

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 215**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/00 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.12.2009** **E 09775437 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015** **EP 2373805**

54 Título: **Composiciones de reactivo de bajo contenido salino total y sistemas para biosensores**

30 Prioridad:

08.12.2008 US 201242 P

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

29.12.2015

73 Titular/es:

BAYER HEALTHCARE LLC (100.0%)
100 Bayer Boulevard
Whippany, NJ 07981-0915, US

72 Inventor/es:

CHU, AMY H.;
WU, HUAN-PING y
ZHU, BORU

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 555 215 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de reactivo de bajo contenido salino total y sistemas para biosensores

Referencia a solicitudes relacionadas**Antecedentes**

- 5 Los biodetectores proporcionan un análisis de un fluido biológico, tal como sangre completa, suero, plasma, orina, saliva, fluido intersticial o intracelular. Típicamente, los biodetectores tienen un dispositivo de medición que analiza una muestra que reside en un detector de ensayo. La muestra habitualmente está en forma líquida y puede ser un fluido biológico o un derivado de un fluido biológico, tal como un extracto, una dilución, un filtrado, o un precipitado reconstituido. El análisis realizado por el biodetector determina la presencia y/o concentración de uno o más analitos en el fluido biológico. Ejemplos de analitos incluyen alcohol, glucosa, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina, ácidos grasos libres, triglicéridos, proteínas, cetonas, fenilalanina, o enzimas. El análisis puede ser útil en el diagnóstico y tratamiento de anomalías fisiológicas. Por ejemplo, un individuo diabético puede usar un biodetector para determinar el nivel de glucosa en sangre completa, y esta información puede usarse en el ajuste de la dieta y/o medicación del individuo.
- 10
- 15 Los biodetectores pueden diseñarse para analizar uno o más analitos y pueden usarse diferentes volúmenes de muestra. Algunos biodetectores pueden analizar una única gota de sangre completa, tal como de 0,25-15 microlitros (μl) de volumen. Los biodetectores pueden implementarse usando dispositivos de medición de mesa, portátiles, y similares. Los dispositivos de medición portátiles pueden ser manuales y permitir la identificación y/o cuantificación de uno o más analitos en una muestra. Ejemplos de dispositivos de medición portátiles incluyen los medidores
- 20 Ascensia Breeze® y Elite® de Bayer HealthCare en Tarrytown, Nueva York, mientras que ejemplos de dispositivos de medición de mesa incluyen la Electrochemical Workstation disponible en CH Instruments en Austin, Texas. Los biodetectores que proporcionan tiempos de análisis más cortos, suministrando al mismo tiempo la exactitud y/o precisión deseadas, proporcionan un beneficio sustancial al usuario.
- 25 En biodetectores electroquímicos, se determina la concentración de analito a partir de una señal eléctrica generada por una reacción de oxidación/reducción o redox del analito, o de una especie sensible al analito, cuando se aplica una señal de entrada a la muestra. La señal de entrada puede aplicarse como un único impulso eléctrico o en múltiples impulsos, secuencias, o ciclos. Una oxidorreductasa, tal como una enzima o especie similar, puede añadirse a la muestra para potenciar la transferencia de electrones desde la primera especie hasta una segunda especie durante la reacción redox. La enzima o especie similar puede reaccionar con un único analito,
- 30 proporcionando por tanto especificidad a una parte de la señal de salida generada.
- Los biodetectores electroquímicos habitualmente incluyen un dispositivo de medición que tiene contactos eléctricos que conectan con conductores eléctricos en el detector de ensayo. El detector de ensayo puede adaptarse para su uso fuera, dentro, o parcialmente dentro de un organismo vivo. Cuando se usa fuera de un organismo vivo, se introduce una muestra del fluido biológico en un depósito de muestra en el detector de ensayo. El detector de ensayo puede colocarse en el dispositivo de medición antes, después, o durante la introducción de la muestra para análisis. Cuando está dentro o parcialmente dentro de un organismo vivo, el detector de ensayo puede sumergirse continuamente en la muestra, o la muestra puede introducirse de forma intermitente en el detector de ensayo. El detector de ensayo puede incluir un depósito que aísla parcialmente un volumen de la muestra, o el detector de ensayo puede estar abierto a la muestra. Asimismo, la muestra puede fluir de forma continua a través del detector de ensayo o puede interrumpirse para el análisis.
- 35
- 40 Para biodetectores electroquímicos, los conductores pueden estar hechos de materiales conductores, tales como metales sólidos, pastas metálicas, carbono conductor, pastas de carbono conductor, polímeros conductores, y similares. Los conductores eléctricos típicamente conectan con electrodos de trabajo, contadores, de referencia, y/u otros que se extienden al interior de un depósito de muestra. Uno o más conductores eléctricos también pueden extenderse al interior del depósito de muestra para proporcionar funcionalidad no proporcionada por los electrodos.
- 45
- El detector de ensayo puede formarse disponiendo o imprimiendo electrodos en un sustrato aislante usando múltiples técnicas, tales como las descritas en las patentes de Estados Unidos N° 6.531.040; 5.798.031; y 5.120.420. Los electrodos pueden formarse disponiendo una o más composiciones de reactivo en uno o más de los conductores. Más de uno de los conductores pueden recubrirse por la misma composición de reactivo, tal como cuando los electrodos de trabajo y contadores se recubren por la misma composición. Pueden usarse múltiples técnicas conocidas para los expertos en la materia para disponer la composición de reactivo sobre el detector de ensayo. La composición de reactivo puede disponerse sobre los conductores como un fluido de reactivo y después secarse. Cuando la muestra se introduce al detector de ensayo, la composición de reactivo comienza a rehidratarse.
- 50
- Pueden disponerse diferentes composiciones de reactivo sobre los conductores. Por tanto, la composición de reactivo del electrodo de trabajo puede contener la enzima, el mediador, y un aglutinante mientras que la composición de reactivo del electrodo contador contiene un mediador, que podría ser igual o diferente al mediador del electrodo de trabajo, y un aglutinante. La composición de reactivo puede incluir un agente ionizante para facilitar la oxidación o reducción del analito, tal como una oxidorreductasa, así como cualquier mediador u otra sustancia que
- 55

ayude a la transferencia de electrones entre el analito y el electrodo de trabajo. Además de unir los reactivos juntos, el aglutinante puede ayudar a filtrar glóbulos rojos, evitar que curvan la superficie del conductor, y estabilizar la oxidoreductasa, por ejemplo.

Cuanto antes se obtenga una señal de salida desde el detector de ensayo, donde la concentración del analito puede determinarse de forma precisa a partir de la señal de salida, antes podrá completarse el análisis. Por tanto, los biodetectores que incluyen composiciones de reactivo que proporcionan tiempos de análisis más cortos, suministrando al mismo tiempo la exactitud y/o precisión deseadas, pueden proporcionar un beneficio sustancial al usuario.

El rendimiento de medición de un sistema biodetector se define en términos de exactitud y/o precisión. Aumentos en la exactitud y/o precisión proporcionan una mejora en el rendimiento de medición del sistema. La exactitud puede expresarse en términos de sesgo de la lectura de analito del sistema detector en comparación con una lectura de analito de referencia, representando mayores valores de sesgo menos exactitud. La precisión pueden expresarse en términos de dispersión o varianza del sesgo entre múltiples lecturas de analito en relación a una media. El sesgo es la diferencia entre uno o más valores determinados a partir del sistema biodetector y uno o más valores de referencia aceptados para la concentración de analito en el fluido biológico. Por tanto, uno o más errores en el análisis medido producen el sesgo de la concentración de analito determinada de un sistema biodetector. El sesgo puede expresarse en términos de "sesgo absoluto" o "sesgo porcentual". El sesgo absoluto puede expresarse en las unidades de la medición, tales como mg/dl, mientras que el sesgo porcentual puede expresarse como un porcentaje del valor de sesgo absoluto sobre el valor de referencia. Los valores de referencia aceptados pueden obtenerse con un instrumento de referencia, tal como el YSI 2300 STAT PLUS™ disponible en YSI Inc., Yellow Springs, Ohio.

Los sistemas biodetectores pueden proporcionar una señal de salida durante el análisis del fluido biológico que incluye uno o múltiples errores. Estos errores pueden reflejarse en una señal de salida anormal, tal como cuando una o más partes o la señal de salida completa es no sensible o inapropiadamente sensible a la concentración de analito de la muestra. Estos errores pueden ser de uno o más contribuyentes, tales como las características físicas de la muestra, los aspectos ambientales de la muestra, las condiciones de funcionamiento del sistema, las sustancias interferentes, y similares. Las características físicas de la muestra incluyen la concentración de hematocrito (glóbulos rojos) y similares. Los aspectos ambientales de la muestra incluyen temperatura y similares. Las condiciones de funcionamiento del sistema incluyen condiciones de sub-llenado cuando el tamaño de la muestra no es suficientemente grande, llenado lento de la muestra, contacto eléctrico intermitente entre la muestra y uno o más electrodos en el detector de ensayo, degradación de los reactivos que interactúan con el analito, y similares. Las sustancias interferentes incluyen ácido ascórbico, ácido úrico, acetaminofeno, y similares. Puede haber otros contribuyentes o una combinación de contribuyentes que causan errores.

Muchos sistemas biodetectores incluyen uno o más procedimientos para corregir errores asociados con un análisis. Los valores de concentración obtenidos a partir de un análisis con un error pueden ser inexactos. Por tanto, la capacidad de corregir estos análisis inexactos puede aumentar la exactitud de los valores de concentración obtenidos. Un sistema de corrección de errores puede compensar uno o más errores, tales como una temperatura de muestra o contenido de hematocrito de la muestra, que sean diferentes de una temperatura de referencia o valor de hematocrito de referencia. Por ejemplo, los sistemas biodetectores convencionales pueden configurarse para informar de concentraciones de glucosa que suponen un 40% (v/v) de contenido de hematocrito para una muestra de sangre completa, independientemente del contenido real de hematocrito de la muestra. En estos sistemas, cualquier medición de glucosa realizada sobre una muestra de sangre que contenga menos de o más del 40% de hematocrito incluirá errores y por tanto tendrá un sesgo atribuible al efecto hematocrito.

El documento WO 2008/036516 se refiere a tiras detectoras electroquímicas y procedimientos para determinar la concentración de un analito en una muestra o mejorar el rendimiento de una determinación de concentración. Las tiras detectoras electroquímicas pueden incluir como máximo $8 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un mediador. Las tiras, la capa reactiva de la tira, o los procedimientos pueden proporcionar la determinación de un valor de concentración que tiene al menos uno de un sesgo de estabilidad de menos de $\pm 10\%$ después de almacenamiento a 50°C durante 4 semanas en comparación con una tira de comparación almacenada a 20°C durante 4 semanas, un sesgo de hematocrito de menos de $\pm 10\%$ para muestras de sangre completa incluyendo del 20 al 60% de hematocrito, y una relación de intersección a pendiente de como máximo 20 mg/dl.

Por consiguiente, existe una necesidad continua de sistemas biodetectores mejorados, especialmente aquellos que pueden proporcionar determinaciones cada vez más exactas y/o precisas de la concentración del analito en la muestra. Además, existe una necesidad de sistemas biodetectores mejorados que puedan proporcionar tiempos de análisis cada vez más cortos, suministrando al mismo tiempo la exactitud y/o precisión deseadas. Los sistemas y detectores de ensayo de la presente invención superan al menos una de las desventajas asociadas con sistemas biodetectores convencionales.

Sumario

Se desvela un sistema biodetector para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye un medio de reacción para realizar de forma selectiva una reacción redox de un analito, y un medio de medición para

medir velocidad de la reacción redox del analito. El medio de reacción incluye un aglutinante; una sal tamponante; un mediador incluyendo como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; y un sistema enzimático. El medio de medición incluye al menos dos conductores. El medio de medición mide un valor de señal de salida a partir del medio de reacción a un rendimiento cinético máximo dentro de como máximo 7 segundos de introducción de una muestra al medio de reacción, donde el valor de señal de salida es sensible a la concentración del analito en la muestra, y el medio de medición determina al menos un valor ΔS sensible a al menos un parámetro de error. El medio de medición determina adicionalmente la concentración de analito en la muestra a partir de una ecuación de compensación que incluye al menos una correlación de referencia y el al menos un valor ΔS , donde la ecuación de compensación tiene un valor R^2 de al menos 0,5.

- 10 Se desvela un detector de ensayo para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye al menos conductores, donde uno de los conductores es un electrodo de trabajo, y una composición de reactivo dispuesta sobre o cerca del electrodo de trabajo. La composición de reactivo tiene un área superficial promedio de composición de reactivo e incluye un aglutinante; una sal tamponante a una concentración de como máximo 9,54 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo; un mediador a una concentración de como máximo 4,76 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, donde el mediador incluye como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; un sistema enzimático; y un tensioactivo no iónico.

- 20 Se desvela un detector de ensayo para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye al menos dos conductores, donde uno de los conductores es un electrodo de trabajo; un depósito que tiene un volumen de depósito; y una composición de reactivo dispuesta sobre o cerca del electrodo de trabajo. La composición de reactivo incluye un aglutinante; una sal tamponante a una concentración de como máximo 67 nmol por μl del volumen de depósito; un mediador a una concentración de como máximo 40 nmol por μl del volumen de depósito, donde el mediador incluye como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; un sistema enzimático; y un tensioactivo no iónico.

- 25 Se desvela un detector de ensayo para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye al menos dos conductores, donde uno de los conductores es un electrodo de trabajo que tiene un área de electrodo de trabajo, y una composición de reactivo dispuesta sobre o cerca del electrodo de trabajo. La composición de reactivo incluye un aglutinante; una sal tamponante a una concentración de como máximo 167 nmol por mm^2 del área de electrodo de trabajo; un mediador a una concentración de como máximo 80 nmol por mm^2 del área de electrodo de trabajo, donde el mediador incluye como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; un sistema enzimático; y un tensioactivo no iónico.

- 30 Se desvela un procedimiento para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye introducir una muestra acuosa que incluye al menos un analito en una composición de reactivo, rehidratar la composición de reactivo con la muestra acuosa; aplicar una señal de entrada entre conductores, proporcionando la muestra comunicación eléctrica entre el analito, la composición de reactivo, y los conductores; y determinar la concentración de uno o más analitos en la muestra a partir de uno o más valores de señal de salida, midiéndose los valores de señal de salida desde los conductores en como máximo 7 segundos desde la introducción de la muestra acuosa en la composición de reactivo. La composición de reactivo tiene un área superficial promedio de composición de reactivo y puede incluir un aglutinante; una sal tamponante presente a una concentración de como máximo 9,54 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo; un mediador presente a una concentración de como máximo 4,76 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, donde el mediador incluye como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; un sistema enzimático; y un tensioactivo no iónico.

- 45 Se desvela un procedimiento para determinar la concentración de un analito en una muestra que incluye generar al menos un valor de señal de salida sensible a la concentración del analito en la muestra, determinar al menos un valor ΔS a partir de al menos un parámetro de error, compensar el al menos un valor de señal de salida con al menos una correlación de referencia y al menos un valor ΔS , y determinar la concentración de analito en la muestra a partir del al menos un valor de señal de salida.

- 50 Se desvela un fluido de reactivo para formar la composición de reactivo que incluye agua; un aglutinante; una sal tamponante presente a una concentración de como máximo 115 mM; un mediador presente a una concentración de como máximo 90 mM, donde el mediador incluye como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; un sistema enzimático; y un tensioactivo no iónico. El fluido puede tener un pH de 4,5 a 7,5.

Breve descripción de los dibujos

La invención puede entenderse mejor con referencia a los siguientes dibujos y descripción. Los componentes en las figuras no están necesariamente a escala, en su lugar se da énfasis a ilustrar los principios de la invención.

- 55 La FIG. 1A es una representación en perspectiva de un detector de ensayo ensamblado.

La FIG. 1B es una representación en vista superior del detector de ensayo de la FIG. 1A, con la tapa retirada.

La FIG. 2 es una representación en vista del extremo del detector de ensayo de la FIG. 1B.

La FIG. 3 representa un procedimiento analítico electroquímico para determinar la presencia y/o concentración de un analito en una muestra en contacto con una composición de reactivo de bajo contenido salino total.

La FIG. 4 representa las señales de salida desde un detector de ensayo para una muestra de sangre completa que tiene una concentración de glucosa de 400 mg/dl y que tiene un contenido de hematocrito del 70%.

5 La FIG. 5A representa un gráfico de tiempos máximos para detectores de ensayo que tienen las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1, en contacto con muestras de sangre que contienen 50 mg/dl de glucosa y que tienen diferentes niveles de hematocrito.

10 La FIG. 5B representa un gráfico de tiempos máximos para detectores de ensayo que tienen las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1, en contacto con muestras de sangre que contienen 100 mg/dl de glucosa y que tienen diferentes niveles de hematocrito.

La FIG. 6A representa un gráfico de las correlaciones de ΔS_{total} para muestras como una función de un índice de relación simple, medido a los 5 segundos después de poner en contacto un detector de ensayo que tiene composición de reactivo **A** con la muestra.

15 La FIG. 6B representa un gráfico de las correlaciones de ΔS_{total} para muestras como una función de un índice de relación simple, medido a los 5 segundos después de poner en contacto un detector de ensayo que tiene composición de reactivo **B** con la muestra.

La FIG. 6C representa un gráfico de las correlaciones de ΔS_{total} para muestras como una función de un índice de relación simple, medido a los 5 segundos después de poner en contacto un detector de ensayo que tiene composición de reactivo **C** con la muestra.

20 La FIG. 6D representa un gráfico de las correlaciones de ΔS_{total} para muestras como una función de un índice de relación simple, medido a los 5 segundos después de poner en contacto un detector de ensayo que tiene composición de reactivo **D** con la muestra.

25 La FIG. 6E representa un gráfico de las correlaciones de ΔS_{total} para muestras como una función de un índice de relación simple, medido a los 5 segundos después de poner en contacto un detector de ensayo que tiene composición de reactivo **E** con la muestra.

La FIG. 7 representa gráficos de los valores R^2 a 21,8°C como una función del tiempo de ensayo para detectores de ensayo que tienen las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1.

La FIG. 8 representa un gráfico de los índices $R5/4$ a 16°C como una función de los niveles de hematocrito para composiciones de reactivo de bajo contenido salino total **F** y **G**.

30 La FIG. 9 representa una representación esquemática de un biodetector que determina una concentración de analito en una muestra de un fluido biológico usando una señal de entrada amperométrica de interrupción.

Descripción detallada

35 Se desvela una composición de reactivo para un detector de ensayo que incluye una concentración inferior de sal total que las composiciones convencionales de reactivo para detectores de ensayo. La concentración total de sal en las composiciones de reactivo de bajo contenido salino total, incluyendo sal tamponante y sal inorgánica de metal no de transición, puede ser la mitad o menos de la concentración total de las sales en un detector convencional. Las composiciones de reactivo de bajo contenido salino total pueden incluir un tensioactivo no iónico, y pueden incluir adicionalmente un tensioactivo iónico.

40 La señal de salida desde un detector de ensayo que incluye una composición de reactivo de bajo contenido salino total puede correlacionarse de forma exacta con la concentración de analito de muestras de sangre completa sobre un amplio intervalo de contenidos de hematocrito. Esto es una mejora sustancial sobre detectores de ensayo convencionales que tienen concentraciones mayores de sal total en la composición de reactivo, que pueden proporcionar mediciones exactas sobre un intervalo más estrecho de contenido de hematocrito.

45 La señal de salida desde un detector de ensayo que incluye a composición de reactivo de bajo contenido salino total puede correlacionarse de forma exacta con la concentración de analito de una muestra en aproximadamente siete segundos. Esto es una mejora sustancial sobre detectores de ensayo convencionales que tienen concentraciones mayores de sal total en la composición de reactivo, que pueden requerir más de siete segundos para proporcionar una señal de salida para una correlación exacta con la concentración de analito de la muestra.

50 Las FIG. 1A y 1B representan un detector de ensayo **100**. La FIG. 1A es una representación en perspectiva del detector de ensayo ensamblado **100** que incluye una base de detector **110** al menos parcialmente cubierto por una tapa **120**, y que incluye un orificio de ventilación **130**, un área de cobertura de muestra **140**, y una abertura final de entrada **150**. Hay un depósito parcialmente enclaustrado **160** formado entre la base **110** y la tapa **120**. Pueden usarse otros diseños de detector de ensayo.

Puede transferirse una muestra líquida para análisis al interior del depósito **160** introduciendo el líquido en la abertura **150**. El líquido llena el depósito **160** expulsando al mismo tiempo el aire previamente contenido a través del orificio de ventilación **130**. El depósito **160** puede contener una composición de retención (no mostrada) que ayuda en la retención de la muestra líquida en el depósito. Ejemplos de composiciones de retención incluyen polímeros que se hinchan de agua, tales como carboximetil celulosa y polietilenglicol; y matrices poliméricas porosas, tales como dextrano y poliácridamida.

La FIG. 1B representa una vista desde arriba del detector de ensayo **100**, con la tapa **120** retirada. Los conductores **170** y **180** pueden discurrir bajo una capa dieléctrica **190** desde una interfaz **155** de dispositivo de medición hasta un electrodo de trabajo **175** y un electrodo contador **185**, respectivamente. Los electrodos de trabajo y contadores **175**, **185** puede estar sustancialmente en el mismo plano, como se representa en la figura, o en diferentes planos (no mostrado). Los electrodos de trabajo y contadores **175**, **185** pueden estar separados de una parte superior de la tapa **120** por al menos 100 μm . La capa dieléctrica **190** puede cubrir parcialmente los electrodos **175**, **185** y puede estar hecha de cualquier material dieléctrico adecuado, tal como un polímero aislante.

El electrodo contador **185** puede soportar la actividad electroquímica en el electrodo de trabajo **175** del detector de ensayo **100**. El potencial de soportar la actividad electroquímica en el electrodo de trabajo **175** puede proporcionarse al sistema detector formando el electrodo contador **185** a partir de un material inerte, tal como carbono, e incluyendo una especie redox soluble, tal como un mediador de ferricianuro, dentro del depósito **160**. El potencial en el electrodo contador **185** puede ser un potencial de referencia conseguido formando el electrodo contador **185** a partir de un par redox, tal como Ag/AgCl, para proporcionar un electrodo combinado de referencia-contador. Como alternativa, el detector de ensayo **100** puede estar provisto con un tercer conductor y electrodo (no mostrado) para proporcionar un potencial de referencia al sistema detector.

El área del electrodo de trabajo **175** puede ser igual que el área del electrodo contador **185**, o uno de los electrodos puede tener un área mayor que el otro electrodo. Actualmente se prefiere que el área del electrodo de trabajo sea más pequeña que el área del electrodo contador. Preferentemente la relación del área del electrodo contador al área del electrodo de trabajo es al menos 1, más preferentemente al menos 1,1, más preferentemente al menos 1,2, más preferentemente al menos 1,3, más preferentemente al menos 1,4, y más preferentemente al menos 1,5.

La FIG. 2 representa un diagrama en vista del extremo del detector de ensayo de la FIG. 1B que muestra las estructuras de capas del electrodo de trabajo **175** y el electrodo contador **185**. Los conductores **170** y **180** pueden disponerse directamente sobre la base **110**. Las capas superficiales **270** y **280** de conductor opcionalmente pueden disponerse sobre los conductores **170** y **180**, respectivamente. Las capas superficiales **270**, **280** de conductor pueden estar hechas de los mismos materiales o de diferentes materiales que los conductores **170**, **180**.

El material o materiales usados para formar los conductores **170**, **180** y las capas superficiales **270**, **280** de conductor pueden incluir cualquier conductor eléctrico. Los conductores eléctricos preferibles son no ionizantes, de modo que el material no experimente una oxidación neta o una reducción neta durante el análisis de la muestra. Los conductores **170**, **180** preferentemente incluyen una capa fina de una pasta metálica o metal, tal como oro, plata, platino, paladio, cobre, o tungsteno. Las capas superficiales **270**, **280** de conductor preferentemente incluyen carbono, oro, platino, paladio, o combinaciones de los mismos. Si una capa superficial de conductor no está presente en un conductor, el conductor se fabrica preferentemente de un material no ionizante.

El material conductor superficial puede disponerse sobre los conductores **170**, **180** mediante cualquier medio convencional compatible con el funcionamiento del detector de ensayo, incluyendo deposición de láminas, deposición química por vapor, deposición en suspensión, y similares. En el caso de deposición en suspensión, la mezcla puede aplicarse como una tinta a los conductores **170**, **180**, como se describe en la patente de Estados Unidos N° 5.798.031, por ejemplo.

Las composiciones de reactivo **275** y **285** pueden disponerse sobre o cerca de los conductores **170** y **180**, respectivamente. El término "sobre" se define como "encima" y es relativo a la orientación que se describe. Por ejemplo, si un primer elemento se deposita sobre al menos una parte de un segundo elemento, se dice que el primer elemento está "sobre" el segundo. En otro ejemplo, si un primer elemento está presente encima de al menos una parte de un segundo elemento, se dice que el primer elemento está "sobre" el segundo. El uso del término "sobre" no excluye la presencia de sustancias entre los elementos superior e inferior que se están describiendo. Por ejemplo, un primer elemento puede tener un recubrimiento sobre su superficie superior, pero un segundo elemento sobre al menos una parte del primer elemento y su recubrimiento superior pueden describirse como "sobre" el primer elemento. Por tanto, el uso del término "sobre" puede indicar o no que los dos elementos referidos están en contacto físico.

Las composiciones de reactivo incluyen reactivos y un aglutinante. El aglutinante incluye al menos un material polimérico que es sustancialmente soluble en agua, y opcionalmente pueden incluir partículas porosas sustancialmente insolubles en agua. Las partículas porosas pueden proporcionar estructura física adicional al material polimérico. El aglutinante puede formar un gel o material tipo gel cuando se hidrata por la muestra. Puede disponerse una capa opcional **290** sobre el conductor **170** y/o el conductor superficial **270**. La capa opcional **290** puede carecer de uno o más constituyentes de la composición de reactivo **275**.

Las composiciones de reactivo **275** y **285** pueden incluir los mismos o diferentes reactivos. Cuando incluyen los mismos reactivos, las composiciones de reactivo **275** y **285** pueden ser la misma composición. Cuando incluyen diferentes reactivos, los reactivos presentes en la primera composición **275** pueden seleccionarse para su uso con el electrodo de trabajo **175**, mientras que los reactivos presentes en la segunda composición **285** pueden seleccionarse para su uso con el electrodo contador **185**. Por ejemplo, los reactivos en la composición **285** pueden incluir un mediador para facilitar el flujo libre de electrones entre la muestra y el conductor **180**. Asimismo, los reactivos en la composición **275** pueden incluir un sistema enzimático y opcionalmente un mediador para facilitar la reacción del analito.

El sistema enzimático incluido en la composición de reactivo **275** puede ser específico para el analito y puede facilitar la reacción del analito potenciando al mismo tiempo la especificidad del sistema detector para el analito, especialmente en muestras biológicas completas. El sistema enzimático puede incluir una o más enzimas, cofactores, y/u otros restos que participan en una reacción redox con el analito. Por ejemplo, puede usarse una alcohol oxidasa para proporcionar un detector de ensayo que sea sensible a la presencia de alcohol en una muestra. Dicho sistema podría ser útil en la medición de concentración de alcohol en la sangre. En otro ejemplo, puede usarse la glucosa deshidrogenasa o glucosa oxidasa para proporcionar un detector de ensayo que sea sensible a la presencia de glucosa en una muestra. Este sistema podría ser útil en la medición de concentraciones de glucosa en la sangre, por ejemplo en pacientes que se sabe o se sospecha que tienen diabetes.

Las composiciones de reactivo **275**, **285** pueden disponerse por cualquier medio conveniente, tal como impresión, deposición líquida, o deposición por inyección de tinta. Por ejemplo, uno o más fluidos de reactivo pueden depositarse sobre el detector de ensayo, y el fluido o fluidos de reactivo pueden secarse para formar las composiciones de reactivo **275**, **285**. Ejemplos de dispositivos y procedimientos para depositar un fluido de reactivo sobre un electrodo de un detector de ensayo se desvelan, por ejemplo, en la publicación de patente de Estados Unidos US 2009/0145756 A1, con solicitante Boru Zhu et al.

Una diversidad de factores pueden afectar a las dimensiones resultantes de las composiciones de reactivo **275**, **285**. Ejemplos de dichos factores incluyen la viscosidad de un fluido de reactivo que se está aplicando, el tamaño de filtro y la combinación de emulsión, y las dimensiones de los elementos del detector sobre los cuales se deposita el fluido de reactivo. Cuando se prefieren composiciones de reactivo más finas, pueden usarse procedimientos diferentes a la impresión, tales como micro-pipeteo, inyección de tinta o deposición en clavija. Estos procedimientos típicamente dan a las composiciones de reactivo secas un grosor micrométrico o sub-micrométrico, tal como 1-10 μm . Por ejemplo, los procedimientos de deposición en clavija pueden proporcionar grosores promedio de composición de reactivo de 1 μm . El grosor de la composición de reactivo resultante de la deposición en clavija, por ejemplo, puede controlarse mediante la cantidad de aglutinante incluida en la composición de reactivo, proporcionando un contenido mayor de aglutinante composiciones de reactivo más gruesas.

Los ingredientes de una composición de reactivo, tal como **275**, **285**, pueden cuantificarse respecto a las dimensiones de la composición, o los ingredientes pueden cuantificarse respecto a otra dimensión de un detector sobre el cual se dispone la composición, tal como el volumen de depósito o el área de electrodo de trabajo. En un ejemplo, un ingrediente de una composición de reactivo puede cuantificarse en términos de microgramos (μg), nanogramos (ng), nanomoles (nmol), o unidades enzimáticas (U) por milímetro cuadrado (mm^2) del área superficial de composición de reactivo, donde el área superficial de composición de reactivo es el área 2-dimensional de la composición de reactivo. En otro ejemplo, un ingrediente de una composición de reactivo puede cuantificarse en términos de microgramos (μg), nanomoles (nmol), o unidades enzimáticas (U) por microlitro (μl) del volumen de depósito. En otro ejemplo, un ingrediente de una composición de reactivo puede cuantificarse en términos de microgramos (μg), nanomoles (nmol), o unidades enzimáticas (U) por milímetros cuadrado (mm^2) del área de electrodo de trabajo.

Una composición de reactivo incluye un aglutinante. Los materiales poliméricos adecuados sustancialmente solubles en agua para su uso como aglutinante pueden incluir poli(óxido de etileno) (PEO), carboxi metil celulosa (CMC), alcohol polivinílico (PVA), hidroxietilén celulosa (HEC), hidroxipropil celulosa (HPC), etil hidroxietil celulosa, carboximetil etil celulosa, polivinil pirrolidona (PVP), poliaminoácidos tales como polilisina, sulfonato de poliestireno, gelatina, ácido acrílico, ácido metacrílico, sales de anhídrido maleico de los mismos, derivados de los mismos, y combinaciones de los mismos. Los materiales poliméricos incluyen monómeros, pre-polímeros, y otros materiales que forman o tienen unidades de repetición. Pueden usarse otros materiales poliméricos.

Entre estos materiales poliméricos, se prefieren PEO, PVA, CMC, y HEC, siendo HEC más preferido actualmente. Para HEC, se prefieren pesos moleculares promedio en peso (M_w) de aproximadamente 8.000 a aproximadamente 1.000.000, siendo M_w de aproximadamente 15.000 a aproximadamente 500.000 más preferidos, y siendo M_w de aproximadamente 90.000 a aproximadamente 300.000 más preferidos. Actualmente, se prefiere especialmente una mezcla de HEC que tiene M_w de aproximadamente 90.000 y de HEC que tiene M_w de aproximadamente 300.000.

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,14 a aproximadamente 0,43 μg de un aglutinante por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,17 a aproximadamente 0,38 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un aglutinante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,22 a aproximadamente 0,35 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un aglutinante. La composición de reactivo

preferentemente incluye de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 μg de un aglutinante por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 2,6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de un aglutinante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de un aglutinante. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 μg de un aglutinante por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más preferentemente incluye de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 6,5 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un aglutinante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 5,7 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un aglutinante.

La composición de reactivo opcionalmente incluye partículas porosas sustancialmente insolubles en agua. Preferentemente, si las partículas porosas están presentes en la composición de reactivo, se mantiene una relación de aproximadamente 1:10 (p/p) entre las partículas porosas y el aglutinante. Pueden usarse otras relaciones para proporcionar diferentes propiedades a la composición de reactivo. Ejemplos de partículas porosas para composiciones de reactivo se desvelan, por ejemplo, en la publicación de patente de Estados Unidos 2009/0178936 A1, con solicitante Boru Zhu.

La composición de reactivo incluye una sal tamponante. Cuando la composición de reactivo se pone en contacto con una muestra acuosa, la sal tamponante preferentemente mantiene el pH de la mezcla de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, más preferentemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. El pH preferido y la sal o sales tamponantes para la composición de reactivo pueden elegirse para mantener la actividad de la enzima. Actualmente se prefieren tampones basados en fosfato, pero pueden usarse otros. Preferentemente la sal tamponante incluye Na_2HPO_4 .

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 2,30 a aproximadamente 9,54 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de aproximadamente 2,80 a aproximadamente 6,43 nmol/ mm^2 de una sal tamponante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 3,40 a aproximadamente 4,77 nmol/ mm^2 de una sal tamponante. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 16 a aproximadamente 67 nmol de una sal tamponante por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de aproximadamente 20 a aproximadamente 45 nmol/ μl de una sal tamponante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 24 a aproximadamente 34 nmol/ μl de una sal tamponante. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 16 a aproximadamente 167 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más preferentemente incluye de aproximadamente 20 a aproximadamente 113 nmol/ mm^2 de una sal tamponante, y más preferentemente incluye de aproximadamente 24 a aproximadamente 84 nmol/ mm^2 de una sal tamponante.

La composición de reactivo incluye un mediador sustancialmente soluble en agua de uno o dos electrones. Los mediadores pueden separarse en dos grupos en base a su actividad electroquímica. Los mediadores de transferencia de un electrón son restos químicos capaces de captar un electrón adicional durante las condiciones de la reacción electroquímica, mientras que los mediadores de transferencia de dos electrones son restos químicos capaces de captar dos electrones adicionales durante las condiciones de la reacción. Ejemplos de mediadores de transferencia de un electrón incluyen compuestos, tales como 1,1'-dimetil ferroceno, ferrocianuro y ferricianuro, y hexaamina de rutenio(III) y rutenio(II).

Aunque pueden usarse otros mediadores, pueden preferirse mediadores de transferencia de dos electrones por su capacidad de transferir aproximadamente dos veces más electrones del sistema enzimático al electrodo de trabajo por la misma cantidad molar de mediador en relación a mediadores de transferencia de un electrón. Por tanto, en comparación con mediadores de transferencia de un electrón, pueden usarse cantidades más pequeñas de mediadores de transferencia de dos electrones en la composición de reactivo. Por ejemplo, la cantidad de un mediador de transferencia de dos electrones puede ser la mitad de la cantidad de un mediador de transferencia de un electrón.

Ejemplos de mediadores de transferencia de dos electrones incluyen las quinonas orgánicas e hidroquinonas, tales como fenatrolina quinona; fenotiazina y derivados de fenoxazina; 3-(fenilamino)-3H-fenoxazinas; fenotiazinas; y 7-hidroxi-9,9-dimetil-9H-acridin-2-ona y sus derivados. Mediadores de transferencia de dos electrones preferidos incluyen 3-fenilimino-3H-fenotiazinas (PIPT) y 3-fenilimino-3H-fenoxazinas (PIPO). Mediadores de transferencia de dos electrones más preferidos incluyen el ácido carboxílico o sal, tales como sales de amonio, de derivados de fenotiazina. Actualmente, los mediadores de transferencia de dos electrones especialmente preferidos incluyen ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-disulfónico, ácidos (E)-5-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)isofáltico, (E)-3-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)-5-carboxibenzoato de amonio, y combinaciones de los mismos. Ejemplos de mediadores de transferencia de dos electrones adicionales incluyen las moléculas orgánicas electro-activas descritas en las patentes de Estados Unidos N° 5.393.615; 5.498.542; y 5.520.786.

Los mediadores de transferencia de dos electrones enumerados anteriormente pueden incluir sal inorgánica de metal no de transición como impureza. La sal inorgánica de metal no de transición típicamente es una sal de metal alcalino o metal alcalino-térreo del ión sulfato, $[\text{SO}_4]^{2-}$. Por ejemplo, el ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-disulfónico puede incluir sal inorgánica de metal no de transición como impureza, con un porcentaje de masa respecto al mediador del 1% (p/p) al 50% (p/p), tal como del 3% (p/p) al 30% (p/p), del 4% (p/p) al 25% (p/p), y del 5% (p/p) al 21% (p/p).

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 1,70 a aproximadamente 4,76 nmol de un mediador por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de aproximadamente 2,30 a aproximadamente 5,14 nmol/ mm^2 de un mediador, y más preferentemente incluye de aproximadamente 2,80 a aproximadamente 4,00 nmol/ mm^2 de un mediador. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 12 a aproximadamente 40 nmol de un mediador por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de aproximadamente 16 a aproximadamente 36 nmol/ μl de un mediador, y más preferentemente incluye de aproximadamente 20 a aproximadamente 28 nmol/ μl de un mediador. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 12 a aproximadamente 100 nmol de un mediador por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más preferentemente incluye de aproximadamente 16 a aproximadamente 90 nmol/ mm^2 de un mediador, y más preferentemente incluye de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 nmol/ mm^2 de un mediador. La composición de reactivo preferentemente incluye como máximo 4,76 nmol de un mediador por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, como máximo 40 nmol de un mediador por μl del volumen de depósito, o como máximo 100 nmol de un mediador por mm^2 del área de electrodo de trabajo.

La composición de reactivo también incluye un sistema enzimático sustancialmente soluble en agua. Las enzimas preferibles para su uso en el sistema enzimático de la composición de reactivo incluyen alcohol deshidrogenasa, lactato deshidrogenasa, β -hidroxibutirato deshidrogenasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, glucosa deshidrogenasa, formaldehído deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, y 3-hidroxiesteroide deshidrogenasa. Los sistemas enzimáticos preferibles son independientes de oxígeno, por tanto no se oxidan sustancialmente por oxígeno.

Una de dicha familia de enzimas independientes de oxígeno es la glucosa deshidrogenasa (GDH). Usando diferentes co-enzimas o co-factores, puede medirse la GDH de un modo diferente por diferentes mediadores. Dependiendo de su asociación con GDH, un co-factor, tal como dinucleótido de flavina y adenina (FAD), puede mantenerse firmemente por la enzima que lo alberga, tal como en el caso de FAD-GDH; o un co-factor, tal como Pirroloquinolinaquinona (PQQ), puede unirse covalentemente a la enzima que lo alberga, tal como con PQQ-GDH. El co-factor en cada uno de estos sistemas enzimáticos puede mantenerse permanentemente por la enzima que lo alberga o la co-enzima y la apo-enzima pueden reconstituirse antes de añadir el sistema enzimático al fluido de reactivo. La co-enzima también puede añadirse independientemente al resto enzimático que la alberga en el fluido de reactivo para ayudar en la función catalítica de la enzima receptora, tal como en los casos de dinucleótido de nicotinamida y adenina NAD/NADH⁺ o dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina NADP/NADPH⁺.

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,3 unidades activas (U, especificadas por el fabricante) de un sistema enzimático por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,25 U/ mm^2 de un sistema enzimático, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,2 U/ mm^2 de un sistema enzimático. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,8 U de un sistema enzimático por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 1,6 U/ μl de un sistema enzimático, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 1,4 U/ μl de un sistema enzimático. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 U de un sistema enzimático por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 4 U/ mm^2 de un sistema enzimático, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 3,5 U/ mm^2 de un sistema enzimático.

La composición de reactivo incluye un tensioactivo no iónico. El tensioactivo puede ser cualquier tensioactivo no iónico que ayude en la formación de una suspensión coloidal de la viscosidad y estabilidad deseadas y que sea compatible con el procedimiento de deposición y análisis. Ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen tensioactivos basados en sacárido, tales como N-heptanoil-N-metilglucamina, N-octanoil-N-metil-glucamina, N-nonanoil-N-metilglucamina, N-decanoil-N-metilglucamina, octil β -D-glucopiranosido, hexil β -D-glucopiranosido, y *n*-heptil β -D-glucopiranosido. Actualmente, se prefieren los tensioactivos basados en sacárido tales como N-octanoil-N-metil-D-glucamina (vendido como MEGA 8 y disponible en DOJINDO, Gaithersburg, MD). Este tensioactivo incluye aproximadamente ocho unidades de oxietileno por molécula, por ejemplo. Otros tensioactivos preferidos son los tensioactivos neutros basados en etoxilato, tales como los tensioactivos de PEG-30 tetrametil decinodiol (SURFYNOL 485, por ejemplo, disponible en Air Products, Allentown, PA). Se prefieren tensioactivos que aumentan la velocidad de llenado de muestra del detector y/o ayudan a estabilizan el sistema enzimático.

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,04 a aproximadamente 0,24 μg de un tensioactivo no iónico por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,21 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un tensioactivo no iónico, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,09 a aproximadamente 0,18 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un tensioactivo no iónico. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,7 μg de un tensioactivo no iónico por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de un tensioactivo no iónico, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 1,3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de un tensioactivo no iónico. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4,3 μg de un tensioactivo no iónico por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más

preferentemente incluye de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3,8 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un tensioactivo no iónico, y más preferentemente incluye de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 3,2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de un tensioactivo no iónico.

La composición de reactivo opcionalmente incluye un tensioactivo aniónico. El tensioactivo puede ser cualquier tensioactivo aniónico que ayude en la formación de un perímetro bien definido de la composición de reactivo y que sea compatible con el procedimiento de deposición y el análisis. Ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen ésteres de fosfato, tales como etoxilato fosfatos de alquilfenol; sulfatos, tales como etoxilato sulfatos de alquilfenol; y sulfonatos, tales como alquil y heteroalquil sulfonatos. Ejemplos específicos de tensioactivos aniónicos incluyen los etoxilato fosfatos de nonilfenol Phospholan CS131 y Phospholan CS141, etoxilato sulfato de nonilfenol sódico (Witcolate D-51-53), metil cocoil taurato de sodio (Geropon TC-42) y dioctil sulfosuccinato de sodio.

La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 3 a 16 nanogramos (ng) de un tensioactivo aniónico por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, más preferentemente incluye de 4 a 12 ng/mm^2 de un tensioactivo aniónico, y más preferentemente incluye de 5,5 a 9 ng/mm^2 de un tensioactivo aniónico. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 20 a 140 ng de un tensioactivo aniónico por μl del volumen de depósito, más preferentemente incluye de 30 a 80 $\text{ng}/\mu\text{l}$ de un tensioactivo aniónico, y más preferentemente incluye de 35 a 60 $\text{ng}/\mu\text{l}$ de un tensioactivo aniónico. La composición de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente 10 a 350 ng de un tensioactivo aniónico por mm^2 del área de electrodo de trabajo, más preferentemente incluye de 30 a 220 ng/mm^2 de un tensioactivo aniónico, y más preferentemente incluye de 40 a 150 ng/mm^2 de un tensioactivo aniónico.

La composición de reactivo es una composición de reactivo de bajo contenido salino total, que tiene una concentración inferior de sal tamponante y/o una concentración inferior de otras sales que una composición de reactivo convencional. Preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 9,54 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, y como máximo un 20% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 6,43 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, y como máximo un 10% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 4,77 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área superficial de composición de reactivo, y como máximo un 5% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador.

Preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 67 nmol de una sal tamponante por μl del volumen de depósito, y como máximo un 20% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 45 nmol de una sal tamponante por μl del volumen de depósito, y como máximo un 10% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 34 nmol de una sal tamponante por μl del volumen de depósito, y como máximo un 5% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador.

Preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 167 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área de electrodo de trabajo, y como máximo un 20% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 113 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área de electrodo de trabajo, y como máximo un 10% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador. Más preferentemente la composición de reactivo de bajo contenido salino total incluye como máximo 84 nmol de una sal tamponante por mm^2 del área de electrodo de trabajo, y como máximo un 5% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador.

Se enumeran ejemplos de composiciones de reactivo en la Tabla 1, a continuación. Estas composiciones se dispusieron sobre los electrodos de trabajo y contadores de detectores de ensayo, donde el electrodo de trabajo tenía un diámetro promedio de aproximadamente 0,2 mm^2 a aproximadamente 0,5 mm^2 , y la relación del diámetro del electrodo contador al diámetro del electrodo de trabajo era al menos 1,2. El volumen de depósito de los detectores de ensayo era aproximadamente 0,5 μl . El diámetro promedio de cada una de las composiciones de reactivo era aproximadamente 2,1 mm, proporcionando un área superficial promedio de composición de reactivo de aproximadamente 3,5 mm^2 .

Tabla 1 - Composiciones de reactivo

	A	B	C	D	E
Mediator 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
Aglutinante HEC (300k)	0,83 μg	0,83 μg	0,83 μg	0,83 μg	0,83 μg
Sal tamponante Na_2HPO_4	33,4 nmol	16,7 nmol	33,4 nmol	25,1 nmol	16,7 nmol
Tensioactivo 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)benceno-1,4-disulfónico

* Incluye un 5% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

** Incluye un 20,6% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

Las composiciones de reactivo **A** y **B** enumeradas en la Tabla 1 eran composiciones de reactivo de bajo contenido salino total. Las composiciones **A** y **B** incluían como máximo 9,64 nmol de sal tamponante por mm² del área superficial de composición de reactivo, y el mediador en estas composiciones incluía menos del 20% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición. En contraste, las composiciones de reactivo **C**, **D** y **E** enumeradas en la Tabla 1 no eran composiciones de reactivo de bajo contenido salino total. Aunque las composiciones **C**, **D** y **E** incluían como máximo 9,64 nmol de sal tamponante por mm² del área superficial de composición de reactivo, el mediador en estas composiciones incluía más del 20% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición.

Se enumeran ejemplos de composiciones de reactivo de bajo contenido salino total en la Tabla 2, a continuación. Estas composiciones se dispusieron sobre los electrodos de trabajo y contadores de detectores de ensayo, donde el electrodo de trabajo tenía un diámetro promedio de aproximadamente 0,2 mm² a aproximadamente 0,5 mm², y la relación del diámetro del electrodo contador al diámetro del electrodo de trabajo era al menos 1,2. El volumen de depósito de los detectores de ensayo era aproximadamente 0,5 µl. El diámetro promedio de cada una de las composiciones de reactivo **F** y **G** era aproximadamente 2,3 mm, proporcionando un área superficial promedio de composición de reactivo de aproximadamente 4,2 mm². El diámetro promedio de cada una de las composiciones de reactivo **H** - **K** era aproximadamente 2,1 mm, proporcionando un área superficial promedio de composición de reactivo de aproximadamente 3,5 mm².

Tabla 2 - Composiciones de reactivo de bajo contenido salino total

	F	G	H	J	K
Mediator 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
Aglutinante HEC (300k)	1,28 µg	1,28 µg	0,4 µg	0,4 µg	0,4 µg
Aglutinante HEC (90k)	--	--	0,726 µg	0,726 µg	0,726 µg
Sal tamponante Na ₂ HPO ₄	25,5 nmol	25,5 nmol	22,5 nmol	22,5 nmol	22,5 nmol
Tensioactivo MEGA-8	0,5 µg	0,5 µg	0,45 µg	0,45 µg	0,45 µg
Tensioactivo iónico	--	Geropon ²	Geropon ²	Phospholan ³	Geropon ²
		0,07 µg	0,02 µg	0,043 µg	0,02 µg

¹ Ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benzeno-1,4-disulfónico, que incluye un 4% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

² Geropon TC-42 (metil cocoil taurato de sodio)

³ Phospholan CS131 (etoxilato fosfato de nonilfenol)

Las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1, anterior, se formaron por deposición y secado de fluidos de reactivo que tienen volúmenes depositados de 0,35 µl. Los fluidos de reactivo **A'** - **E'** usados para formar las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1 se enumeran en la Tabla 3, a continuación.

Tabla 3 - Fluidos de reactivo para composiciones de reactivo

	A'	B'	C'	D'	E'
Mediator ¹	40 mM *	40 mM *	40 mM **	40 mM **	40 mM **
Enzima FAD-GDH	2 U/µl	2 U/µl	2 U/µl	2 U/µl	2 U/µl
Aglutinante HEC (300k) (p/p)	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%
Sal tamponante Na ₂ HPO ₄	100 mM	50 mM	100 mM	75 mM	50 mM
Tensioactivo 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-disulfónico

* Incluye un 5% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

** Incluye un 20,6% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

Las composiciones de reactivo **F** y **G** enumeradas en la Tabla 2, anterior, se formaron por deposición y secado de fluidos de reactivo que tienen volúmenes depositados de 0,34 µl. Las composiciones de reactivo **H** - **K** enumeradas en la Tabla 2, anterior, se formaron por deposición y secado de fluidos de reactivo que tienen volúmenes depositados de 0,2 µl. Los fluidos de reactivo usados para formar las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1 se enumeran en la Tabla 4, a continuación.

Tabla 4 - Fluidos de reactivo para composiciones de reactivo

	F'	G'	H'	J'	K'
Mediator 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
Aglutinante HEC (300k) (p/p)	0,375%	0,375%	0,2%	0,2%	0,2%
Aglutinante HEC (90k) (p/p)	--	--	0,362%	0,362%	0,362%
Sal tamponante Na ₂ HPO ₄	75 mM	75 mM	112,5 mM	112,5 mM	112,5 mM
Tensioactivo MEGA-8 (p/p)	0,15%	0,15%	0,225%	0,225%	0,225%
Tensioactivo iónico (p/p)	--	Gerocon ² 0,02%	Gerocon ² 0,01%	Phospholan ³ 0,02%	Gerocon ² 0,01%

¹ Ácido (E)-2-(3H-fenotiazina-3-ilidenoamino)benceno-1,4-disulfónico, que incluye un 4% (p/p) de sal inorgánica de metal no de transición

² Gerocon TC-42 (metil cocoil taurato de sodio)

³ Phospholan CS131 (etoxilato fosfato de nonilfenol)

Un fluido de reactivo preferido puede proporcionarse combinando un aglutinante, una sal tamponante, un mediador, un tensioactivo, y un sistema enzimático. También pueden proporcionarse fluidos de reactivo preferidos que excluyen uno o ambos del mediador y el sistema enzimático. Después puede añadirse agua para formar una mezcla que tenga la estabilidad deseada. El fluido de reactivo puede incluir menos ingredientes o adicionales.

El fluido de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 1% (p/p) de un aglutinante, más preferentemente de aproximadamente el 0,2 a aproximadamente el 0,8% (p/p). Actualmente, un fluido de reactivo especialmente preferido incluye de aproximadamente el 0,3 a aproximadamente el 0,6% (p/p) del aglutinante. Si están presentes partículas porosas opcionales en el fluido de reactivo, se mantiene una relación de aproximadamente 1:10 (p/p) entre la suspensión de partículas porosas y el material polimérico. Pueden usarse otras relaciones para proporcionar diferentes viscosidades al fluido de reactivo. Se desvelan ejemplos de partículas porosas para fluidos de reactivo, por ejemplo, en la publicación de patente de Estados Unidos 2009/0178936.

El fluido de reactivo preferentemente incluye la sal tamponante para mantener el pH de la mezcla de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 7,5, más preferentemente de aproximadamente 6 a aproximadamente 7. El pH preferido y el tampón o tampones para el fluido de reactivo pueden elegirse para mantener la actividad de la enzima. La concentración de sal tamponante introducida al fluido de reactivo puede variar de aproximadamente 30 a aproximadamente 115 milimolar (mM). Preferentemente la concentración de sal tamponante introducida al fluido de reactivo es de aproximadamente 40 a aproximadamente 100 mM, más preferentemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 75 mM, más preferentemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 mM, y más preferentemente es como máximo 50 mM. Pueden usarse soluciones tamponantes que tienen otras concentraciones.

El fluido de reactivo puede incluir un mediador de transferencia de uno o dos electrones sustancialmente soluble en agua. La concentración de mediador en el fluido de reactivo puede variar de aproximadamente 25 a aproximadamente 90 mM. Preferentemente la concentración de sal tamponante introducida al fluido de reactivo es de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 mM, y más preferentemente de aproximadamente 35 a aproximadamente 40 mM. Preferentemente la cantidad de sal inorgánica de metal no de transición es como máximo del 20% (p/p) en el mediador. Más preferentemente la cantidad de sal inorgánica de metal no de transición es como máximo del 15% (p/p), como máximo del 10% (p/p), como máximo del 5% (p/p) en el mediador, y como máximo del 4% (p/p) en el mediador.

El fluido de reactivo también puede incluir un sistema enzimático sustancialmente soluble en agua que tiene un intervalo de actividad unitaria especificado por el fabricante de aproximadamente 1 unidades activas por microlitro (μl) del fluido de reactivo a aproximadamente 4 unidades activas por μl del fluido de reactivo, más preferentemente de aproximadamente 1,5 unidades activas por μl del fluido de reactivo a aproximadamente 2 unidades activas por μl del fluido de reactivo. Como el peso sólido de la enzima requerido para proporcionar una actividad unitaria específica puede variar sustancialmente por lote de formulación y fabricante, la actividad unitaria proporcionada por el fabricante para un peso específico del fluido de enzima seco se usa preferentemente para determinar la cantidad de adición.

El fluido de reactivo preferentemente incluye de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,7% (p/p) de un tensioactivo no iónico, más preferentemente de aproximadamente el 0,07 a aproximadamente el 0,5% (p/p). Actualmente, es especialmente preferido de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 0,3% (p/p) de un tensioactivo. El tensioactivo puede ser cualquier tensioactivo que ayude en la formación de una suspensión coloidal de la viscosidad y estabilidad deseadas y que sea compatible con el procedimiento de deposición y el análisis. El fluido de reactivo opcionalmente incluye de aproximadamente el 0,005 a aproximadamente el 0,03% (p/p) de un tensioactivo aniónico, más preferentemente de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 0,02% (p/p).

La FIG. 3 representa un procedimiento analítico electroquímico **300** para determinar la presencia y/o concentración de un analito en una muestra en contacto con una composición de reactivo de bajo contenido salino total. En **310**, la muestra se introduce en el biodetector que incluye la composición de reactivo de bajo contenido salino total. En **320**, el sistema biodetector genera una señal de salida en respuesta a una especie identificable por luz o una reacción de oxidación/reducción (redox) de un analito en una muestra de un fluido biológico. En **330**, el sistema biodetector mide la señal de salida. En **340**, se determina al menos un valor ΔS sensible a al menos un parámetro de error. En **350**, se determina la concentración de analito a partir de una ecuación de compensación que incluye al menos una correlación de referencia y al menos un valor ΔS . En **360**, la concentración puede presentarse, almacenarse, o similares.

En **310**, la muestra se introduce en la parte de detector del biodetector, tal como un detector de ensayo. El detector de ensayo incluye al menos un electrodo de trabajo y al menos un electrodo contador. Los electrodos pueden incluir una o más composiciones de reactivo, donde al menos una composición de reactivo es un fluido de reactivo de bajo contenido salino total. La misma composición de reactivo puede usarse en los electrodos de trabajo y contadores, o pueden usarse diferentes composiciones de reactivo para facilitar el funcionamiento de los electrodos. Por ejemplo, la composición de reactivo en el electrodo de trabajo puede facilitar la reacción del analito, por ejemplo, sistema enzimático y mediador, mientras que la composición de reactivo en el electrodo contador puede facilitar el flujo libre de electrones entre la muestra y la superficie del electrodo, por ejemplo una especie reducible.

Una parte del analito presente en la muestra se oxida o reduce química o bioquímicamente, tal como por una oxidorreductasa. Esto sucede cuando la muestra hidrata los reactivos en la composición de reactivo de bajo contenido salino total. Tras la oxidación o reducción, los electrones opcionalmente pueden transferirse entre el analito y un mediador. Por tanto, se forma una especie medible ionizada, tal como a partir del analito o un mediador.

En **320**, el sistema biodetector genera una señal de salida en respuesta a una reacción de oxidación/reducción (redox) de un analito en una muestra de un fluido biológico. La señal de salida puede generarse usando un sistema detector electroquímico. Una especie medible, que puede ser el analito cargado o el mediador cargado, se excita electroquímicamente (se oxida o reduce) con una señal de entrada. Las señales de entrada pueden ser señales eléctricas, tales como corriente o potencial, que impulsan o activan o desactivan una secuencia establecida. La señal de entrada es una secuencia de impulsos de excitación separados por relajaciones. Durante un impulso amperométrico, el potencial eléctrico aplicado durante la excitación se aplica preferentemente a un voltaje y polaridad sustancialmente constantes en toda su duración. Esto contrasta directamente con algunas excitaciones convencionales donde el voltaje se cambia o "arrastra" a través de múltiples potenciales de voltaje y/o polaridades durante el registro de datos.

Las señales de entrada pueden tener uno o más intervalo de impulso. Un intervalo de impulso es la suma de un impulso y la relajación que constituyen un ciclo de trabajo. Cada impulso tiene una amplitud y una anchura. La amplitud indica la intensidad del potencial, la corriente, o similares de la señal eléctrica. La amplitud puede variar o ser sustancialmente constante, tal como durante amperometría, durante el impulso. La anchura de impulso es el tiempo de duración del impulso. Las anchuras de impulso en una señal de entrada pueden variar o ser sustancialmente iguales. Cada relajación tiene una anchura de relajación, que es el tiempo de duración de la relajación. Las anchuras de relajación en una señal de entrada pueden variar o ser sustancialmente iguales.

Ajustando la anchura de la excitación y relajación de los ciclos de trabajo, las señales de entrada de interrupción pueden aumentar la exactitud y/o precisión del análisis. Las señales de entrada preferibles incluyen al menos 2, 3, 4, o 8 ciclos de trabajo aplicados durante menos de 2, 3, o 5 segundos. Más preferentemente, se aplican al menos 2 ciclos de trabajo en 3 segundos. Preferentemente, la anchura de cada impulso de excitación se selecciona independientemente entre 0,1 y 2 segundos y más preferentemente entre 0,2 y 1 segundo. Actualmente, las anchuras de impulso de señal de entrada especialmente preferidas se seleccionan independientemente entre 0,3 y 0,8 segundos. Los intervalos de impulso preferibles están en el intervalo de menos de 3, 2,5, o 1,5 segundos. Actualmente, son especialmente preferidas señales de entrada que tienen anchuras de impulso de 0,3 a 0,5 segundos e intervalos de impulso de 0,7 a 2 segundos. La señal de entrada puede tener otras anchuras e intervalos de impulso.

El biodetector puede generar una señal de salida en respuesta a la especie medible y la señal de entrada. La señal de salida, tal como uno o más valores de corriente, puede medirse de forma continua o intermitente y puede registrarse como una función del tiempo. Las señales de salida adecuadas pueden incluir aquellas que alcanzan un estado estacionario y aquellas que son transitorias. Se observan valores de corriente en estado estacionario cuando el cambio de corriente con respecto al tiempo es sustancialmente constante, tal como en ± 10 o $\pm 5\%$. Los valores de corriente transitoria decaen con respecto al tiempo.

Preferentemente, la muestra experimenta relajación. El dispositivo de medición puede abrir el circuito a través del detector de ensayo, permitiendo por tanto la relajación. Durante la relajación, la corriente presente durante la excitación se reduce sustancialmente en al menos una mitad, preferentemente en un orden de magnitud, y más preferentemente a cero. Preferentemente, se proporciona un estado de corriente cero por un circuito abierto u otro procedimiento conocido para los expertos en la materia para proporcionar un flujo de corriente sustancialmente cero. Preferentemente, la señal de salida no se registra durante la relajación.

Preferentemente, el biodetector continúa aplicando impulsos desde la señal de entrada hasta los electrodos de trabajo y contadores durante el periodo de tiempo deseado. El ciclo de trabajo que incluye la excitación y la relajación puede repetirse o puede aplicarse un ciclo de trabajo que tenga diferentes anchuras y/o intervalos de impulso.

En **330**, el sistema biodetector mide la señal de salida generada por el analito en respuesta a la señal de entrada aplicada a la muestra, tal como desde una reacción redox del analito. El sistema puede medir la señal de salida de forma continua o intermitente. Por ejemplo, un sistema biodetector puede medir la señal de salida de forma intermitente durante cada impulso, lo que produce múltiples valores de corriente durante cada impulso. El sistema puede mostrar la señal de salida en una pantalla y/o puede almacenar la señal de salida o partes de la señal de salida en un dispositivo de memoria.

En **340** de la FIG. 3, se determina uno o más valores ΔS que son sensibles a uno o más parámetros de error. Los valores ΔS pueden determinarse para temperatura, hematocrito, y otros contribuyentes.

En **350**, se determina la concentración de analito de la muestra a partir de una ecuación de compensación que incluye al menos una correlación de referencia y al menos un valor ΔS . El biodetector preferentemente analiza un valor de corriente de señal de salida correlacionando uno o más valores de corriente con la concentración de analito de la muestra. Preferentemente, el valor de corriente de salida que se correlaciona con la concentración de analito de la muestra se registra a partir de una excitación donde el valor de corriente inicial es mayor de los que siguen en el declive y en menos de aproximadamente 7 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo en **310**. Más preferentemente, el valor de corriente de salida que se correlaciona con la concentración de analito de la muestra se obtiene menos de aproximadamente 7 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo en **310** y es el primer valor de corriente registrado a partir de una excitación donde los valores de corriente que siguen al primer valor de corriente disminuyen. Incluso más preferentemente, el valor de corriente de salida que se correlaciona con la concentración de analito de la muestra se obtiene en menos de aproximadamente 7 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo en **310**, es el primer valor de corriente registrado a partir de una excitación donde los valores de corriente que siguen al primer valor de corriente disminuyen, y se obtiene durante el rendimiento cinético máximo del detector de ensayo. También pueden analizarse valores adicionales de corriente, tiempo, y/u otros valores. En **360**, el valor de concentración de analito puede presentarse, almacenarse para futura referencia, y/o usarse para cálculos adicionales.

La FIG. 4 muestra las señales de salida desde un detector de ensayo para una muestra de sangre completa que tiene una concentración de glucosa de 400 mg/dl y que tiene un contenido de hematocrito del 70%. La señal de entrada al detector de ensayo por el dispositivo de medición fue una secuencia de impulsos amperométricos de interrupción que incluye ocho excitaciones separadas por siete relajaciones, tal como se describe en la publicación de patente de Estados Unidos 2008/0173552. La segunda a la octava excitaciones fueron de aproximadamente 0,4 segundos de duración, y la segunda a la séptima relajaciones fueron de aproximadamente 1 segundo de duración. Se registraron tres valores de corriente de salida durante la segunda a la octava excitaciones.

Puede prepararse una correlaciones de uno o más valores de corriente de salida con la concentración de analito de la muestra representando la corriente de salida en un momento particular en el análisis frente a una concentración conocida del analito en una serie de soluciones madre que contienen el analito. Para correlacionar los valores de corriente de salida a partir de la señal de entrada con la concentración de analito de la muestra, el valor de corriente inicial a partir de la excitación es preferentemente mayor que aquellos que siguen en el declive. Preferentemente, los valores de corriente de salida o valores correlacionados con la concentración de analito de la muestra se toman desde un declive incluyendo datos de corriente que reflejan el rendimiento cinético máximo del detector de ensayo. La cinética de la reacción redox subyacente a las corrientes de salida está afectada por múltiples factores. Estos factores pueden incluir la velocidad a la cual se rehidrata la composición de reactivo, la velocidad a la cual reacciona el sistema enzimático con el analito, la velocidad a la cual el sistema enzimático transfiere electrones al mediador, y la velocidad a la cual el mediador transfiere electrones al electrodo.

El rendimiento cinético máximo del detector de ensayo puede alcanzarse durante una excitación de una secuencia de impulsos amperométricos de interrupción cuando el valor de corriente inicial de una excitación que tiene valores de corriente en decadencia es el mayor para las múltiples excitaciones. Preferentemente, el rendimiento cinético máximo de un detector de ensayo se alcanza cuando el último valor de corriente en el tiempo obtenido para una excitación que tiene valores de corriente en decadencia es el mayor valor de corriente último en el tiempo obtenido para las múltiples excitaciones. Más preferentemente, el rendimiento cinético máximo de un detector de ensayo se alcanza cuando el valor de corriente inicial de una excitación que tiene valores de corriente en decadencia es el mayor para las múltiples excitaciones y el último valor de corriente en el tiempo obtenido para la misma excitación es el mayor valor de corriente último en el tiempo obtenido para las múltiples excitaciones.

El rendimiento cinético máximo puede describirse en términos del parámetro "tiempo máximo", que es el momento en que un detector de ensayo electroquímico obtiene su valor máximo de corriente de salida después de que una muestra que contiene un analito contacta con el detector de ensayo. El valor máximo de corriente de salida se usa preferentemente para la correlación con la concentración de analito de la muestra. Preferentemente el tiempo máximo para un detector de ensayo es menos de aproximadamente 7 segundos, y más preferentemente menos de

aproximadamente 5 segundos, desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo. Preferentemente, el tiempo máximo es en aproximadamente 0,4 a aproximadamente 7 segundos, más preferentemente en aproximadamente 0,6 a aproximadamente 6,4 segundos, más preferentemente en aproximadamente 1 a aproximadamente 5 segundos, más preferentemente en aproximadamente 1,1 a aproximadamente 3,5 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo. En la FIG. 4, el rendimiento cinético máximo se alcanza a un tiempo de análisis de 3,5 segundos, indicado por la etiqueta "tiempo máximo" que identifica el mayor valor de corriente para todas las excitaciones registradas.

Las FIG. 5A y 5B representan gráficos de tiempos máximos para detectores de ensayo que tienen composiciones de reactivo de bajo contenido salino total (**A** y **B**) y para detectores de ensayo que tienen composiciones de reactivo que no eran composiciones de bajo contenido salino total (**C**, **D** y **E**). En la FIG. 5A, la concentración de glucosa en las muestras fue de 50 mg/dl. En la FIG. 5B, la concentración de glucosa en las muestras fue de 100 mg/dl. Las muestras tenían contenidos de hematocrito que variaban del 20% al 70%. Cada gráfico traza el tiempo máximo como una función del contenido de hematocrito para las composiciones de reactivo **A - E** enumeradas en la Tabla 1, anterior. Para cada composición, los tiempos máximos para los contenidos de hematocrito del 20%, 30%, 40%, 50%, 60% y 70% se muestran de izquierda a derecha.

A partir de los resultados representados en las FIG. 5A y 5B, un contenido inferior de sal inorgánica de metal no de transición en el mediador y una concentración inferior de sal tamponante se correlacionaron con tiempos máximos más cortos. Este efecto fue especialmente evidente para muestras que tenían mayores contenidos de hematocrito. Por tanto, una composición de reactivo de bajo contenido salino total puede proporcionar tiempos máximos deseables en el análisis de biodetector, incluso cuando la muestra tiene un contenido de hematocrito relativamente alto.

La correlación de uno o más valores de corriente de salida con la concentración de analito de la muestra puede ajustarse para justificar errores en la medición. Un enfoque para corregir errores asociados con un análisis de biodetector es ajustar la correlación para determinar concentraciones de analito en una muestra a partir de valores de corriente de salida con funciones de índice extraídas de valores intermedios de corriente de los valores de corriente de salida. Las funciones de índice pueden compensar la correlación para determinar concentraciones de analito a partir de los valores de corriente de salida para uno o más errores en los análisis que podrían provocar sesgo de las concentraciones determinadas de analito. Las funciones de índice corresponden al %-sesgo en la correlación entre las concentraciones de analito y los valores de corriente de salida debido a uno o más errores en el análisis.

El %-sesgo en la correlación puede representarse por uno o más valores ΔS obtenidos a partir de uno o más parámetros de error. Los valores ΔS representan desviaciones de pendiente de la correlación entre las concentraciones de analito y valores de corriente de salida determinados a partir de uno o más parámetros de error. Las funciones de índice que corresponden la pendiente o cambio en la pendiente pueden normalizarse para reducir el efecto estadístico de los cambios en los valores de corriente de salida, mejorar la diferenciación en variaciones de los valores de corriente de salida, normalizar las mediciones de los valores de corriente de salida, una combinación de los mismos, o similares. La correlación ajustada puede usarse para determinar concentraciones de analito en muestras biológicas a partir de los valores de corriente de salida y puede tener exactitud y/o precisión mejoradas en comparación con biodetectores convencionales. La corrección de errores usando funciones de índice y valores ΔS se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional N° PCT/US08/85768, presentada el 6 de diciembre de 2008, titulada "Slope-Based Compensation", con inventor Huan-Ping Wu.

Por tanto, un valor de corriente de salida sensible a la concentración de glucosa de la muestra puede convertirse en una concentración de glucosa corregida de la muestra usando una función de índice que representa $\Delta S/S$. Como alternativa, puede determinarse una concentración de glucosa corregida a partir de un valor de concentración de glucosa no corregida usando una función de índice y una ecuación tal como $G_{\text{corr}} = G_{\text{sin procesar}} / (1 + f(\text{Índice}))$, donde G_{corr} es la concentración de glucosa corregida de la muestra, $G_{\text{sin procesar}}$ es la concentración de analito determinada de la muestra sin compensación, y $f(\text{Índice})$ es una función de índice.

Las funciones de índice pueden incluir relaciones extraídas de una señal de salida, tal como la señal de salida representada en la Figura 4. Por ejemplo, los valores de señal de salida pueden compararse en un ciclo de declive de impulso-senal individual, tal como la relación $R3 = i_{3,3} / i_{3,1}$, donde $i_{3,3}$ se refiere al tercer valor de corriente registrado para el declive de la tercera señal, y $i_{3,1}$ se refiere al primer valor de corriente registrado para el declive de la tercera señal. En otro ejemplo, los valores de señal de salida pueden compararse entre ciclos de declive de impulso-senal diferentes, tales como la relación $R4/3 = i_{4,3} / i_{3,3}$, donde $i_{3,3}$ se refiere al tercer valor de corriente registrado para el declive de la cuarta señal. Las funciones de índice pueden incluir combinaciones de relaciones extraídas a partir de la señal de salida. En un ejemplo, una función de índice puede incluir una relación simple de relaciones, tal como Relación3/2 = $R3/R2$. En otro ejemplo, una función de índice puede incluir una combinación más complicada de funciones más simples de índice. Por ejemplo, una función de índice Índice-1 puede representarse como Índice-1 = $R4/3 - \text{Relación}3/2$. En otro ejemplo, una función de índice Índice-2 puede representarse en Índice-2 = $(R4/3)^p - (\text{Relación}3/2)^q$, donde p y q independientemente son números positivos.

Preferentemente una función de índice corrige errores asociados con variaciones en el contenido de hematocrito. El cálculo de dicha función de índice puede facilitarse usando un detector de ensayo que produce una señal de salida que varía con el contenido de hematocrito. Sorprendentemente, un detector de ensayo que tiene una composición de reactivo de bajo contenido salino total puede proporcionar dicha señal de salida.

Las FIG. 6A - 6E representan gráficos de las correlaciones de ΔS_{total} como una función del índice de relación simple R4/3. Los datos para estas correlaciones se recogieron de señales de corriente de salida de glucosa a partir de muestras de sangre capilar a 21,8°C. Las composiciones de reactivo de los detectores de ensayo de la FIG. 6A - FIG. 6E fueron las composiciones **A** - **E** de la Tabla 1, respectivamente. Los detectores de ensayo que tienen composición de reactivo de bajo contenido salino total **B** tuvieron la mejor separación de valores a los diferentes niveles de hematocrito.

La Tabla 5 enumera los valores R^2 para las diversas funciones de índice de relación para los datos usados para generar los gráficos de las FIG. 6A - 6E, y para datos similares recogidos a 17,8°C. Los valores R^2 indican la correlación global entre ΔS_{total} y el índice por el contenido de hematocrito.

Tabla 5 - R^2 Valores para correlaciones de ΔS_{total} y funciones de índice de relación.

Temperatura	Composiciones de reactivo*	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

* Composiciones de la Tabla 1.

Para tiempos de salida de 5 segundos o menos a 21,8°C, los detectores de ensayo que tienen una composición de reactivo de bajo contenido salino total (composición **B**) proporcionaron correlaciones que tenían valores R^2 significativamente mejores que los proporcionados por los otros detectores de ensayo. Para tiempos de salida de 6,4 segundos o más a 21,8°C, los detectores de ensayo que tenían una composición de reactivo de bajo contenido salino total (composición **A**) proporcionaron correlaciones que tenían valores R^2 significativamente mejores que los proporcionados por los otros detectores de ensayo.

Para tiempos de salida de 6,4 segundos o menos a 17,8°C, los detectores de ensayo que tenían una composición de reactivo de bajo contenido salino total (composición **B**) proporcionaron correlaciones que tenían valores R^2 significativamente mejores que los proporcionados por los otros detectores de ensayo. Para tiempos de salida de 7,8 segundos o más a 17,8°C, los detectores de ensayo que tenían una composición de reactivo de bajo contenido salino total (composición **A**) proporcionaron correlaciones que tenían valores R^2 significativamente mejores que los proporcionados por los otros detectores de ensayo. Por tanto, a temperaturas inferiores de análisis, un detector de ensayo que tenga una composición de reactivo de bajo contenido salino total podría proporcionar una mejor correlación en un tiempo de ensayo más precoz que lo que podría un detector de ensayo que tenga una composición de reactivo que no fuera una composición de bajo contenido salino total.

Las funciones de índice de los gráficos de las FIG. 6A - 6E se usaron para formular ecuaciones de correlación para corregir el sesgo de análisis del biodetector para muestras que tienen diferente contenidos de hematocrito. Usando una o más funciones de índice relacionadas con ΔS se puede reducir la dispersión del sesgo, que se define como la desviación típica del sesgo/%-población de sesgo. La correlación entre ΔS_{total} y una o más funciones de índice directamente afecta a la reducción de la desviación típica (DT) de la población de sesgo. Por lo tanto, cuanto mayor sea el valor R^2 , mayor será la reducción del valor DT y, por tanto, menor será la dispersión del sesgo. Esta relación experimental se observa en la Tabla 6, donde se enumera el %-población del conjunto de datos dentro de un límite de sesgo de $\pm 10/\pm 10\%$ antes y después de la compensación para las composiciones de reactivo enumeradas en la Tabla 1. El $\pm 10\%$ fue significativamente mayor para los detectores de ensayo que tenían una composición de reactivo de bajo contenido salino total, tanto antes como después de aplicar la ecuación de compensación a los resultados.

Tabla 6 - Exactitud de correlaciones de salida con concentración de analito.

Composición de reactivo*	%±10%	
	Correlación antes de compensación	Correlación después de compensación
A	78%	78%
B	86%	99%
C	81%	81%
D	81%	81%
E	80%	80%

* Composiciones de la Tabla 1.

La mejora proporcionada por una composición de reactivo de bajo contenido salino es significativa, ya que menos análisis estaría fuera del límite de exactitud $\pm 10/\pm 10\%$. Reduciendo la cantidad de análisis fuera del límite, podrían usarse más de las lecturas obtenidas para terapia exacta por un paciente. La necesidad de descartar y repetir el análisis por el paciente también puede reducirse.

La FIG. 7 representa gráficos de los valores R^2 a 21,8°C como una función del tiempo de ensayo para detectores de ensayo que tienen las composiciones de reactivo **A** - **E** enumeradas en la Tabla 1. Los tiempos de ensayo de 3,5 segundos, 5 segundos, 6,5 segundos, 7,8 segundos y 9,2 segundos corresponden a funciones de índice de relación R3/2, R4/3, R5/4, R6/7 y R7/6, respectivamente. Por tanto, la FIG. 7 es una representación gráfica de los resultados enumerados en la primera mitad de la Tabla 5. Para los dos tiempos de ensayo más precoces (3,5 y 5 segundos), la composición de reactivo de bajo contenido salino total **B** proporcionó valores R^2 de al menos 0,5, mientras que las otras composiciones de reactivo proporcionaron valores R^2 de solamente 0,12 o menos. Para un tiempo de ensayo de 6,5 segundos, ambas composiciones de reactivo de bajo contenido salino total **A** y **B** proporcionaron valores R^2 de al menos 0,5, mientras que las otras composiciones de reactivo proporcionaron valores R^2 de solamente 0,2-0,4. Para tiempos de ensayo mayores de 7 segundos, la composición de reactivo de bajo contenido salino total **A** proporcionó valores R^2 de al menos 0,5; sin embargo, la composición de reactivo de bajo contenido salino total **B** proporcionó valores R^2 por debajo de 0,5. Para tiempos de ensayo de 7,8 y 9,2 segundos, los valores R^2 proporcionados por las composiciones de reactivo **C** - **E** se correlacionaron inversamente con la concentración de sal tamponante.

Como se ilustra por los gráficos de la FIG. 7, una composición de reactivo de bajo contenido salino total puede proporcionar valores R^2 de al menos 0,5 para funciones de índice correspondientes a tiempos de ensayo de como máximo 6,5 segundos. Por tanto, una composición de reactivo de bajo contenido salino total puede proporcionar análisis exacto de un en una muestra a tiempos de ensayo más cortos que los proporcionados por composiciones de reactivo convencionales.

La FIG. 8 representa un gráfico de los índices R5/4 a 16°C como una función de los niveles de hematocrito para las composiciones de reactivo de bajo contenido salino total **F** y **G** enumeradas en la Tabla 2. Estas composiciones eran similares, excepto que la composición **G** incluía tanto un tensioactivo no iónico como un tensioactivo aniónico, mientras que la composición **F** incluía un tensioactivo no iónico solamente. El valor R^2 para los resultados proporcionados por la composición **G** fue 0,82, mientras que el valor R^2 para los resultados proporcionados por la composición **F** fue solamente 0,32. Por tanto, la presencia de una pequeña cantidad de un tensioactivo aniónico proporcionó una mejora significativa en la función de índice R5/4 para este sistema.

La composición de reactivo **B** se dispuso sobre el electrodo de trabajo de un detector de ensayo a diversos grosores. La Tabla 7 enumera las concentraciones del mediador en cada uno de los cuatro tipos diferentes de electrodos de trabajo. Como se usó la misma composición de reactivo de bajo contenido salino para cada electrodo, una concentración inferior se correlaciona con un grosor más pequeño de la composición de reactivo sobre el electrodo. Cada composición de reactivo tenía una concentración de enzima de 1,21 a 1,50 unidades por milímetro cuadrado (U/mm^2). La Tabla 7 también enumera el %-población del conjunto de datos dentro de un límite de sesgo de $\pm 10/\pm 10\%$ para análisis realizados a diferentes temperaturas. El electrodo de trabajo con la capa más fina de composición de reactivo de bajo contenido salino obtuvo el mayor porcentaje de mediciones dentro de un límite de sesgo de $\pm 10/\pm 10\%$. Esta mejora fue particularmente evidente a temperaturas inferiores, tales como 11°C.

Tabla 7 - Exactitud de las correlaciones para capas de reactivo de bajo contenido salino que tienen diferente grosor.

Densidad de mediador sobre el electrodo de trabajo ($\mu g/mm^2$)	%±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%

La FIG. 9 representan una representación esquemática de un biodetector **900** que determina una concentración de analito en una muestra de un fluido biológico usando una señal de entrada amperométrica de interrupción. El biodetector **900** incluye un dispositivo de medición **902** y un detector de ensayo **904**, que pueden implementarse en cualquier instrumento analítico, incluyendo un dispositivo de mesa, un dispositivo portátil o manual, o similares. El biodetector **900** puede utilizarse para determinar concentraciones de analito, incluyendo las de glucosa, ácido úrico, lactato, colesterol, bilirrubina, y similares. Aunque se muestra una configuración particular, el biodetector **900** puede tener otras configuraciones, incluyendo aquellas con componentes adicionales.

El detector de ensayo **904** tiene una base **906** que forma un depósito **908** y un canal **910** con una abertura **912**. El depósito **908** y el canal **910** pueden estar cubiertos por una tapa con un orificio de ventilación. El depósito **908** define un volumen parcialmente enclaustrado. El depósito **908** puede contener una composición que ayuda a retener una muestra líquida tal como polímeros que se hinchan de agua o matrices poliméricas porosas. Los reactivos pueden depositarse en el depósito **908** y/o el canal **910**. La composición de reactivo en el electrodo de trabajo **903** incluye una composición de reactivo de bajo contenido salino total y puede incluir uno o más sistemas enzimáticos, mediadores, y especies similares. El electrodo contador **905** puede formarse usando la misma composición de reactivo o una diferente, preferentemente una que carece de un sistema enzimático. El detector de ensayo **904** también puede tener una interfaz de muestra **914** dispuesta adyacente al depósito **908**. La interfaz de muestra **914** puede rodear parcial o completamente el depósito **908**. El detector de ensayo **904** puede tener otras configuraciones.

La interfaz de muestra **914** tiene conductores **909** conectados al electrodo de trabajo **903** y el electrodo contador **905**. Los electrodos pueden estar sustancialmente en el mismo plano o en más de un plano. Los electrodos **903**, **905** pueden disponerse sobre una superficie de la base **906** que forma el depósito **908**. Los electrodos **903**, **905** pueden extenderse o proyectarse al interior del depósito **908**. Una capa dieléctrica puede cubrir parcialmente los conductores **909** y/o los electrodos **904**, **905**. La interfaz de muestra **914** puede tener otros electrodos y conductores.

El dispositivo de medición **902** incluye circuitería eléctrica **916** conectada a una interfaz de detector **918** y una pantalla **920**. La circuitería eléctrica **916** incluye un procesador **922** conectado a un generador de señales **924**, un detector de temperatura óptima **926**, y un medio de almacenamiento **928**.

El generador de señales **924** proporciona una señal eléctrica de entrada a la interfaz de detector **918** en respuesta al procesador **922**. La señal eléctrica de entrada puede transmitirse por la interfaz de detector **918** a la interfaz de muestra **914** para aplicar la señal eléctrica de entrada a la muestra del fluido biológico. La señal eléctrica de entrada puede ser un potencial o corriente y puede aplicarse en múltiples impulsos, secuencias, o ciclos. El generador de señales **924** también puede registrar una señal de salida desde la interfaz de detector como un generador-registrador.

El detector de temperatura óptima **926** determina la temperatura de la muestra en el depósito del detector de ensayo **904**. La temperatura de la muestra puede medirse, calcularse a partir de la señal de salida, o puede asumirse que es igual o similar a una medición de la temperatura ambiente o la temperatura de un dispositivo que implementa el sistema biodetector. La temperatura puede medirse usando un termistor, termómetro, u otro dispositivo que detecta la temperatura. Pueden usarse otras técnicas para determinar la temperatura de la muestra.

El medio de almacenamiento **928** puede ser una memoria magnética, óptica, o semiconductora, otro dispositivo de almacenamiento, o similares. El medio de almacenamiento **928** puede ser un dispositivo de memoria fijo, un dispositivo de memoria desmontable, tal como una tarjeta de memoria, de acceso remoto, o similares.

El procesador **922** implementa el análisis del analito y el tratamiento de datos usando código de software legible por ordenador y datos almacenados en el medio de almacenamiento **928**. El procesador **922** puede comenzar el análisis de analito en respuesta a la presencia del detector de ensayo **904** en la interfaz de detector **918**, la aplicación de una muestra al detector de ensayo **904**, en respuesta a entrada por un usuario, o similares. El procesador **922** dirige el generador de señales **924** para proporcionar la señal eléctrica de entrada a la interfaz de detector **918**. El procesador **922** puede recibir la temperatura de la muestra desde el detector de temperatura óptima **926**. El procesador **922** recibe la señal de salida desde la interfaz de detector **918**. La señal de salida se genera en respuesta a la reacción redox del analito en el depósito **908**.

El procesador **922** preferentemente mide la señal de salida para obtener un valor de corriente a partir de una excitación donde el valor de corriente inicial es mayor de los que siguen en el declive y en menos de aproximadamente 3 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo **904**. Más preferentemente, el procesador **922** mide la señal de salida para obtener un valor de corriente en menos de aproximadamente 3 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo en **904** y obtiene el primer valor de corriente registrado a partir de una excitación donde los valores de corriente que siguen al primer valor de corriente disminuyen de forma continua. Incluso más preferentemente, el procesador **922** mide la señal de salida para obtener un valor de corriente en menos de aproximadamente 3 segundos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo en **904**, para obtener el primer valor de corriente registrado a partir de una excitación donde los valores de corriente que siguen al primer valor de corriente disminuyen de forma continua, y para obtener un valor de corriente durante el rendimiento cinético máximo del detector de ensayo.

El uno o más valores de corriente obtenidos se correlacionan con la concentración de analito de la muestra usando una o más ecuaciones de correlación en el procesador **922**. Los resultados del análisis de analito pueden extraerse en la pantalla **920** y pueden almacenarse en el medio de almacenamiento **928**. Preferentemente, los resultados del análisis de analito se extraen en la pantalla **920** en cinco segundos o menos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo, más preferentemente los resultados se extraen en la pantalla **920** en tres segundos o menos desde la introducción de la muestra en el detector de ensayo.

Las ecuaciones de correlación que relacionan las concentraciones de analito y los valores de corriente de salida pueden representarse de forma gráfica, matemática, una combinación de las mismas, o similares. Las ecuaciones de correlación pueden representarse mediante una tabla numérica de programa (PNA), otra tabla de consulta, o similares que se almacena en el medio de almacenamiento **928**. Pueden proporcionarse instrucciones respecto a la implementación del análisis del analito por el código de software legible en ordenador almacenado en el medio de almacenamiento **928**. El código puede ser código objeto o cualquier otro código que describa o controle la funcionalidad descrita en el presente documento. Los datos del análisis del analito pueden someterse a uno o más tratamientos de datos, incluyendo la determinación de las velocidades de declive, constantes K, relaciones, y similares en el procesador **922**.

La interfaz de detector **918** tiene contactos que conectan o comunican de forma eléctrica con los conductores **909** en la interfaz de muestra **914** del detector de ensayo **904**. La interfaz de detector **918** transmite la señal eléctrica de entrada desde el generador de señales **924** a través de los contactos hasta los conductores **909** en la interfaz de muestra **914**. La interfaz de detector **918** también transmite la señal de salida desde la muestra a través de los contactos hasta el procesador **922** y/o generador de señales **924**.

La pantalla **920** puede ser analógica o digital. La pantalla puede ser una LCD adaptada para presentar una lectura numérica.

En use, se transfiere una muestra para análisis al depósito **908** introduciendo la muestra en la abertura **912**. La muestra fluye a través del canal **910**, llenando el depósito **908** expulsando al mismo tiempo el aire previamente contenido. La muestra reacciona químicamente con los reactivos depositados en el canal **910** y/o el depósito **908**. Preferentemente, la muestra es un fluido, más preferentemente, un líquido.

El detector de ensayo **902** se dispone adyacente al dispositivo de medición **902**. Adyacente incluye posiciones donde la interfaz de muestra **914** está en comunicación eléctrica con la interfaz de detector **918**. La comunicación eléctrica incluye transferencia por cable o inalámbrica de señales de entrada y/o salida entre los contactos en la interfaz de detector **918** y los conductores **909** en la interfaz de muestra **914**.

Aunque se han descrito diversas realizaciones de la invención, será evidente para los expertos en la materia que son posibles otras realizaciones e implementaciones dentro del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un sensor de ensayo para determinar la concentración de un analito en una muestra, que comprende:
 - un depósito que tiene un volumen de depósito;
 - al menos dos conductores en el depósito, en el que uno de los conductores es un electrodo de trabajo que tiene
 - 5 una área de electrodo de trabajo; y
 - una composición de reactivo dispuesta sobre el electrodo de trabajo, comprendiendo la composición de reactivo
 - un aglutinante, una sal tamponante, un mediador, un sistema enzimático y un tensioactivo no iónico,
 - comprendiendo el mediador como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición;
 - 10 en el que la sal tamponante está presente a una concentración de como máximo 9,54 nmol por mm² del área superficial de composición de reactivo, o como máximo 67 nmol por µl del volumen de depósito, o como máximo 167 nmol por mm² del área de electrodo de trabajo; y
 - el mediador está presente a una concentración de como máximo 4,76 nmol por mm² del área superficial de composición de reactivo, o como máximo 40 nmol por µl del volumen de depósito, o como máximo 100 nmol por mm² del área de electrodo de trabajo.
- 15 2. El sensor de la reivindicación 1, en el que la composición de reactivo comprende
 - de aproximadamente 0,14 a aproximadamente 0,43 µg del aglutinante por mm² del área superficial de composición de reactivo,
 - de aproximadamente 2,30 a 9,54 nmol, preferentemente de aproximadamente 3,40 a aproximadamente 4,77 nmol,
 - de la sal tamponante por mm² del área superficial de composición de reactivo,
 - 20 de aproximadamente 1,70 a 4,76 nmol, preferentemente de aproximadamente 2,80 a aproximadamente 4,00 nmol,
 - del mediador por mm² del área superficial de composición de reactivo,
 - de aproximadamente 0,07 a aproximadamente 0,3 unidades del sistema enzimático por mm² del área superficial de composición de reactivo, y
 - de aproximadamente 0,04 a aproximadamente 0,24 µg del tensioactivo no iónico por mm² del área superficial de
 - 25 composición de reactivo.
3. El sensor de la reivindicación 1, en el que la composición de reactivo comprende
 - de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 µg del aglutinante polimérico por µl del volumen de depósito,
 - de aproximadamente 16 a 67 nmol, preferentemente de aproximadamente 24 a aproximadamente 34 nmol, de la sal
 - 30 tamponante por µl del volumen de depósito,
 - de aproximadamente 12 a 40 nmol, preferentemente de aproximadamente 20 a aproximadamente 28 nmol, del
 - mediador por µl del volumen de depósito,
 - de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,8 unidades del sistema enzimático por µl del volumen de depósito, y
 - de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,7 µg del tensioactivo no iónico por µl del volumen de depósito.
4. El sensor de la reivindicación 1, en el que la composición de reactivo comprende
 - 35 de aproximadamente 1 a aproximadamente 7,5 µg del aglutinante por mm² del área de electrodo de trabajo,
 - de aproximadamente 16 a 167 nmol, preferentemente de aproximadamente 24 a aproximadamente 84 nmol, de la
 - sal tamponante por mm² del área de electrodo de trabajo,
 - de aproximadamente 12 a 100 nmol, preferentemente de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 nmol, del
 - mediador por mm² del área de electrodo de trabajo,
 - 40 de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 unidades del sistema enzimático por mm² del área de electrodo de
 - trabajo, y
 - de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4,3 µg del tensioactivo no iónico por mm² del área de electrodo de
 - trabajo.
5. El sensor de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende adicionalmente un tensioactivo iónico.
- 45 6. El sensor de la reivindicación 5, en el que el tensioactivo iónico comprende un tensioactivo aniónico.
7. El sensor de la reivindicación 6, que comprende de aproximadamente 3 a aproximadamente 16 ng del
- tensioactivo aniónico por mm² del área superficial de composición de reactivo, o de aproximadamente 20 a
- aproximadamente 140 ng del tensioactivo aniónico por µl del volumen de depósito, o de aproximadamente 10 a
- aproximadamente 350 ng del tensioactivo aniónico por mm² del área de electrodo de trabajo.
- 50 8. El sensor de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la sal tamponante comprende Na₂HPO₄.
9. El sensor de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el mediador comprende como máximo un 15%
- (p/p), como máximo un 10% (p/p), como máximo un 5% (p/p) o como máximo un 4% (p/p) de sal inorgánica de metal
- no de transición.

10. El sensor de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el tensioactivo no iónico comprende un tensioactivo basado en azúcar.

11. Un sistema biosensor, para determinar la concentración de un analito en una muestra, que comprende:

5 un sensor de ensayo que comprende un depósito, al menos dos conductores en el depósito en el que uno de los conductores es un electrodo de trabajo, y una composición de reactivo dispuesta sobre o cerca del electrodo de trabajo,

comprendiendo la composición de reactivo un aglutinante, una sal tamponante, un sistema enzimático, un tensioactivo no iónico, y un mediador que comprende como máximo un 20% (p/p) de una sal inorgánica de metal no de transición; y

10 un dispositivo de medición en comunicación eléctrica con el sensor de ensayo;
en el que el dispositivo de medición mide un valor de señal de salida desde el sensor de ensayo a un rendimiento cinético máximo en como máximo 7 segundos desde la introducción de una muestra en el sensor de ensayo, en el que el valor de señal de salida es sensible a la concentración del analito en la muestra,
el dispositivo de medición determina al menos un valor ΔS sensible a al menos un parámetro de error, y
15 el dispositivo de medición determina adicionalmente la concentración de analito en la muestra a partir de una ecuación de compensación que incluye al menos una correlación de referencia y el al menos un valor ΔS ;
en el que la ecuación de compensación tiene un valor R^2 de al menos 0,5.

12. El sistema de la reivindicación 11, en el que la composición de reactivo del sensor de ensayo comprende:

20 la sal tamponante a una concentración de como máximo 9,54 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo,
el mediador a una concentración de como máximo 4,76 nmol por mm^2 del área superficial de composición de reactivo.

13. El sistema de la reivindicación 11, en el que el depósito del sensor de ensayo tiene un volumen de depósito, y la composición de reactivo comprende:

25 la sal tamponante a una concentración de como máximo 67 nmol por μl del volumen de depósito,
el mediador a una concentración de como máximo 40 nmol por μl del volumen de depósito.

14. El sistema de la reivindicación 11, en el que el electrodo de trabajo del sensor de ensayo tiene un área de electrodo de trabajo, y la composición de reactivo comprende:

30 la sal tamponante a una concentración de como máximo 167 nmol por mm^2 del área de electrodo de trabajo,
el mediador a una concentración de como máximo 100 nmol por mm^2 del área de electrodo de trabajo.

15. El sistema de una cualquiera de las reivindicaciones 11-14, en el que el dispositivo de medición mide un valor de señal de salida desde el sensor de ensayo a un rendimiento cinético máximo en como máximo 5 segundos desde la introducción de una muestra en el sensor de ensayo, o en como máximo 3,5 segundos desde la introducción de una muestra en el sensor de ensayo.

35

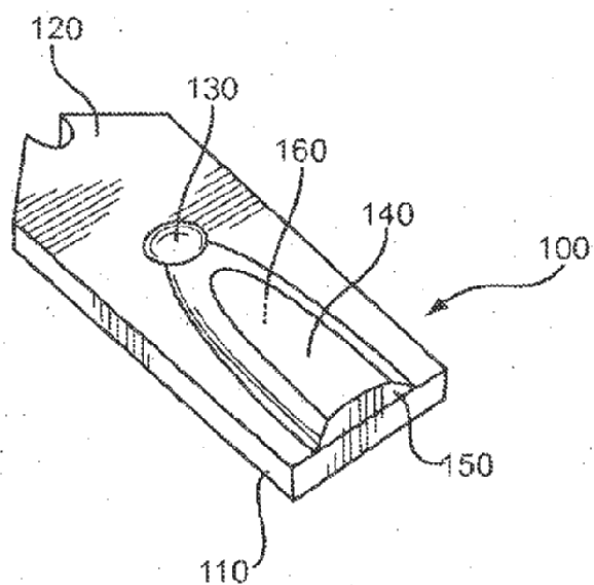


Fig. 1A

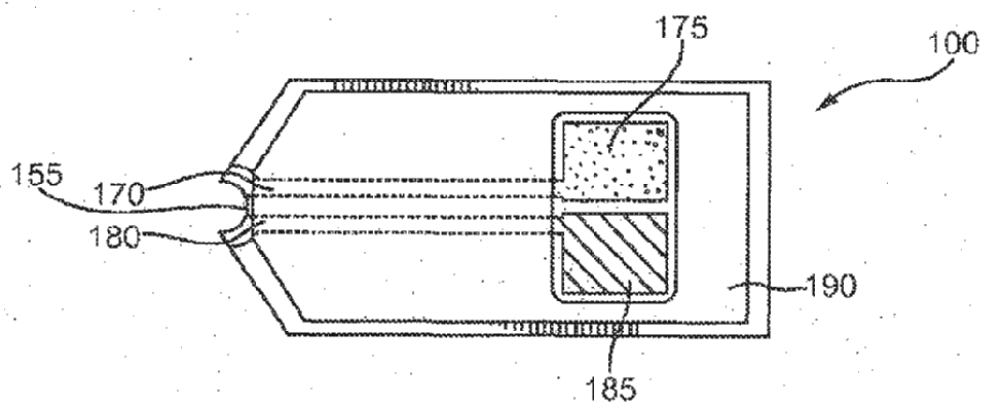


Fig. 1B

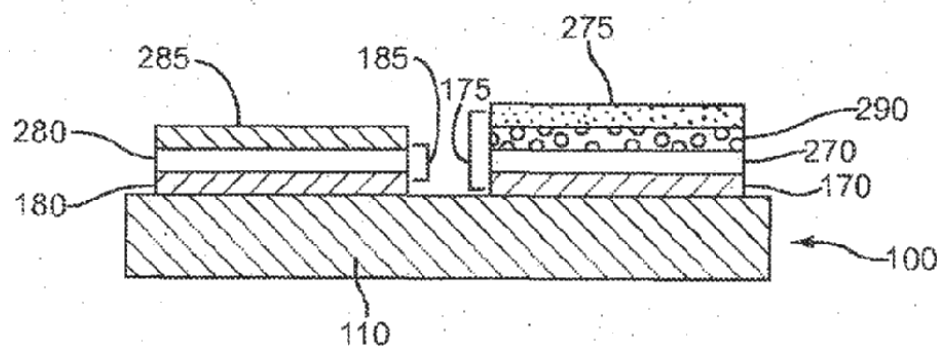


Fig. 2

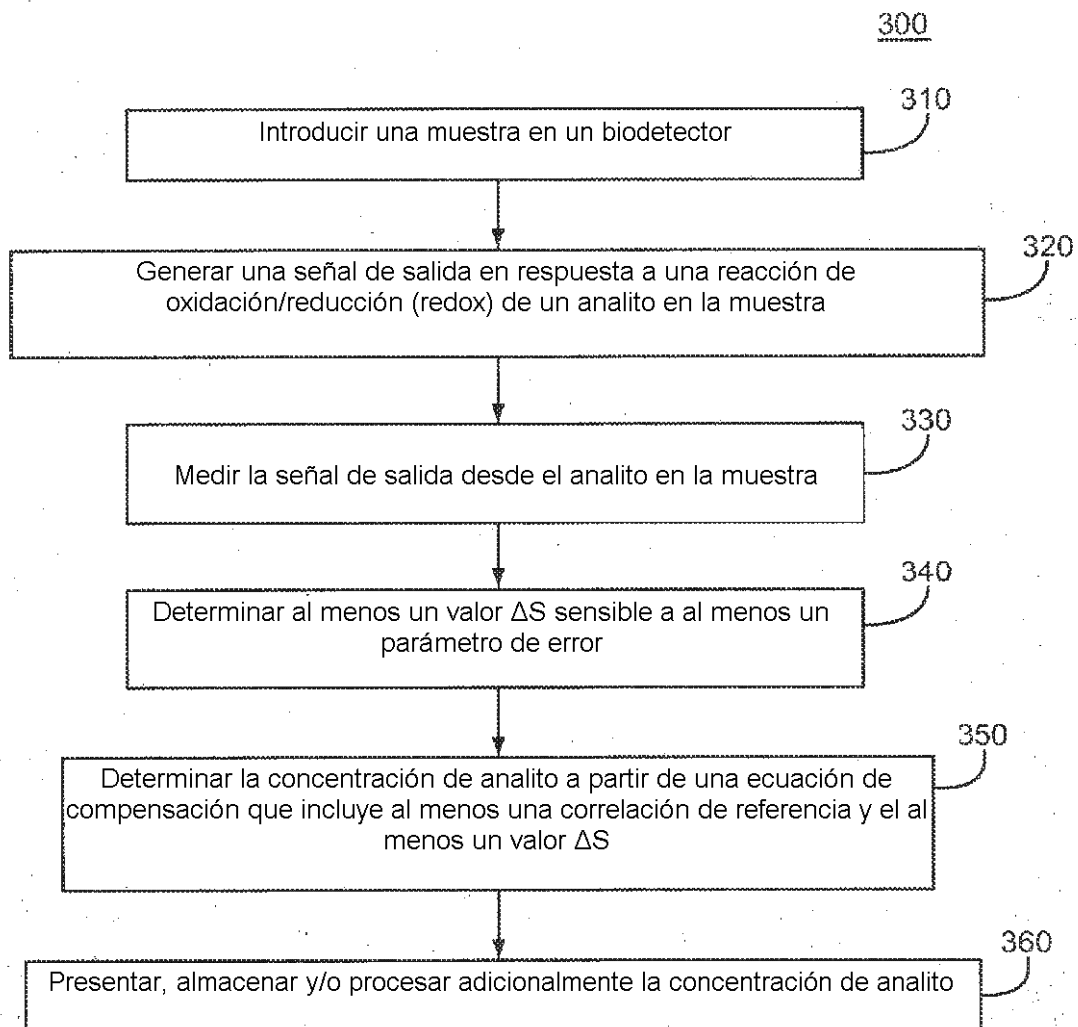


Fig.3

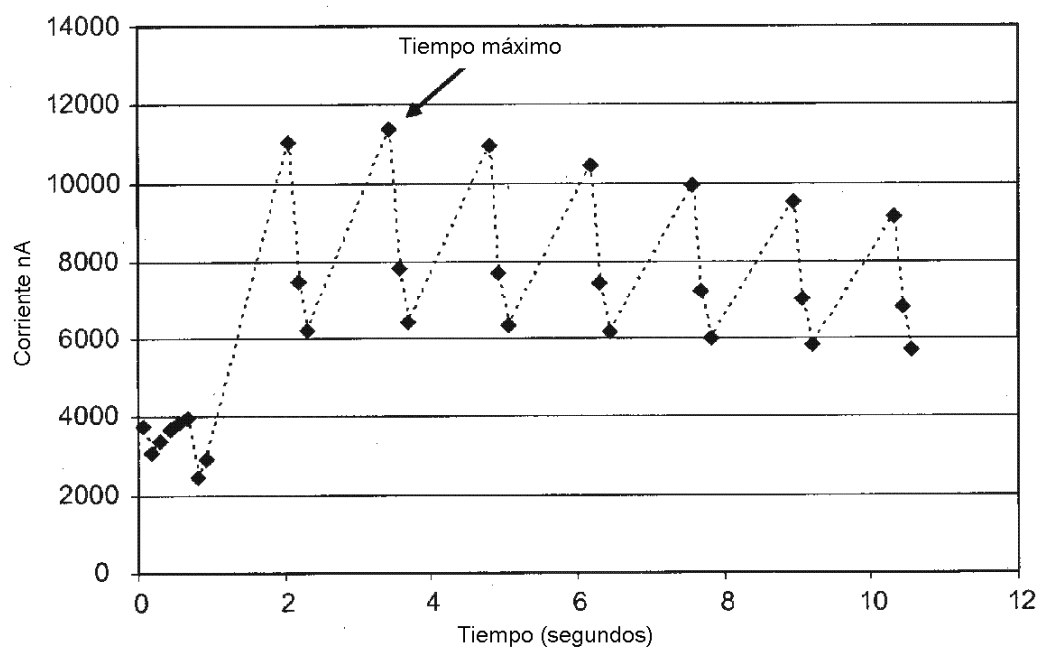


Fig.4

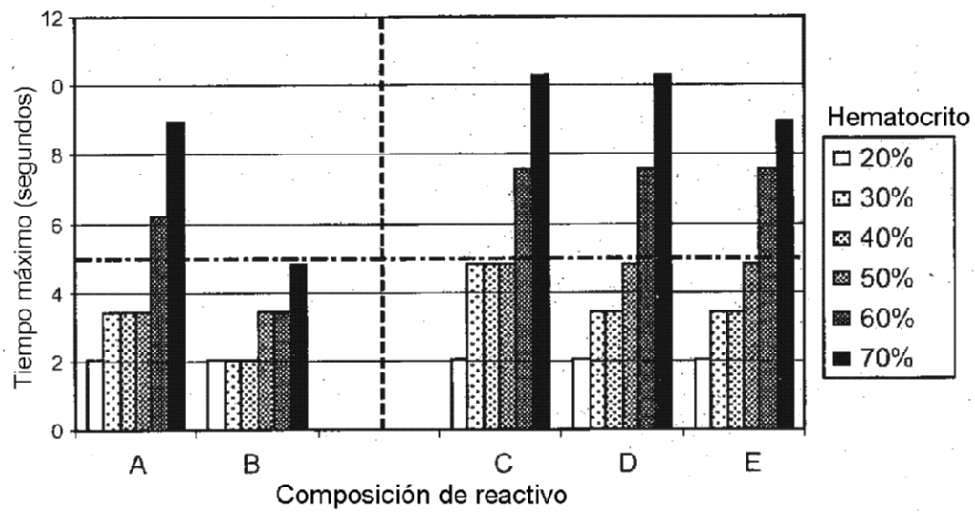


Fig.5A

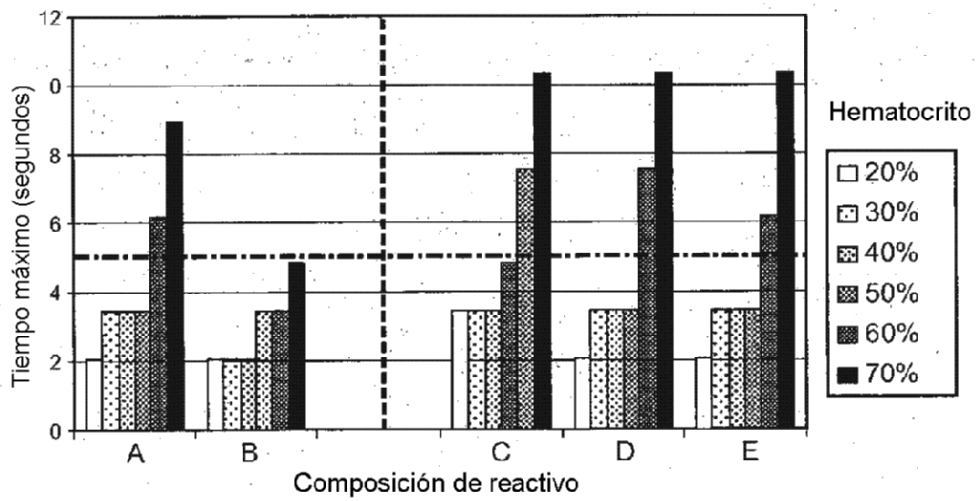


Fig.5B

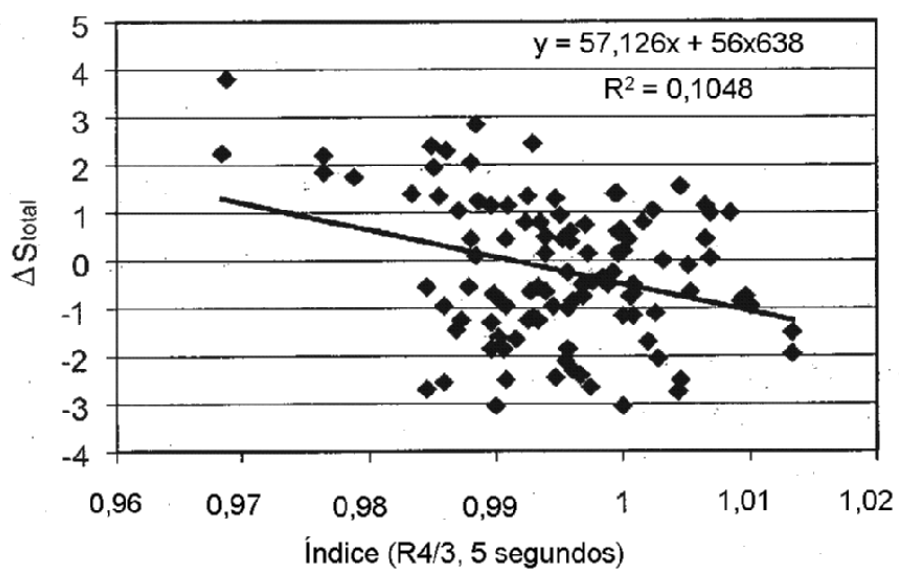


Fig. 6A

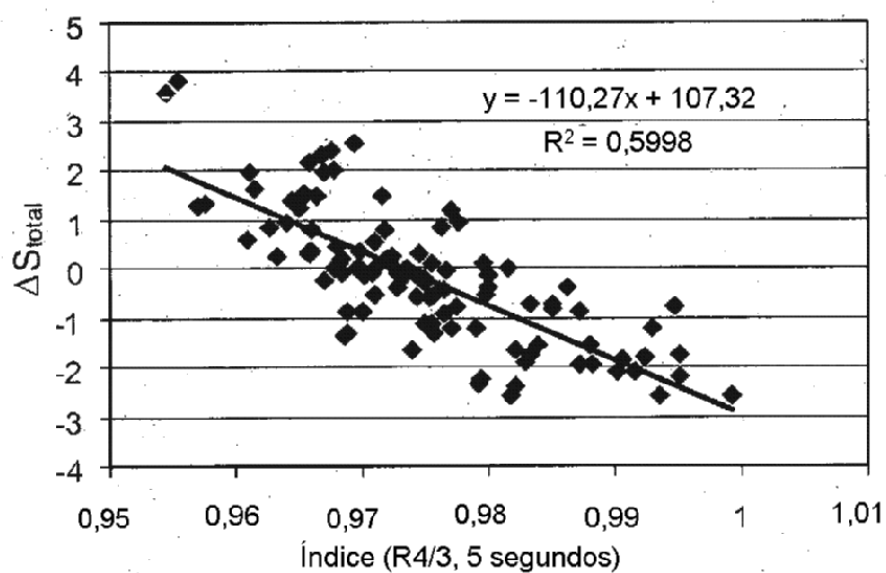


Fig. 6B

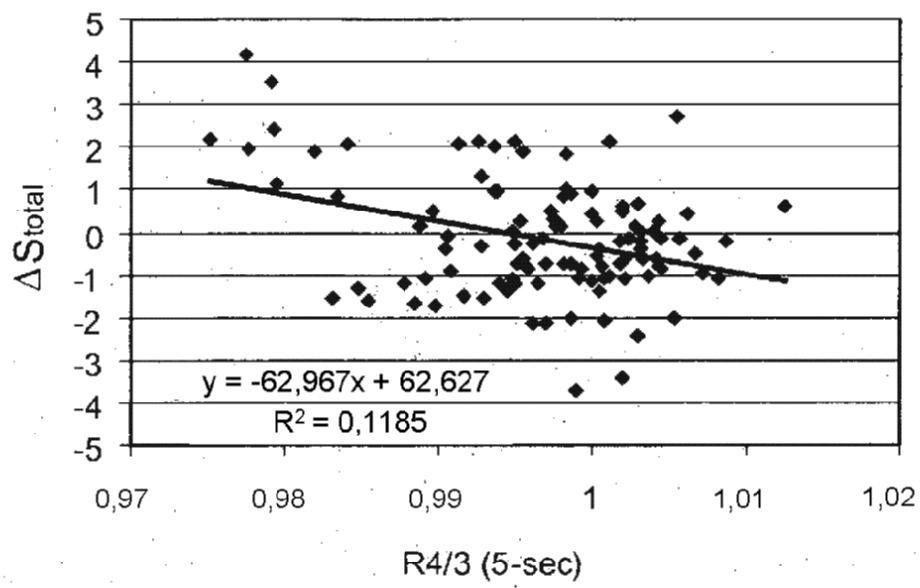


Fig. 6C

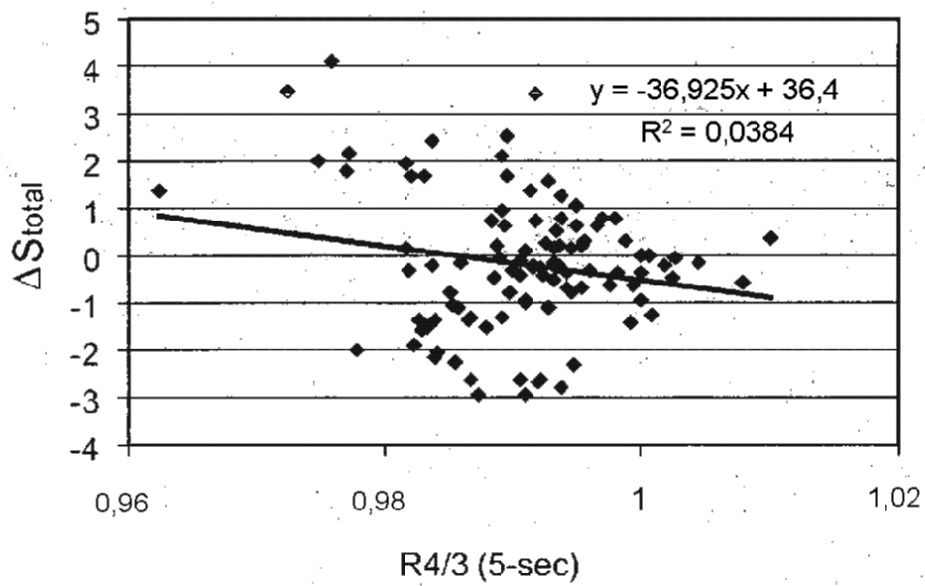


Fig. 6D

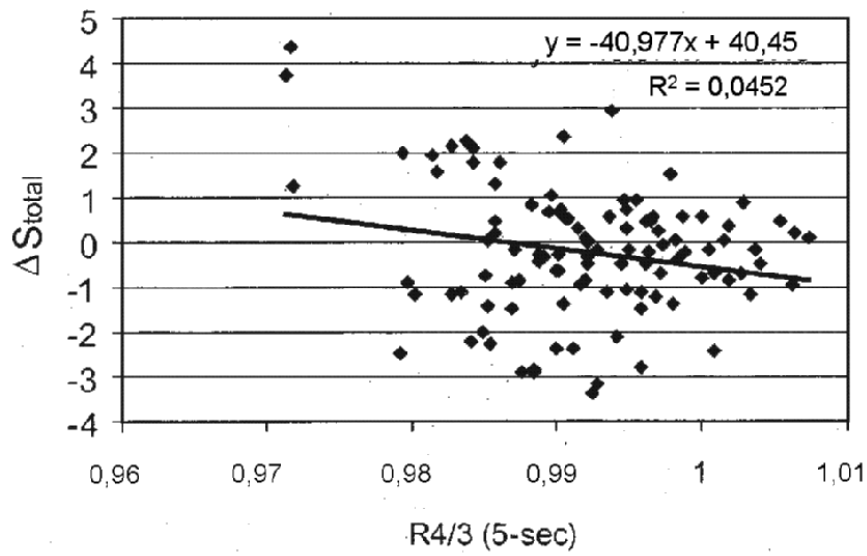


Fig.6E

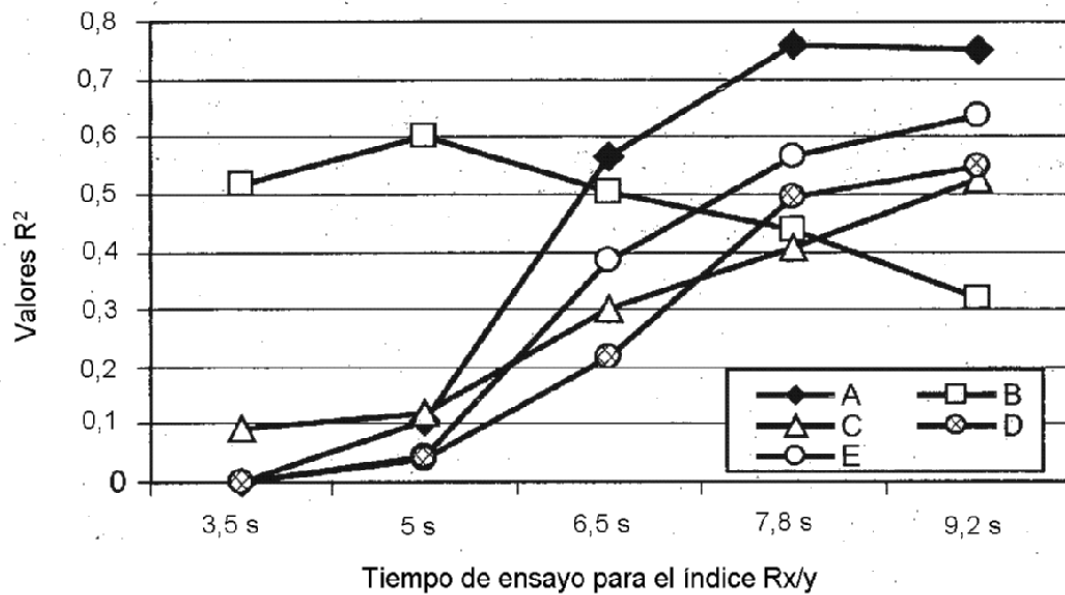


Fig.7

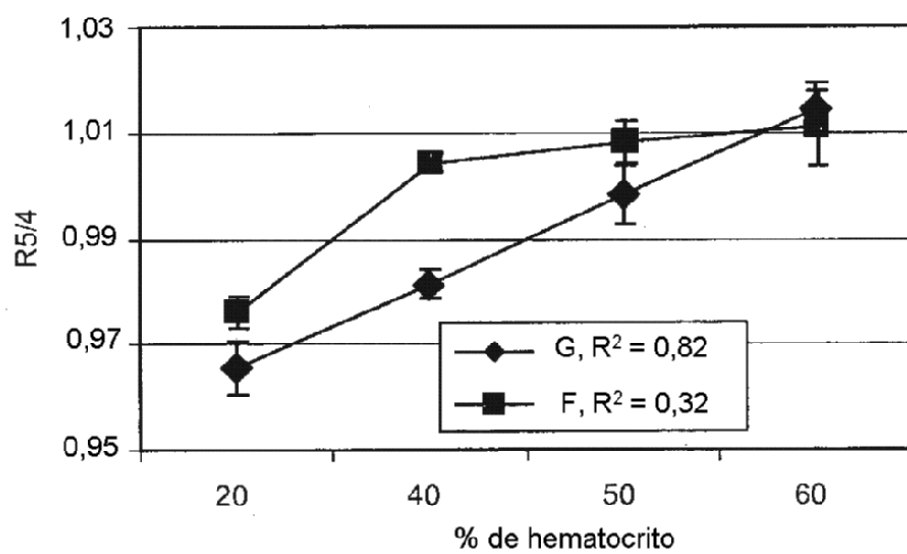


Fig. 8

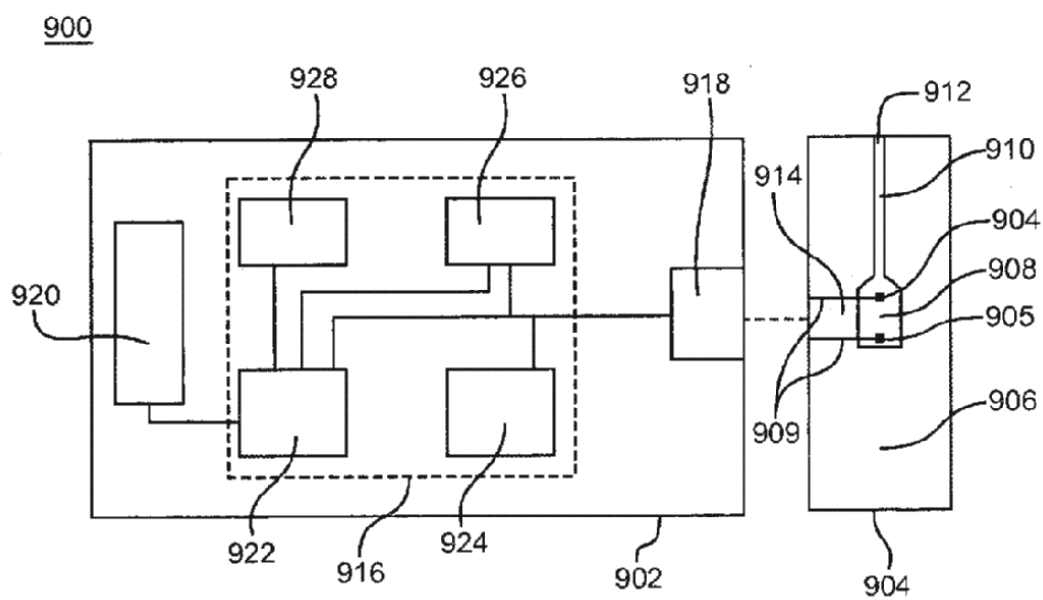


Fig. 9