição de reagentes pode ser utilizada nos elétrodos de trabalho e contraelétrodo, ou podem ser utilizadas diferentes composições de reagentes para facilitar o funcionamento dos elétrodos. Por exemplo, a composição de reagentes no elétrodo de trabalho pode facilitar a reação do analito, por exemplo sistema enzimático e mediador, enquanto a composição de reagentes no contraelétrodo pode facilitar o fluxo livre de eletrões entre a amostra e a superfície do elétrodo, por exemplo uma espécie redutível.

Uma porção do analito presente na amostra é quimicamente ou bioquimicamente oxidada ou reduzida, tal como através de uma oxidorredutase. Isto ocorre à medida que a amostra hidrata os reagentes na composição de reagentes de baixo teor de sal total. Após oxidação ou redução, os eletrões podem opcionalmente ser transferidos entre o analito e um mediador. Consequentemente, é formada uma espécie mensurável ionizada, tal como a partir

do analito ou de um mediador.

Em **320**, o sistema biosensor gera um sinal de saída em resposta a uma reação de oxidação/redução (redox) de um analito numa amostra de um fluido biológico. O sinal de saída pode ser gerado utilizando um sistema sensor eletroquímico. Uma espécie mensurável, que pode ser o analito carregado ou o mediador carregado, é excitada eletroquimicamente (oxidada ou reduzida) com um sinal de entrada. Os sinais de entrada podem ser sinais elétricos, tais como corrente ou potencial, que realizam pulsos ou se ativam ou desativam numa sequência estabelecida. O sinal de entrada é uma sequência de pulsos de excitação separado por relaxamentos. Durante um pulso amperométrico, o potencial elétrico aplicado durante a excitação é preferivelmente aplicado a uma voltagem e polaridade substancialmente constantes durante a sua duração. Isto contrasta diretamente com algumas excitações convencionais onde a voltagem é alterada ou "arrastada" através de múltiplos potenciais de voltagem e/ou polaridades durante o registo de dados.

Os sinais de entrada podem ter um ou mais intervalos de pulso. Um intervalo de pulso é a soma de um pulso e do relaxamento constituindo um ciclo de trabalho. Cada pulso tem uma amplitude e uma largura. A amplitude indica a intensidade do potencial, da corrente, ou semelhantes do sinal elétrico. A amplitude pode variar ou ser substancialmente constante, tal como durante a amperometria, durante o pulso. A largura do pulso é a duração em tempo do pulso. As larguras do pulso num sinal de entrada podem variar ou ser substancialmente as mesmas. Cada relaxamento tem uma largura de relaxamento, que é a duração em tempo do relaxamento. As larguras de relaxamento num sinal de entrada podem variar ou ser substancialmente as mesmas.

Ao ajustar a largura da excitação e relaxamento dos ciclos de trabalho, os sinais de entrada controlados podem aumentar a exatidão e/ou precisão da análise. Sinais de entrada preferidos incluem pelo menos 2, 3, 4, ou 8 ciclos de trabalho aplicados durante menos de 2, 3, ou 5 segundos. Mais

preferivelmente, pelo menos 2 ciclos de trabalho são aplicados em 3 segundos. Preferivelmente, a largura de cada pulso de excitação é selecionada independentemente a partir de entre 0,1 e 2 segundos e mais preferivelmente a partir de entre 0,2 e 1 segundos. Atualmente, as larguras de pulso de sinal de entrada especialmente preferidas são selecionadas independentemente a partir de entre 0,3 e 0,8 segundos. Intervalos de pulso preferíveis encontram-se no intervalo de menos de 3, 2,5, ou 1,5 segundos. Atualmente, sinais de entrada tendo larguras de pulso de 0,3 a 0,5 segundos e intervalos de pulso desde 0,7 até 2 segundos são especialmente preferidos. O sinal de entrada pode ter outras larguras de pulso e intervalos.

O biosensor pode gerar um sinal de saída em resposta à espécie mensurável e ao sinal de entrada. O sinal de saída, tal como um ou mais valores de corrente, pode ser medido continuamente ou intermitentemente e pode ser registado como uma função do tempo. Sinais de saída adequados podem incluir aqueles que alcançam um estado estável e aqueles que são transientes. São observados valores de corrente de estado estável quando a alteração da corrente em relação ao tempo é substancialmente constante, tal como dentro de ± 10 ou $\pm 5\%$. Os valores de corrente transientes decaem em relação ao tempo.

Preferivelmente, a amostra é submetida a relaxamento. O dispositivo de medição pode abrir o circuito através do sensor de teste, consequentemente permitindo o relaxamento. Durante o relaxamento, a corrente presente durante a excitação é substancialmente reduzida a pelo menos metade, preferivelmente a uma ordem de magnitude, e mais preferivelmente a zero. Preferivelmente, um estado de corrente zero é proporcionado através de um circuito aberto ou outro método conhecido por parte dos peritos na especialidade para proporcionar um fluxo de corrente substancialmente zero. Preferivelmente, o sinal de saída não é registado durante o relaxamento.

Preferivelmente, o biosensor continua a aplicar pulsos a partir do sinal de entrada aos elétrodos de trabalho e

contraelétrodo durante o período de tempo desejado. O ciclo de trabalho incluindo a excitação e o relaxamento pode ser repetido ou pode ser aplicado um ciclo de trabalho tendo diferentes larguras de pulso e/ou intervalos.

Em **330**, o sistema biosensor mede o sinal de saída gerado por parte do analito em resposta ao sinal de saída aplicado à amostra, tal como a partir de uma reação redox do analito. O sistema pode medir o sinal de saída continuamente ou intermitentemente. Por exemplo, um sistema biosensor pode medir o sinal de saída intermitentemente durante cada pulso, resultando em múltiplos valores de corrente durante cada pulso. O sistema pode mostrar o sinal de saída num visor e/ou pode armazenar o sinal de saída ou porções do sinal de saída num dispositivo de memória.

Em **340** da FIG. 3, são determinados um ou mais valores ΔS que são responsivos a um ou mais parâmetros de erro. Os valores ΔS podem ser determinados para a temperatura, hematócrito, e outros contribuintes.

Em **350**, a concentração de analito da amostra é determinada a partir de uma equação de compensação incluindo pelo menos uma correlação de referência e pelo menos um valor ΔS . O biosensor analisa preferivelmente um valor de corrente de sinal de saída através da correlação de um ou mais valores de corrente com a concentração de analito da amostra. Preferivelmente, o valor de corrente de saída que é correlacionado com a concentração de analito da amostra é registado a partir de uma excitação onde o valor de corrente inicial é maior do que os que seguem no decaimento e em menos de cerca de 7 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste em **310**. Mais preferivelmente, o valor de corrente de saída que é correlacionado com a concentração de analito da amostra é obtido em menos de cerca de 7 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste em **310** e é o primeiro valor de corrente registrado a partir de uma excitação onde os valores de corrente que seguem o primeiro valor de corrente

diminuem. Ainda mais preferivelmente, o valor de corrente de saída que é correlacionado com a concentração de analito da amostra é obtido em menos de cerca de 7 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste em **310**, é o primeiro valor de corrente registado a partir de uma excitação onde os valores de corrente que seguem o primeiro valor de corrente diminuem, e é obtido durante o desempenho cinético máximo do sensor de teste. Podem também ser analisados corrente, tempo, e/ou outros valores adicionais. Em **360**, a concentração pode ser exibida, armazenada para futura referência, e/ou utilizada para cálculos adicionais.

A FIG. 4 mostra os sinais de saída a partir de um sensor de teste para uma amostra de sangue inteiro tendo uma concentração de glucose de 400 mg/dl e tendo um teor de hematócrito de 70%. A entrada de sinal para o sensor de teste através do dispositivo de medição foi uma sequência de pulso amperométrico controlado incluindo oito excitações separadas por sete relaxamentos, tal como descrito na Publicação de Patente U.S. N° 2008/0173552. Da segunda à oitava excitações tiveram uma duração de cerca de 0,4 segundos, e da terceira à sétima relaxações tiveram uma duração de cerca de 1 segundo. Foram registados três valores de corrente de saída entre a segunda e a oitava excitações.

Uma correlação de um ou mais valores de corrente de saída com a concentração de analito da amostra pode ser preparada representando graficamente a corrente de saída num momento particular da análise frente a uma concentração conhecida do analito numa série de soluções-mãe contendo o analito. Para correlacionar os valores de corrente de saída a partir do sinal de entrada com a concentração de analito da amostra, o valor de corrente inicial a partir da excitação é preferivelmente maior do que os que seguem no decaimento. Preferivelmente, o valor ou valores de corrente de saída correlacionados com a concentração de analito da amostra são tomados a partir de um decaimento incluindo dados de corrente refletindo o desempenho

cinético máximo do sensor de teste. A cinética da reação redox subjacente às correntes de saída é afetada por parte de vários fatores. Estes fatores podem incluir a taxa à qual a composição de reagentes se reidrata, a taxa à qual o sistema enzimático reage com o analito, a taxa à qual o sistema enzimático transfere eletrões ao mediador, e a taxa à qual o mediador transfere eletrões ao elétrodo.

O desempenho cinético máximo do sensor de teste pode ser alcançado durante uma excitação de uma sequência de pulso amperométrico controlado quando o valor de corrente inicial de uma excitação tendo valores de corrente decadentes é maior para as várias excitações. Preferivelmente, o desempenho cinético máximo de um sensor de teste é alcançado quando o último valor de corrente pontual obtido para uma excitação tendo valores de corrente decadentes é o maior último valor de corrente pontual obtido para as várias excitações. Mais preferivelmente, o desempenho cinético máximo de um sensor de teste é alcançado quando o valor de corrente inicial obtido para uma excitação tendo valores de corrente decadentes é o maior para as várias excitações e o último valor de corrente pontual obtido para a mesma excitação é o maior último valor de corrente pontual obtido para as várias excitações.

O desempenho cinético máximo pode ser descrito em termos do parâmetro "tempo de pico", que é o tempo no qual um sensor de teste eletroquímico obtém o seu valor de corrente de saída máximo após uma amostra contendo um analito entrar em contacto com o sensor de teste. O valor de corrente de saída máximo é preferivelmente utilizado para correlação com a concentração de analito da amostra. Preferivelmente o tempo de pico para um sensor de teste é menos do que cerca de 7 segundos, e mais preferivelmente menos do que cerca de 5 segundos, após a introdução da amostra no sensor de teste. Preferivelmente, o tempo de pico é dentro de cerca de 0,4 até cerca de 7 segundos, mais preferivelmente dentro de cerca de 0,6 até cerca de 6,4 segundos, mais preferivelmente dentro de cerca de 1 até cerca

de 5 segundos, mais preferivelmente dentro de cerca de 1,1 até cerca de 3,5 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste. Na FIG. 4, o desempenho cinético máximo é alcançado a um tempo de análise de 3,5 segundos, conforme indicado pela etiqueta "Tempo de Pico" identificando o maior valor de corrente para todas as excitações registadas.

As FIGS. 5A e 5B ilustram gráficos de tempos de pico para sensores de teste tendo composições de reagentes de baixo teor de sal total (**A** e **B**) e para sensores de teste tendo composições de reagentes que não foram composições de reagentes de baixo teor de sal total (**C**, **D** e **E**). Na FIG. 5A, a concentração de glucose nas amostras foi 50 mg/dl. Na FIG. 5B, a concentração de glucose nas amostras foi 100 mg/dl. As amostras tiveram teores de hematócrito variando desde 20% até 70%. Cada gráfico traça o tempo de pico como uma função do teor de hematócrito para as composições de reagentes **A** - **E** listadas no Quadro 1, acima. Para cada composição, os tempos de pico para os teores de hematócrito de 20%, 30%, 40%, 50%, 60% e 70% são mostrados da esquerda para a direita.

A partir dos resultados ilustrados nas FIGS. 5A e 5B, um menor teor de sal inorgânico metálico não de transição no mediador e uma menor concentração de sal de tampão foram correlacionados com tempos de pico mais curtos. Este efeito foi especialmente evidente para amostras tendo teores de hematócrito mais elevados. Consequentemente, uma composição de reagentes de baixo teor de sal total pode proporcionar tempos de pico desejáveis na análise por biossensor, inclusive quando a amostra tem um teor de hematócrito relativamente elevado.

A correlação de um ou mais valores de corrente de saída com a concentração de analito da amostra pode ser ajustada para contabilizar erros de medição. Uma abordagem para corrigir erros associados com uma análise por biossensor é o ajuste da correlação para determinar concentrações de analito numa amostra a partir de valores de corrente de saída com funções de índice extraídas a partir de valores de corrente intermédios

dos valores de corrente de saída. As funções de índice podem compensar a correlação para determinar concentrações de analito a partir dos valores de corrente de saída para um ou mais erros nas análises que possam resultar no desvio das concentrações de analito determinadas. As funções de índice correspondem à % de desvio na correlação entre as concentrações de analito e os valores de corrente de saída devido a um ou mais erros na análise.

A % de desvio na correlação pode ser representada através de um ou mais valores ΔS obtidos a partir de um ou mais parâmetros de erro. Os valores ΔS representam desvios em declive da correlação entre as concentrações de analito e valores de corrente de saída determinados a partir de um ou mais parâmetros de erro. As funções de índice correspondentes ao declive ou alteração do declive podem ser normalizadas para reduzir o efeito estatístico das alterações dos valores de corrente de saída, melhorar a diferenciação em variações dos valores de corrente de saída, padronizar as medições dos valores de corrente de saída, uma combinação dos mesmos, ou semelhantes. A correlação ajustada pode ser utilizada para determinar concentrações de analito em amostras biológicas a partir dos valores de corrente de saída e pode ter exatidão e/ou precisão melhoradas em comparação com biossensores convencionais. É descrita correção de erros utilizando funções de índice e valores ΔS , por exemplo, no Pedido de Patente Internacional N.º PCT/US08/85768, depositado a 6 de dezembro de 2008, titulado "Slope-Based Compensation", com inventor Huan-Ping Wu.

Consequentemente, um valor de corrente de saída responsivo à concentração de glucose de uma amostra pode ser convertido numa concentração de glucose corrigida de uma amostra utilizando uma função de índice representando $\Delta S/S$. Alternativamente, uma concentração de glucose corrigida pode ser determinada a partir de um valor de concentração de glucose não corrigido utilizando uma função de índice e uma equação tal

como $G_{corr} = G_{bruto} / (1 + f(\text{Índice}))$, onde G_{corr} é a concentração de glucose corrigida da amostra, G_{bruto} é a concentração de analito da amostra determinada sem compensação, e $f(\text{Índice})$ é uma função de índice.

As funções de índice podem incluir relações extraídas a partir de um sinal de saída, tais como o sinal de saída ilustrado na Figura 4. Por exemplo, os valores dos sinais de saída podem ser comparados com um ciclo de decaimento de pulso-sinal individual, tal como a relação $R3 = i_{3,3} / i_{3,1}$, onde $i_{3,3}$ denota o terceiro valor de corrente registado para o terceiro decaimento do sinal, e $i_{3,1}$ denota o primeiro valor de corrente registado para o terceiro decaimento do sinal. Noutro exemplo, os valores dos sinais de saída podem ser comparados entre ciclos de decaimento de pulso-sinal separados, tal como a relação $R4/3 = i_{4,3} / i_{3,3}$, onde $i_{3,3}$ denota o terceiro valor de corrente registado para o quarto decaimento do sinal. As funções de índice podem incluir combinações de relações extraídas a partir do sinal de saída. Num exemplo, uma relação de índice pode incluir uma relação de relações simples, tal como a Relação3/2 = $R3/R2$. Noutro exemplo, uma função de índice pode incluir uma combinação mais complicada de funções de índice mais simples. Por exemplo, uma função de índice Índice-1 pode ser representada como $\text{Índice-1} = R4/3 - \text{Relação3/2}$. Noutro exemplo, uma função de índice Índice-2 pode ser representada como $\text{Índice-2} = (R4/3)^p - (\text{Relação3/2})^q$, onde p e q independentemente são números positivos.

Preferivelmente uma função de índice corrige erros associados com variações do teor de hematócrito. O cálculo de uma tal função de índice pode ser facilitado através da utilização de um sensor de teste que produz um sinal de saída que varia com o teor de hematócrito. Surpreendentemente, um sensor de teste tendo uma composição de reagentes de baixo teor de sal total pode proporcionar um tal sinal de saída.

As FIGS. 6A-6E ilustram gráficos das correlações de ΔS_{total} como uma função do índice de relação simples $R4/3$. Os

dados para estas correlações foram tomados a partir de sinais de corrente de saída de glucose a partir de amostras de sangue de capilares a 21,8 °C. As composições de reagentes dos sensores de teste da FIG. 6A - FIG. 6E foram as composições **A - E** do Quadro 1, respectivamente. Os sensores de teste tendo a composição de reagentes de baixo teor de sal total **B** tiveram a melhor separação de valores aos diferentes níveis de hematócrito.

O Quadro 5 lista os valores R^2 para as várias funções de índice de relação para os dados utilizados para gerar os gráficos das FIGS. 6A - 6E, e para dados semelhantes recolhidos a 17,8 °C. Os valores R^2 indicam a correlação geral entre ΔS_{total} e o índice através do teor de hematócrito.

Quadro 5 - Valores R^2 Para Correlações de ΔS_{total} e Funções de Índice de Relação.

Temperatura	Composições de Reagentes*	Valores R^2				
		R3/2 (3,5 s)	R4/3 (5 s)	R5/4 (6,4 s)	R6/7 (7,8 s)	R7/6 (9,2 s)
21,8 °C	A	0,001013	0,104764	0,565351	0,760619	0,750959
	B	0,516962	0,599775	0,505758	0,438291	0,31835
	C	0,091352	0,118496	0,302064	0,408586	0,524337
	D	0,000134	0,038426	0,218307	0,493913	0,548401
	E	0,000457	0,045204	0,382858	0,565626	0,637481
17,8 °C	A	0,046511	0,033404	0,201073	0,57258	0,712873
	B	0,347457	0,561101	0,594296	0,501804	0,529152
	C	0,145856	0,040137	0,148183	0,363599	0,556556
	D	0,002571	0,000171	0,089739	0,291356	0,501046
	E	0,003322	0,018583	0,29426	0,566881	0,588227

*Composições a partir do Quadro 1.

Para tempos de saída de 5 segundos ou menos a 21,8 °C, os sensores de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total (composição **B**) proporcionaram correlações tendo valores R^2 significativamente melhores que os proporcionados por parte dos outros sensores de teste. Para tempos de saída de 6,4 segundos ou mais a 21,8 °C, os sensores de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total (composição **A**) proporcionaram correlações tendo valores R^2 significativamente melhores que os proporcionados por parte dos outros sensores de teste.

Para tempos de saída de 6,4 segundos ou menos a 17,8 °C, os sensores de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total (composição **B**) proporcionaram correlações tendo valores R^2 significativamente melhores que os proporcionados por parte dos outros sensores de teste. Para tempos de saída de 7,8 segundos ou mais a 17,8 °C, os sensores de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total (composição **A**) proporcionaram correlações tendo valores R^2 significativamente melhores que os proporcionados por parte dos outros sensores de teste. Consequentemente, a temperaturas de análise inferiores, um sensor de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total poderia proporcionar uma melhor correlação a um tempo de ensaio anterior que poderia um sensor de teste tendo uma composição de regentes que não fosse uma composição de baixo teor de sal total.

As funções de índice dos gráficos das FIGS. 6A - 6E foram utilizadas para formular equações de correlação para corrigir o desvio das análises por biossensor para amostras tendo diferentes teores de hematócrito. A utilização de uma ou mais funções de índice relacionadas com ΔS pode reduzir a dispersão do desvio, que é definido como o desvio padrão do desvio / % de população de desvio. A correlação entre ΔS_{total} e uma ou mais funções de índice afeta diretamente a redução do desvio padrão (SD) da população de desvio. Como tal, quanto mais elevado for o valor R^2 , maior a redução do valor SD e, consequentemente, menor a dispersão do desvio. Esta relação experimental é observada no Quadro 6, onde a % de população do conjunto de dados dentro de um limite de desvio de $\pm 10/\pm 10\%$ antes e após a compensação são listados para as composições de reagente listadas no Quadro 1. A % $\pm 10\%$ foi significativamente maior para os sensores de teste tendo uma composição de regentes de baixo teor de sal total, tanto antes como após a equação de compensação ser aplicada aos resultados.

Quadro 6 - Exatidão de Correlações de Saída com Concentração de Analitos.

Composição de Regentes*	% $\pm 10\%$	
	Correlação Antes da Compensação	Correlação Após a Compensação
A	78%	78%
B	86%	99%
C	81%	81%
D	81%	81%
E	80%	80%

*Composições a partir do Quadro 1.

A melhoria proporcionada por parte de uma composição de regentes de baixo teor de sal total é significativa, já que menos análises se encontrariam fora do limite de exatidão de $\pm 10/\pm 10\%$. Ao reduzir o número de análises fora do limite, mais das leituras obtidas poderiam ser utilizadas para terapêutica exata a um paciente. A necessidade de descartar e repetir análises ao paciente pode também ver-se reduzida.

A FIG. 7 ilustra gráficos dos valores de R^2 a 21,8 °C como uma função do tempo de ensaio para sensores de teste tendo as composições de reagentes **A** - **E** listadas no Quadro 1. Os tempos de ensaio de 3,5 segundos, 5 segundos, 6,5 segundos, 7,8 segundos e 9,2 segundos correspondem às funções de índice de relação $R3/2$, $R4/3$, $R5/4$, $R6/7$ e $R7/6$, respectivamente. Consequentemente, A FIG. 7 é uma descrição gráfica dos resultados listados na primeira metade do Quadro 5. Para os dois primeiros tempos de ensaio (3,5 e 5 segundos), a composição de reagentes de baixo teor de sal total **B** proporcionou valores R^2 de pelo menos 0,5, enquanto as outras composições de reagentes proporcionaram valores R^2 de somente 0,12 ou menos. Para um tempo de ensaio de 6,5 segundos, ambas as composições de reagentes de baixo teor de sal total **A** e **B** proporcionaram valores R^2 de pelo menos 0,5, enquanto as outras composições

de reagentes proporcionaram valores R^2 de somente 0,2 - 0,4. Para tempos de ensaio maiores do que 7 segundos, a composição de reagentes de baixo teor de sal total **A** proporcionou valores R^2 de pelo menos 0,5; no entanto, a composição de reagentes de baixo teor de sal total **B** proporcionou valores R^2 por debaixo de 0,5. Para tempos de ensaio maiores de 7,8 e 9,2 segundos, os valores R^2 proporcionados por parte das composições de reagentes **C** - **E** foram correlacionados inversamente com a concentração de sal de tampão.

Conforme ilustrado pelos gráficos da FIG. 7, uma composição de reagentes de baixo teor de sal pode proporcionar valores R^2 de pelo menos 0,5 para funções de índice correspondentes a tempos de ensaio de um máximo de 6,5 segundos. Consequentemente, uma composição de reagentes de baixo teor de sal total pode proporcionar análise exata de um analito numa amostra a tempos de ensaio mais curtos que aqueles proporcionados por parte de composições de reagentes convencionais.

A FIG. 8 ilustra um gráfico dos índices $R5/4$ a 16 °C como uma função dos níveis de hematócrito para as composições de reagentes de baixo teor total de sal **F** e **G** listadas no Quadro 2. Estas composições foram semelhantes, exceto em que a composição **G** incluiu tanto um tensioativo não iônico como um tensioativo aniónico, enquanto a composição **F** incluiu somente um tensioativo não iônico. O valor R^2 para os resultados proporcionados por parte da composição **G** foi 0,82, enquanto o valor R^2 para os resultados proporcionados por parte da composição **F** foi somente 0,32. Consequentemente, a presença de uma pequena quantidade de um tensioativo aniónico proporcionou uma melhoria significativa da função de índice $R5/4$ para este sistema.

A composição de reagentes **B** foi disposta sobre o elétrodo de trabalho de um sensor de teste a várias espessuras. O Quadro 7 lista as concentrações do mediador em cada um de quatro tipos diferentes de elétrodos de trabalho. Já que foi utilizada a

mesma composição de reagentes de baixo teor de sal para cada elétrodo, uma concentração menor é correlacionada com uma menor espessura da composição de reagentes no elétrodo. Cada composição de reagentes teve uma concentração enzimática de desde 1,21 até 1,50 unidades por milímetro quadrado (U/mm²). O Quadro 7 lista também a % de população dos dados estabelecidos dentro de um limite de desvio de $\pm 10/\pm 10\%$ para análises realizadas a diferentes temperaturas. O elétrodo de trabalho com a camada mais fina de composição de reagentes de baixo teor de sal teve a percentagem mais elevada de medições dentro de um limite de desvio de $\pm 10/\pm 10\%$. Esta melhoria foi particularmente evidente a temperaturas mais baixas, tais como 11 °C.

Quadro 7 - Exatidão de Correlações para Camadas de Reagentes de Baixo Teor de Sal Tendo Diferentes Espessuras.

Densidade do Mediador no Elétrodo de Trabalho ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$)	% $\pm 10\%$		
	11 °C	15 °C	23 °C
1,503	94%	99%	98%
1,340	94%	96%	96%
1,290	96%	95%	100%
1,130	99%	98%	100%

A FIG. 9 ilustra uma representação esquemática de um biossensor **900** que determina a concentração de um analito numa amostra de um fluido biológico utilizando um sinal de entrada amperométrico controlado. O biossensor **900** inclui um dispositivo de medição **902** e um sensor de teste **904**, que podem ser implementados em qualquer instrumento analítico, incluindo um dispositivo de bancada, um dispositivo portátil ou manual, ou semelhantes. O biossensor **900** pode ser utilizado para determinar concentrações de analito, incluindo as de glucose, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina, e semelhantes. Enquanto é mostrada uma configuração particular, o biossensor **900** pode ter outras configurações, incluindo aquelas com

componentes adicionais.

O sensor de teste **904** tem uma base **906** formando um reservatório **908** e um canal **910** com uma abertura **912**. O reservatório **908** e o canal **910** podem estar cobertos por uma tampa com um respiradouro. O reservatório **908** define um volume parcialmente encerrado. O reservatório **908** pode conter uma composição que auxilia na retenção de uma amostra líquida tal como polímeros ou matrizes poliméricas porosas que gelificam na presença de água. Os reagentes podem ser depositados no reservatório **908** e/ou canal **910**. A composição de reagentes no elétrodo de trabalho **903** inclui uma composição de reagentes de baixo teor de sal e pode incluir um ou mais sistemas enzimáticos, mediadores, e espécies semelhantes. O contraelétrodo **905** pode ser formado utilizando a mesma ou diferente composição de reagentes, preferivelmente uma carecendo de um sistema enzimático. O sensor de teste **904** pode também ter uma interface de amostra **914** disposta de forma adjacente ao reservatório **908**. A interface de amostra **914** pode rodear parcialmente ou completamente o reservatório **908**. O sensor de teste **904** pode ter outras configurações.

A interface de amostra **914** tem condutores **909** conectados ao elétrodo de trabalho **903** e ao contraelétrodo **905**. Os elétrodos podem encontrar-se substancialmente no mesmo plano ou em mais de um plano. Os elétrodos **903, 905** podem ser dispostos numa superfície da base **906** que forma o reservatório **908**. Os elétrodos **903, 905** podem estender-se ou projetar-se para o reservatório **908**. Uma camada dielétrica pode cobrir parcialmente os condutores **909** e/ou os elétrodos **904, 905**. A interface de amostra **914** pode ter outros elétrodos e condutores.

O dispositivo de medição **902** inclui circuitos elétricos **916** conectados a uma interface de sensor **918** e um visor **920**. Os circuitos elétricos **916** incluem um processador **922** conectado a um gerador de sinal **924**, um sensor de temperatura **926** opcional, e um medio de armazenamento **928**.

O gerador de sinal **924** proporciona um sinal de entrada elétrico à interface de sensor **918** em resposta ao processador **922**. O sinal de entrada elétrico pode ser transmitido através da interface de sensor **918** à interface de amostra **914** para aplicar o sinal de entrada elétrico à amostra do fluido biológico. O sinal de entrada elétrico pode ser um potencial ou corrente e pode ser aplicado em pulsos, sequências, ou ciclos múltiplos. O gerador de sinal **924** pode também registar um sinal de saída a partir da interface de sensor como um gerador-registador.

O sensor de temperatura **926** opcional determina a temperatura da amostra no reservatório do sensor de teste **904**. A temperatura da amostra pode ser medida, calculada a partir do sinal de saída, ou assumida como sendo a mesma ou semelhante a uma medida da temperatura ambiente ou da temperatura de um dispositivo implementando o sistema biosensor. A temperatura pode ser medida utilizando um termíster, termómetro, ou outro dispositivo sensor de temperatura. Podem ser utilizadas outras técnicas para determinar a temperatura da amostra.

O meio de armazenamento **928** pode ser um dispositivo magnético, ótico, ou de memória semicondutora, outro dispositivo de armazenamento, ou semelhante. O meio de armazenamento **928** pode ser um dispositivo de memória fixa, um dispositivo de memória removível, tal como um cartão de memória, de acesso remoto, ou semelhante.

O processador **922** implementa a análise do analito e os dados de tratamento utilizando um código de software legível através de computador e dados armazenados no meio de armazenamento **928**. O processador **922** pode iniciar a análise do analito em resposta à presença do sensor de teste **904** na interface de sensor **918**, a aplicação de uma amostra ao sensor de teste **904**, em resposta a uma entrada por parte do utilizador, ou semelhante. O processador **922** dirige o gerador de sinal **924** para proporcionar o sinal de entrada elétrico na interface de sensor **918**. O processador **922** pode receber a temperatura da

amostra a partir do sensor de temperatura **926** opcional. O processador **922** recebe o sinal de saída a partir da interface de sensor **918**. O sinal de saída é gerado em resposta à reação redox do analito no reservatório **908**.

O processador **922** mede preferivelmente o sinal de saída para obter um valor de corrente a partir de uma excitação onde o valor de corrente inicial é maior do que os que seguem no decaimento e em menos de cerca de 3 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste **904**. Mais preferivelmente, o processador **922** mede o sinal de saída para obter um valor de corrente em menos de cerca de 3 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste em **904** e obtém o primeiro valor de corrente registado a partir de uma excitação onde os valores de corrente que seguem o primeiro valor de corrente diminuem continuamente. Ainda mais preferivelmente, o processador **922** mede o sinal de saída para obter um valor de corrente em menos de cerca de 3 segundos após a introdução da amostra no sensor de teste em **904**, para obter o primeiro valor de corrente registado a partir de uma excitação onde os valores de corrente que seguem o primeiro valor de corrente diminuem continuamente, e para obter um valor de corrente durante o desempenho cinético máximo do sensor de teste.

O um ou mais valores de corrente obtidos são correlacionados com a concentração de analito da amostra utilizando uma ou mais equações de correlação no processador **922**. Os resultados da análise dos analitos podem ser enviados para o visor **920** e podem ser armazenados no meio de armazenamento **928**. Preferivelmente, os resultados da análise dos analitos são enviados para o visor **920** em cinco segundos ou menos após a introdução da amostra no sensor de teste, mais preferivelmente os resultados são enviados para o visor **920** em três segundos ou menos após a introdução da amostra no sensor de teste.

As equações de correlação relacionando concentrações de analito e valores de saída de corrente podem ser representados

graficamente, matematicamente, uma combinação dos mesmos, ou semelhante. As equações de correlação podem ser representadas através de um quadro de números de programa (PNA), outro quadro de consulta, ou semelhante que se encontra armazenado no meio de armazenamento **928**. Podem ser proporcionadas instruções relativas à implementação da análise dos analitos por meio do código de software legível através de computador armazenado no meio de armazenamento **928**. O código pode ser código objeto ou qualquer outro código descrevendo ou controlando a funcionalidade descrita no presente documento. Os dados a partir da análise dos analitos podem ser submetidos a um ou mais tratamentos de dados, incluindo a determinação de taxas de decaimento, constantes K, relações, e semelhantes no processador **922**.

A interface de sensor **918** tem contactos que conectam ou comunicam eletricamente com os condutores **909** na interface de amostra **914** do sensor de teste **904**. A interface de sensor **918** transmite o sinal de entrada elétrico a partir do gerador de sinal **924** através dos contactos aos condutores **909** na interface de amostra **914**. A interface de sensor **918** também transmite o sinal de saída a partir da amostra através dos contactos ao processador **922** e/ou gerador de sinal **924**.

O visor **920** pode ser analógico ou digital. O visor pode ser um LCD adaptado para exibir uma leitura numérica.

Na utilização, uma amostra para análise é transferida para o reservatório **908** introduzindo o líquido na abertura **912**. A amostra flui através do canal **910**, preenchendo o reservatório **908** enquanto expulsando o ar previamente contido. A amostra reage quimicamente com os reagentes depositados no canal **910** e/ou reservatório **908**. Preferivelmente, a amostra é um fluido, mais preferivelmente, um líquido.

O sensor de teste **902** é disposto de forma adjacente ao dispositivo de medição **902**. Adjacente inclui posições onde a interface de amostra **914** se encontra em comunicação elétrica com a interface de sensor **918**. A comunicação elétrica inclui

transferência por fios ou sem fios de sinais de entrada e/ou saída entre contactos na interface de sensor **918** e condutores **909** na interface de amostra **914**.

Enquanto foram descritas várias formas de realização da invenção, será evidente para os peritos na especialidade que são possíveis outras formas de realização e implementações dentro do âmbito da invenção.

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- US 6531040 B [0006]
- US 5798031 A [0006] [0032]
- US 5120420 A [0006]
- WO 2008036516 A [0012]
- US 20090145756 A1 [0037]
- US 20090178936 A1 [0043]
- US 5393615 A [0048]
- US 5498542 A [0048]
- US 5520786 A [0048]
- US 20090178936 A [0067]
- US 20080173552 A [0084]
- US 0885768 W [0091]

REIVINDICAÇÕES

1. Um sensor de teste para determinar a concentração de um analito numa amostra, compreendendo:

um reservatório tendo um volume de reservatório;

pelo menos dois condutores no reservatório, onde um dos condutores é um elétrodo de trabalho tendo uma área de elétrodo de trabalho; e

uma composição de reagentes disposta sobre o elétrodo de trabalho, a composição de reagentes compreendendo

um ligante, um sal de tampão, um mediador, um sistema enzimático e um tensioativo não iônico,

o mediador compreendendo um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p);

onde o sal de tampão está presente a uma concentração de um máximo de 9,54 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, ou um máximo de 67 nmol por μl do volume do reservatório, ou um máximo de 167 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho. e

o mediador está presente a uma concentração de um máximo de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, ou um máximo de 40 nmol por μl do volume do reservatório, ou um máximo de 100 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho.

2. O sensor da reivindicação 1, onde a composição de reagentes compreende

o ligante a desde cerca de 0,14 até cerca de 0,43 μg por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes,

o sal de tampão a desde cerca de 2,30 até cerca de 9,54 nmol, preferivelmente desde cerca de 3,40 até cerca de 4,77 nmol, por mm^2 da área da superfície da composição de reagentes,

o mediador a desde cerca de 1,70 até cerca de 4,76 nmol, preferivelmente desde cerca de 2,80 até cerca de 4,00 nmol, por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes,

- o sistema enzimático a desde cerca de 0,07 até cerca de 0,3 Unidades por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes, e
- o tensioativo não iônico a desde cerca de 0,04 até cerca de 0,24 μg por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes.

3. O sensor da reivindicação 1, onde a composição de reagentes compreende

- o ligante polimérico a desde cerca de 1 até cerca de 3 μg por μl do volume do reservatório,
- o sal de tampão a desde cerca de 16 até cerca de 67 nmol, preferivelmente desde cerca de 24 até cerca de 34 nmol, por μl do volume do reservatório,
- o mediador a desde cerca de 12 até cerca de 40 nmol, preferivelmente desde cerca de 20 até cerca de 28 nmol, por μl do volume do reservatório,
- o sistema enzimático a desde cerca de 0,5 até cerca de 1,8 Unidades por μl do volume do reservatório, e
- o tensioativo não iônico a desde cerca de 0,3 até cerca de 1,7 μg por μl do volume do reservatório.

4. O sensor da reivindicação 1, onde a composição de reagentes compreende

- o ligante a desde cerca de 1 até cerca de 7,5 μg por mm^2 da área do elétrodo de trabalho,
- o sal de tampão a desde cerca de 16 até 167 nmol, preferivelmente desde cerca de 24 até cerca de 84 nmol, por mm^2 da área do elétrodo de trabalho,
- o mediador a desde cerca de 12 até 100 nmol, preferivelmente desde cerca de 20 até cerca de 70 nmol, por mm^2 da área do elétrodo de trabalho,
- o sistema enzimático a desde cerca de 0,5 até cerca de 5 Unidades por mm^2 da área do elétrodo de trabalho, e
- o tensioativo não iônico a desde cerca de 0,3 até cerca de

4,3 µg por mm² da área do elétrodo de trabalho.

5. O sensor de qualquer uma das reivindicações 1-4, compreendendo adicionalmente um tensioativo iônico.

6. O sensor da reivindicação 5, onde o tensioativo iônico compreende um tensioativo aniónico.

7. O sensor da reivindicação 6, compreendendo o tensioativo aniónico a desde cerca de 3 até cerca de 16 ng por mm² da área da superfície da composição de reagentes, ou o tensioativo aniónico a desde cerca de 20 até cerca de 140 ng por µl do volume do reservatório, ou o tensioativo aniónico a desde cerca de 10 até cerca de 350 ng por mm² da área do elétrodo de trabalho.

8. O sensor de qualquer uma das reivindicações 1-7, onde o sal de tampão compreende Na₂HPO₄.

9. O sensor de qualquer uma das reivindicações 1-8, onde o mediador compreende um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 15% (p/p), um máximo de 10% (p/p), um máximo de 5% (p/p) ou um máximo de 4% (p/p).

10. O sensor de qualquer uma das reivindicações 1-9, onde o tensioativo não iônico compreende um tensioativo à base de açúcares.

11. Um sistema biossensor, para determinar a concentração de um analito numa amostra, compreendendo:

um sensor de teste compreendendo um reservatório, pelo menos dois condutores no reservatório onde um dos condutores é um elétrodo de trabalho, e uma composição de reagentes disposta sobre ou perto do elétrodo de trabalho,

a composição de reagentes compreendendo um ligante, um sal de tampão, um sistema enzimático, um tensioativo não

iônico, e
um mediador compreendendo um sal inorgânico metálico não de transição a um máximo de 20% (p/p); e
um dispositivo de medição em comunicação elétrica com o sensor de teste;
onde o meio de medição mede um valor de sinal de saída a partir do meio de reação a desempenho cinético máximo num máximo de 7 segundos após introduzir uma amostra no meio de reação, onde o valor do sinal de saída é responsivo à concentração do analito na amostra,
o dispositivo de medição determina pelo menos um valor ΔS responsivo a pelo menos um parâmetro de erro, e
o dispositivo de medição determina adicionalmente a concentração de analito na amostra a partir de uma equação de compensação incluindo pelo menos uma correlação de referência e o pelo menos um valor ΔS ;
onde a equação de compensação tem um valor R^2 de pelo menos 0,5.

12. O sistema da reivindicação 11, onde a composição de reagentes do sensor de teste compreende:

o sal de tampão a uma concentração de um máximo de 9,54 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes,
o mediador a uma concentração de um máximo de 4,76 nmol por mm^2 da área de superfície da composição de reagentes.

13. O sistema da reivindicação 11, onde o reservatório do sensor de teste tem um volume de reservatório, e a composição de reagentes compreende:

o sal de tampão a uma concentração de um máximo de 67 nmol por μl do volume do reservatório,
o mediador a uma concentração de um máximo de 40 nmol por μl do volume do reservatório.

14. O sistema da reivindicação 11, onde o elétrodo de trabalho do sensor de teste tem uma área de elétrodo de trabalho, e a composição de reagentes compreende:

- o sal de tampão a uma concentração de um máximo de 167 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho,
- o mediador a uma concentração de um máximo de 100 nmol por mm^2 da área do elétrodo de trabalho.

15. O sistema de qualquer uma das reivindicações 11-14, onde o meio de medição mede um valor de sinal de saída a partir do meio de reação a desempenho cinético máximo num máximo de 5 segundos após introduzir uma amostra no meio de reação, ou em pelo menos 3,5 segundos após a introdução de uma amostra no sensor de teste.

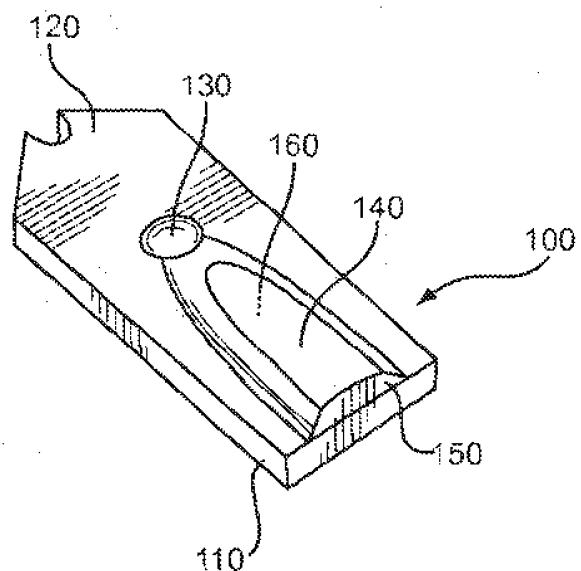


Fig. 1A

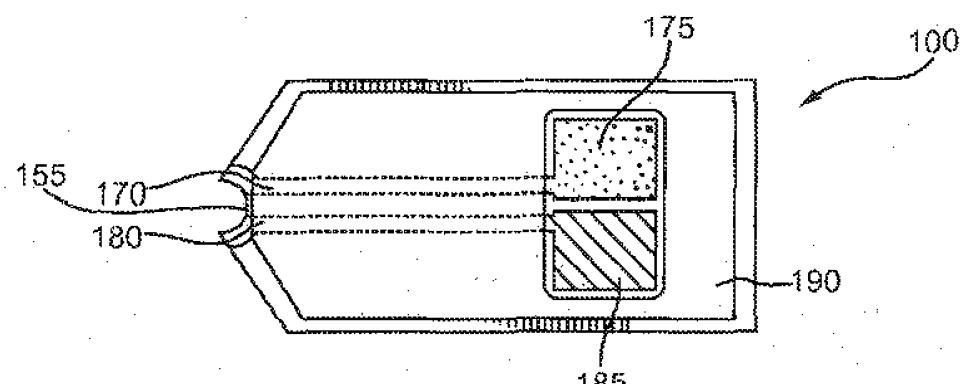


Fig. 1B

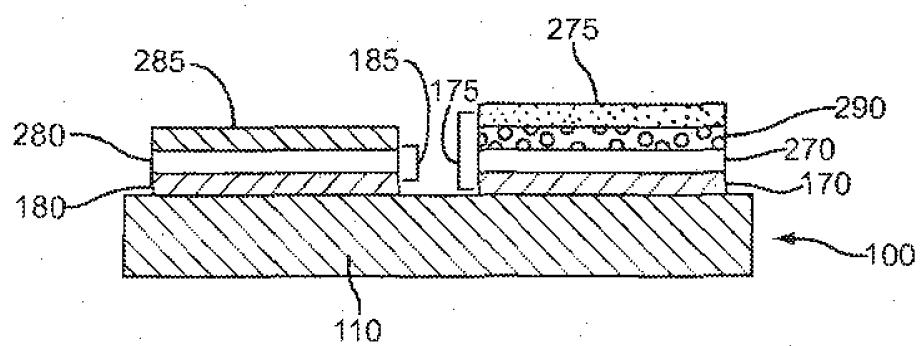


Fig. 2

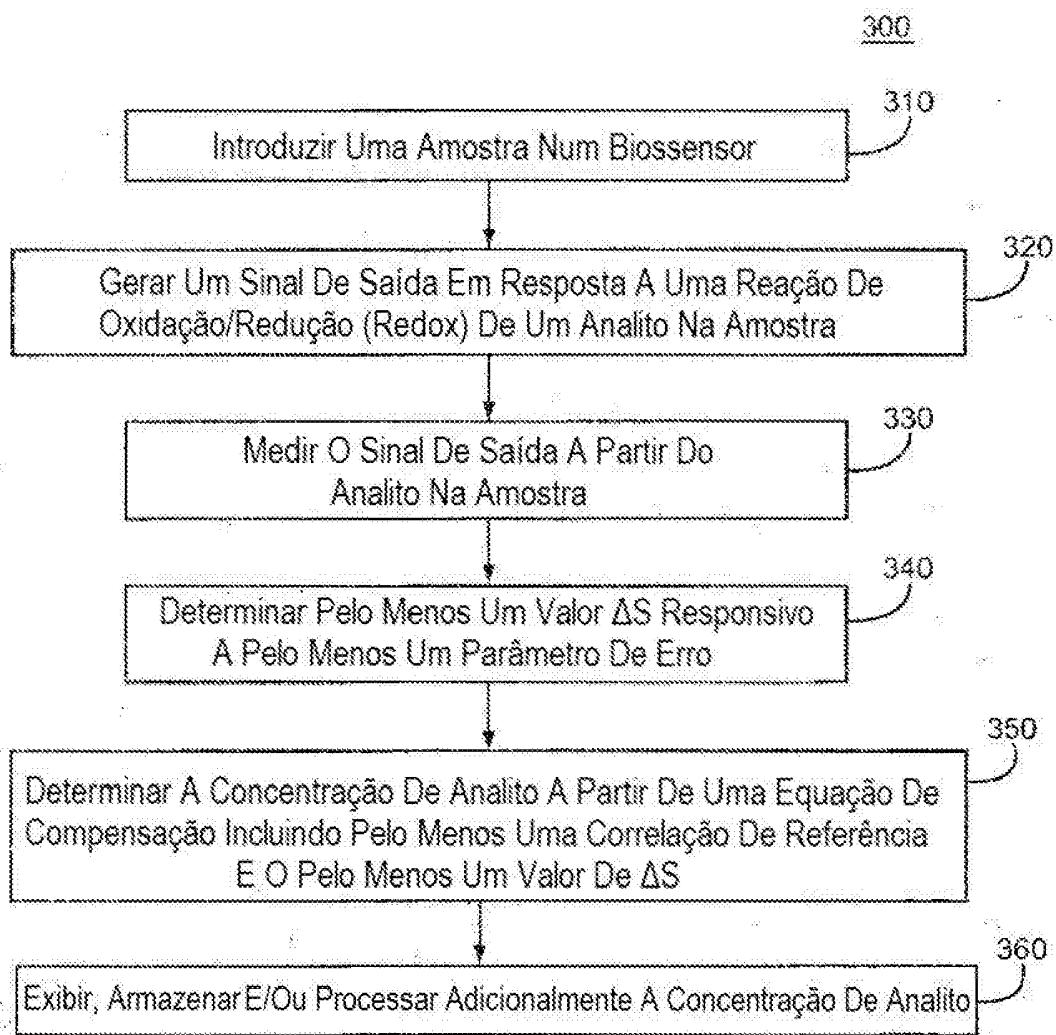


Fig. 3

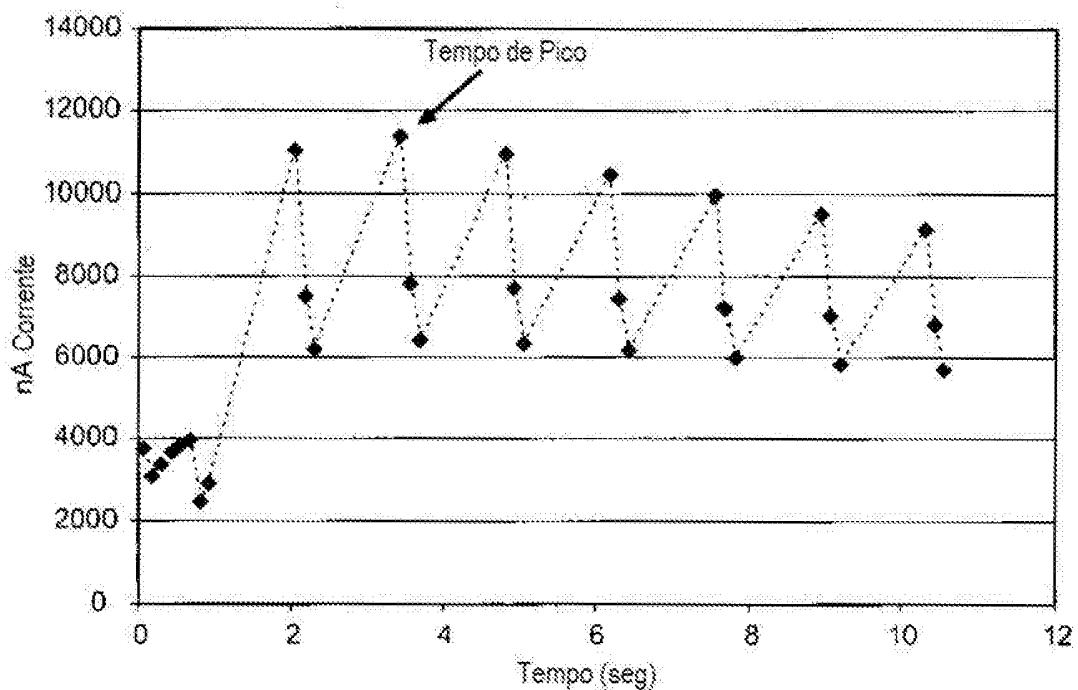
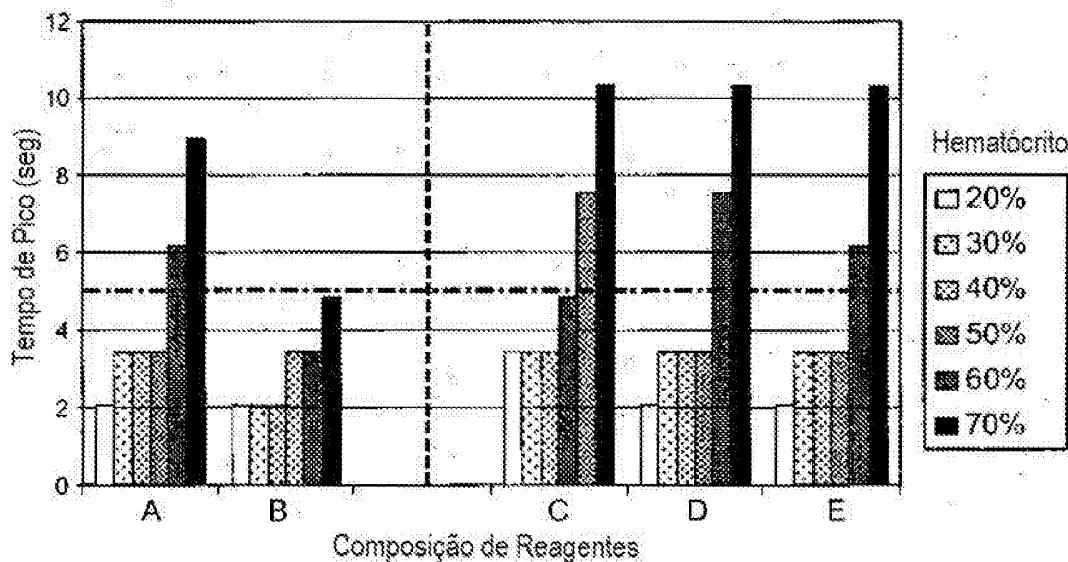
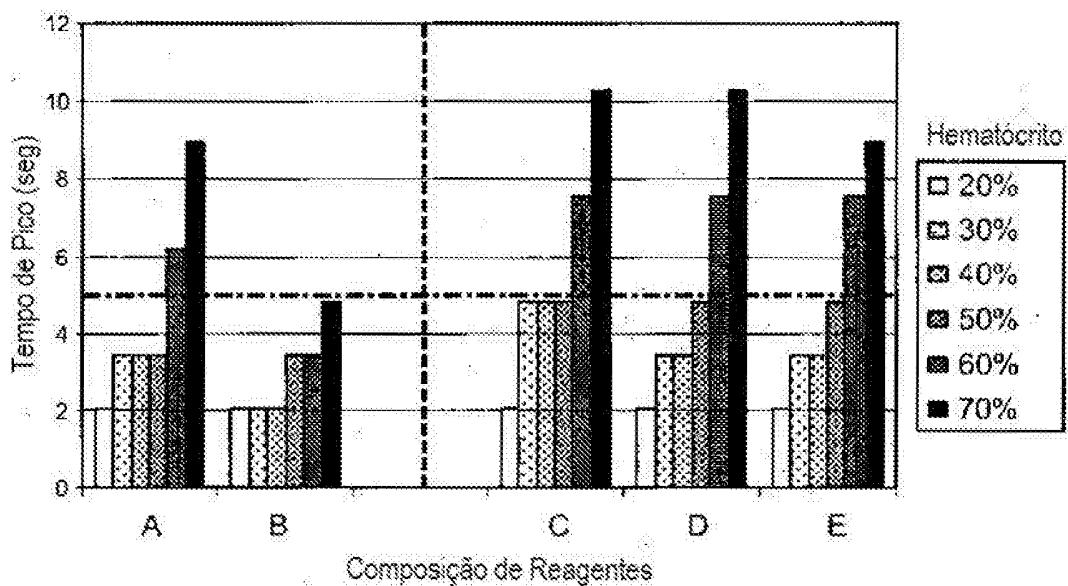


Fig.4



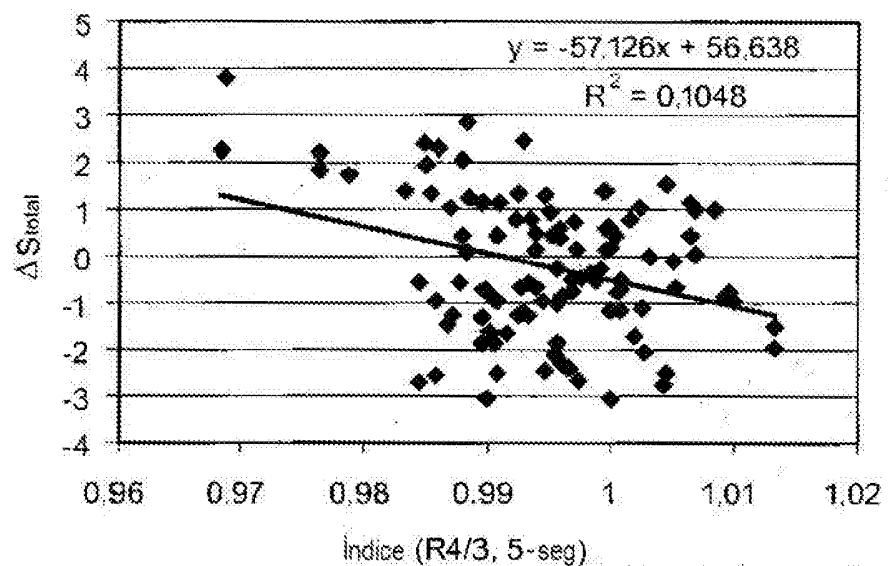


Fig. 6A

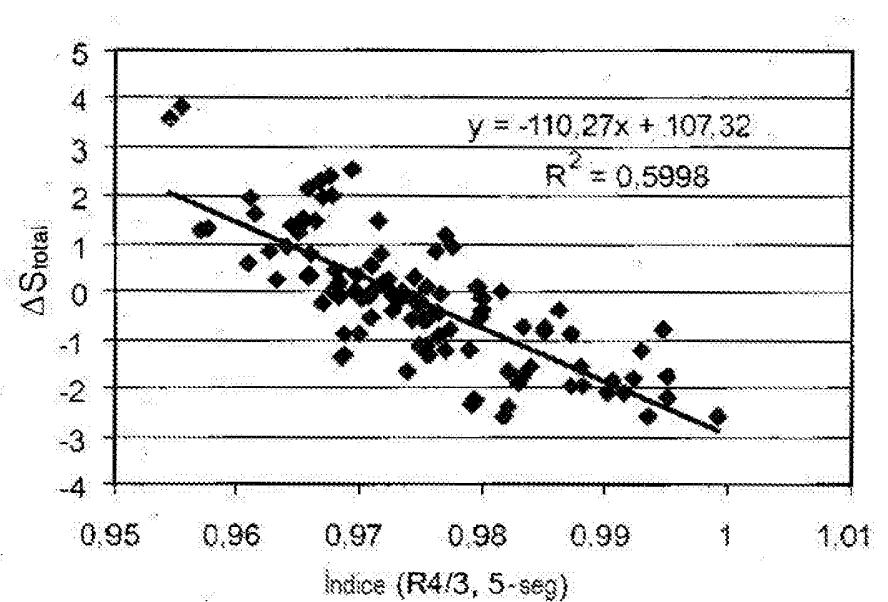


Fig. 6B

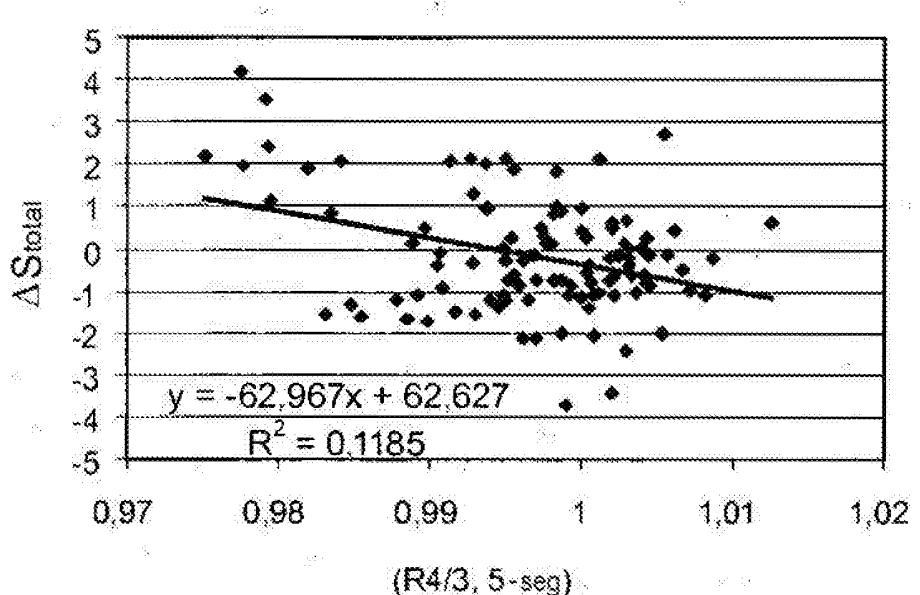


Fig. 6C

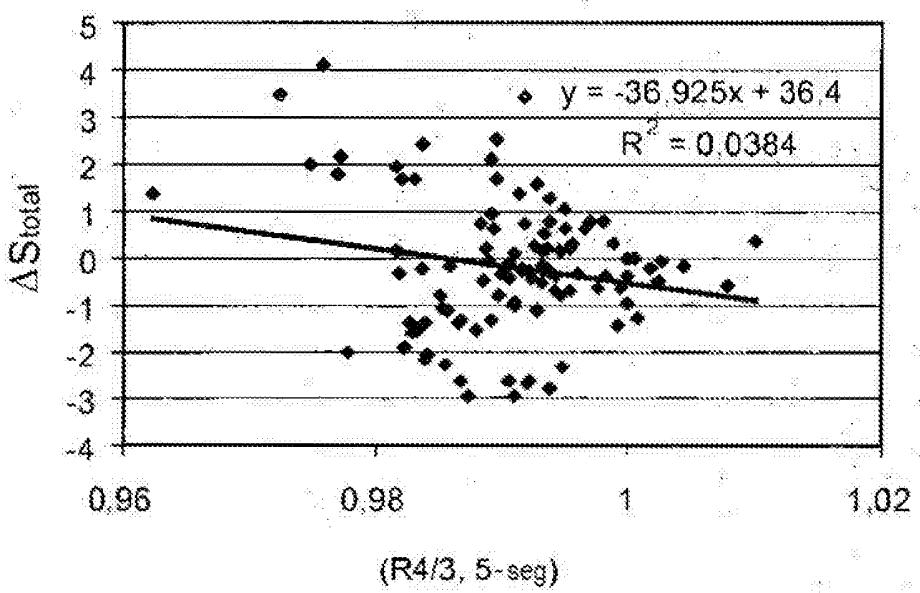


Fig. 6D

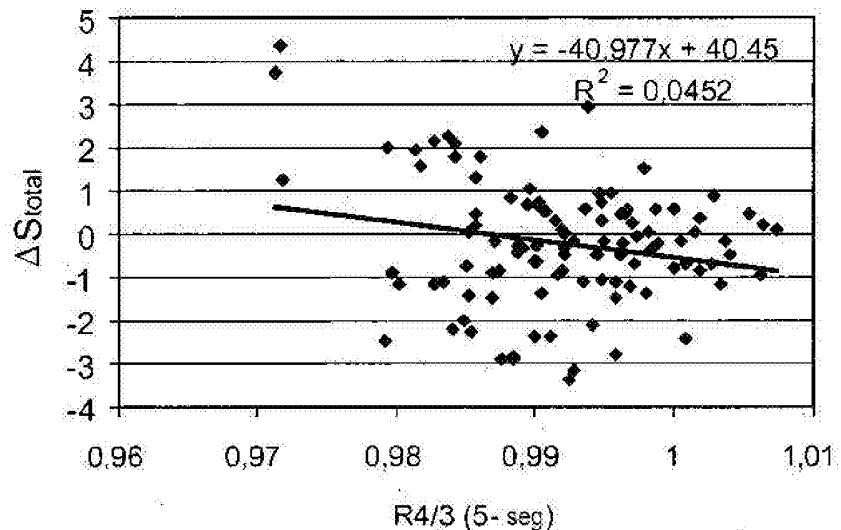


Fig. 6E

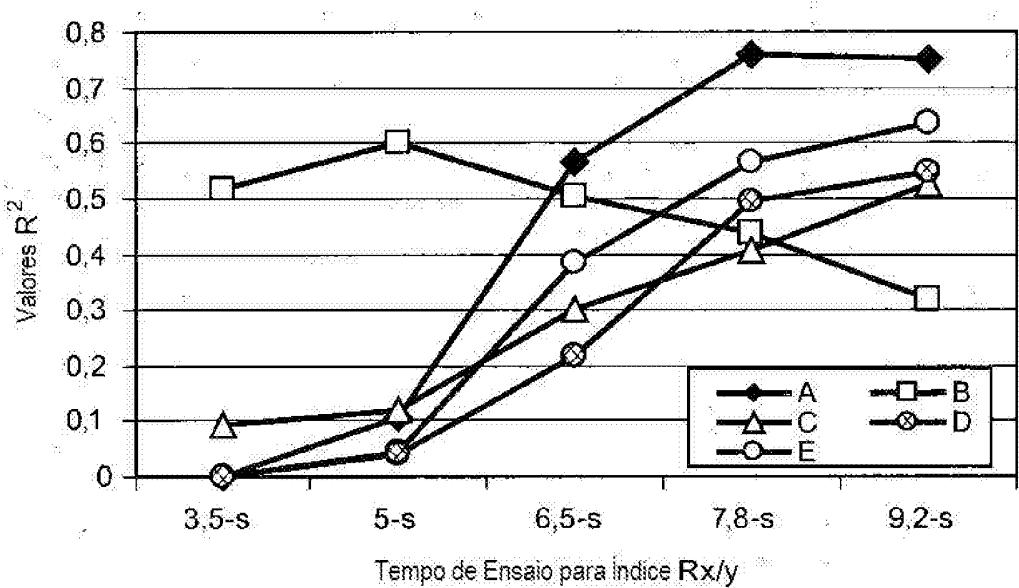


Fig. 7

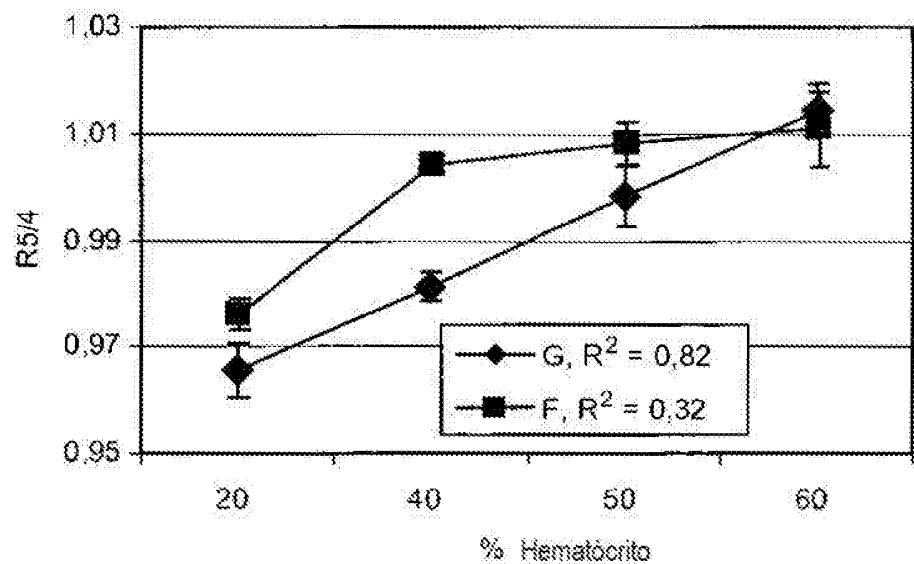


Fig. 8

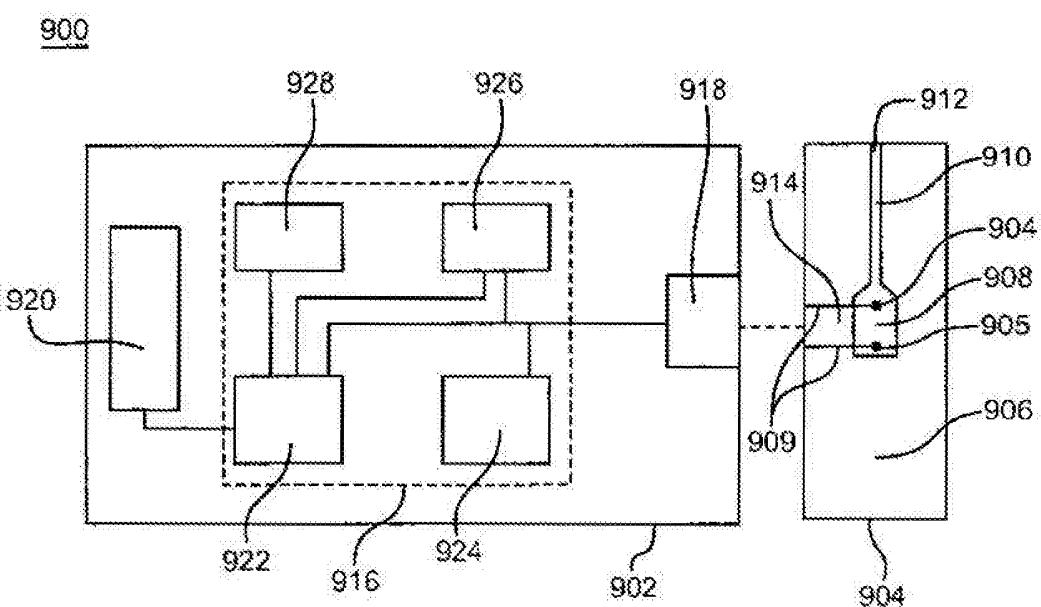


Fig. 9