



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0027240

(51)⁷ C12Q 1/00

(13) B

(21) 1-2015-01539

(22) 31/10/2013

(86) PCT/EP2013/072754 31/10/2013

(87) WO 2014/068022 08/05/2014

(30) 13/667,057 02/11/2012 US

(45) 25/01/2021 394

(43) 25/09/2015 330A

(73) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

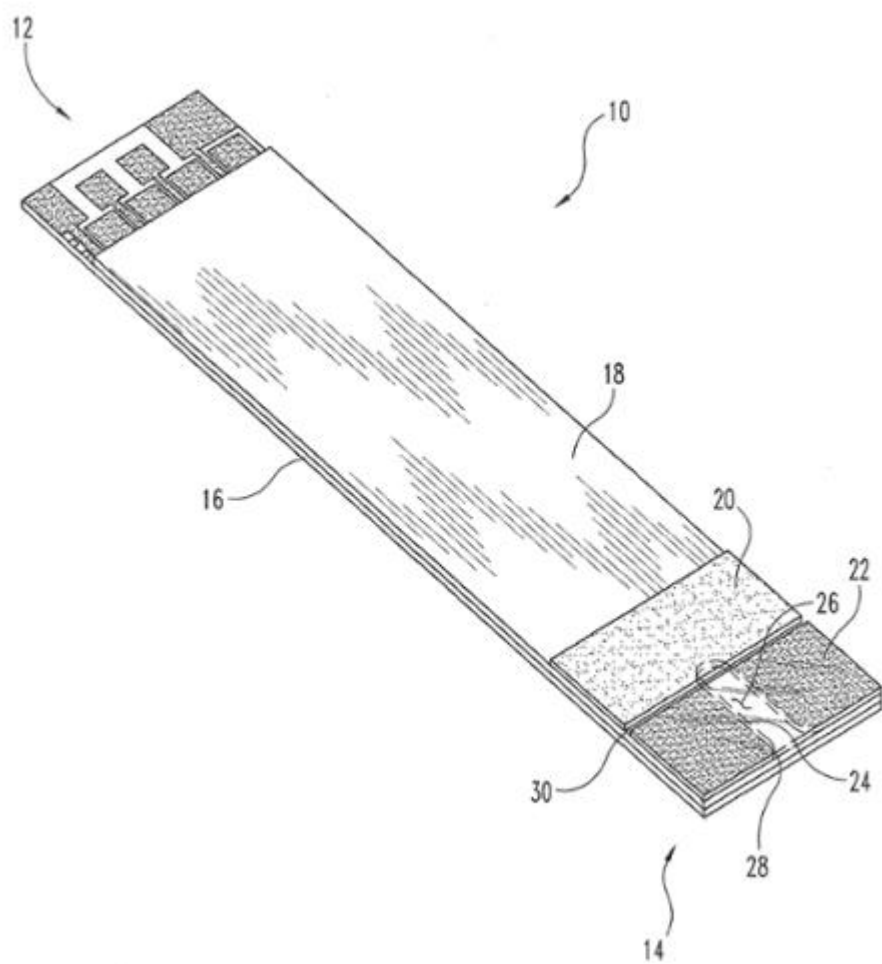
Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel, Switzerland

(72) WILSEY, Christopher D. (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) NHÂN TỔ THỬ NGHIỆM ĐỂ XÁC ĐỊNH CHẤT PHÂN TÍCH THỨ NHẤT VÀ THỨ HAI VÀ CHẤT THỬ

(57) Sáng chế đề cập đến chất thử và nhân tổ thử nghiệm liên quan. Theo một phương án, nhân tổ thử nghiệm này có tính năng kép bao gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP và hợp chất có công thức (I). Theo một khía cạnh, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza, và chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến chất thử duy nhất. Các phương án, dạng, mục đích, đặc điểm, ưu điểm, khía cạnh, và lợi ích khác sẽ trở nên rõ ràng từ bản mô tả và các hình minh họa.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất thử và nhân tố thử nghiệm liên quan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc sử dụng các nhân tố thử nghiệm dùng một lần đã trở thành việc thông thường để xác định sự có mặt và/hoặc hàm lượng của các chất phân tích được chọn ở các mẫu xét nghiệm. Ví dụ, bệnh nhân bị bệnh tiểu đường và các tình trạng bệnh tương tự thường tiến hành việc tự giám sát đường máu trong đó bệnh nhân theo dõi lượng glucoza trong máu của chính mình. Mục đích của việc giám sát mức đường máu là để xác định mức nồng độ và nếu cần là để thực hiện hành động khắc phục nếu mức này quá cao hoặc quá thấp để đưa mức này trở về phạm vi có thể chấp nhận được. Thất bại khi thực hiện hành động khắc phục có thể gây biến chứng y khoa nghiêm trọng. Giám sát lượng glucoza là việc hằng ngày với từng bệnh nhân tiểu đường, và độ chính xác của giám sát này có thể đem lại sự khác biệt giữa sống và chết. Thất bại khi duy trì nồng độ đường máu ở mức có thể chấp nhận được trên cơ sở thông thường có thể gây các biến chứng nghiêm trọng liên quan tới bệnh tiểu đường, gồm bệnh tim mạch, bệnh thận, tổn hại thần kinh và mất thị lực.

Người có bệnh tiểu đường kiểm soát chặt chẽ lượng đường trong máu của họ sẽ có được lợi ích lâu dài. Nghiên cứu về kiểm soát bệnh tiểu đường và thử nghiệm biến chứng (Diabetes Control and Compliation Trial-DCCT) là nghiên cứu lâm sàng được tiến hành từ năm 1983 đến năm 1993 bởi Viện nghiên cứu bệnh tiểu đường và các bệnh tiêu hóa và bệnh thận Quốc gia (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases-NIDDK). DCCT so sánh điều trị tăng cường với điều trị thông thường. Bệnh nhân được điều trị tích cực giữ mức glucoza càng gần với mức thông thường càng tốt bằng ít nhất ba liều tiêm insulin mỗi ngày hoặc một bơm insulin, và thường xuyên tự giám sát mức glucoza trong máu. Điều trị tăng cường nhằm mục đích giữ hemoglobin A1c (HbA1c), phản ánh lượng đường máu trung bình qua khoảng thời gian từ 2 đến 3 tháng, càng gần với mức thông thường càng tốt. Điều trị thông thường bao gồm một hoặc hai liều tiêm insulin một ngày và thử nước tiểu hoặc đường máu

một lần một ngày. Các kết quả của nghiên cứu DCCT cho thấy rằng việc duy trì mức đường máu càng gần với mức thông thường càng tốt sẽ làm chậm sự khởi phát và sự tiến triển của các bệnh về mắt, thận, và thần kinh do bệnh tiểu đường gây ra. Trên thực tế, đã được chứng minh là mọi phương pháp duy trì giảm nồng độ đường máu đều có hiệu quả, ngay cả khi người bệnh có tiền sử kiểm soát kém.

Một số thiết bị phân tích hoặc cảm biến sinh học, như máy đo đường huyết, hiện có trên thị trường cho phép cá nhân kiểm tra nồng độ glucoza trong mẫu máu nhỏ. Nhiều trong các mẫu máy đo đường huyết hiện có trên thị trường tận dụng nhân tố thử nghiệm dùng một lần mà, kết hợp với máy đo đường huyết, đo lượng glucoza trong mẫu máu theo phương pháp điện hóa hoặc quang học. Với các máy đo đường huyết hiện nay, thông tin hiển thị ở dạng kết quả chỉ số đường máu thành công là trị số đường máu tương ứng, thường được chỉ ra theo đơn vị là mg/dL hoặc mmol, và có thể cả ngày giờ tiến hành đo. Thông tin này, kết hợp với kết quả tính được về lượng nạp hydrat cacbon dự tính hoặc đã biết hoặc hoạt động và kiến thức dự tính hoặc đã biết về các yếu tố tùy tình huống hoặc cá nhân khác, trong hầu hết các trường hợp đủ để cho phép bệnh nhân tiểu đường điều chỉnh hoặc chuyển hóa lượng thực phẩm nạp vào cơ thể và/hoặc liều insulin tức thời để tiêm nhằm khống chế mức đường máu trong thời gian ngắn hạn. Ngoài ra, trong trường hợp trị số glucoza thấp, thì bệnh nhân tiểu đường có thể xác định nhu cầu nạp đường để tránh hạ đường huyết.

Việc thiếu hoặc không đủ insulin ngăn cơ thể sử dụng glucoza làm nguồn nhiên liệu để tạo ra năng lượng. Khi điều này xảy ra, thì cơ thể sản sinh ra năng lượng bằng cách phân hủy axit béo, mà hệ quả là tạo ra sản phẩm phụ keton và làm tăng nồng độ keton. Nồng độ keton gia tăng ở bệnh nhân tiểu đường cũng có thể gây ra do đau tim, đột quỵ, lạm dụng thuốc kích thích hoặc bệnh gian phát như viêm phổi, cúm, viêm dạ dày ruột hoặc nhiễm khuẩn tiết niệu. Nồng độ keton quá mức ở bệnh nhân tiểu đường dẫn đến biến chứng nhiễm toan keton do tiểu đường (DKA), một trường hợp y khoa khẩn cấp mà có thể dẫn đến tử vong nếu không chữa trị. Triệu chứng của DKA gồm buồn nôn, nôn, khát nước quá mức và tiểu nhiều, đau vùng bụng, khó thở, chóng mặt, hôn mê và các triệu chứng khác. Xét trên mức độ nghiêm trọng của DKA, nên mong muốn là có sự điều trị nhằm làm giảm nồng độ keton trước giai đoạn khởi phát hoàn toàn của biến chứng DKA. Ngoài ra, vì triệu chứng liên quan tới biến chứng DKA có

thể không biểu hiện cho đến khi biến chứng DKA khởi phát hoặc có nồng độ keton cao bất thường, thường ưu tiên là điều trị giảm keton được bắt đầu trước khi có các triệu chứng này.

Việc ngăn ngừa biến chứng DKA có thể đạt được bằng cách đo nồng độ keton và tìm tới điều trị y khoa nếu kết quả tăng vượt ngưỡng nồng độ nhất định. Các xét nghiệm nước tiểu có thể được sử dụng để xác định nồng độ keton. Trang web ADA khuyên rằng nồng độ keton cần được kiểm tra mỗi 4-6 giờ khi bệnh nhân tiểu đường có bệnh (như cảm lạnh hoặc cảm cúm), hoặc khi nồng độ đường máu của họ cao hơn 240mg/dl. (Xem <http://www.diabetes.org/living-with-diabetes/complications/ketoacidosis-dka.html>). Tuy nhiên, với bệnh nhân tiểu đường phải thực hiện nhiều xét nghiệm đường máu mỗi ngày, thì việc thực hiện các xét nghiệm nước tiểu riêng biệt ngoài các xét nghiệm đường máu là rất tốn thời gian và gây mệt mỏi.

Bằng cách thực hiện xét nghiệm kép để đo nồng độ glucoza và keton trên cùng dải thử nghiệm, bệnh nhân tiểu đường có thể tuân theo các khuyến cáo xét nghiệm và trị liệu an toàn hơn một cách dễ dàng hơn nhờ phát hiện sớm được nồng độ keton cao. Ví dụ, có khuyến khích là tránh tập thể dục khi keton và đường máu đang ở mức cao bởi vì nồng độ gia tăng ở các chất phân tích này có thể biểu lộ rằng kiểm soát bệnh tiểu đường là không hiệu quả. Tuy nhiên, hầu hết bệnh nhân tiểu đường đều không dễ có sẵn xét nghiệm keton để xét nghiệm, và thường không dễ có sẵn thông tin về cách xử lý các tình huống như vậy.

Việc sử dụng các xét nghiệm nước tiểu riêng biệt để xác định nồng độ keton cũng cần phải có các dự trữ chẩn đoán bổ sung và phí kèm theo, và gây khó khăn cho việc phối hợp nồng độ đường máu và nồng độ keton. Cũng có thể xác định nồng độ keton từ mẫu máu. Khi mẫu máu được sử dụng, thì nồng độ keton thường được xác định bằng cách đo nồng độ của hydroxybutyrat, vốn là keton chiếm ưu thế trong máu. Nồng độ hydroxybutyrat trong máu dưới 0,6mM được coi là bình thường, trong khi đó nồng độ hydroxybutyrat nằm trong khoảng từ 0,6mM đến 1,5mM báo rằng vẫn đề có thể phát triển và nồng độ lớn hơn 1,5mM báo nguy cơ phát triển biến chứng DKA. Nồng độ hydroxybutyrat trong máu trên 3mM biểu lộ biến chứng DKA và cần điều trị y khoa khẩn cấp.

Kỹ thuật hiện nay để xác định nồng độ keton từ máu bao gồm nhân tố thử nghiệm đơn năng thích hợp để phát hiện nồng độ hydroxybutyrat chẳng hạn. Tuy nhiên, cũng giống như xét nghiệm nước tiểu được mô tả trên đây, bệnh nhân tiểu đường có tương đối nhiều xét nghiệm đường máu mỗi ngày có thể cảm thấy tốn thời gian và mệt mỏi khi phải thực hiện cả các xét nghiệm nồng độ keton trong máu riêng biệt ngoài các xét nghiệm đường máu, đặc biệt là vì xét nghiệm keton máu hiện nay chậm hơn xét nghiệm đường máu trong lĩnh vực kỹ thuật. Xét nghiệm nồng độ keton trong máu mà tiến hành độc lập với xét nghiệm đường máu cũng cần phải có các dự trữ chẩn đoán bổ sung và cả phí bổ sung đi kèm cũng cần phải chi trả. Hơn nữa, việc tiến hành riêng biệt các xét nghiệm để xác định nồng độ đường máu và keton máu gây khó khăn cho việc phối hợp trị số đường máu và keton máu đo được.

Các kỹ thuật khác để xác định nồng độ keton từ máu bao gồm nhân tố thử nghiệm thích hợp để phát hiện nồng độ đường máu và keton máu. Tuy nhiên trong các nhân tố thử nghiệm hiện nay, thì nồng độ đường máu được đo nhanh hơn nồng độ keton máu khiến kết quả xét nghiệm nồng độ keton máu thu được chậm hơn và được cung cấp sau xét nghiệm đường máu. Theo cách khác, kết quả của cả xét nghiệm đường máu và xét nghiệm keton máu đều không được cung cấp cho đến khi kết thúc xét nghiệm nồng độ keton máu sau đó. Trong cả hai trường hợp, việc đợi chờ kết quả của một hoặc cả hai xét nghiệm cho đến khi xét nghiệm nồng độ keton máu được hoàn tất có thể khá là mệt mỏi và tốn thời gian đối với bệnh nhân tiểu đường phải thực hiện tương đối nhiều xét nghiệm mỗi ngày, đặc biệt là khi cân nhắc rằng trong một số trường hợp thì xét nghiệm nồng độ keton máu có thể tốn nhiều thời gian hoàn tất hơn gấp gần hai lần so với xét nghiệm đường máu. Hơn nữa, khi kết quả xét nghiệm đường máu được cung cấp trước và riêng biệt với kết quả xét nghiệm keton máu, thì phát sinh khả năng là người bệnh ngừng xét nghiệm trước khi xét nghiệm nồng độ keton máu được hoàn tất và/hoặc chuyển hướng chú ý sang vấn đề khác sau khi kết quả xét nghiệm đường máu được cung cấp nhưng trước khi kết quả của xét nghiệm nồng độ keton máu được cân nhắc cẩn thận.

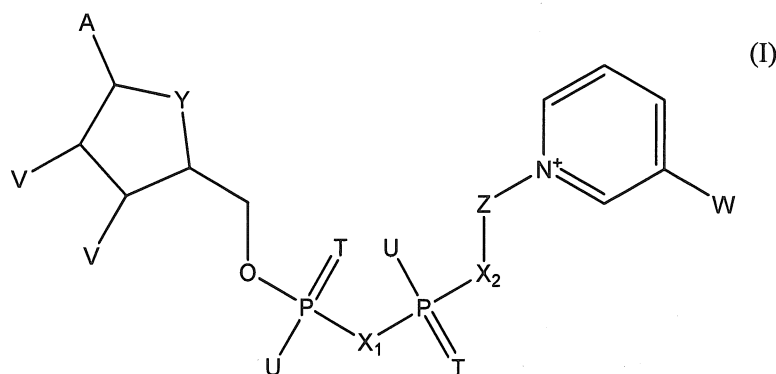
Xét theo sự phân nhánh khi ghi chép, báo cáo và phân tích chính xác về chỉ số keton máu ngoài chỉ số đường máu, thì mong đợi có sự cải tiến trong kỹ thuật, quy

trình và thiết bị dùng để xét nghiệm nồng độ keton máu và/hoặc nồng độ keton máu và đường máu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các chất thử và nhân tố thử nghiệm liên quan. Theo một phương án, nhân tố thử nghiệm có tính năng kép gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) (được định nghĩa dưới đây). Theo một khía cạnh, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza, và chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến chất thử duy nhất.

Theo một phương án, nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất và enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai. Nhân tố thử nghiệm này cũng bao gồm coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

$W = \text{COOR}, \text{CON(R)}_2, \text{COR}$ hoặc CSN(R)_2 trong đó R trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

$X_1, X_2 =$ trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C(CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

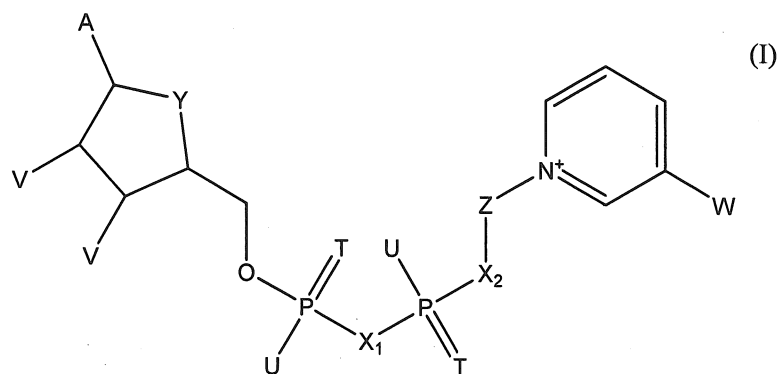
$Y = \text{NH}, \text{S}, \text{O}$ hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó $R_4 =$ ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl, hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng đã khử của nó.

Ở một dạng theo phương án này, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza. Theo một khía cạnh của dạng này, hydroxybutyrat dehydrogenaza là 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza. Theo một khía cạnh khác của dạng này, enzym thứ hai là dehydrogenaza được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza, lactat dehydrogenaza, malat dehydrogenaza, glyxerol dehydrogenaza, rượu dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza, và dehydrogenaza của axit amin bao gồm dehydrogenaza của axit L-amin. Theo một khía cạnh khác nữa của dạng này, chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza. Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

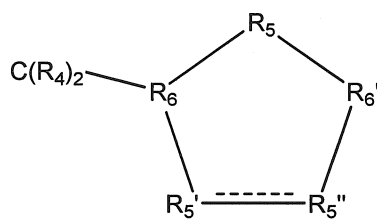
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

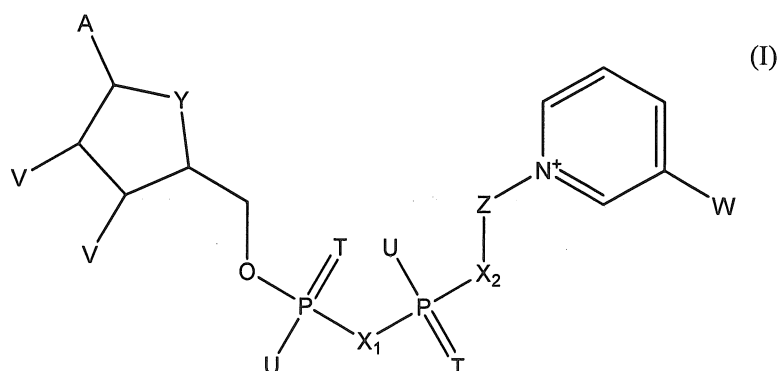
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂

R6 = CH, và

R6' = CH.

Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

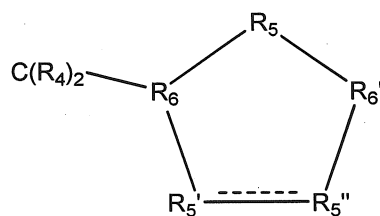
W = $\text{CON}(\text{R})_2$ trong đó R biểu thị H,

$\text{X}_1 = \text{O}$,

$\text{X}_2 = \text{O}$,

$\text{Y} = \text{O}$, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'' , và trong đó:

$\text{R4} = \text{H}$,

$\text{R5'} = \text{CHOH}$,

$\text{R5''} = \text{CHOH}$,

$\text{R5} = \text{CR4}_2$,

$\text{R6} = \text{CH}$, và

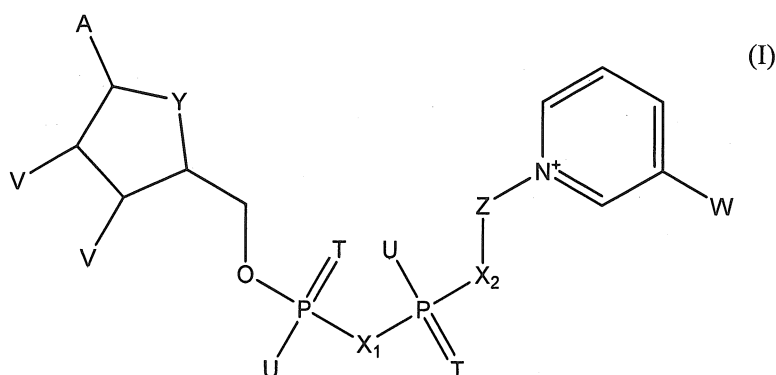
$\text{R6'} = \text{CH}$.

Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là thio-NAD. Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là thio-NADP.

Ở một dạng khác theo phương án này, nhân tố thử nghiệm gồm chất thử thứ nhất gồm enzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, và coenzym được chọn từ

nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng đã khử của nó. Theo một khía cạnh của dạng này, nhân tố thử nghiệm cũng bao gồm chất thử thứ hai gồm enzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó. Theo một khía cạnh khác, nhân tố thử nghiệm gồm dải thử nghiệm được thiết kế cấu hình để mang chất thử thứ nhất và thứ hai. Theo một khía cạnh khác nữa, dải thử nghiệm gồm hệ điện cực thứ nhất có liên quan đến chất thử thứ nhất và hệ điện cực thứ hai có liên quan đến chất thử thứ hai. Theo một khía cạnh khác của dạng này, chất thử thứ nhất còn gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.

Theo một phương án khác, chất thử gồm 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza và hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

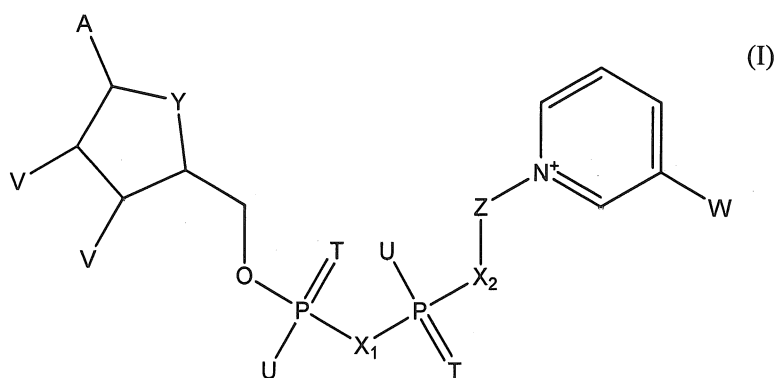
Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phần tử thế, và gốc CR₄ trong đó CR₄ được liên kết với nhóm vòng này và với X₂, và

trong đó R₄ = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH₃, với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

Ở một dạng theo phương án này, hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

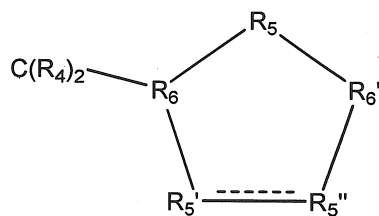
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

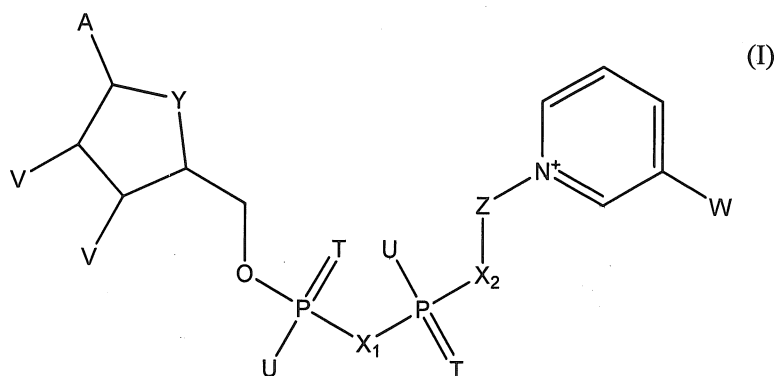
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

Ở một dạng khác theo phương án này, hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

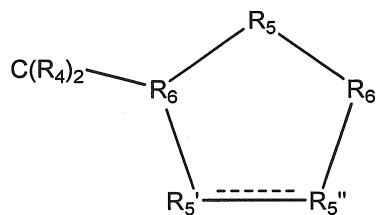
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

$X_2 = O$,

$Y = O$, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa $R5'$ và $R5''$, và trong đó:

$R4 = H$,

$R5' = CHOH$,

$R5'' = CHOH$,

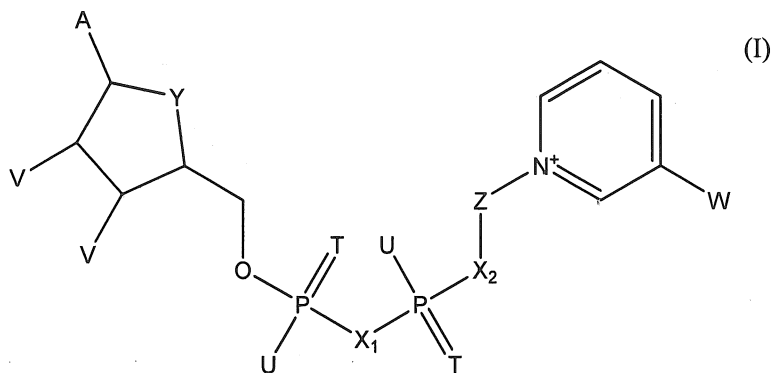
$R5 = CR4_2$,

$R6 = CH$, và

$R6' = CH$.

Ở một dạng khác, chất thử còn bao gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.

Ở một dạng khác theo phương án này, nhân tố thử nghiệm gồm dải thử nghiệm mang chất thử để xác định chất phân tích thứ nhất. Theo một khía cạnh của dạng này, dải thử nghiệm còn mang chất thử thứ hai để xác định chất phân tích thứ hai. Theo một khía cạnh khác, chất thử thứ hai gồm dehydrogenaza enzyme được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza, lactat dehydrogenaza, malat dehydrogenaza, glyxerol dehydrogenaza, rượu dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza và dehydrogenaza của axit amin bao gồm dehydrogenaza của axit L-amin. Theo một khía cạnh khác nữa, chất thử thứ hai gồm coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa di nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

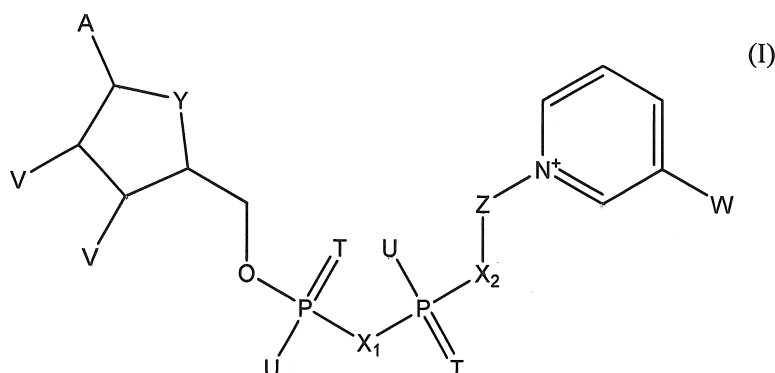
trong đó R_4 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

Theo một khía cạnh khác nữa, dải thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định điện hóa của chất phân tích thứ nhất và thứ hai.

Theo một phương án khác nữa, phương pháp xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong mẫu bao gồm bước cung cấp nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai và hệ này bao gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, enzym phụ thuộc coenzym

thứ hai hoặc cơ chất cho enzyme thứ hai và coenzyme được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR, hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phần tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó R_4 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của chúng;

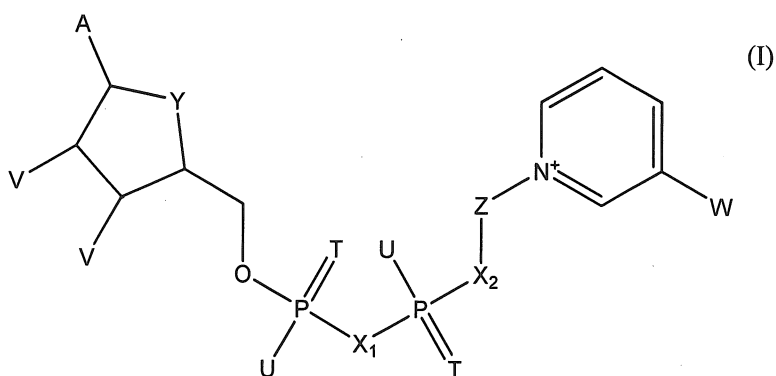
bước cho nhân tố thử nghiệm này tiếp xúc với mẫu; bước phát hiện ra chất phân tích thứ nhất; và bước phát hiện ra chất phân tích thứ hai.

Ở một dạng theo phương án này, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và chất phân tích thứ hai là glucoza. Theo một khía cạnh của dạng này, bước phát hiện ra

chất phân tích thứ nhất và phát hiện ra chất phân tích thứ hai được tiến hành đồng thời. Theo một khía cạnh khác của dạng này, bước phát hiện ra chất phân tích thứ nhất và phát hiện ra chất phân tích thứ hai được hoàn tất trong vòng 5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với mẫu.

Theo một phương án khác nữa, phương pháp bao gồm bước cung cấp nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định trị số glucoza và keton trong mẫu; bước cho nhân tố thử nghiệm này tiếp xúc với mẫu; và bước xác định trị số glucoza và keton trong mẫu trong vòng 7,5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với mẫu. Ở một dạng, nhân tố thử nghiệm gồm chất thử thứ nhất để xác định trị số glucoza và chất thử thứ hai để xác định trị số kenton. Theo một khía cạnh của dạng này, chất thử thứ hai gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza. Ở một dạng khác, bước xác định trị số glucoza và keton trong mẫu được hoàn tất trong vòng 5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với mẫu. Ở một dạng khác, trị số glucoza và keton được xác định trong vòng 2 giây ngay sau bước xác định. Ở một dạng khác, mẫu này chứa máu.

Ở một dạng của phương pháp này, nhân tố thử nghiệm gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất và enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai. Nhân tố thử nghiệm này cũng bao gồm coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

$W = \text{COOR}, \text{CON}(\text{R})_2, \text{COR}$ hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

$\text{X}_1, \text{X}_2 =$ ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

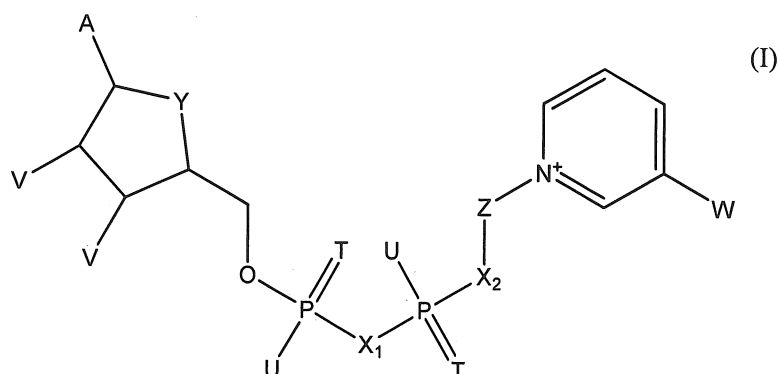
$\text{Y} = \text{NH}, \text{S}, \text{O}$ hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phần tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó $\text{R}_4 =$ ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của chúng.

Theo một khía cạnh, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza. Theo một khía cạnh khác, hydroxybutyrat dehydrogenaza là 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza. Theo một khía cạnh khác, enzym thứ hai là dehydrogenaza được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza, lactat dehydrogenaza, malat dehydrogenaza, glyxerol dehydrogenaza, rượu dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza và dehydrogenaza của axit amin bao gồm dehydrogenaza của axit L-amin. Theo một khía cạnh khác nữa, chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza. Theo một khía cạnh khác, coenzym là hợp chất có công thức (I)



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

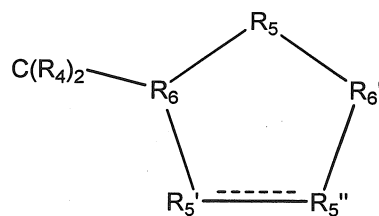
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

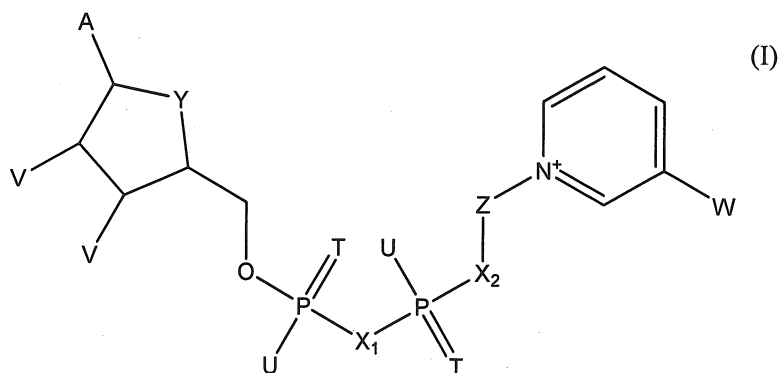
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

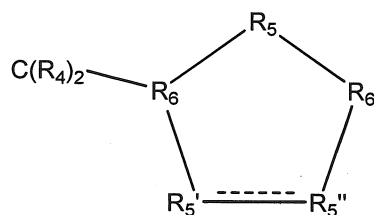
W = $\text{CON}(\text{R})_2$ trong đó R biểu thị H,

$\text{X}_1 = \text{O}$,

$\text{X}_2 = \text{O}$,

$\text{Y} = \text{O}$, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'' , và trong đó:

$\text{R4} = \text{H}$,

$\text{R5'} = \text{CHOH}$,

$\text{R5''} = \text{CHOH}$,

$\text{R5} = \text{CR4}_2$,

$\text{R6} = \text{CH}$, và

$\text{R6'} = \text{CH}$.

Theo một khía cạnh khác nữa, coenzym là thio-NAD. Theo một khía cạnh khác, coenzym là thio-NADP.

Theo một khía cạnh khác, nhân tố thử nghiệm gồm chất thử thứ nhất mà gồm enzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng

được khử của nó. Theo một khía cạnh khác, nhân tố thử nghiệm cũng bao gồm chất thử thứ hai mà gồm enzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó. Theo một khía cạnh khác, nhân tố thử nghiệm gồm dải thử nghiệm được thiết kế cấu hình để mang chất thử thứ nhất và thứ hai. Theo một khía cạnh khác nữa, dải thử nghiệm gồm hệ điện cực thứ nhất có liên quan đến chất thử thứ nhất và hệ điện cực thứ hai có liên quan đến chất thử thứ hai. Theo một khía cạnh khác, chất thử thứ nhất còn gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua, và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.

Một khía cạnh khác của sáng chế là kỹ thuật duy nhất để xác định sự có mặt và/hoặc nồng độ của nhiều chất phân tích ở các mẫu xét nghiệm. Các khía cạnh khác gồm phương pháp, hệ thống, dụng cụ, bộ kit, linh kiện lắp ráp, thiết bị, và/hoặc máy móc duy nhất liên quan tới việc phát hiện chất phân tích trong mẫu.

Các khía cạnh, phương án, dạng, đặc điểm, lợi ích, mục đích, và ưu điểm khác sẽ trở nên rõ ràng dựa trên phần mô tả chi tiết và các hình minh họa được cung cấp kèm theo đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ phối cảnh thể hiện nhân tố thử nghiệm theo phương án thứ nhất.

Fig.2 là hình vẽ phối cảnh từng phần thể hiện nhiều đặc điểm khác nhau của nhân tố thử nghiệm trên Fig.1.

Fig.3 là hình vẽ phối cảnh từng phần thể hiện nhân tố thử nghiệm theo phương án thứ hai.

Fig.4 là hình vẽ cắt trích thể hiện nhân tố thử nghiệm trên Fig.3.

Fig.5 là sơ đồ minh họa thể hiện thiết bị phân tích được thiết kế cấu trúc để sử dụng với nhân tố thử nghiệm trên Fig.1.

Fig.6-Fig.18 là hình minh họa các đáp ứng của hydroxybutyrat xác định được với nhiều chất thử khác nhau.

Mô tả chi tiết sáng chế

Vì mục đích nâng cao hiểu biết về các nguyên lý của sáng chế, tài liệu tham khảo sẽ được nêu ra dưới dạng các phương án được minh họa trên các hình vẽ và ngôn từ cụ thể sẽ được sử dụng để mô tả các phương án này. Dù vậy vẫn nên hiểu rằng không định sẵn giới hạn nào cho phạm vi của sáng chế dựa theo đó, các chỉnh sửa như vậy và các thay đổi khác trong thiết bị được minh họa, và các ứng dụng khác của nguyên lý của sáng chế như được minh họa trong đó được dự tính là thường xảy ra đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật liên quan đến sáng chế.

Sáng chế đề cập đến chất thử và nhân tố thử nghiệm liên quan. Theo một phương án, nhân tố thử nghiệm tính năng kép gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I). Theo một khía cạnh, chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza, và chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza. Theo một phương án khác, nhân tố thử nghiệm là một thành phần của hệ thống mà còn bao gồm máy đo được thiết kế cấu hình để tương tác với nhân tố thử nghiệm để đánh giá chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong mẫu. Quy trình đánh giá này có thể bắt đầu từ bước phát hiện sự có mặt của chất phân tích thứ nhất và thứ hai để xác định nồng độ của chất phân tích thứ nhất và thứ hai. Chất phân tích thứ nhất và thứ hai và dung dịch mẫu có thể là dạng bất kỳ thích hợp đối với nhân tố thử nghiệm, mặc dù ở một dạng cụ thể nhưng không giới hạn thì chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat, chất phân tích thứ hai là glucoza, và dung dịch mẫu là máu hoặc dịch kẽ. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến chất thử duy nhất. Các khía cạnh và các đặc điểm khác của sáng chế được mô tả tương ứng với các phương án được minh họa như dưới đây.

Dựa trên Fig.1 và Fig.2, sáng chế đề cập chi tiết hơn đến nhân tố thử nghiệm 10 theo phương án thứ nhất được thiết kế cấu hình để đánh giá chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong mẫu. Nhân tố thử nghiệm 10 được tạo ra ở dạng bộ cảm biến điện hóa gồm ngăn nhận mẫu đối với dung dịch mẫu, và chất thử thứ nhất và thứ hai để tạo ra các tín hiệu điện hóa khi có mặt chất phân tích thứ nhất và thứ hai. Ở dạng được minh họa, thì nhân tố thử nghiệm 10 kéo dài từ đầu gài máy đo 12 và đầu định liều lượng 14. Ở một dạng không được minh họa, thì hình dạng đầu định liều lượng 14 có thể

khác biệt với đầu gài máy đo 12 để hỗ trợ người sử dụng xử lý và sử dụng nhân tố thử nghiệm 10 một cách chính xác. Nhân tố thử nghiệm 10 cũng có thể gồm một hoặc nhiều ký tự đồ họa (không được thể hiện trên hình vẽ) để cung cấp cho người sử dụng hướng dẫn về cách xử lý và sử dụng chính xác.

Nhân tố thử nghiệm 10 được cung cấp ở dạng dải thử dùng một lần có kết cấu nhiều lớp gồm nền bazơ 16, lớp giãn cách 18, nắp đáy thân 20 và nắp đáy ngăn 22. Phần mô tả chi tiết hơn về nhân tố thử nghiệm bao gồm kết cấu nhiều lớp tương tự được nêu trong patent US số 7727467, nội dung của tài liệu này được kết hợp toàn bộ ở đây để tham khảo. Lớp giãn cách 18 bao gồm phần rỗng 24 để bố trí ngăn nhận mẫu 26 kéo dài từ nền bazơ 16 đến nắp đáy thân 20 và nắp đáy ngăn 22. Trong cấu hình này, ngăn nhận mẫu 26 mở ra ở đầu định liều lượng 14 của nhân tố thử nghiệm 10 qua khe hở 28 đã được thiết kế cấu hình để dung dịch mẫu thuận lợi chảy vào ngăn nhận mẫu 26. Các dạng trong đó ngăn nhận mẫu 26 mở ra qua khe hở được đặt nằm dọc theo cạnh của nhân tố thử nghiệm 10 cũng được bao gồm trong sáng chế. Các dạng trong đó ngăn nhận mẫu 26 mở ra qua khe hở được đặt nằm dọc theo toàn bộ chiều dài của đầu định liều lượng 14 và bao gồm một phần cạnh cũng được bao gồm trong sáng chế.

Nắp đáy thân 20 và nắp đáy ngăn 22 che phủ lớp giãn cách 18 và định ra đường rãnh 30 nằm giữa chúng mà tạo ra lỗ thông nối với ngăn nhận mẫu 26 để cho phép không khí thoát ra khỏi ngăn nhận mẫu 26 khi dung dịch mẫu chảy vào ngăn nhận mẫu 26 này qua khe hở 28. Đường rãnh 30 được đặt ở vị trí tương đối với ngăn nhận mẫu 26 mà nằm bên dưới vị trí của hệ điện cực (được mô tả dưới đây) nằm trong ngăn nhận mẫu 26. Dung dịch mẫu chảy vào ngăn nhận mẫu 26 sẽ chảy tới tận lỗ thông, nhưng chỉ dừng tại đó. Khi quan sát từ trên xuống, thì đường rãnh này cung cấp chỉ thị trực quan về “đường kín” để khẳng định rằng hệ điện cực trong ngăn nhận mẫu 26 đã được làm ướt hoặc phủ kín hoàn toàn để hoạt động chính xác. Ngoài ra hoặc theo cách khác, liều điện cực vừa đủ cũng có thể được bố trí liền kề với đường rãnh 30 để phát hiện khi dung dịch mẫu đã chảy tới đường rãnh 30 nhằm đảm bảo rằng bước làm ướt điện cực đo đã diễn ra.

Ngoài hệ điện cực và chất thử, thì ngăn nhận mẫu 26 có thể trống không hoặc nếu không thì có thể chứa nguyên liệu hấp thụ. Các nguyên liệu hấp thụ thích hợp gồm

polyeste, nylon, xenluloza, và dẫn xuất của xenluloza như nitroxenluloza. Khi được bao gồm, thì nguyên liệu hấp thụ giúp tăng mức độ hấp thụ của dung dịch mẫu bằng cách hỗ trợ hấp thụ dịch lỏng vào ngăn nhận mẫu 26. Việc sử dụng nguyên liệu hấp thụ cũng nhằm làm giảm hơn nữa thể tích trống của ngăn nhận mẫu 26 để nhận dung dịch mẫu. Ở một dạng, sự lấp đầy ngăn nhận mẫu 26 diễn ra nhờ tác động mao dẫn. Sự lấp đầy ngăn nhận mẫu 26 cũng có thể được gia tăng bằng các phương thức khác, ví dụ như tạo áp suất lên dung dịch mẫu để đẩy dung dịch mẫu này vào ngăn nhận mẫu 26, và/hoặc tạo môi trường chân không trên ngăn nhận mẫu 26 để hút dung dịch mẫu vào ngăn nhận mẫu 26. Ngoài ra, một hoặc nhiều bề mặt của ngăn nhận mẫu 26 có thể được tạo thành từ nguyên liệu ưa nước, đi kèm lớp phủ nguyên liệu ưa nước, hoặc trải qua quy trình xử lý tăng cường tính ưa nước để tạo thuận lợi cho việc lấp đầy ngăn nhận mẫu 26 bằng mẫu xét nghiệm.

Nhân tố thử nghiệm 10 được thiết kế cấu hình để phát hiện sự có mặt và/hoặc xác định nồng độ của chất phân tích thứ nhất và thứ hai bằng phản ứng oxy hóa và khử điện hóa. Các phản ứng này được biến đổi thành tín hiệu điện có thể liên quan tới lượng hoặc nồng độ của chất phân tích. Như được thể hiện trên Fig.2, khi chỉ có một vài đặc điểm của nhân tố thử nghiệm 10 được minh họa, thì nền 16 mang hệ điện cực thứ nhất 32 bao gồm nhiều điện cực 34 và vạch điện cực 36 kết thúc trong đệm tiếp xúc 38. Điện cực 34 được xác định là các phần của vạch điện cực 36 được bố trí trong ngăn nhận mẫu 26. Nền 16 cũng mang hệ điện cực 46 thứ hai bao gồm nhiều điện cực 48 và vạch điện cực 50 kết thúc trong đệm tiếp xúc 52. Điện cực 48 được xác định là các phần của vạch điện cực 50 được bố trí trong ngăn nhận mẫu 26. Nên hiểu rằng các cấu hình được minh họa của hệ điện cực 32, 46 là không giới hạn, và các cấu hình thay thế cũng được bao gồm trong sáng chế.

Nhân tố thử nghiệm 10 cũng bao gồm chất thử thứ nhất 60 che phủ ít nhất một phần điện cực 34 của hệ điện cực thứ nhất 32 trong ngăn nhận mẫu 26, và chất thử thứ hai 62 che phủ ít nhất một phần điện cực 48 của hệ điện cực thứ hai 46 trong ngăn nhận mẫu 26. Chất thử thứ nhất 60 và chất thử thứ hai 62 thích hợp để tạo ra các tín hiệu điện hóa khi có mặt chất phân tích xét nghiệm thứ nhất và thứ hai tương ứng, và được bố trí trong ngăn nhận mẫu 26 ở vị trí nhằm cung cấp tín hiệu điện hóa đến điện cực 34, 48 trong ngăn nhận mẫu 26. Ở dạng được minh họa, khoảng trống 64 kéo dài

từ chất thử thứ nhất 60 đến chất thử thứ hai 62, mặc dù dạng trong đó không có khoảng trống 64 và chất thử thứ nhất và thứ hai hình thành lớp liên tục trên điện cực 34, 48 cũng được bao gồm trong sáng chế. Phần mô tả chi tiết hơn nữa liên quan tới chất thử thứ nhất 60 và chất thử thứ hai 62 sẽ được đề cập dưới đây.

Điện cực 34 của hệ điện cực thứ nhất 32 bao gồm tập hợp các điện cực đo ở dạng điện cực làm việc 40 và điện cực đối 42 mà gồm phần 44a và 44b được đặt cách nhau trên các cạnh đối diện nhau của điện cực làm việc 40. Như được sử dụng trong bản mô tả này, “điện cực làm việc” là điện cực mà ở đó chất phân tích được oxy hóa điện hoặc được khử điện có hoặc không có trung gian là chất môi giới oxy hóa khử, trong khi đó thuật ngữ “điện cực đối” dùng để chỉ điện cực được liên kết với điện cực làm việc và qua đó truyền tải dòng điện hóa ngang bằng về cường độ và đối ngược về dấu với dòng điện đi qua điện cực làm việc. Thuật ngữ “điện cực đối” có nghĩa là bao gồm các điện cực đối cũng hoạt động như các điện cực tham chiếu (tức là, điện cực tham chiếu/điện cực đối). Điện cực 48 của hệ điện cực thứ hai 46 bao gồm tập hợp các điện cực đo ở dạng điện cực làm việc 54 và điện cực đối 56 mà gồm phần 58a và 58b đặt cách nhau trên các cạnh đối diện nhau của điện cực làm việc 54. Trong bố trí này, ngăn nhận mẫu 26 được thiết kế sao cho dung dịch mẫu chảy vào ngăn nhận mẫu 26 được đặt tiếp xúc điện phân với điện cực làm việc 40 và 54 và điện cực đối 42 và 56. Bố trí này cũng cho phép dòng điện truyền giữa các điện cực đo tác động đến quá trình oxy hóa điện hoặc khử điện của chất phân tích thứ nhất và thứ hai. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các cấu hình đề cập ở trên chỉ là một trong số nhiều cấu hình dùng cho điện cực đo.

Nhân tố thử nghiệm 110 theo một phương án khác để đánh giá chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong mẫu được minh họa trên Fig.3 và Fig.4. Nhân tố thử nghiệm 110 được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật sản xuất nối tiếp. Phần mô tả chi tiết hơn về kỹ thuật này, và về nhân tố thử nghiệm 110 nói chung, được tìm thấy trong Công bố đơn Quốc tế số WO 2012/003306, nội dung của tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây để tham khảo. Như được minh họa trên Fig.3, hình mẫu điện cực 112 được sắp xếp thành hai cột (một tập hợp các hình mẫu điện cực trong cột A và một tập hợp trong cột B) trên lớp (băng) kéo dài của nền 114. Nhân tố thử nghiệm 110 cũng bao gồm hình mẫu điện cực của ngăn mẫu 116 được bố trí gần nhau và gần tâm của nền

114 và các đệm tiếp xúc 118 được đặt cách xa khỏi nhau và được bố trí gần các mép đối diện nhau của nền 114. Ở dạng được minh họa, các hình mẫu điện cực đều tương tự nhau; tuy nhiên ở các dạng thay thế thì ít nhất là một vài hình mẫu điện cực có thể khác với các hình mẫu điện cực khác. Chất thử thứ nhất 120 được đưa vào trên ngăn mẫu điện cực 116 trong cột A và chất thử thứ hai 122 được đưa vào trên ngăn mẫu điện cực 116 trong cột B.

Lớp đệm 124 được gắn vào phía trên nền 114 bằng lớp kết dính 126. Ở dạng được minh họa, thì một dải hoặc băng kéo dài tạo ra lớp đệm 124 để che phủ các hình mẫu điện cực của cả hai cột A và B, mặc dù các dạng trong đó hai dải riêng biệt của lớp đệm 124 được gắn riêng vào nền 114 trong cột A và cột B và được xếp thẳng hàng dọc theo đường trục 128 là cũng có thể có. Lớp đệm 124 gồm nhiều phần ngắt mạch 130 được sắp xếp dọc theo đường trục 128. Khi lớp đệm 124 được lắp ráp với nền 114, thì các phần ngắt mạch 130 sẽ hình thành đường biên của ngăn mẫu 132 (Fig.4). Lớp nền phía trên liên tục và duy nhất 134 được gắn vào phía trên lớp đệm 124 bằng lớp kết dính 136 và bao gồm nhiều lỗ thông 142, 144 để tạo thuận lợi cho việc thông khí ở ngăn mẫu 132 khi ngăn này được lấp đầy bằng dung dịch mẫu. Dù không được mô tả ở trên, vẫn nên hiểu rằng lớp kết dính 126, lớp kết dính 136 lần lượt bao gồm phần ngắt mạch 138, phần ngắt mạch 140 được sắp xếp dọc theo đường trục 128 và tương ứng với phần ngắt mạch 130 của lớp đệm 124. Theo cách khác, có dự tính rằng lớp kết dính 136 có thể là lớp rắn không có bất kỳ lỗ thông hoặc phần ngắt mạch nào.

Sau nền 114, chất thử 120, 122, lớp đệm 124 và nền trên 134 được kết hợp và cán mỏng cùng với nhau, tấm hoặc cuộn được tách riêng sao cho các hình mẫu điện cực 116 trong cột A và B còn lại được gắn vào một hình mẫu điện cực khác trong khi dải thử trong các hàng liền kề (các dải thử được định hướng kề sát) được tách riêng. Nói cách khác, các dải thử trong cột A không được tách riêng hoàn toàn khỏi các dải thử trong cột B, và các cặp dải thử được tạo ra với mỗi cặp dải thử được sắp xếp theo cách thức nối tiếp. Mỗi cặp dải thử có thể được gập để đặt các đệm tiếp xúc 118 của dải thử từ cột A liền kề với đệm tiếp xúc 118 của dải thử từ cột B, và để đặt đầu lấy mẫu của dải thử từ cột A liền kề và đối diện với cùng một hướng như đầu lấy mẫu của dải thử từ cột B. Bằng cách sử dụng loại cặp dải thử nối tiếp này, bộ cảm biến sinh học ứng dụng kép được tạo ra trong đó người sử dụng có thể đưa mẫu chứa dịch thể vào cả

hai dải thử một cách đồng thời để xét nghiệm chất phân tích thứ nhất và thứ hai khác nhau bằng cách sử dụng một mẫu duy nhất. Theo một phương án, môi trường lọc máu có thể là được bố trí trong ngăn mẫu đôi 132 trước khi gập cặp này cùng với nhau để ngăn chặn việc máu và chất thử bị trộn lẫn giữa các ngăn 132.

Nên hiểu rằng các ngăn 132 trong mỗi cặp dải thử được định hướng nối tiếp cần được lộ sáng khi cặp dải thử này được uốn dọc theo đường trục 128. Các kỹ thuật chế tạo thay thế có thể được sử dụng để đảm bảo cả hai ngăn mẫu 132 đều được lộ sáng. Ví dụ, theo một phương án, một trong các lớp nền, ví dụ lớp trên 134, được tách riêng hoàn toàn dọc theo đường trục 128 trong quá trình chế tạo trong khi nền 114 không được biến đổi hoặc được biến đổi để uốn theo dự đoán quanh đường trục 128. Theo một phương án thay thế, một trong các lớp nền được biến đổi, như qua các lỗ răng cưa hoặc các phần cắt cục bộ để người sử dụng dễ dàng tách chúng dọc theo đường trục 128 trong khi nền còn lại được biến đổi, như bằng cách rạch khía, đập nổi hoặc uốn gập, để uốn hoặc tách riêng theo dự đoán quanh một đường thẳng, ví dụ, đường trục 128. Theo một phương án khác nữa, cả lớp trên 134 và nền dưới 114 đều được biến đổi để cho phép các dải thử nối tiếp được gập theo một trong hai hướng, tức là người sử dụng có thể chọn uốn cặp dải thử nối tiếp để khiến các lớp trên 134 của hai dải thử này được đặt liền kề với nhau hoặc để khiến các nền 114 của hai dải thử này được đặt liền kề với nhau.

Nền 16, nền 114 có thể được tạo thành từ nguyên liệu cách điện mà các hệ điện cực 32, 46 và hình mẫu điện cực 112 lần lượt được bố trí trên đó. Thông thường, các chất dẻo như vinyl polyme, polyimit, polyeste, và styren đem lại các tính chất về điện và cấu trúc theo yêu cầu. Ngoài ra, bởi vì nhân tố thử nghiệm có thể sản xuất được hàng loạt từ các cuộn nguyên liệu, nên có mong muốn là các tính chất nguyên liệu nên thích hợp để có đủ tính mềm dẻo để xử lý cuộn, trong khi đó cũng đem lại độ cứng hữu ích cho hệ thành phẩm. Nguyên liệu cho nền 16, nền 114 có thể được chọn ở dạng nguyên liệu polyme mềm dẻo như polyeste, bao gồm nguyên liệu polyeste chịu được nhiệt độ cao; polyetylen naphtalat (PEN); và polyimit, hoặc hỗn hợp của hai hoặc nhiều hơn hai hợp chất trong số này. Polyimit có thể mua được trên thị trường, ví dụ dưới tên thương mại Kapton®, từ E.I. duPont de Nemours and Company of

Wilmington, Del. (duPont). Một nguyên liệu cụ thể có thể dùng cho nền 16, nền 114 là MELINEX® 329 có thể mua được trên thị trường từ duPont.

Điện cực làm việc và điện cực đối, và các phần còn lại của hệ điện cực 32, 46 và hình mẫu điện cực 112, có thể được tạo thành từ nhiều nguyên liệu khác nhau. Theo một khía cạnh, các điện cực nên có điện trở tương đối thấp và nên trợ điện hóa qua khoảng hoạt động của nhân tố thử nghiệm. Các chất dẫn thích hợp đối với điện cực làm việc bao gồm vàng, paladi, platin, cacbon, titan, ruteni dioxit, và oxit thiếc indi, và iridi, và cả các chất khác. Điện cực đối có thể được làm từ các nguyên liệu giống nhau hoặc khác nhau, ví dụ, bạc/bạc clorua. Theo một phương án cụ thể, điện cực làm việc và điện cực đối đều là điện cực vàng.

Hệ điện cực 32, 46 và hình mẫu điện cực 112 có thể lần lượt được đưa vào các nền 16, 114, bằng phương thức bất kỳ mà thu được các điện cực có tính dẫn điện và tính nguyên vẹn thích hợp. Các quy trình lấy làm ví dụ bao gồm mạ phun và in nổi, chỉ nhằm đem lại một số khả năng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Dưới một dạng cụ thể, điện cực vàng được tạo ra bằng cách phủ nguyên liệu của nền 16, nền 114 và sau đó loại bỏ các phần được chọn của lớp phủ để tạo ra hệ điện cực 32, 46 và hình mẫu điện cực 112. Một phương pháp cụ thể để loại bỏ các phần thuộc lớp phủ gồm phương pháp tiêu mòn laze, và cụ thể hơn là tiêu mòn laze trường rộng, như được bộc lộ trong Patent US số 7073246, nội dung của tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây để tham khảo.

Kỹ thuật tiêu mòn laze thường bao gồm tiêu mòn lớp kim loại đơn lẻ hoặc hợp phần nhiều lớp bao gồm nguyên liệu cách điện và nguyên liệu dẫn điện, ví dụ, tấm kim loại mỏng của lớp kim loại được phủ hoặc cán mỏng thành nguyên liệu cách điện. Lớp kim loại có thể chứa kim loại tinh khiết, hợp kim, hoặc các nguyên liệu khác, mà là chất dẫn kim loại. Các ví dụ về kim loại hoặc chất dẫn giống kim loại gồm: nhôm, cacbon (như than chì), coban, đồng, gali, vàng, gali, niken, paladi, platin, bạc, titan, các hỗn hợp của chúng, và hợp kim hoặc dung dịch rắn của các nguyên liệu này. Theo một khía cạnh, các nguyên liệu được chọn là chủ yếu không phản ứng với hệ sinh học, các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về các nguyên liệu như vậy bao gồm vàng, platin, paladi, thiếc oxit cacbon andiridi. Lớp kim loại này có thể có độ dày mong muốn bất kỳ mà ở một dạng cụ thể, là khoảng 500 nm.

Nên hiểu rằng, các dạng được minh họa của nhân tố thử nghiệm 10, 110 không làm giới hạn phạm vi của sáng chế, và các cấu hình thay thế đối với nhân tố thử nghiệm tính năng kép theo sáng chế, bao gồm các dạng được sắp xếp dùng cho kỹ thuật phát hiện quang học, cũng được bao gồm trong sáng chế. Về mặt này, ở một dạng bổ sung và không giới hạn phạm vi của sáng chế, thì nhân tố thử nghiệm tính năng kép có thể bao gồm cấu hình kiểu kẹp giữa trong đó nền thứ nhất mang hệ điện cực thứ nhất được bố trí ở trên nền thứ hai mang hệ điện cực thứ hai. Nền thứ nhất và nền thứ hai được đặt cách xa khỏi nhau bằng lớp trung gian bao gồm kênh mao dẫn hoặc nếu không thì kênh mao dẫn được tạo thành giữa nền thứ nhất và nền thứ hai. Trong cấu hình này, dung dịch mẫu đi vào kênh mao dẫn được định hướng về phía hệ điện cực thứ nhất và thứ hai sao cho đồng thời hoặc gần đồng thời diễn ra quá trình che phủ hệ điện cực thứ nhất và thứ hai. Mặc dù không được đề cập trước đó, cũng nên hiểu thêm rằng nền thứ nhất được trang bị chất thử thứ nhất phù hợp để xác định chất phân tích thứ nhất và nền thứ hai được trang bị chất thử thứ hai phù hợp để xác định chất phân tích thứ hai. Là một ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế, một kỹ thuật sản xuất nhân tố thử nghiệm có cấu hình này bao gồm bước sản xuất riêng biệt nền thứ nhất mang chất thử thứ nhất và hệ điện cực thứ nhất và nền thứ hai mang chất thử thứ hai và hệ điện cực thứ hai và sau đó lắp ráp nền thứ nhất và nền thứ hai với nhau.

Ở dạng khác không làm giới hạn phạm vi của sáng chế, nhân tố thử nghiệm tính năng kép có thể gồm cấu hình kiểu kẹp giữa hơi khác. Trong cấu hình này, nền thứ nhất mang hệ điện cực thứ nhất được bố trí trên nền thứ hai mang hệ điện cực thứ hai. Tuy nhiên, nền thứ nhất và nền thứ hai được nối bởi lớp kết dính và mỗi nền này gồm một ngăn mẫu riêng biệt được đặt trên hệ điện cực tương ứng thay cho kênh mao dẫn đơn lẻ. Ở dạng này, nhân tố thử nghiệm gồm cấu hình tạo điều kiện thuận lợi cho việc lấp đầy từng ngăn mẫu riêng lẻ đồng thời hoặc gần như đồng thời sao cho bước che phủ hệ điện cực thứ nhất và thứ hai cũng xảy ra đồng thời hoặc gần như đồng thời. Mặc dù không được đề cập trước đó, vẫn cần hiểu thêm là nền thứ nhất được trang bị chất thử thứ nhất phù hợp để xác định chất phân tích thứ nhất và nền thứ hai được trang bị chất thử thứ hai phù hợp để xác định chất phân tích thứ hai. Nhân tố thử nghiệm này cũng có thể được sản xuất bằng cách sử dụng kỹ thuật nêu ở trên liên quan tới cấu hình kiểu kẹp giữa còn lại được mô tả ở đây. Phần mô tả chi tiết hơn về một

nhân tố thử nghiệm không làm giới hạn phạm vi của sáng chế ở dạng này được đề cập đến trong Công bố đơn Quốc tế số WO 2012/003306 (kết hợp trong đây).

Các ví dụ khác về các kiểu sắp xếp không làm giới hạn phạm vi của sáng chế mà có thể được sử dụng cho nhân tố thử nghiệm theo sáng chế được bộc lộ trong patent Mỹ số 6984307 và 4397956, nội dung của các tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây để tham khảo.

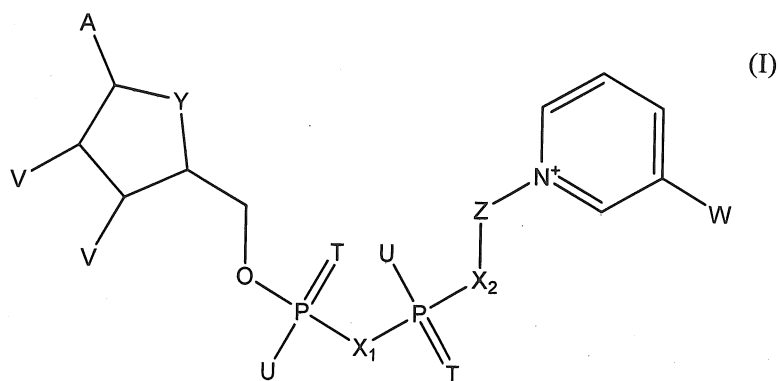
Dự tính rằng nhân tố thử nghiệm 10, 110 có thể hữu dụng để xác định nhiều chất phân tích thứ nhất và thứ hai đa dạng từ dịch sinh học. Ví dụ, nhân tố thử nghiệm 10, 110 có thể dễ dàng được biến đổi thích hợp để sử dụng với các chất thử 60, 62 và 120, 122 có hóa học phù hợp bất kỳ mà có thể được sử dụng để đánh giá sự có mặt hoặc/và nồng độ của chất phân tích thứ nhất và thứ hai. Chất thử 60, 62 và 120, 122 dễ hoạt động để phản ứng với chất phân tích thứ nhất và thứ hai để tạo ra các tín hiệu điện hóa biểu hiện sự có mặt hoặc/và nồng độ của chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong cùng một dung dịch. Như được mô tả chi tiết hơn dưới đây, chất thử 60, 62 và 120, 122 có thể bao gồm nhiều thành phần hoạt tính khác nhau được chọn để xác định sự có mặt hoặc/và nồng độ của các chất phân tích thứ nhất và thứ hai khác nhau. Do đó, hóa học thử nghiệm của chất thử 60, 62 và 120, 122 được chọn tương ứng với chất phân tích thứ nhất và thứ hai cần được đánh giá. Các chất phân tích này có thể bao gồm, ví dụ, glucoza, cholesterol, HDL cholesterol, triglycerit, glycerin, lactat, lactat dehydrogenaza, malat, rượu, axit uric, sorbitol, axit amin, 1,5-anhydroglucitol và các chất phân tích đại diện của thể keton, như là hydroxybutyrat. Theo một phương án cụ thể, nhân tố thử nghiệm 10, 110 lần lượt bao gồm chất thử 60, 62 và 120, 122, vốn được chọn để xác định sự có mặt hoặc/và nồng độ của hydroxybutyrat và glucoza trong máu.

Các ví dụ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về dịch sinh học trong đó chất phân tích thứ nhất và thứ hai có thể được đánh giá bao gồm bất kỳ dịch thể bất kỳ mà trong đó các chất phân tích có thể được đo, như dịch kẽ, nước mắt, nước tiểu và máu. Thuật ngữ “máu” trong ngữ cảnh của bản mô tả này bao gồm máu toàn phần và các thành phần không chứa tế bào của máu, gọi là huyết tương và huyết thanh. Khi các nhân tố thử nghiệm được thiết kế để xét nghiệm nồng độ hydroxybutyrat và glucoza, thì cụ thể, dịch mẫu có thể bao gồm, ví dụ, máu tươi từ mao quản lấy từ đầu ngón tay

hoặc từ các vị trí khác đã được phê duyệt (ví dụ, trán, lòng bàn tay, vành tai, bắp tay trên, bắp chân và đùi), máu tươi từ tĩnh mạch hoặc nước tiểu. Ngoài ra, nhân tố thử nghiệm cũng có thể hữu dụng kết hợp với các dịch đối chứng được dùng theo phương thức thông thường để xác định tính toàn vẹn của hệ thống xét nghiệm.

Dịch thể chứa chất phân tích cần được đánh giá có thể được thu thập và đưa vào nhân tố thử nghiệm theo phương thức bất kỳ. Ví dụ, mẫu máu có thể thu được theo phương thức thông thường bằng cách rạch da, như dùng dao trích, và sau đó để nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với dịch thể xuất hiện trên bề mặt da. Theo một khía cạnh, nhân tố thử nghiệm dễ hoạt động để đánh giá chất phân tích mục tiêu trong khi chỉ dùng một lượng mẫu dịch thể rất nhỏ. Tương tự, theo một khía cạnh, chỉ cần một vết rạch nhỏ trên da là có được thể tích dịch thể cần có để xét nghiệm, và có thể giảm thiểu tối đa hoặc không còn đau đớn và các vấn đề lo ngại khác kèm theo phương pháp này.

Chất thử 60, 120 gồm enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất và coenzym thích hợp. Các thành phần này thường được hòa tan hoặc tạo huyền phù trong chất nền. Mẫu xét nghiệm dạng lỏng này hydrat hóa hoặc hòa tan cơ chất, và chất phân tích thứ nhất khuếch tán qua chất nền này để phản ứng với một hoặc nhiều thành phần hoạt tính. Các enzym thích hợp có thể được bao gồm trong chất thử 60, 120 ví dụ như các dehydrogenaza được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza (E.C.1.1.1.47), lactat dehydrogenaza (E.C.1.1.1.27, 1.1.1.28), malat dehydrogenaza (E.C.1.1.1.37), glyxerol dehydrogenaza (E.C.1.1.1.6), rượu dehydrogenaza (E.C.1.1.1.1), hydroxybutyrat dehydrogenaza (HBDH), như 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza hoặc beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza, alpha-hydroxybutyrat dehydrogenaza và gamma-hydroxybutyrat dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza, và dehydrogenaza của axit amin ví dụ, dehydrogenaza của axit L-amin (E.C.1.4.1.5). Các enzym thích hợp khác là oxydaza như glucoza oxydaza (E.C.1.1.3.4) hoặc cholesteol oxydaza (E.C.1.1.3.6) hoặc aminotransferaza như aspartat hoặc alanin aminotransferaza, 5'-nucleotidaza hoặc creatin kinaza. Tùy thuộc vào enzym được chọn, các coenzym tiềm năng thích hợp để sử dụng trong chất thử 60, 120 gồm FAD, NAD, NADP, thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, CON(R)₂, COR hoặc CSN(R)₂ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc C₁-C₂-alkyl,

X₁, X₂ = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH₂, CHCH₃, C(CH₃)₂, NH hoặc NCH₃,

Y = NH, S, O hoặc CH₂,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR₄ trong đó CR₄ được liên kết với nhóm vòng này và với X₂, và

trong đó R₄ = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH₃, với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của chúng.

Theo một phương án, W = CONH₂ hoặc COCH₃.

Các ví dụ về phân tử thế trên Z được chọn từ nhóm bao gồm OH, F, Cl, và C₁-C₂ alkyl mà tùy ý được flo hóa hoặc được clo hóa và/hoặc được thế OH, O-C₁-C₂-alkyl.

Theo một phương án khác, gốc V thứ nhất là OH và gốc V thứ hai là nhóm phosphat. Tùy ý, một nhóm OH và một nhóm phosphat có thể tạo thành vòng cùng với nguyên tử cacbon mà chúng liên kết.

Các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về các chất tương tự adenin gồm adenin được thế ở vị trí C₈ và được thế ở vị trí N₆, các biến thể deaza như biến thể 7-deaza aza như 8-aza hoặc các hỗn hợp như 7-deaza hoặc 8-aza hoặc các chất tương tự dạng vòng cacbon như formyxin trong đó các biến thể 7-deaza có thể được thế ở vị trí 7 bằng halogen, C₁-C₆-alkinyl, C₁-C₆-alkenyl hoặc C₁-C₆-alkyl. Theo một phương án khác, hợp chất này chứa chất tương tự adenosin mà chứa, ví dụ, 2-metoxydeoxyriboza, 2#-flodeoxy-riboza, hexitol, alritol hoặc các chất tương tự đa vòng như đường hai vòng, đường LNA và đường ba vòng thay vì riboza. Ở một dạng, (di)phosphat oxy cũng có thể được thế đẳng điện ví dụ như O⁻ bằng S⁻ và/hoặc bằng BH₃⁻, O bằng NH, NCH₃ và/hoặc bằng CH₂ và =O bằng =S. Theo một phương án, ít nhất một gốc U của hợp chất có công thức (I) là khác với OH và theo các phương án khác, ít nhất một gốc U=BH₃⁻.

Một hợp chất khác cụ thể hơn nhưng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế có công thức (I) trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

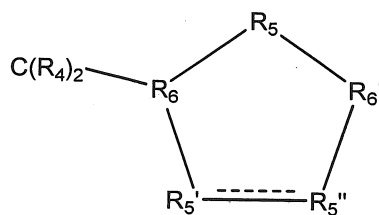
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

$R_4 = H$,

$R_{5'} = CHOH$,

$R_{5''} = CHOH$,

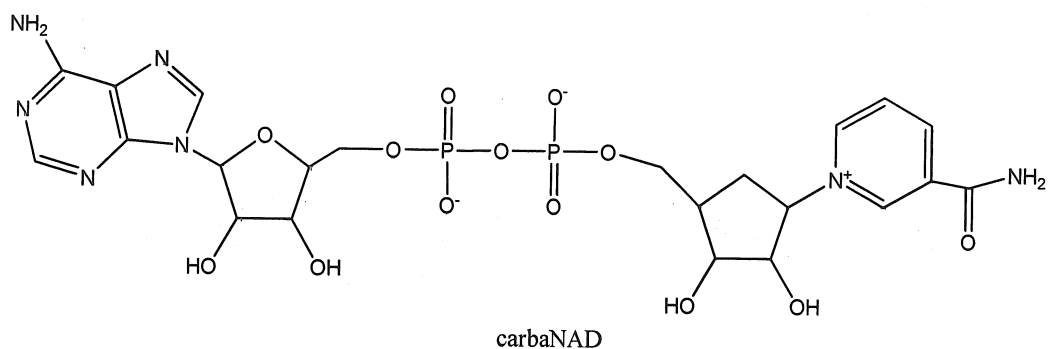
$R_5 = CR_4_2$,

$R_6 = CH$, và

$R_{6'} = CH$

là carba-NAD hoặc cNAD.

carba-NAD có cấu trúc dưới đây:



Một hợp chất khác nữa cụ thể hơn nhưng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế có công thức (I) trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

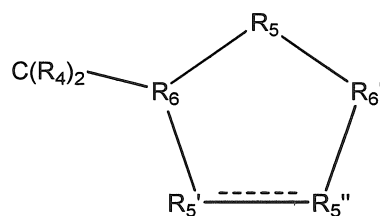
W = $CON(R)_2$ trong đó R biểu thị H,

$X_1 = O$,

$X_2 = O$,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

$R_4 = H$,

$R_5' = CHOH$,

$R_5'' = CHOH$,

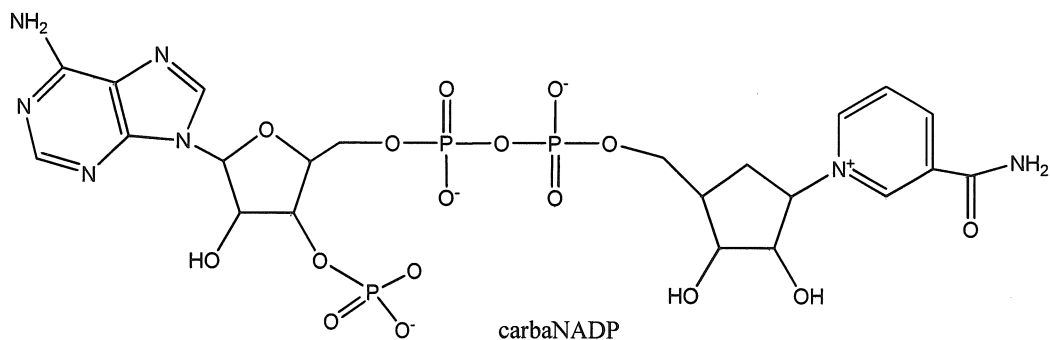
$R_5 = CR_4_2$,

$R_6 = CH$, và

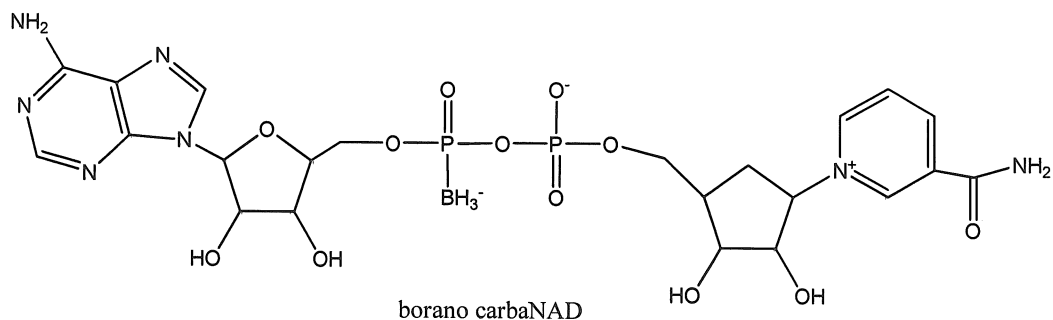
$R_6' = CH$

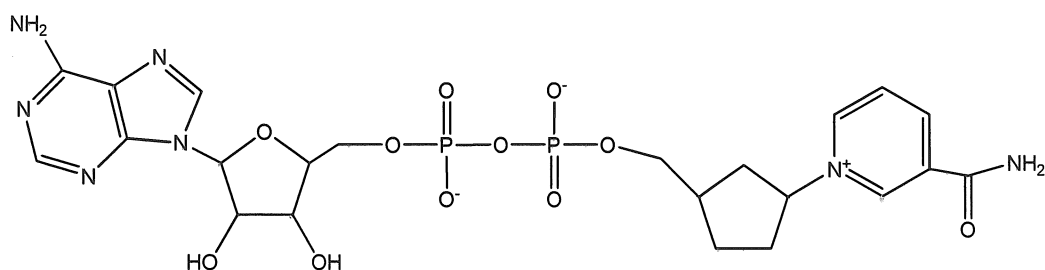
là carba-NADP hoặc cNADP.

carba-NADP có cấu trúc dưới đây:

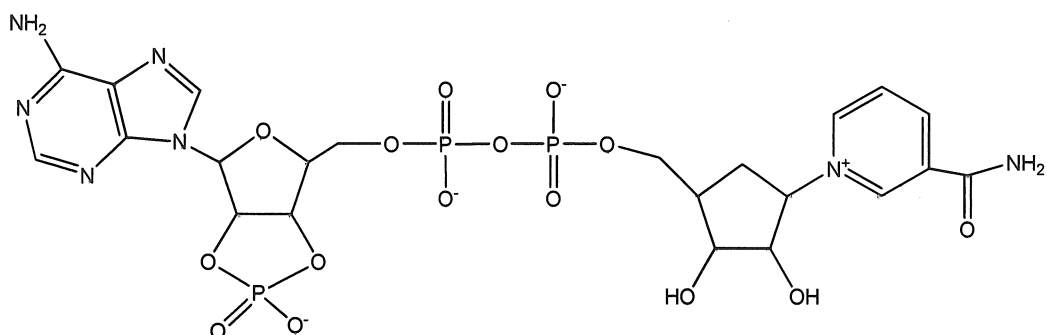


Hợp chất cụ thể khác nhưng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế có công thức (I) gồm borano carba-NAD, xyclopentyl NAD, và carba-NAD xyclophosphat. Các hợp chất này có cấu trúc dưới đây:





Xyclopentyl NAD



CarbaNAD xyclophosphat

Phần mô tả chi tiết hơn về hợp chất theo công thức (I) và quy trình tổng hợp hợp chất này được đề cập đến trong patent Mỹ số 2008/0231809, nội dung của tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây để tham khảo.

Theo một phương án, chất thử 60, 120 để hoạt động để tạo điều kiện cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat và bao gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza. Các ví dụ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về hydroxybutyrat dehydrogenaza bao gồm alpha-hydroxybutyrat dehydrogenaza, beta hoặc 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza, và gama-hydroxybutyrat dehydrogenaza. Ở một dạng cụ thể, hydroxybutyrat dehydrogenaza là 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza. Theo phương án này, chất thử 60, 120 còn bao gồm coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó. Ở một dạng cụ thể, chất thử 60, 120 gồm 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza và một trong số carbaNAD và carbaNADP. Ở các dạng trong đó chất thử thứ nhất gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza và coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng đã khử của nó, ngac nghiên phát hiện ra rằng, việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat có thể được hoàn tất trong năm giây hoặc trong khoảng năm giây sau khi nhân tố thử nghiệm đã được cho tiếp xúc với mẫu, thường tương ứng với xét nghiệm glucoza trong tình trạng kỹ thuật mà mất khoảng năm giây. Phần mô tả chi tiết hơn về vấn đề này được đề cập

đến kết hợp với phần “Ví dụ thực hiện sáng chế” dưới đây. Nên hiểu rằng việc sử dụng chất thử cần nhiều hơn năm giây để hoàn tất việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat là cũng thích hợp để sử dụng trong nhân tố thử nghiệm theo sáng chế.

Ngoài ra, trong khi việc sử dụng chất thử bao gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza và coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó đã được mô tả ở đây kết hợp với nhân tố thử nghiệm có tính năng kép, thì nên hiểu rằng việc sử dụng chất thử này kết hợp với nhân tố thử nghiệm có một tính năng là cũng có thể có. Các ví dụ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về các dạng bổ sung của nhân tố thử nghiệm mà dự định sẽ sử dụng chất thử này được bộc lộ trong patent Mỹ số 2005/0016844 và patent Mỹ số 7008799, nội dung của chúng được kết hợp toàn bộ vào đây để tham khảo. Cần hiểu rằng chất thử không đòi hỏi enzym bổ sung bất kỳ, như diaphoraza, phải dễ hoạt động để phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat ở dạng trong đó nó bao gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza và coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của chúng. Tuy nhiên, việc bao gồm enzym bổ sung trong chất thử thứ nhất cũng được dự định.

Chất thử thứ nhất này cũng có thể bao gồm chất trung gian. Chất trung gian này có thể được chọn là loại hóa chất bất kỳ (thường có hoạt tính điện hóa) mà có thể tham gia vào sơ đồ phản ứng liên quan đến enzym, chất thử thứ nhất, và coenzym, và các sản phẩm phản ứng của chúng, để tạo ra sản phẩm phản ứng có hoạt tính điện hóa dễ phát hiện được. Thông thường, sự tham gia của chất trung gian trong phản ứng này bao gồm sự thay đổi trạng thái oxy hóa của nó (ví dụ, sự khử), khi tương tác với thành phần bất kỳ trong số chất phân tích thứ nhất, enzym, hoặc coenzym, hoặc một loại là sản phẩm phản ứng của một trong số các thành phần trên (ví dụ, coenzym phản ứng với trạng thái oxy hóa khác). Rất nhiều chất trung gian có tính chất điện hóa thích hợp. Chất trung gian tốt hơn là cũng có thể ổn định ở dạng oxy hóa của nó, tùy ý có thể có hóa học điện hóa oxy hóa khử nghịch đảo, tốt hơn là có thể có độ ổn định tốt trong các dung dịch chứa nước, và tốt hơn là phản ứng nhanh để tạo ra sản phẩm phản ứng có hoạt tính điện hóa. Các ví dụ về chất trung gian bao gồm benzoquinon, xanh meldola, các phức kim loại chuyển tiếp như kali ferrixyanua và các dẫn xuất osmi (xem công bố

đơn sáng chế quốc tế số WO 98/35225), và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua (xem patent Mỹ số 8,008,037). Chất thử thứ nhất này cũng có thể bao gồm hợp chất gốc nitrosoanilin mà hoạt động như là tiền chất trung gian (xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,286,362). Liên quan đến vấn đề này, tiền chất trung gian gốc nitrosoanilin phân cắt thành các thành phần chất trung gian nghịch đảo khi nó tiếp xúc với mẫu phân tích như máu.

Các ví dụ khác về chất trung gian và tiền chất trung gian gốc nitrosoanilin bao gồm N-(2-hydroxyetyl)-N'-p-nitrosophenyl-piperazin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-p-nitrosoanilin, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hydroxyetyl)]-p-nitrosoanilin, p-hydroxynitrosobenzen, N-metyl-N'-(4-nitrosophenyl)-piperazin, p-quinon dioxim, N,N-dimetyl-p-nitrosoanilin, N,N-dietyl-p-nitrosoanilin, N-(4-nitrosophenyl)-morpholin, N-benzyl-N-(5'-carboxypentyl)-p-nitrosoanilin, N,N-dimetyl-4-nitroso-1-naphtylamin, N,N,3-trimetyl-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-5-nitrosoindolin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-clo-4-nitrosoanilin, 2,4-dimetoxi-nitrosobenzen, N,N-bis-(2-metoxietyl)-4-nitrosoanilin, 3-metoxi-4-nitrosophenol, N-(2-hydroxyetyl)-6-nitroso-1,2,3,4-tetrahydroquinolin, N,N-dimetyl-3-clo-4-nitrosoanilin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-flo-4-nitrosoanilin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-metylthio-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(2-(2-metoxietyoxy)-etyl)-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(3-metoxi-2-hydroxy-1-propyl)-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(3-(2-hydroxyetyoxy)-2-hydroxy-1-propyl)-4-nitrosoanilin, và N-(2-hydroxyetyl)-N-(2-(2-hydroxyetyoxy)-etyl)-4-nitrosoanilin.

Các chất thử 62, 122 bao gồm enzym phụ thuộc vào coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai và coenzym thích hợp. Các thành phần này thường được hòa tan hoặc được tạo huyền phù trong chất nền. Mẫu xét nghiệm dạng lỏng hydrat hóa hoặc hòa tan chất nền này, và chất phân tích khuếch tán qua chất nền này để phản ứng với một hoặc nhiều thành phần hoạt tính. Các enzym thích hợp mà có thể được bao gồm trong các chất thử 62, 122 là, ví dụ, các dehydrogenaza được chọn từ glucoza dehydrogenaza (E.C.1.1.1.47), lactat dehydrogenaza (E.C.1.1.1.27, 1.1.1.28), malat dehydrogenaza (E.C.1.1.1.37), glyxerol dehydrogenaza (E.C.1.1.1.6), rượu dehydrogenaza (E.C.1.1.1.1), hydroxybutyrat dehydrogenaza (HBDH), như 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza hoặc beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza, alpha-

hydroxybutyrat dehydrogenaza và gamma-hydroxybutyrat dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza, và dehydrogenaza của axit amin ví dụ dehydrogenaza của axit L-amin (E.C.1.4.1.5). Các enzym thích hợp khác là các oxidaza như glucoza oxidaza (E.C.1.1.3.4) hoặc cholesterol oxidaza (E.C.1.1.3.6) hoặc các aminotransferaza như aspartat hoặc alanin aminotransferaza, 5'-nucleotidaza hoặc creatin kinaza. Tùy thuộc vào enzym được chọn, các coenzym tiềm năng thích hợp để sử dụng trong các chất thử 62, 122 bao gồm FAD, NAD, NADP, thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

Theo một phương án, trong đó các chất thử 60, 120 để hoạt động để hỗ trợ cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat, các chất thử 62, 122 để hoạt động để hỗ trợ cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza và bao gồm enzym cho glucoza. Ở một dạng cụ thể, enzym này là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxidaza. Theo phương án này, các chất thử 62, 122 còn bao gồm coenzym được chọn từ FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó. Mặc dù không được bàn luận trước đây, các dạng trong đó các chất thử 60 và 62 có coenzym chung, ví dụ, hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó, và được hợp nhất cùng nhau để tạo ra lớp chất thử duy nhất sao cho khoảng trống 64 giữa chúng được loại bỏ được bao gồm trong sáng chế. Cũng cần hiểu rằng chất thử được mô tả ở đây để phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza không làm giới hạn phạm vi của sáng chế, và rằng các dạng khác đối với các chất thử được biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các ví dụ khác không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về các chất thử để hoạt động để phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza được bộc lộ trong patent Mỹ số 7,727,467 (được kết hợp vào trên đây) và patent Mỹ số 8,008,037, nội dung của chúng được kết hợp vào đây để tham khảo. Chất thử thứ hai cũng có thể bao gồm chất trung gian. Chất trung gian này có thể được chọn dưới dạng loại hóa học bất kỳ (thường có hoạt tính điện hóa) mà có thể tham gia vào sơ đồ phản ứng liên quan đến enzym thứ hai, chất phân tích thứ hai, và coenzym, và các sản phẩm phản ứng của nó, để tạo ra sản phẩm phản ứng có hoạt tính điện hóa để phát hiện được. Thông thường, sự tham gia của chất trung gian trong phản ứng này liên quan đến sự thay đổi trạng thái oxy hóa của nó (ví dụ, sự khử), khi tương tác với bất kỳ trong số chất phân tích thứ hai, enzym thứ hai, hoặc coenzym, hoặc một loại là sản phẩm phản ứng của một trong các thành phần này (ví dụ,

coenzym được phản ứng với trạng thái oxy hóa khác). Nhiều chất trung gian có tính chất điện hóa thích hợp. Chất trung gian tốt hơn là cũng có thể ổn định ở dạng oxy hóa của nó, tùy ý có thể có hóa học điện hóa oxy hóa khử nghịch đảo, tốt hơn là có thể có độ ổn định tốt trong các dung dịch chứa nước, và tốt hơn là phản ứng nhanh để tạo ra sản phẩm phản ứng có hoạt tính điện hóa. Các ví dụ về chất trung gian bao gồm benzoquinon, xanh meldola, các phức kim loại chuyển tiếp như kali ferrixyanua và các dẫn xuất osmi (xem công bố đơn quốc tế số WO 98/35225), và các hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua (xem patent Mỹ số 8,008,037). Chất thử thứ hai cũng có thể bao gồm hợp chất gốc nitrosoanilin mà hoạt động như là tiền chất trung gian (xem ví dụ patent Mỹ số 5,286,362). Liên quan đến vấn đề này, tiền chất trung gian gốc nitrosoanilin phân cắt thành các thành phần trung gian nghịch đảo khi nó tiếp xúc với mẫu phân tích như máu.

Các ví dụ khác về chất trung gian và tiền chất trung gian gốc nitrosoanilin bao gồm N-(2-hydroxyetyl)-N'-p-nitrosophenyl-piperazin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-p-nitrosoanilin, o-metoxi-[N,N-bis-(2-hydroxyetyl)]-p-nitrosoanilin, p-hydroxynitrosobenzen, N-metyl-N'-(4-nitrosophenyl)-piperazin, p-quinon dioxim, N,N-dimetyl-p-nitrosoanilin, N,N-dietyl-p-nitrosoanilin, N-(4-nitrosophenyl)-morpholin, N-benzyl-N-(5'-carboxypentyl)-p-nitrosoanilin, N,N-dimetyl-4-nitroso-1-naphtylamin, N,N,3-trimetyl-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-5-nitrosoindolin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-clo-4-nitrosoanilin, 2,4-dimetoxy-nitrosobenzen, N,N-bis-(2-metoxyetyl)-4-nitrosoanilin, 3-metoxy-4-nitrosophenol, N-(2-hydroxyetyl)-6-nitroso-1,2,3,4-tetrahydroquinolin, N,N-dimetyl-3-clo-4-nitrosoanilin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-flo-4-nitrosoanilin, N,N-bis-(2-hydroxyetyl)-3-metylthio-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(2-(2-metoxyetoxy)-etyl)-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(3-metoxy-2-hydroxy-1-propyl)-4-nitrosoanilin, N-(2-hydroxyetyl)-N-(3-(2-hydroxyetoxy)-2-hydroxy-1-propyl)-4-nitrosoanilin, và N-(2-hydroxyetyl)-N-(2-(2-hydroxyetoxy)-etyl)-4-nitrosoanilin.

Chất thử cũng có thể bao gồm một loạt chất phụ trợ để làm tăng cường các tính chất hoặc các đặc tính khác nhau của nó. Ví dụ, xem patent Mỹ số 7,749,437 được đề cập đến ở trên. Ví dụ, các chất thử 60, 62 và 120, 122 có thể bao gồm các nguyên liệu để hỗ trợ cho việc dịch chuyển chúng lên trên các nền 16, 114 tương ứng và để cải

thiện sự bám dính của chúng lên trên đó, hoặc để làm tăng cường tốc độ hydrat hóa của chất thử bằng dịch mẫu. Ngoài ra, chất thử này có thể bao gồm các thành phần được chọn để làm tăng cường các đặc tính vật lý của lớp thuốc thử đã khô thu được, và sự hấp thụ của mẫu xét nghiệm dạng lỏng để phân tích. Các ví dụ về các nguyên liệu phụ trợ cần được sử dụng với chất thử bao gồm các chất làm đặc, các chất điều biến độ nhớt, các tác nhân hình thành màng, các chất ổn định, các chất đệm, các chất tẩy rửa, các tác nhân tạo gel, các chất độn, các chất mở màng, các chất màu, và các tác nhân thiên về tính lưu biến.

Các ví dụ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về các chất làm đặc mà có thể được bao gồm trong chất thử bao gồm (1) tinh bột, gồm (ví dụ, pectin, gồm guar, gồm đậu locust (hạt ca rôp), gồm konjac, gồm xanthan, alginat, và agar), casein, gelatin, và phycocoloit; (2) xenluloza và các dẫn xuất xenluloza bán tổng hợp (carboxymetyl-xenluloza, metyl xenluloza, hydroxymetylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, metylhydroxyetylxenluloza); (3) rượu polyvinyllic và carboxyvinylat; và (4) bentonit, các silic oxit, và silic oxit dạng keo. Các dạng cụ thể hơn của các chất làm đặc bao gồm hỗn hợp của gồm xanthan được bán dưới tên thương phẩm là Keltrol F của CP Kelco US, Inc., và carboxymetyl xenluloza được bán dưới tên thương phẩm là AQUALON® CMC 7F PH của Hercules Inc., Aqualon Division.

Tác nhân hình thành màng và tác nhân lưu biến mà có thể được bao gồm trong chất thử bao gồm các polyme và silic oxit. Một tác nhân lưu biến cụ thể hơn bao gồm silic oxit được bán dưới tên thương phẩm là Kieselsaure Sipemate FK 320 DS bởi Degussa AG, trong khi một tác nhân hình thành màng cụ thể hơn bao gồm polyvinylpyrrolidon, được bán dưới nhãn hiệu polyvinylpyrrolidon Kollidon 25, của BASF, và thể phân tán polyvinyl propionat.

Các chất ổn định đối với enzyme trong chất thử có thể được chọn từ sacarit và muối của mono- hoặc di-acid béo. Cụ thể hơn, các chất ổn định bao gồm trehaloza được bán dưới tên thương phẩm là D-(+)-trehaloza dihydrat bởi Sigma Chemical Co. và natri succinat.

Các ví dụ không làm giới hạn phạm vi của sáng chế về các chất tẩy rửa mà có thể được bao gồm trong chất thử bao gồm xà phòng tan trong nước, cũng như các hợp chất tổng hợp tan trong nước có hoạt tính bề mặt như muối kiềm, kiềm thổ hoặc muối

amoni được thể tùy ý của axit béo bậc cao, ví dụ, axit oleic hoặc axit stearic, các hỗn hợp của các axit béo tự nhiên, ví dụ, từ dầu dừa hoặc mỡ động vật, các sulphat béo, các este của axit sulphonic, các muối của axit alkyl sulphonic, các muối taurin của axit béo, các amit của axit béo, và các amit este. Các dạng cụ thể hơn của các chất tẩy rửa bao gồm este amit, n-octanoyl-N-metylglucamit, được bán dưới tên thương phẩm là Mega-8 bởi Dojindo Molecular Technologies, Inc., và muối của axit béo, muối N-metyl oleyl taurat natri, được bán dưới tên thương phẩm là Geropon T77 bởi Rhodia HPCII (Home, Personal Care and Industrial Ingredients).

Ở một dạng, chất thử được phối trộn dưới dạng dung dịch nhót mà bao gồm các chất làm đặc và các tác nhân lưu biến để tăng cường các đặc tính vật lý của nó. Các chất làm đặc được chọn để tạo ra chất nền đặc, lỏng có các thành phần còn lại được phân tán một cách đồng nhất trong đó. Các tác nhân làm đặc và các tác nhân lưu biến cũng cản trở việc nguyên liệu lỏng hoặc bán nhão chảy hoặc lan ra trên bề mặt của các nền 16, 114 sau khi nguyên liệu này đã được lắng đọng và trước khi nó khô. Sau khi các chất thử này được lắng đọng, thì chúng khô nhanh thành chất nền có thể hydrat hóa ngay.

Như được chỉ ra ở trên, ngạc nhiên phát hiện ra rằng việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat có thể được hoàn tất trong năm giây hoặc trong khoảng năm giây sau khi nhân tố thử nghiệm đã được cho tiếp xúc với mẫu ở các dạng trong đó chất thử thứ nhất bao gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza và coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó. Tình trạng kỹ thuật hiện tại đối với xét nghiệm glucoza tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza được hoàn tất trong năm giây hoặc trong khoảng năm giây sau khi nhân tố thử nghiệm này đã được tiếp xúc với mẫu. Patent Mỹ số 8,008,037 mô tả một dạng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế của xét nghiệm glucoza mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza trong khung thời gian này. Các dạng khác, không làm giới hạn phạm vi của sáng chế của xét nghiệm glucoza mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza trong khung thời gian này được mô tả trong các patent Mỹ số 7,276,146 và 7,276,147, nội dung của chúng được kết hợp vào đây để tham khảo. Tuy nhiên, cần hiểu rằng các chất thử khác

mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của glucoza trong khung thời gian này hoặc khung thời gian khác là đã biết và có thể được sử dụng trong các nhân tố thử nghiệm được bộc lộ ở đây.

Theo như nêu trên, cần hiểu rằng việc phát hiện sự có mặt và/hoặc nồng độ của hydroxybutyrat và glucoza có thể được hoàn tất trong vòng năm giây sau khi nhân tố thử nghiệm này đã được cho tiếp xúc với mẫu khi nhân tố thử nghiệm bao gồm chất thử thứ nhất mà có hydroxybutyrat dehydrogenaza và coenzym được chọn từ thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó, và chất thử thứ hai mà thích hợp để phát hiện glucoza và được phối trộn một cách thích hợp. Tuy nhiên, cũng cần hiểu rằng các biến đổi theo thời gian để hoàn tất việc phát hiện hydroxybutyrat và glucoza bằng các nhân tố thử nghiệm này là cũng có thể có và phụ thuộc vào, ví dụ, chế phẩm cụ thể của chất thử, trong số các khía cạnh khác. Ở một dạng, ví dụ, việc phát hiện ra hydroxybutyrat và glucoza được hoàn tất trong vòng 10 giây sau khi nhân tố thử nghiệm đã tiếp xúc với mẫu. Ở một dạng khác, việc phát hiện của hydroxybutyrat và glucoza được hoàn tất trong vòng 7,5 giây sau khi nhân tố thử nghiệm đã tiếp xúc với mẫu. Cũng cần hiểu rằng thời gian để hoàn tất việc phát hiện hydroxybutyrat và phát hiện glucoza có thể khác nhau. Ví dụ, trong một hoặc nhiều dạng nêu trên hoặc các dạng khác, việc phát hiện hydroxybutyrat được hoàn tất trong 4 giây trước hoặc sau khi hoàn tất việc phát hiện glucoza. Ở một dạng biến đổi khác, việc phát hiện hydroxybutyrat được hoàn tất trong 2 giây trước hoặc sau khi hoàn tất việc phát hiện glucoza. Ở một biến đổi khác nữa, việc phát hiện hydroxybutyrat được hoàn tất ở cùng thời điểm hoặc gần cùng thời điểm việc phát hiện glucoza được hoàn tất. Tuy nhiên, cần hiểu rằng các biến đổi khác nhau trong khung thời gian để hoàn tất việc phát hiện hydroxybutyrat và glucoza cũng được dự tính.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Những ví dụ sau đây nhằm mục đích minh họa và không được hiểu là làm giới hạn sáng chế bộc lộ trong tài liệu này chỉ ở các phương án được bộc lộ trong các ví dụ này.

Phối trộn chất thử

Chất thử trên Fig.6

Dung dịch đệm gốc được điều chế bằng cách bổ sung 7,344g muối natri MOPS, 0,125g Triton™ X-100 (chất tẩy rửa dạng không ion từ Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO), 2,400g trehaloza, và 2,026g natri suxinat hexahydrat vào 400ml nước cất hai lần và điều chỉnh độ pH của dung dịch đến 8,14. Dung dịch này được bổ sung vào bình cầu dung tích 500mL và được pha loãng bằng nước cất hai lần để tạo ra 500mL dung dịch.

Quy trình điều chế dung dịch đệm/Natrosol/PEO polyme được hoàn tất bằng cách kết hợp 396g dung dịch đệm ban đầu với 2g polyetylen oxit (300K) và 2g Natrosol# 250M (hydroxyetylxenluloza polyme dạng không ion, tan trong nước từ Ashland, Inc., Covington, KY). Hỗn hợp này được trộn qua đêm trước khi sử dụng.

Chất thử nitrosoanilin/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 5,0595g dung dịch đệm/dung dịch gốc polyme theo kiểu dãy: a) 0,0415g dẫn xuất nitrosoanilin được thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc.) được bổ sung vào thiết bị chứa và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,7; b) 0,0692g axit carba-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và c) 0,2134g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.7

Dung dịch đệm gốc được điều chế bằng cách bổ sung 9,086g bazơ Tris, 0,125g Triton™ X-100, 0,625g Tergitol# 15-S-9 (chất hoạt động bề mặt dạng không ion từ Dow Chemical Company, Midland, MI), 2,400g trehaloza, và 2,026g natri suxinat hexahydrat vào 400ml nước cất hai lần và điều chỉnh độ pH của dung dịch đến 7,95. Dung dịch này được bổ sung vào bình cầu dung tích 500mL và được pha loãng bằng nước cất hai lần để tạo ra 500mL dung dịch.

Quy trình điều chế dung dịch đệm/Natrosol®/dung dịch PEO polyme được hoàn tất bằng cách kết hợp 396g dung dịch đệm ban đầu với 2g polyetylen oxit (300K) và 2g Natrosol® 250M. Hỗn hợp này được trộn qua đêm trước khi sử dụng. Chất thử hexaaminruteni/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào

cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 4,048g dung dịch đệm/dung dịch gốc polyme theo kiểu dãy: a) 0,0619g hexaaminruteni clorua và b) 0,0034g 1-(3-carboxypropyloxy)-5-ethyl phenazin được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; và c) bổ sung 0,0791g axit carba-NAD tự do vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch hexaaminruteni/phenazin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,24. Sau đó bổ sung 0,0862g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.8 và Fig.9

Chất thử hexaaminruteni/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 4,048g dung dịch đệm Tris/PEO/dung dịch gốc polyme Natrosol® được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.7 theo kiểu dãy: a) 0,062g hexaaminruteni clorua và b) 0,003g 1-(3-carboxypropyloxy)-5-ethyl phenazin được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; và c) 0,079g axit carba-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch hexaaminruteni/phenazin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,24. Sau đó bổ sung 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* vào thiết bị chứa và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.10

Dung dịch đệm gốc được điều chế bằng cách bổ sung 9,086g bazơ Tris, 0,125g Triton™ X-100, 0,625g Tergitol® 15-S-9, 2,40g trehaloza, và 2,026g natri suxinat hexahydrat vào 400ml nước cất hai lần và điều chỉnh độ pH của dung dịch đến 7,95. Dung dịch này được bổ sung vào bình cầu dung tích 500mL và được pha loãng bằng nước cất hai lần để tạo ra 500mL dung dịch.

Quy trình điều chế dung dịch đệm/Kollidon® VA 64 polyme được hoàn tất bằng cách kết hợp 392g dung dịch đệm ban đầu với 8g Kollidon® VA 64 (vinylpyrrolidon-vinyl axetat copolyme từ BASF Corporation, Florham Park, NJ). Hỗn hợp này được trộn qua đêm trước khi sử dụng.

Chất thử nitrosoanilin/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,071g dung dịch đệm/dung dịch gốc polyme theo kiểu dãy: a) 0,0600g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,050g dẫn xuất nitrosoanilin được thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc., Indianapolis, IN) được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; c) 0,069g axit carba-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259 g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.11

Chất thử hexaaminruteni/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 4,049g dung dịch gốc Tris/dung dịch đệm polyme Kollidon® được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,040g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA), b) 0,062g hexaaminruteni clorua, và c) 0,003g 1-(3-carboxypropyloxy)-5-etyl phenazin được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; d) 0,079g axit carba-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch hexaaminruteni/phenazin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và e) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.12

Chất thử nitrosoanilin/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g Tris/Kollidon® dung dịch đệm/dung dịch gốc polyme được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,050g dẫn xuất nitrosoanilin được

thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc., Indianapolis, IN) được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,8; c) 0,069g axit carba-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và e) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.13

Chất thử hexaaminruteni/Thio-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g dung dịch gốc Tris/dung dịch đệm polyme Kollidon® được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA), b) 0,093g hexaaminruteni clorua và c) 0,005g 1-(3-carboxypropyloxy)-5-etyl phenazin được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; d) 0,079g axit Thio-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch hexaaminruteni/phenazin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và e) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.14

Chất thử nitrosoanilin/Thio-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g dung dịch đệm Tris/Kollidon®/dung dịch gốc polyme được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,050g dẫn xuất nitrosoanilin được thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc., Indianapolis, IN) được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,8;c) 0,079g axit Thio-NAD tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được

trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.15

Chất thử hexaaminruteni/carba-NADP được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g dung dịch gốc Tris/dung dịch đệm polyme Kollidon® được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA), b) 0,093g hexaaminruteni clorua và c) 0,005g 1-(3-carboxypropyloxy)-5-etyl phenazin được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,9; c) 0,076g axit tự do carba-NADP được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch hexaaminruteni/phenazin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.16

Chất thử nitrosoanilin/carba-NADP được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g Tris/dung dịch đệm Kollidon®/dung dịch gốc polyme được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,050g dẫn xuất nitrosoanilin được thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc., Indianapolis, IN) được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,8; c) 0,076g carba-NADP axit tự do được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.17

Chất thử ferrixyanua/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 4,049g Tris/dung dịch đệm Kollidon®/dung dịch gốc polyme được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,040g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,026g kali ferrixyanua được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,8; c) 0,076g axit tự do carba-NAD được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch ferrixyanua, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Chất thử trên Fig.18

Chất thử nitrosoanilin/carba-NAD được điều chế bằng cách bổ sung các thành phần sau vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 20mL chứa 6,074g Tris/Kollidon® dung dịch đệm/dung dịch gốc polyme được mô tả trên đây liên quan tới chất thử trên Fig.10 theo kiểu dãy: a) 0,060g silic oxit bốc khói không được xử lý (Cabosil®, Cabot Corporation, Boston, MA) và b) 0,050g dẫn xuất nitrosoanilin được thể (NA 1144 được cung cấp bởi Roche Diagnostics, Inc.) được bổ sung vào cốc này và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,8; c) 0,079g axit tự do carba-NAD được bổ sung vào cốc trộn điều chỉnh tốc độ có dung tích 10mL chứa 3ml dung dịch nitrosoanilin, và chất nền được trộn trong 1 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút và độ pH được điều chỉnh đến 7,2; và d) 0,259g beta-hydroxybutyrat dehydrogenaza từ *Alcaligenes faecalis* được bổ sung vào cốc này và được trộn điều chỉnh tốc độ trong 2 phút ở tốc độ 24.000 vòng/phút.

Tạo ra các dải thử nghiệm

Thẻ của các điện cực nhẵn ACCU-CHECK®Aviva có thiết kế miếng đệm và mao dẫn được sử dụng để sản xuất ra các dải thử nghiệm. 1,5µL chất thử, được mô tả trên đây, được phân phối vào mỗi kênh mao dẫn điện cực bằng cách sử dụng hệ phân phối lô PixSys™ SQ (Cartesian Technologies Irvine California) và được làm khô trong 1,5 phút ở nhiệt độ 45°C. Thẻ đã được làm khô được bảo quản ở môi trường khô qua đêm và các dải chứa các lá trên cùng ưa nước được cán mỏng bằng tay lên trên lớp

đệm trên mao dẫn. Sau đó các thẻ này được cắt thành từng bộ cảm biến và được bảo quản trong lọ nhỏ đã được hút ẩm cho đến khi sử dụng.

Điều chế các dung dịch thử nghiệm

Dung dịch muối đệm phosphat gốc được điều chế bằng cách bổ sung 0,1829g muối monobazơ kali phosphat, 0,2007g muối dibazơ kali phosphat và 2,7956g kali clorua vào 200ml nước cất hai lần và điều chỉnh độ pH của dung dịch đến 7,00. Dung dịch này được bổ sung vào bình cầu dung tích 250mL và được pha loãng bằng nước cất hai lần để tạo ra 250mL dung dịch.

Dung dịch gốc 21 lần chứa hydroxybutyrat được điều chế bằng cách bổ sung 1,3372g muối hydroxybutyrat natri vào 40ml dung dịch muối đệm phosphat. Dung dịch này được bổ sung vào bình cầu dung tích 50mL và được pha loãng bằng dung dịch muối đệm phosphat đến thể tích 50mL. Dung dịch gốc tạo ra được pha loãng theo dãy bằng dung dịch muối đệm phosphat để tạo ra 11 dung dịch gốc thử nghiệm hydroxybutyrat.

Các dung dịch thử nghiệm cuối cùng được điều chế bằng cách pha loãng 1ml dung dịch muối phosphat hoặc máu với 0,05ml dung dịch gốc thử nghiệm.

Các đáp ứng liều động học

Các mẫu máu toàn phần hoặc nước muối chứa các nồng độ hydroxybutyrat (mM) khác nhau được xác định bằng cách sử dụng các dải thử được tạo ra ở trên. Điện thế cần thiết (222mV cho các dải hexaaminruteni và 450mV cho các dải nitrosoanilin) được áp dụng sau khi cho mẫu tiếp xúc trên dải này. Tổng thời gian thử nghiệm là 6 giây. Điểm cuối cho thử nghiệm này được lấy là 0,5 giây (Fig.7) và 5 giây (Fig.9 và Fig.10) sau khi cho dải thử này tiếp xúc với mẫu.

Các đáp ứng liều điểm cuối

Các mẫu máu toàn phần hoặc nước muối chứa các nồng độ hydroxybutyrat (từ 0 đến 10mM) khác nhau được xác định bằng cách sử dụng các dải thử nghiệm được tạo ra ở trên. Thử nghiệm này bao gồm độ trễ 4,5 giây sau khi mẫu tiếp xúc với dải thử tiếp đó là áp dụng điện thế, 450mV cho các dải nitrosoanilin và 222mV cho các dải hexaaminruteni trong 6 giây sau khoảng thời gian trễ. Điểm cuối cho thử nghiệm này được lấy là 5 giây sau khi cho dải thử tiếp xúc với mẫu.

Mặc dù không được đề cập đến trước đó, cần hiểu rằng mối liên hệ giữa nồng độ hydroxybutyrat và dòng điện đo được tạo điều kiện thuận lợi cho việc sử dụng các chất thử được lấy làm ví dụ để phân tích hydroxybutyrat.

Mặc dù sáng chế đã được minh họa và được mô tả chi tiết trên các hình vẽ và phần mô tả nêu trên, nhưng các hình vẽ và phần mô tả nêu trên chỉ được coi là mang tính minh họa và không mang tính giới hạn cụ thể, nên hiểu rằng chỉ có một số phương án được thể hiện và được mô tả và mong muốn là tất cả những thay đổi và cải biến thuộc ý tưởng của sáng chế sẽ được bảo hộ. Nên hiểu rằng, mặc dù sử dụng các cụm từ như tốt hơn, tốt hơn là, được ưu tiên hoặc được ưu tiên hơn dùng trong bản mô tả trên đây chỉ ra rằng đặc điểm được mô tả này có thể được mong đợi hơn, tuy nhiên, có thể không nhất thiết phải như vậy và các phương án thiếu cụm từ này vẫn có thể được dự định là nằm trong phạm vi của sáng chế, phạm vi này được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ sau đây. Khi đọc các điểm yêu cầu bảo hộ, dự định rằng khi các từ như “một”, “ít nhất một”, hoặc “ít nhất một phần” được sử dụng thì không dự định là chỉ giới hạn bộ yêu cầu bảo hộ ở duy nhất một mục trừ khi có quy định trái ngược hẳn trong bộ yêu cầu bảo hộ này. Khi cụm từ “ít nhất một phần” và/hoặc “một phần” được sử dụng, thì mục này có thể gồm một phần và/hoặc toàn bộ mục này trừ khi có quy định trái ngược hẳn.

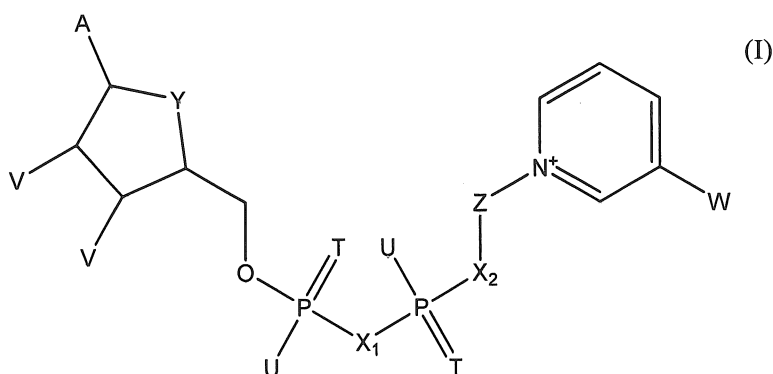
Các phương án khác theo sáng chế được nêu ra dưới đây.

1. Nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai, bao gồm:

enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất này;

enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai này; và

coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH, hoặc NCH_3 ,

Y = NH, S, O, hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phần tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó R_4 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

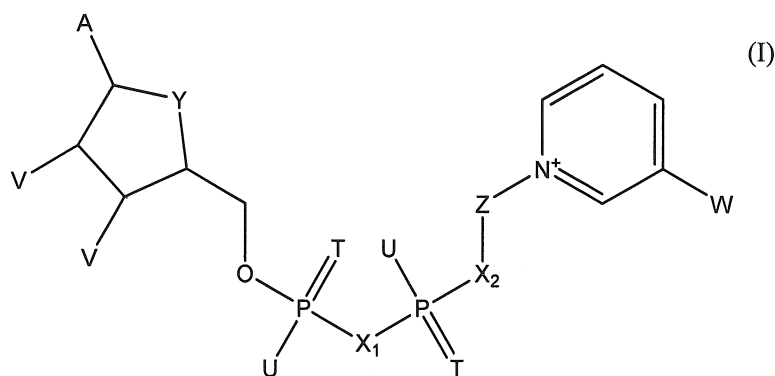
hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

2. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 1, trong đó chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza.
3. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 2, trong đó hydroxybutyrat dehydrogenaza là 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza.
4. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 2, trong đó enzym thứ hai là dehydrogenaza được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza, lactat

dehydrogenaza, malat dehydrogenaza, glyxerol dehydrogenaza, rượu dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza và dehydrogenaza của axit amin bao gồm dehydrogenaza của axit L-amin.

5. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 2, trong đó chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxydaza.

6. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 5, trong đó coenzym là hợp chất có công thức (I)



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

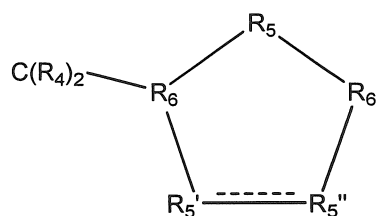
W = $\text{CON}(\text{R})_2$ trong đó R biểu thị H,

$\text{X}_1 = \text{O}$,

$\text{X}_2 = \text{O}$,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II)



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

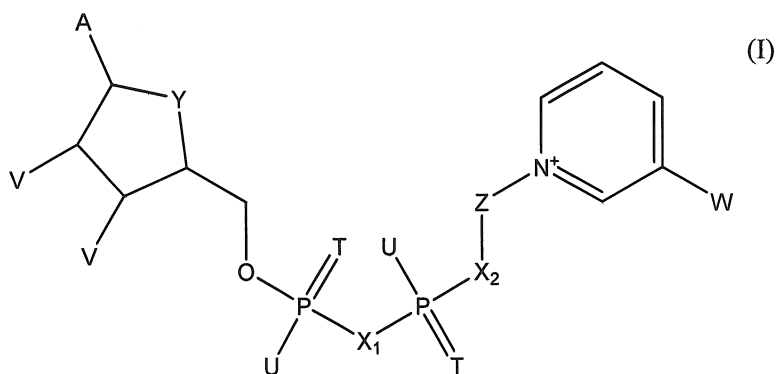
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

7. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 5, trong đó coenzym là hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

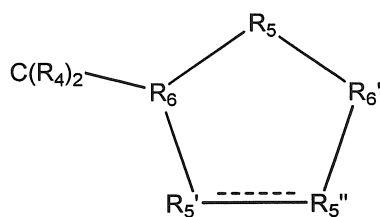
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

$$X_1 = O,$$

$$X_2 = O,$$

$$Y = O, \text{ và}$$

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



trong đó liên kết đơn có mặt giữa $R5'$ và $R5''$, và trong đó:

$$R4 = H,$$

$$R5' = CHOH,$$

$$R5'' = CHOH,$$

$$R5 = CR4_2,$$

$$R6 = CH, \text{ và}$$

$$R6' = CH.$$

8. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 5, trong đó coenzym là thio-NAD.
9. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 5, trong đó coenzym là thio-NADP.
10. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 1, còn bao gồm chất thử thứ nhất, chất thử thứ nhất này gồm enzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.
11. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 10, còn bao gồm chất thử thứ hai, chất thử thứ hai này gồm enzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

12. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 11, còn bao gồm dải thử nghiệm được thiết kế cấu hình để mang chất thử thứ nhất và thứ hai.

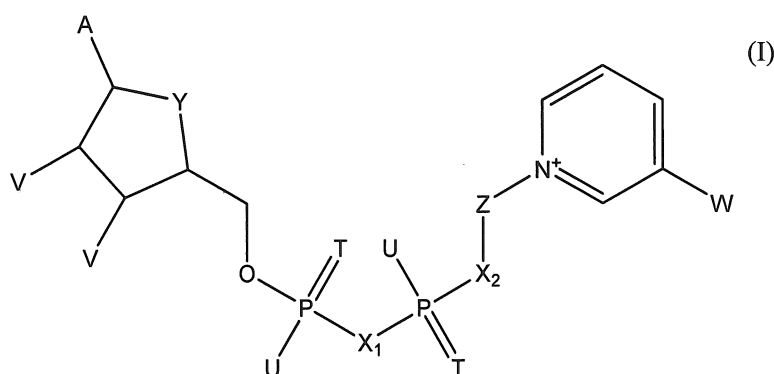
13. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 12, trong đó dải thử nghiệm gồm hệ điện cực thứ nhất có liên quan đến chất thử thứ nhất và hệ điện cực thứ hai có liên quan đến chất thử thứ hai.

14. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 10, trong đó chất thử thứ nhất còn gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua, và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.

15. Chất thử bao gồm:

3-hydroxybutyrat dehydrogenaza; và

hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- , hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR, hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH, hoặc NCH_3 ,

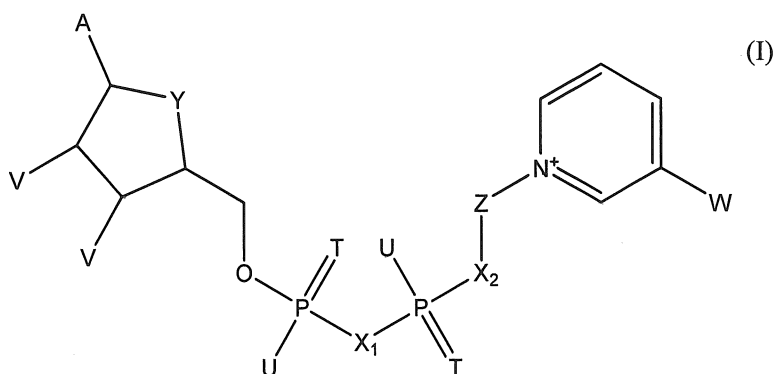
Y = NH, S, O, hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR₄ trong đó CR₄ được liên kết với nhóm vòng này và với X₂, và

trong đó R₄ = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl, hoặc CH₃, với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

16. Chất thử theo phương án 15, trong đó hợp chất coenzym có công thức (I)



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

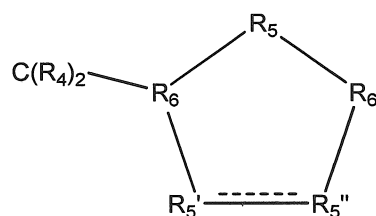
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II)



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

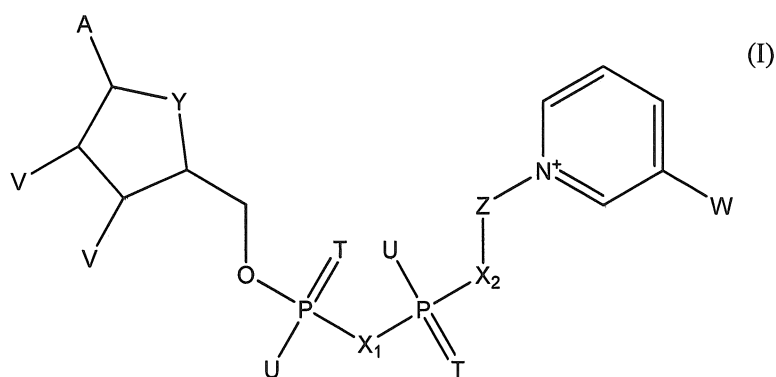
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

17. Chất thử theo phương án 15, trong đó hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

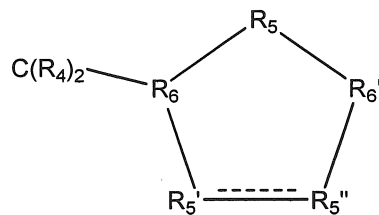
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

$X_2 = O$,

$Y = O$, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa $R5'$ và $R5''$, và trong đó:

$R4 = H$,

$R5' = CHOH$,

$R5'' = CHOH$,

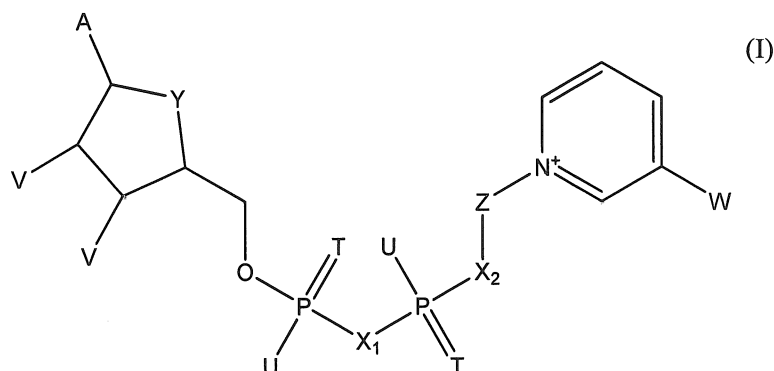
$R5 = CR4_2$,

$R6 = CH$, và

$R6' = CH$.

18. Chất thử theo phương án 15, còn bao gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua, và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.
19. Nhân tố thử nghiệm bao gồm dải thử nghiệm mang chất thử thứ nhất theo phương án 15 để xác định chất phân tích thứ nhất.
20. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 19, trong đó dải thử nghiệm còn mang chất thử thứ hai để xác định chất phân tích thứ hai.
21. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 20, trong đó chất thử thứ hai gồm dehydrogenazaenzym được chọn từ nhóm bao gồm glucoza dehydrogenaza, lactat dehydrogenaza, malat dehydrogenaza, glyxerol dehydrogenaza, rượu dehydrogenaza, sorbitol dehydrogenaza, và dehydrogenaza của axit amin bao gồm dehydrogenaza của axit L-amin.

22. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 21, trong đó chất thử thứ hai còn gồm coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- , hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR , CON(R)_2 , COR , hoặc CSN(R)_2 trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C(CH}_3)_2$, NH, hoặc NCH_3 ,

Y = NH, S, O, hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phần tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó R_4 = ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl, hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

23. Nhân tố thử nghiệm theo phương án 20, trong đó dải thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định điện hóa chất phân tích thứ nhất và thứ hai.

24. Phương pháp xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai trong mẫu bao gồm các bước:

- tạo ra nhân tố thử nghiệm theo phương án 1;
- cho nhân tố thử nghiệm này tiếp xúc với mẫu;
- phát hiện chất phân tích thứ nhất; và
- phát hiện chất phân tích thứ hai.

25. Phương pháp theo phương án 24, trong đó chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và chất phân tích thứ hai là glucoza.

26. Phương pháp theo phương án 25, trong đó bước phát hiện chất phân tích thứ nhất và phát hiện chất phân tích thứ hai được tiến hành đồng thời.

27. Phương pháp theo phương án 25, trong đó bước phát hiện chất phân tích thứ nhất và phát hiện chất phân tích thứ hai được hoàn tất trong vòng 5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với mẫu.

28. Phương pháp bao gồm các bước:

- tạo ra nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định trị số glucoza và keton trong mẫu;

- cho nhân tố thử nghiệm này tiếp xúc với mẫu; và

- xác định trị số glucoza và keton trong mẫu trong 7,5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm này tiếp xúc với mẫu.

29. Phương pháp theo phương án 28, trong đó nhân tố thử nghiệm gồm chất thử thứ nhất để xác định trị số glucoza và chất thử thứ hai để xác định trị số kenton.

30. Phương pháp theo phương án 29, trong đó chất thử thứ hai gồm hydroxybutyrat dehydrogenaza.

31. Phương pháp theo phương án 28, trong đó bước xác định trị số glucoza và keton trong mẫu được hoàn tất trong vòng 5 giây sau khi cho nhân tố thử nghiệm tiếp xúc với mẫu.

32. Phương pháp theo phương án 28, trong đó trị số glucoza và keton được xác định trong vòng 2 giây sau trị số còn lại trong bước xác định.

33. Phương pháp theo phương án 28, trong đó mẫu này chứa máu.

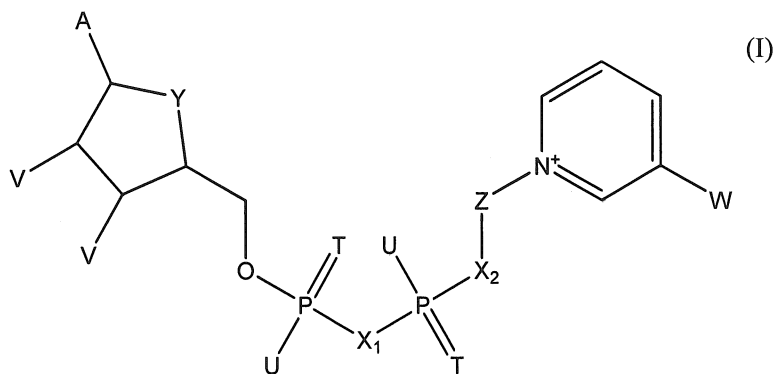
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Nhân tố thử nghiệm được thiết kế cấu hình để xác định chất phân tích thứ nhất và thứ hai bao gồm:

enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất, trong đó chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat và enzym phụ thuộc coenzym thứ nhất là hydroxybutyrat dehydrogenaza;

enzym phụ thuộc coenzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai, trong đó chất phân tích thứ hai là glucoza và enzym phụ thuộc coenzym thứ hai là glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxidaza; và

coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP, và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR , CON(R)_2 , COR hoặc CSN(R)_2 trong đó R trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1 , X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C(CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

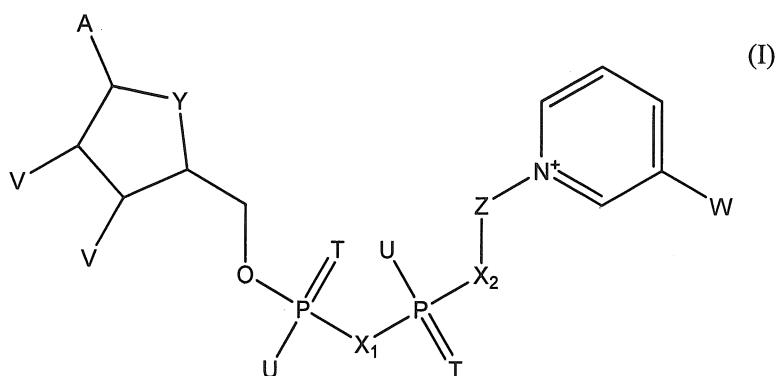
Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR₄ trong đó CR₄ được liên kết với nhóm vòng này và với X₂, và

trong đó R₄ = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH₃, với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

2. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó hydroxybutyrat dehydrogenaza là 3-hydroxybutyrat dehydrogenaza.
3. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó coenzym là hợp chất có công thức (I)



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

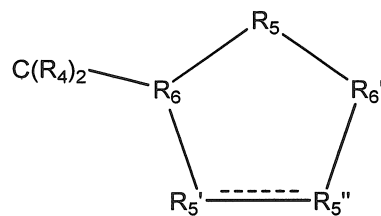
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

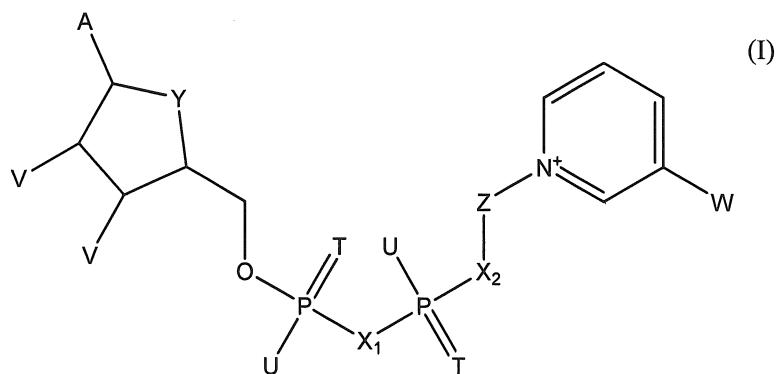
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

4. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó coenzym là hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

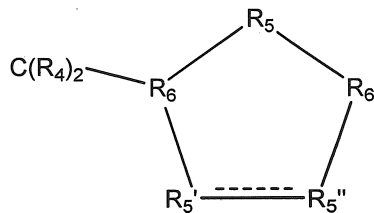
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

$$X_1 = O,$$

$$X_2 = O,$$

$$Y = O, \text{ và}$$

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa $R5'$ và $R5''$, và trong đó:

$$R4 = H,$$

$$R5' = CHOH,$$

$$R5'' = CHOH,$$

$$R5 = CR4_2,$$

$$R6 = CH, \text{ và}$$

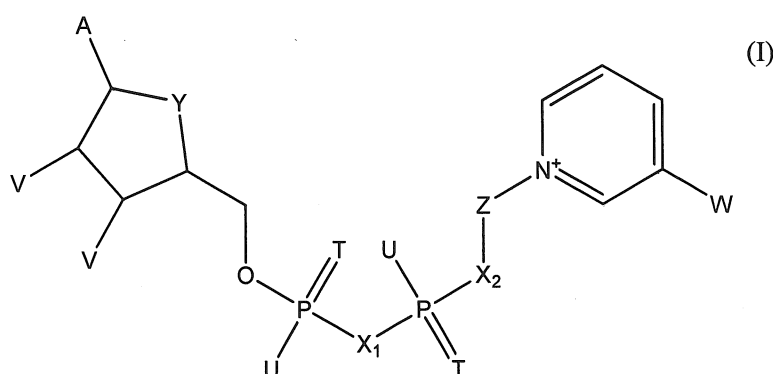
$$R6' = CH.$$

5. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó coenzym là thio-NAD.
6. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó coenzym là thio-NADP.
7. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 1, trong đó enzym thứ nhất hoặc cơ chất cho enzym thứ nhất và coenzym được chọn từ nhóm bao gồm thio-NAD, thio-NADP và hợp chất theo công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó được bao gồm trong chất thử thứ nhất.
8. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 7, trong đó enzym thứ hai hoặc cơ chất cho enzym thứ hai và coenzym được chọn từ hợp chất theo công thức (I) hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó được bao gồm trong chất thử thứ hai.
9. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 8, trong đó nhân tố thử nghiệm này là dải thử được thiết kế cấu hình để mang nguyên liệu chất thử thứ nhất và thứ hai.

10. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 9, trong đó dải thử nghiệm bao gồm hệ điện cực thứ nhất có liên quan đến chất thử thứ nhất và hệ điện cực thứ hai có liên quan đến chất thử thứ hai.
11. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 8, trong đó chất thử thứ hai còn bao gồm FAD, NAD hoặc NADP.
12. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 7, trong đó chất thử thứ nhất còn bao gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua và hỗn hợp của dẫn xuất phenazin và hexaaminruteni clorua.
13. Chất thử bao gồm:

3-hydroxybutyrat dehydrogenaza; và

hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- , hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR , $\text{CON}(\text{R})_2$, COR hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$ trong đó R trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1 , X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

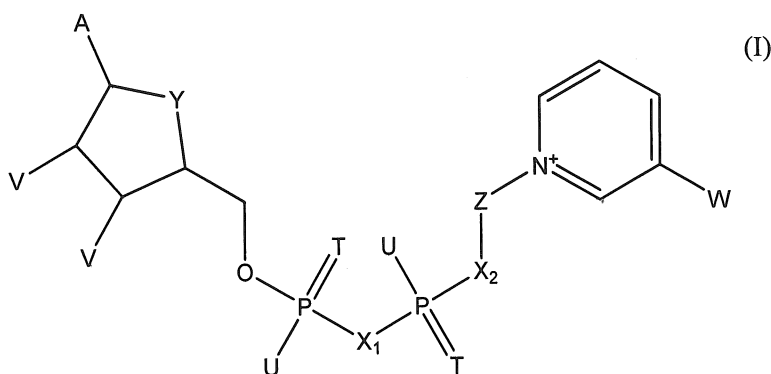
Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa nguyên tử khác loại được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR₄₂ trong đó CR₄₂ được liên kết với nhóm vòng này và với X₂, và

trong đó R₄ = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH₃, với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

14. Chất thử theo điểm 13, trong đó hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

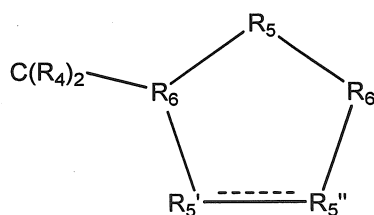
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

R4 = H,

R5' = CHOH,

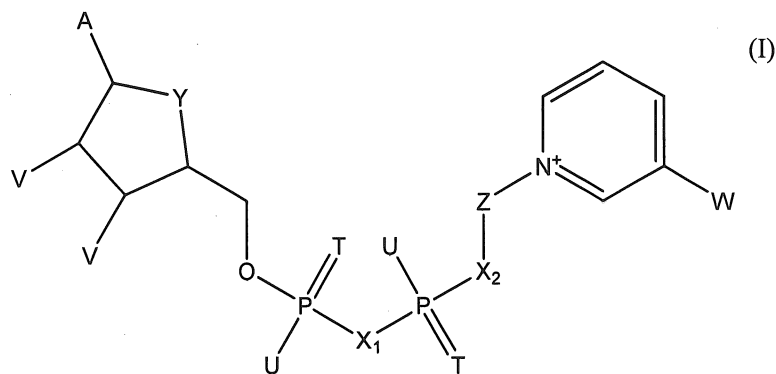
R5'' = CHOH,

R5 = CR₄,₂,

R6 = CH, và

R6' = CH.

15. Chất thử theo điểm 13, trong đó hợp chất coenzym có công thức (I):



trong đó:

A = adenin,

T = trong mỗi trường hợp biểu thị O,

U = trong mỗi trường hợp biểu thị OH,

V = trong trường hợp thứ nhất biểu thị OH và trong trường hợp thứ hai biểu thị nhóm phosphat,

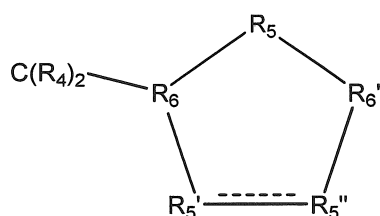
W = CON(R)₂ trong đó R biểu thị H,

X₁ = O,

X₂ = O,

Y = O, và

Z = vòng 5 cạnh dạng vòng cacbon no có công thức chung (II):



(II)

trong đó liên kết đơn có mặt giữa R5' và R5'', và trong đó:

$R_4 = H$,

$R_{5'} = CHOH$,

$R_{5''} = CHOH$,

$R_5 = CR_4_2$,

$R_6 = CH$, và

$R_{6'} = CH$.

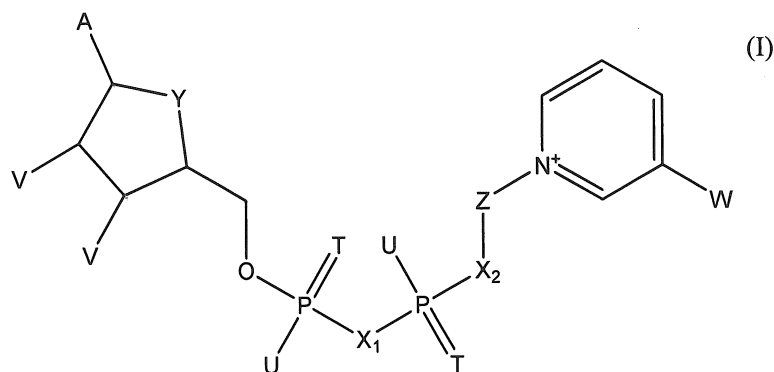
16. Chất thử theo điểm 13, trong đó chất thử này còn bao gồm một trong số nitrosoanilin, kali ferrixyanua và hỗn hợp của hợp chất phenazin và hexaaminruteni clorua.

17. Nhân tố thử nghiệm bao gồm dải thử mang chất thử thứ nhất theo điểm 13 để xác định chất phân tích thứ nhất, trong đó chất phân tích thứ nhất là hydroxybutyrat.

18. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 17, trong đó dải thử nghiệm còn mang chất thử thứ hai để xác định chất phân tích thứ hai, trong đó chất phân tích thứ hai là glucoza.

19. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 18, trong đó chất thử thứ hai bao gồm glucoza dehydrogenaza hoặc glucoza oxidaza.

20. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 19, trong đó chất thử thứ hai còn bao gồm coenzym được chọn từ nhóm bao gồm FAD, NAD, NADP và hợp chất có công thức (I):



trong đó:

A = adenin hoặc chất tương tự của nó,

T = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O hoặc S,

U = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị OH, SH, BH_3^- hoặc BCNH_2^- ,

V = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị nhóm OH hoặc nhóm phosphat,

W = COOR, $\text{CON}(\text{R})_2$, COR, hoặc $\text{CSN}(\text{R})_2$, trong đó R ở mỗi trường hợp độc lập biểu thị H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-alkyl}$,

X_1, X_2 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị O, CH_2 , CHCH_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, NH hoặc NCH_3 ,

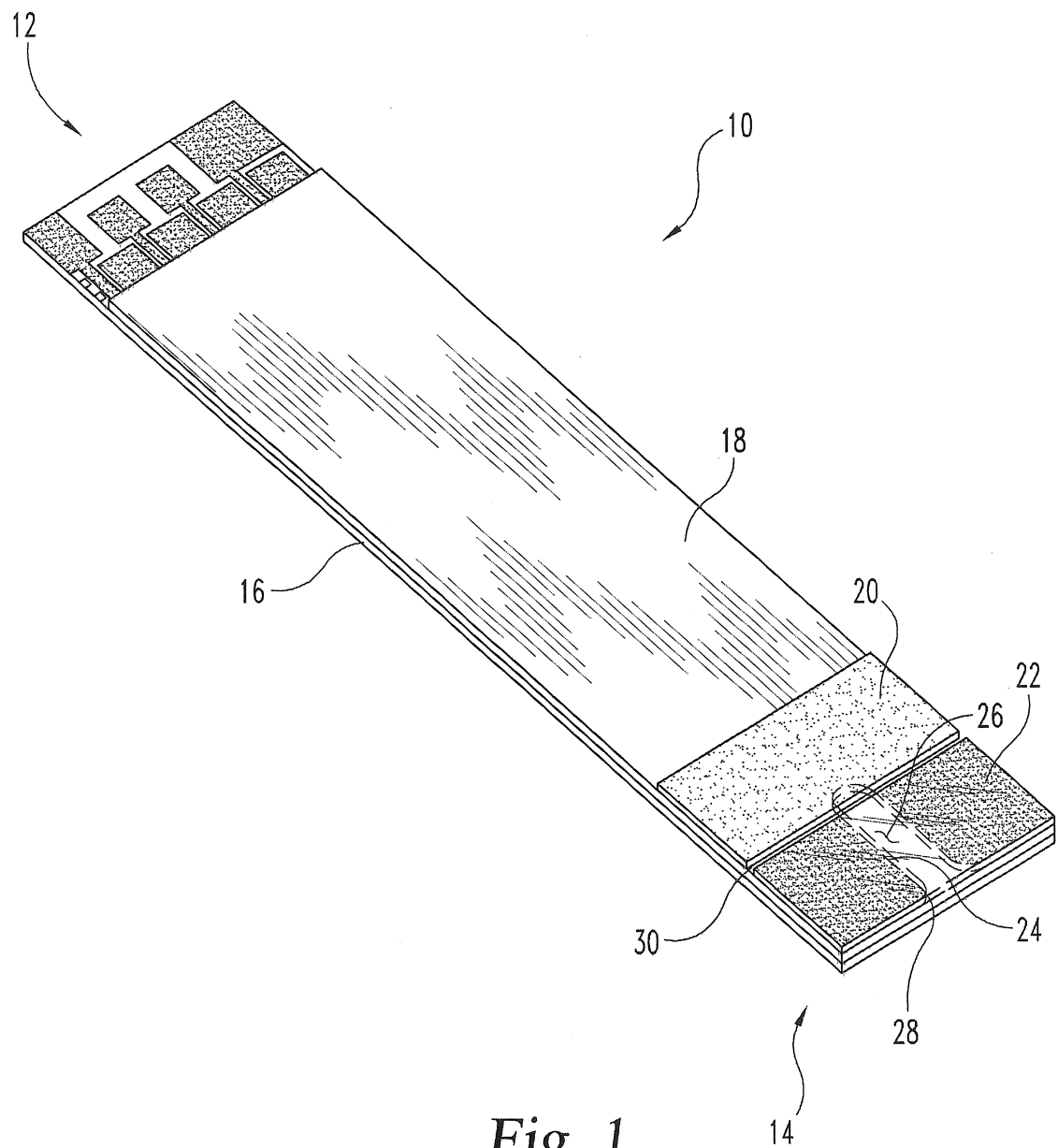
Y = NH, S, O hoặc CH_2 ,

Z = gốc có chứa nhóm vòng có 5 nguyên tử C mà tùy ý chứa dị nguyên tử được chọn từ O, S và N và tùy ý một hoặc nhiều phân tử thế, và gốc CR_4 trong đó CR_4 được liên kết với nhóm vòng này và với X_2 , và

trong đó R_4 = trong mỗi trường hợp độc lập biểu thị H, F, Cl hoặc CH_3 , với điều kiện Z và gốc pyridin không được liên kết bởi liên kết glycosidic,

hoặc muối hoặc tùy ý dạng được khử của nó.

21. Nhân tố thử nghiệm theo điểm 18, trong đó dải thử được thiết kế cấu hình để xác định điện hóa chất phân tích thứ nhất và thứ hai.

*Fig. 1*

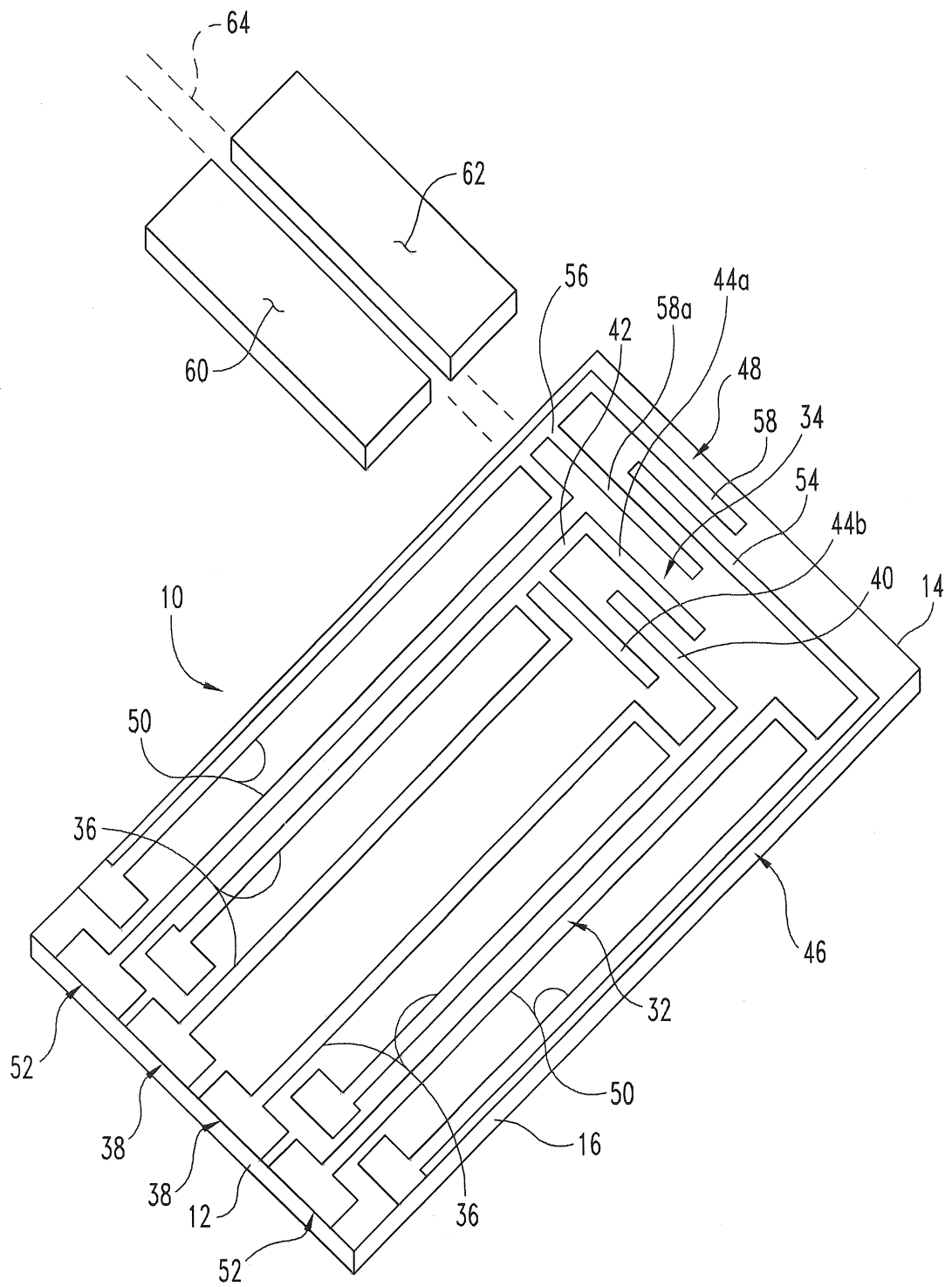


Fig. 2

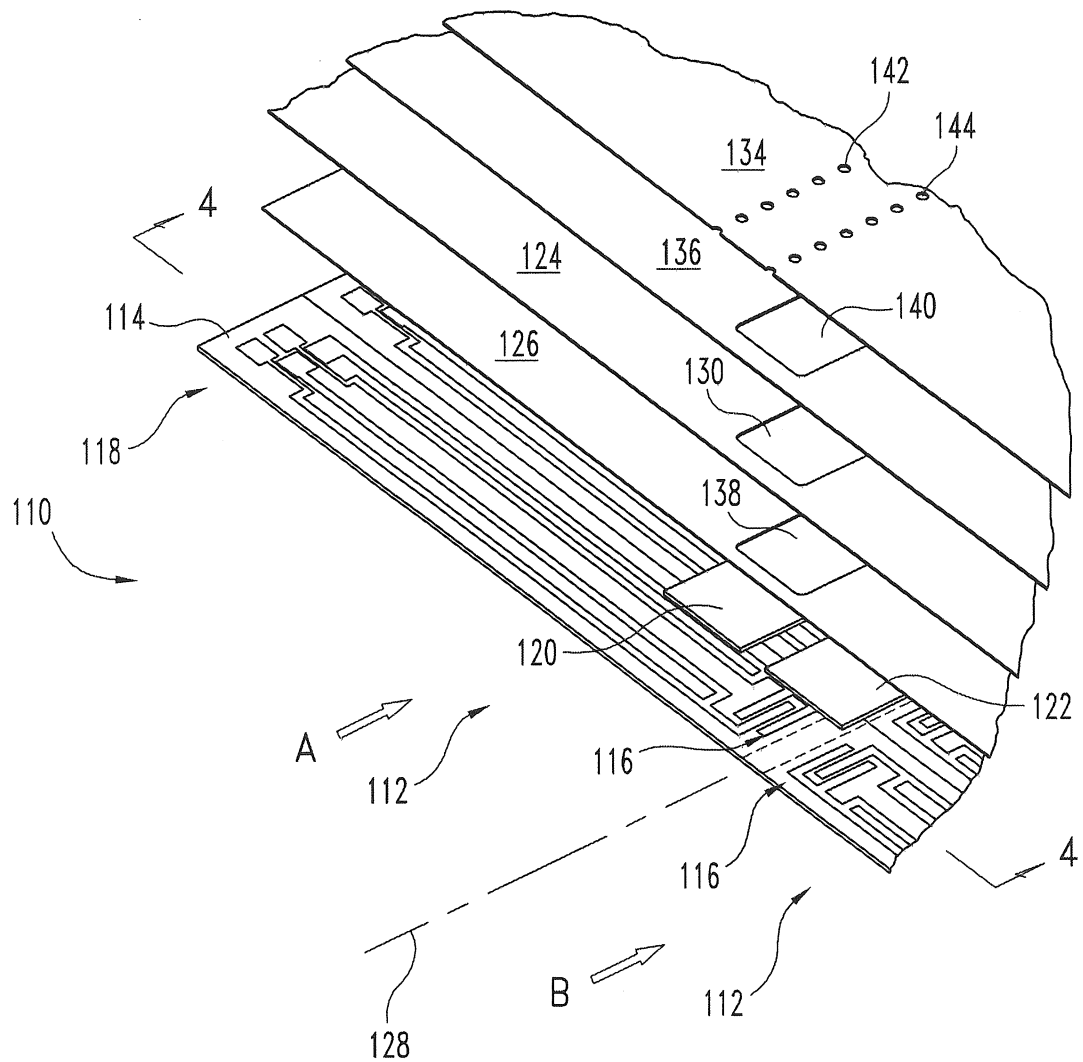
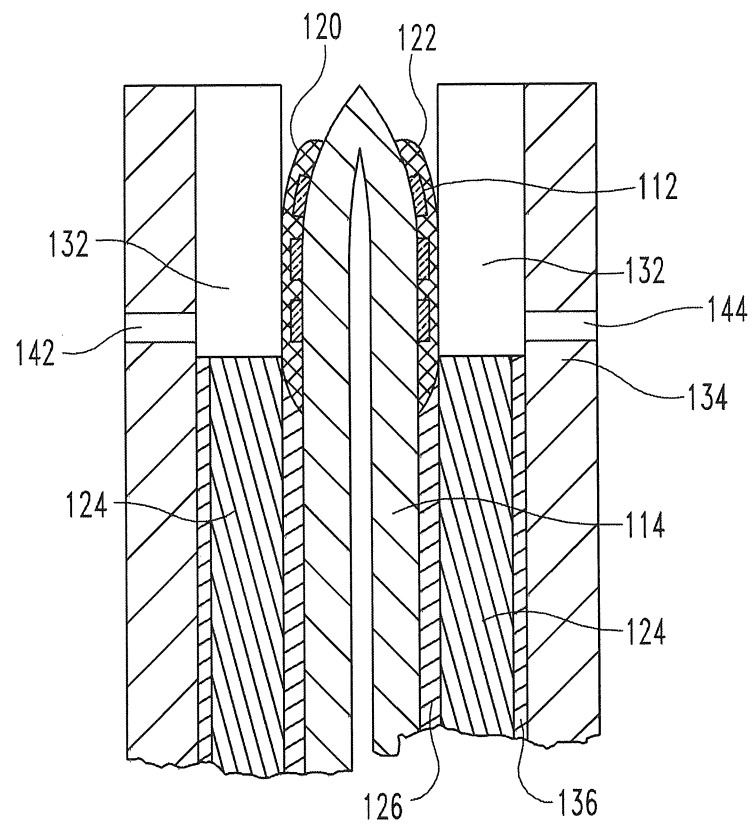


Fig. 3

*Fig. 4*

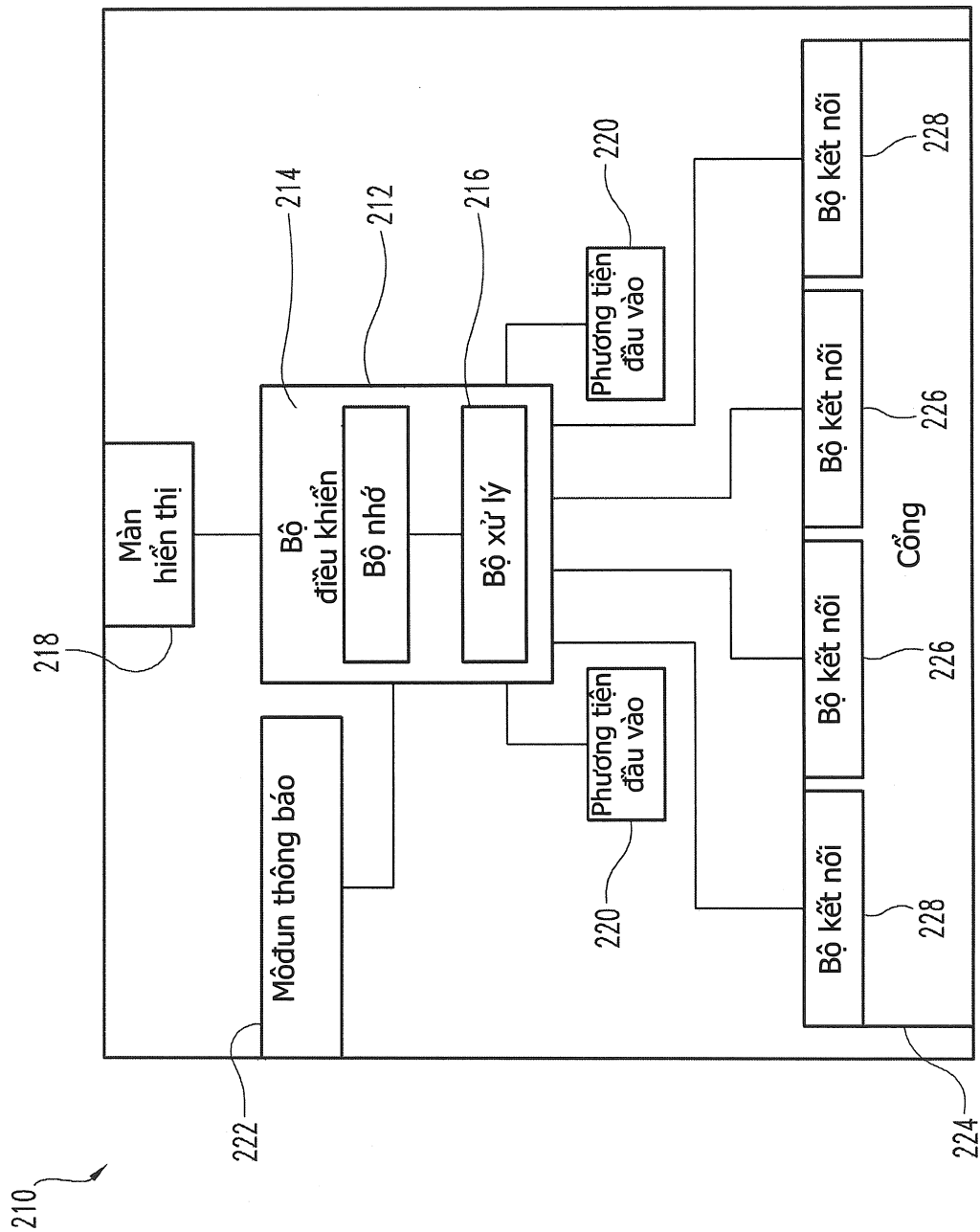


Fig. 5

Đáp ứng liều Hydroxybutyrat
 150nM dung dịch đệm Mops/0,5% PEO/0,5% Natrosol®/120 u/uL Hydroxybutyrat dehydrogenaza
 /30 mM NA1144/35 mM cNAD
 pH 7,61
 Mẫu - 10mM Phosphat/ 150mM KCL/Hydroxybutyrat

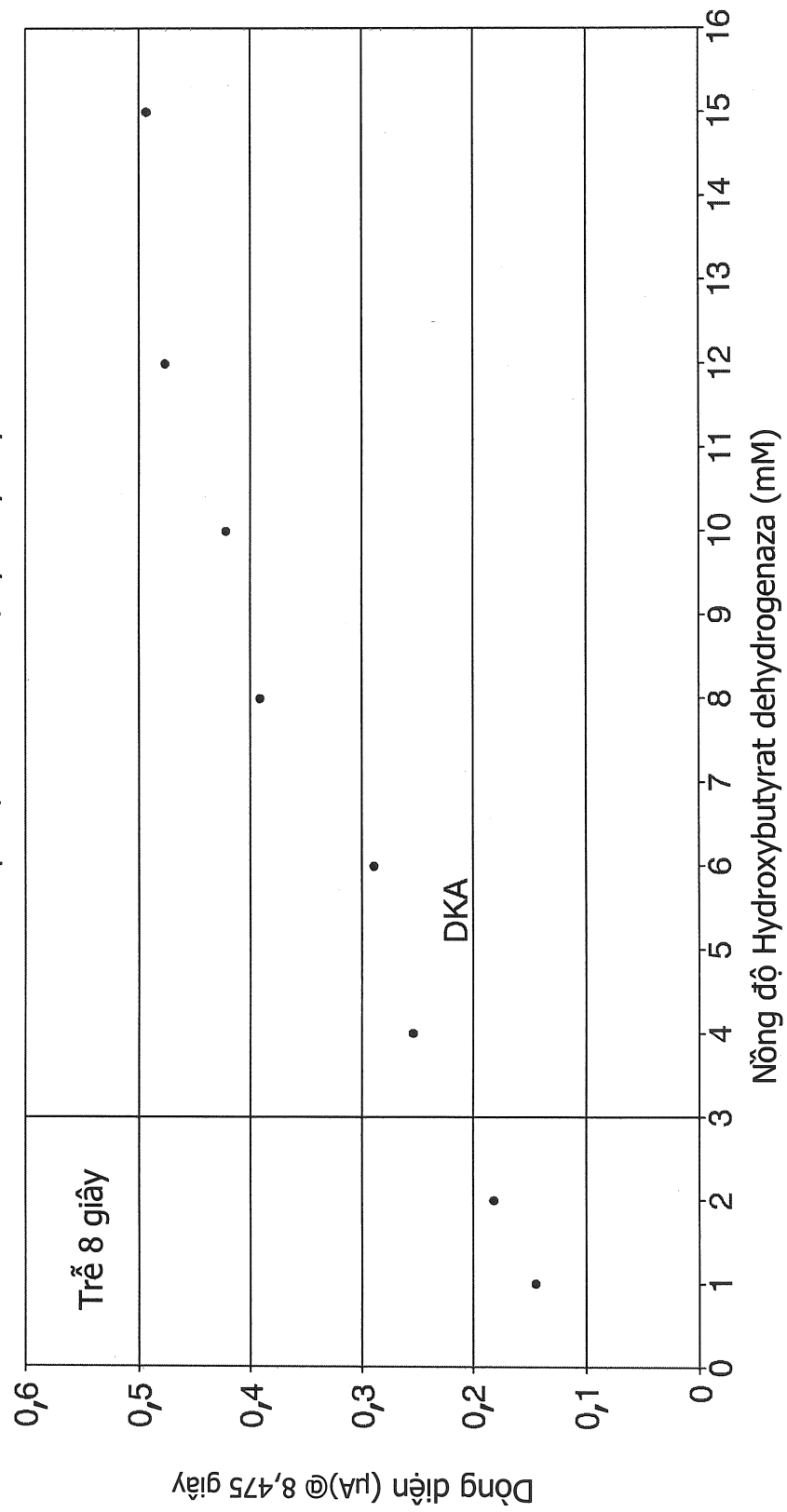


Fig. 6

Đáp ứng liều động học
 150mM Tris/0,5% PEO/0,5% Natrosol[®]/40 mM cNAD/50 u/mg HBDH/50 mM RuHex/
 2 mM cPES/0,125% Tergitol[®] + Triton[™]X-100
 Dung dịch thử nghiệm - Dung dịch muối đệm/Hydroxybutyrat
 Điện thế - 220 mV

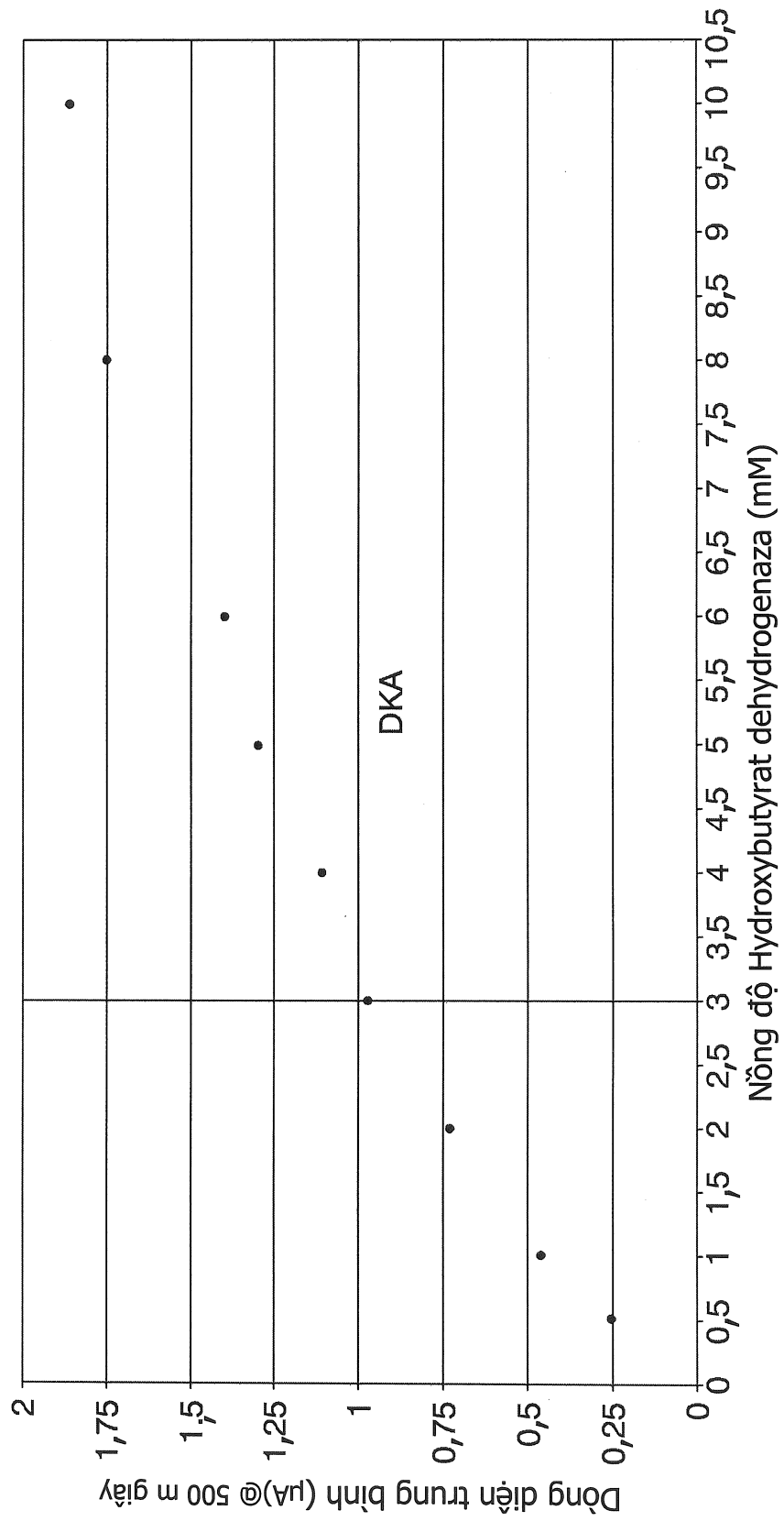


Fig. 7

Đáp ứng liều lượng máu

150mM Tris/0,5% PEO/0,5% Natrosol®/40 nM cNAD/150 u/mg HBDH/50 mM RuHex/
2 mM cPES/ 0,125% Tergitol®/0,025% Triton™X-100

Dung dịch thử nghiệm - Máu được pha(Hct 42)/Hydroxybutyrat

Điện thế - 220 mV

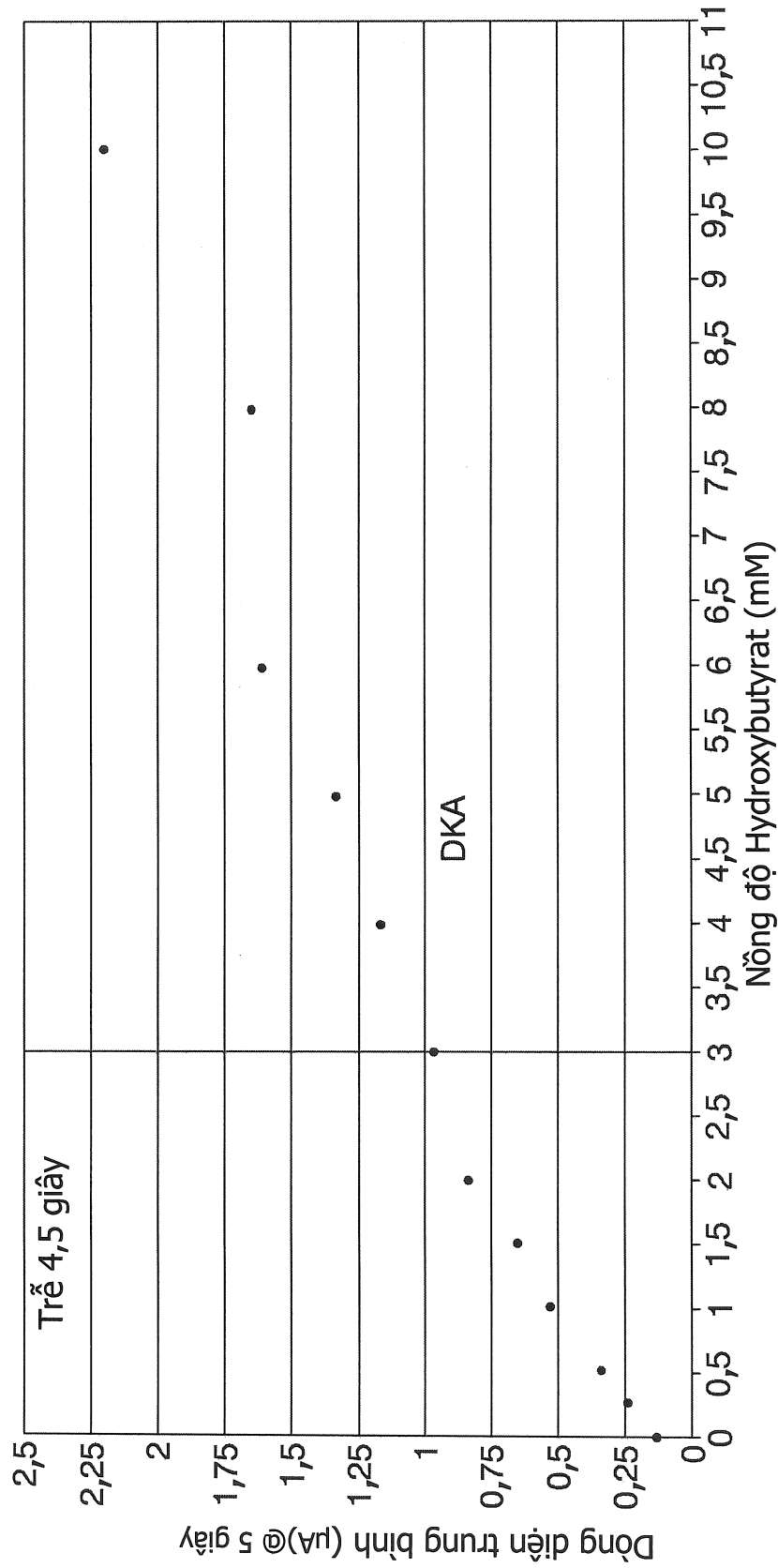


Fig. 8

Đáp ứng liều động học

150mM Tris/0,5% PEO/0,5% Natrosol®/40 mM cNAD/150 u/mg HBDH/50 mM RuHex/
2 mM cPES/0,125% Tergitol®/0,025% Triton™ X-100

Dung dịch thử nghiệm - Dung dịch muối đệm/Hydroxybutyrat

Điện thế - 220 mV

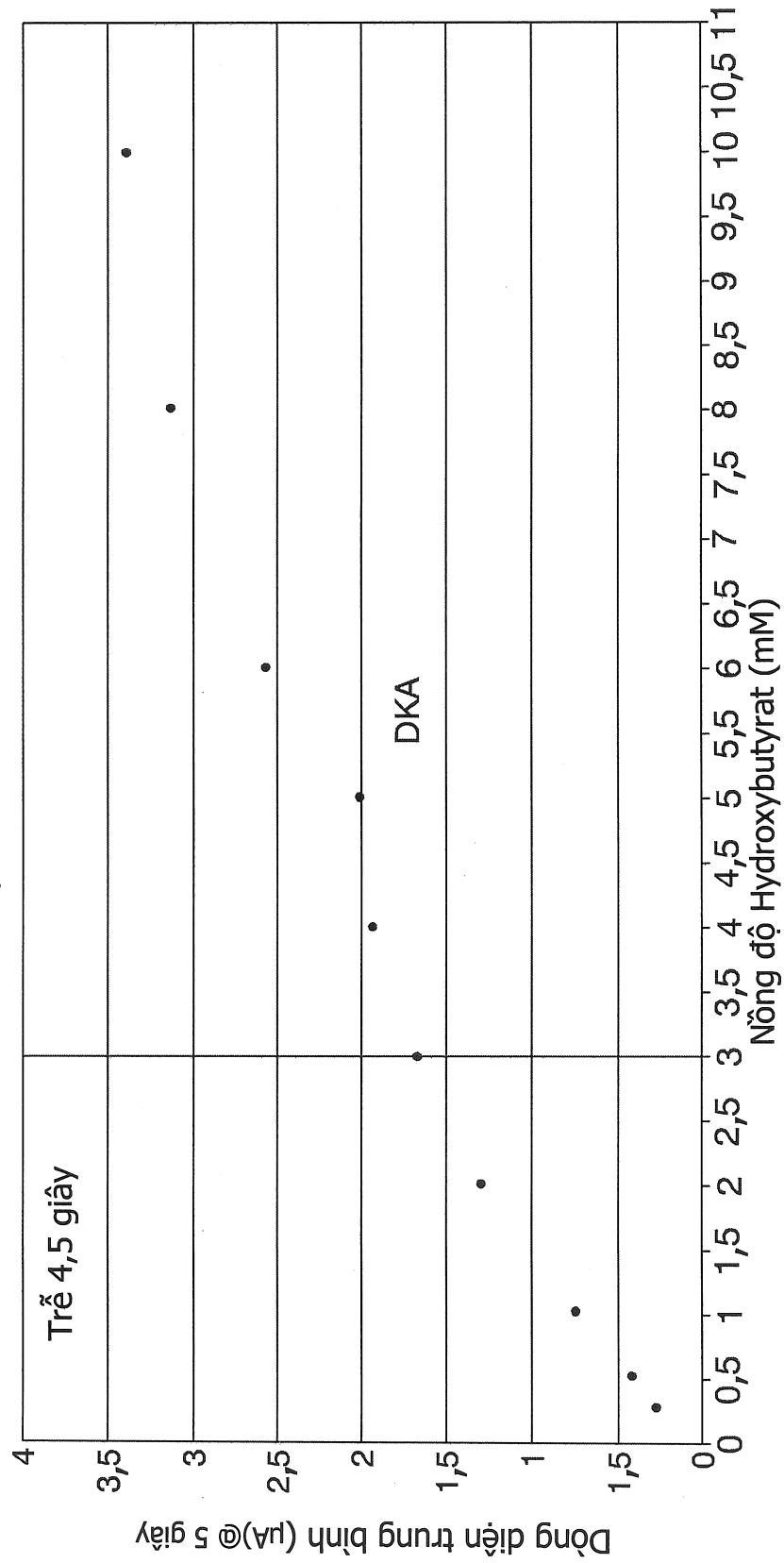


Fig. 9

Đáp ứng liều Hydroxybutyrat

2% Kollidon® 150 u/uL Hydroxybutyrat dehydrogenaza/50mM Ruteni hexaanmin/35 mM cNAD/
2 mM cPES/1 % Cabosi®/0,125% Tergitol®/0,025% Triton™ X-100 /150 mM dung dịch đệm Tris pH7,61
Mẫu - Mẫu (48% Hct)/ Hydroxybutyrat

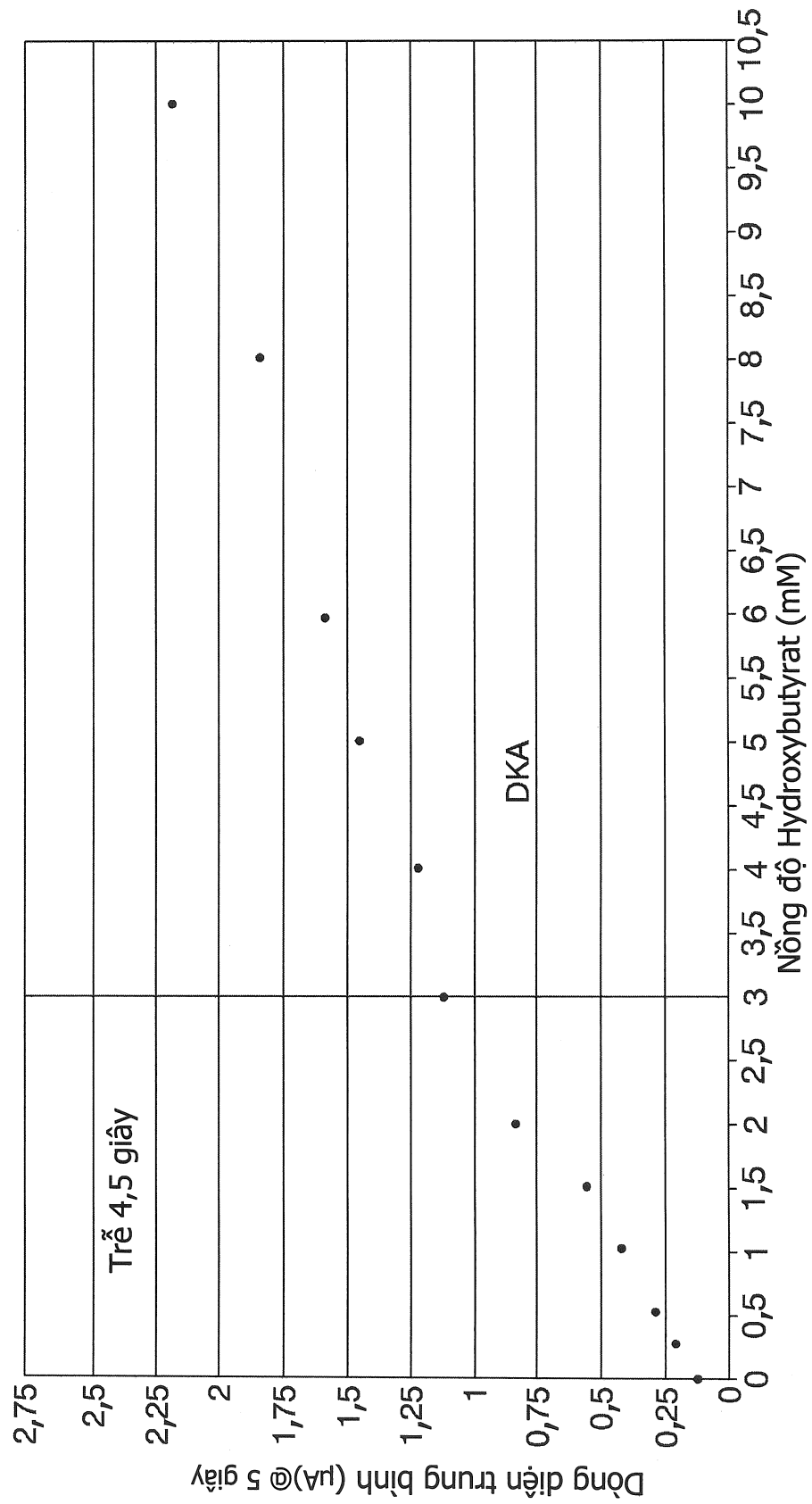


Fig. 10

Đáp ứng liều

150mM Tris/2% Kollidon[®]/40 mM cNAD/150 u/mg HBDH/2 mM cPES/
50 mM Ruteni Hexaamin/ 1% Cabosil[®]/ 0,125% Tergitol[®]/0,025% Triton[™]X-100
Dung dịch thử nghiệm - Dung dịch muối đệm/Hydroxybutyrat
Điện thế - 220 mV

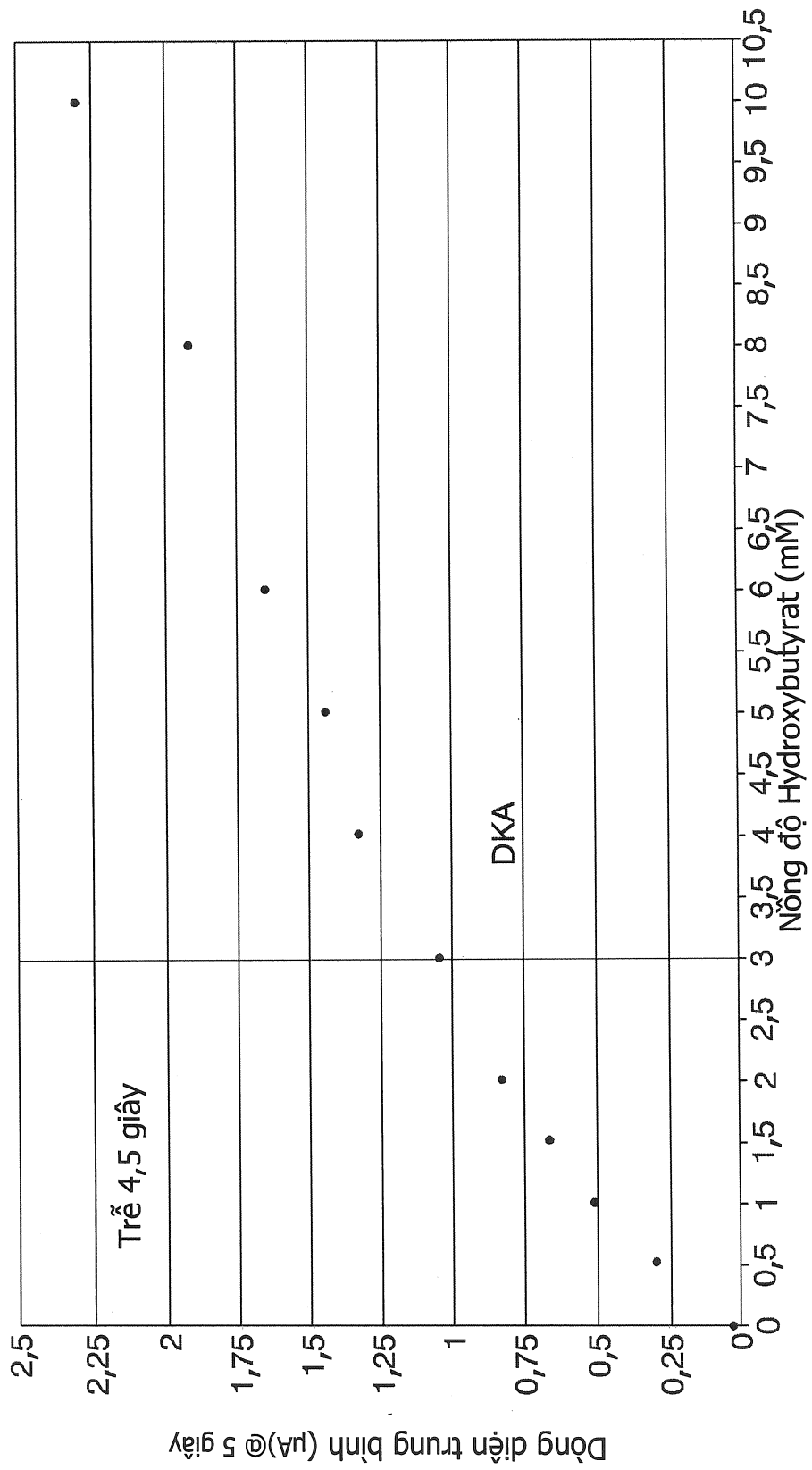


Fig. 11

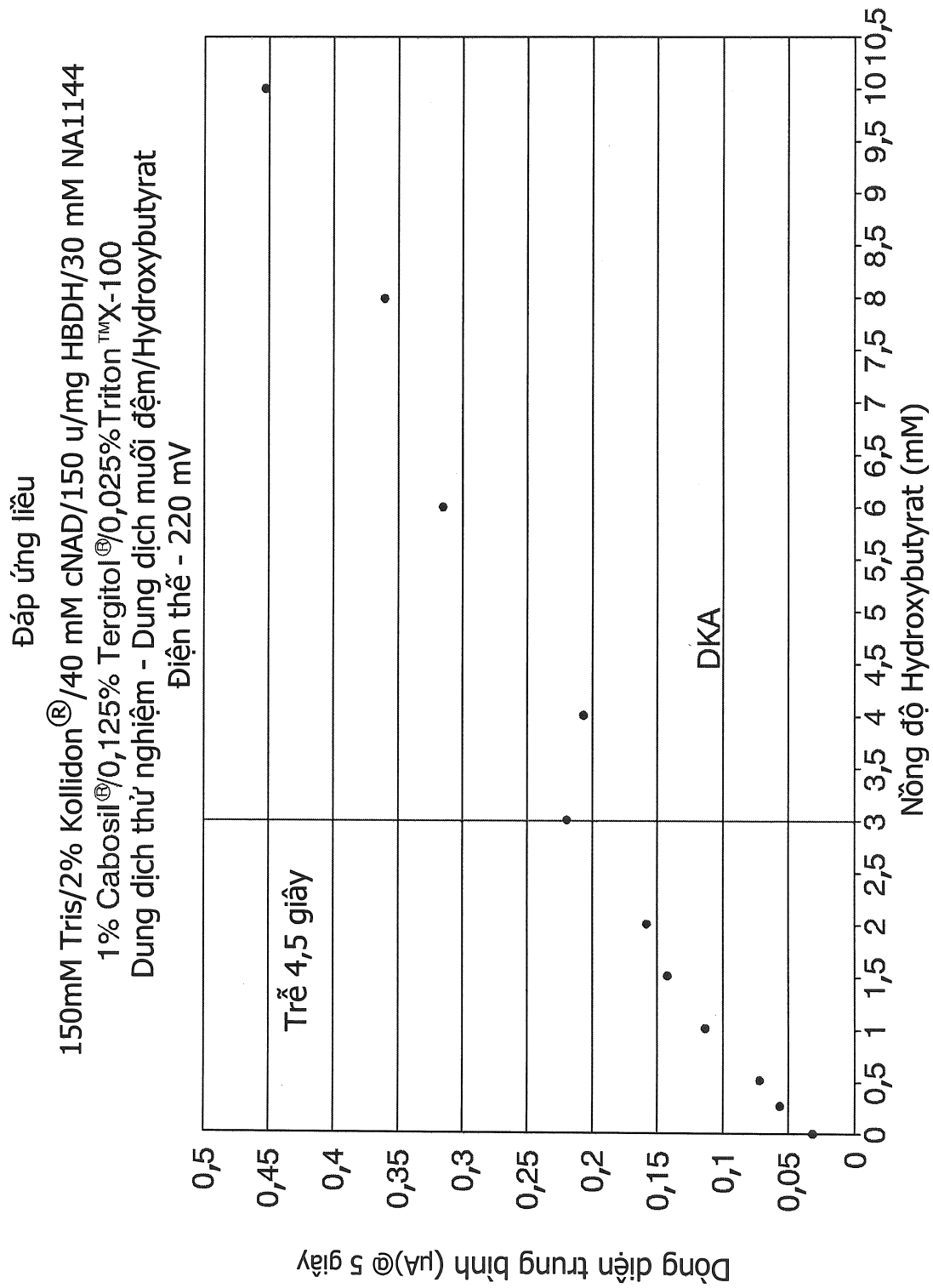


Fig. 12

Đáp ứng liều

150 mM Tris/2% Kollidon[®]/35 mM Thio-NAD/150 u/mg HBDH/2 mM cPES/
50 mM Ruteni Hexaamin/ 1% Cabosil[®]/ 0,125% Tergitol[®]/0,025% Triton[™]X-100
Dung dịch thử nghiệm - Dung dịch muối đệm/Hydroxybutyrat

Điện thế - 220 mV

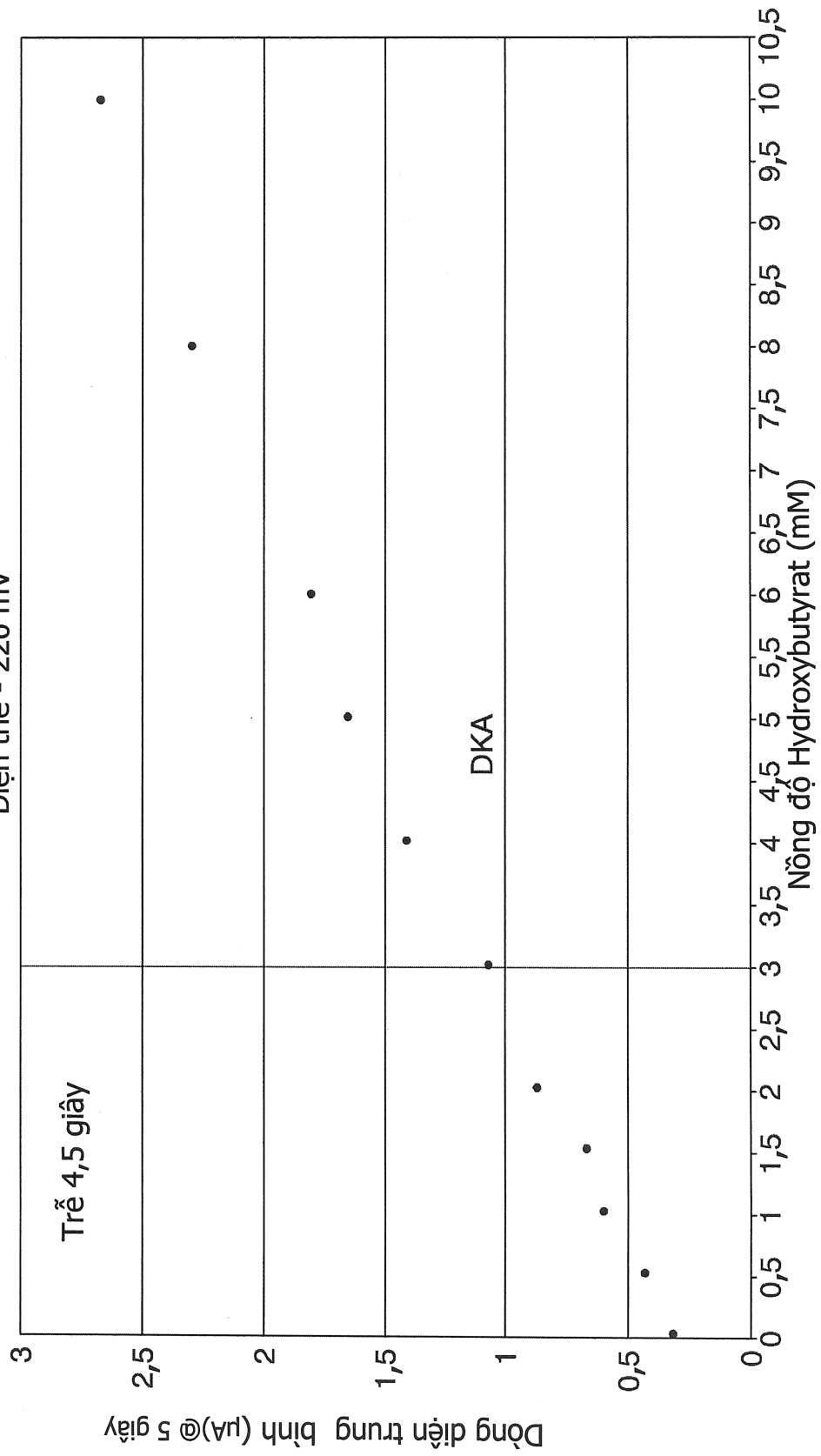


Fig. 13

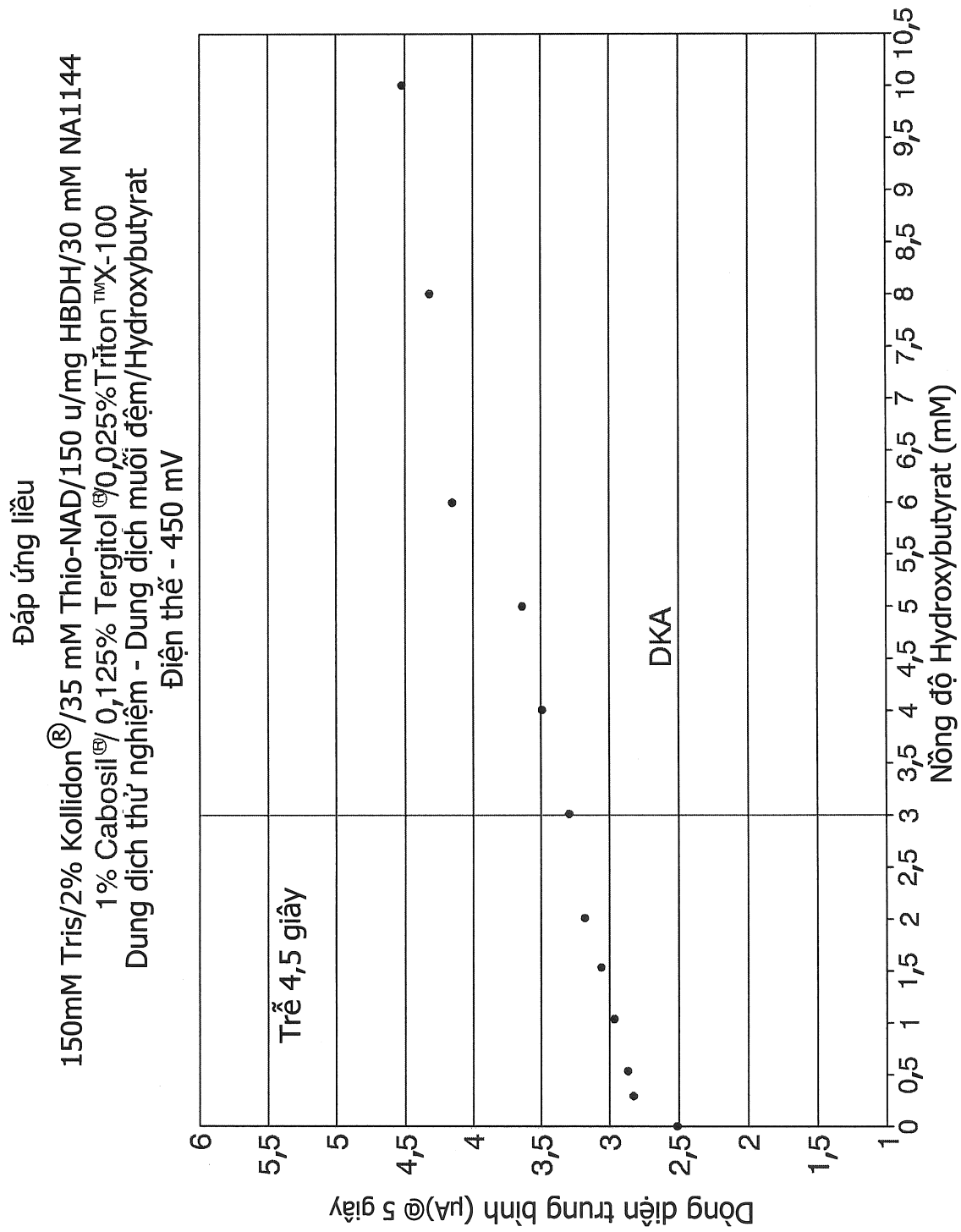


Fig. 14

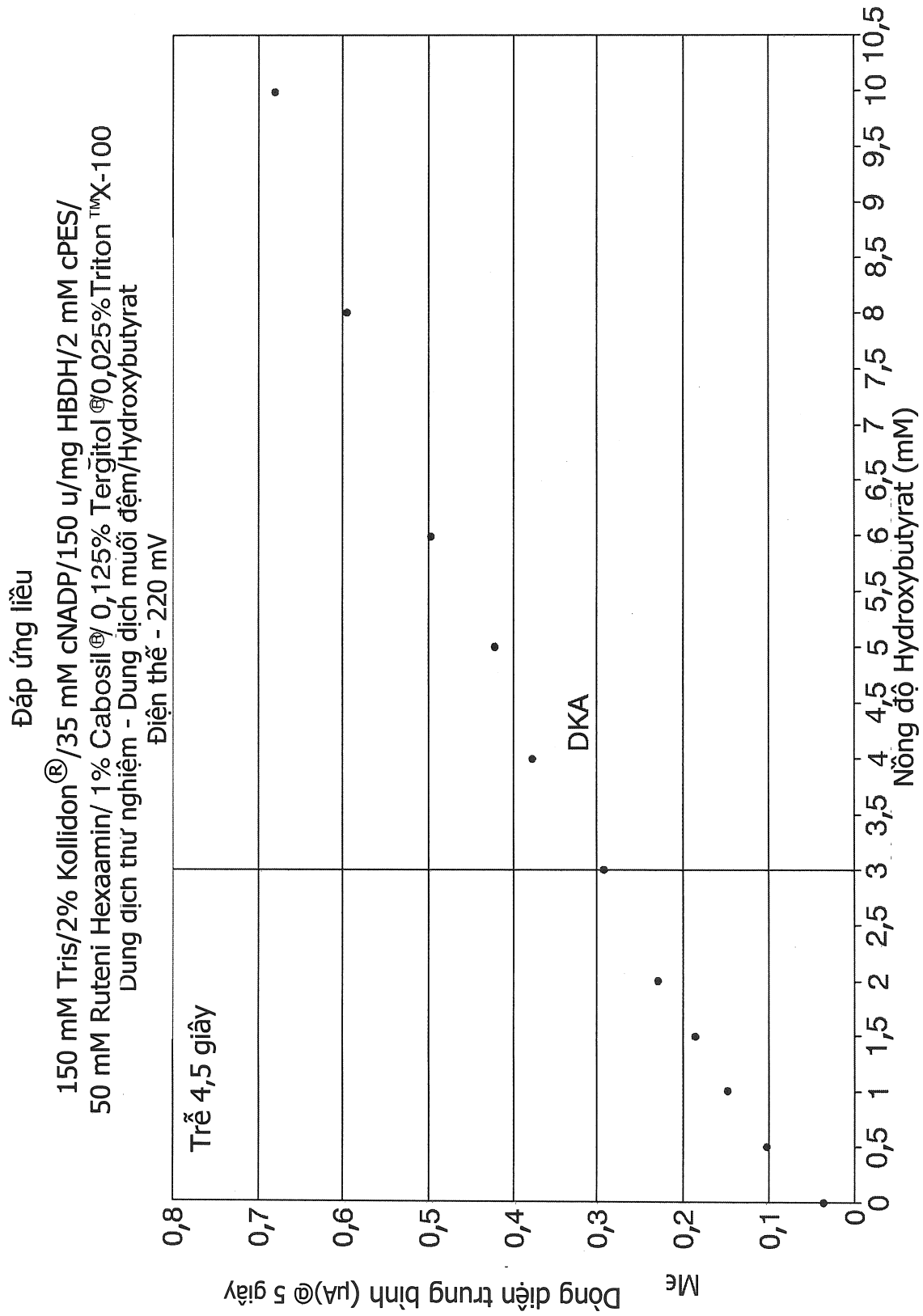


Fig. 15

Đáp ứng liều

150mM Tris/2% Kollidon[®]/35 mM CNADP/150 u/mg HBDH/30 mM NA1144
 1% Cabosil[®]/ 0,125% Tergitol[®]/0,025% Triton[™]X-100
 Dung dịch thử nghiệm - Dung dịch muối đệm/Hydroxybutyrat
 Điện thế - 450 mV

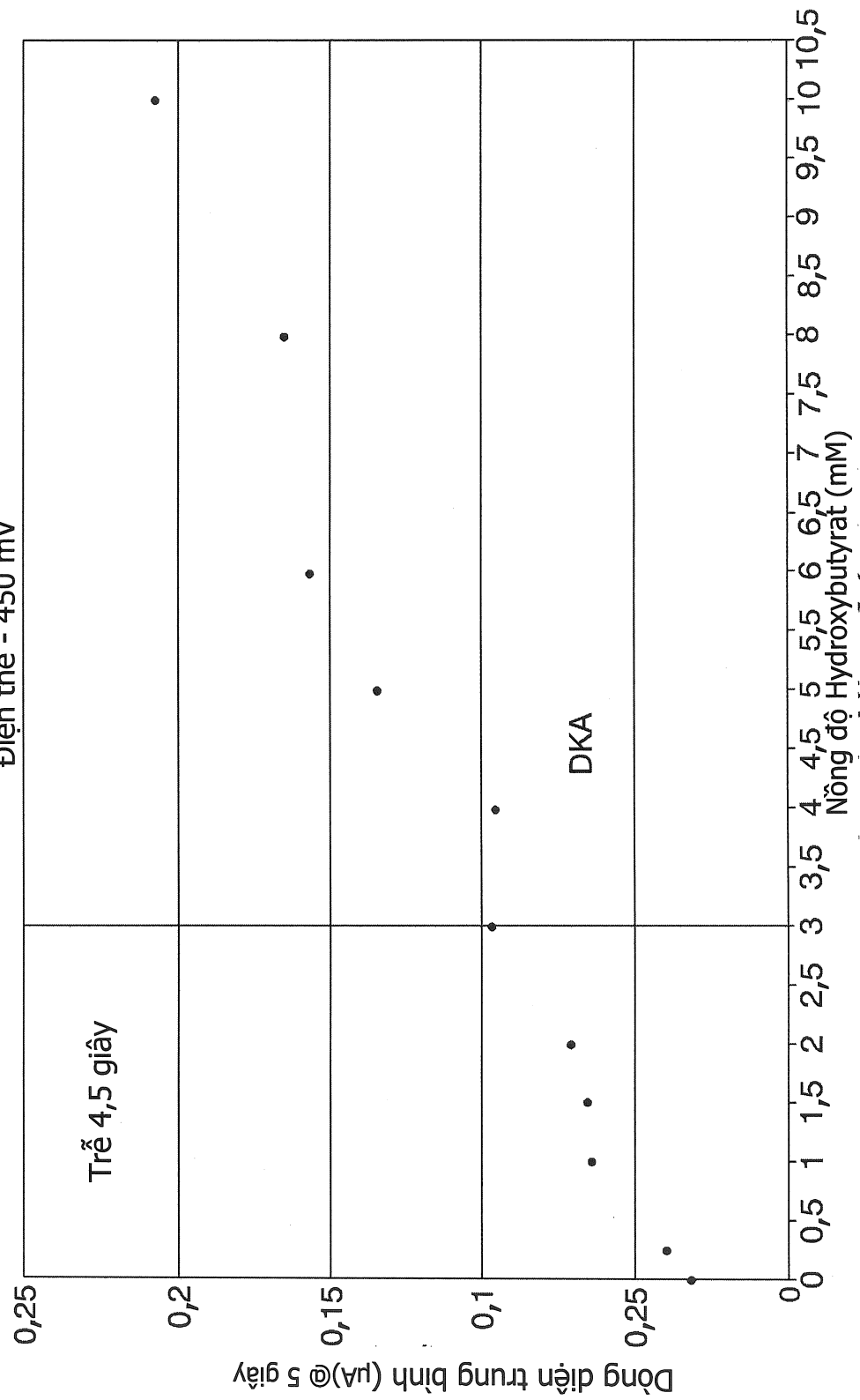


Fig. 16

Đáp ứng liều mẫu toàn phần
 150 mM Tris/2% Kollidon[®]/40 nM cNAD/150 u/mg HBDH/20 mM FeCN6/
 1% Cabosil[®]/0,125% Tergitol[®]+0,025% Triton[™]X-100
 Dung dịch thử nghiệm - Mẫu toàn phần pha loãng (Hct=42)/Hydroxybutyrat
 Điện thế - 350 mV

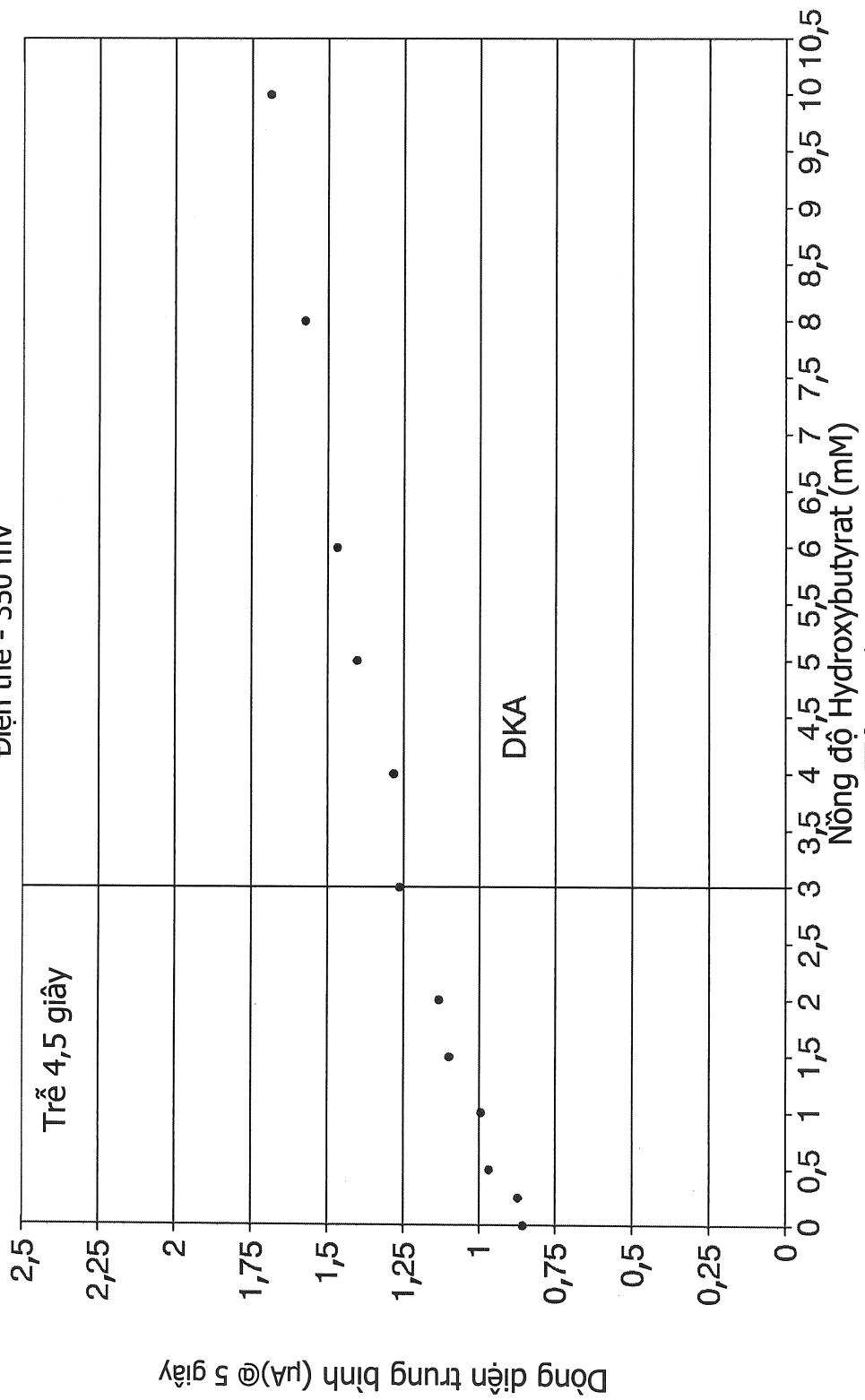


Fig. 17

Đáp ứng liều máu toàn phần

150 mM Tris/2% Kollidon®/40 nM cNAD/150 u/mg HBDH/30 mM NA1144

1% Cabosil®/ 0,125% Tergitol®/0.025% Triton™ X-100

Dung dịch thử nghiệm - Máu toàn phần pha loãng (Hct=42)/Hydroxybutyrat

Điện thế - 450 mV

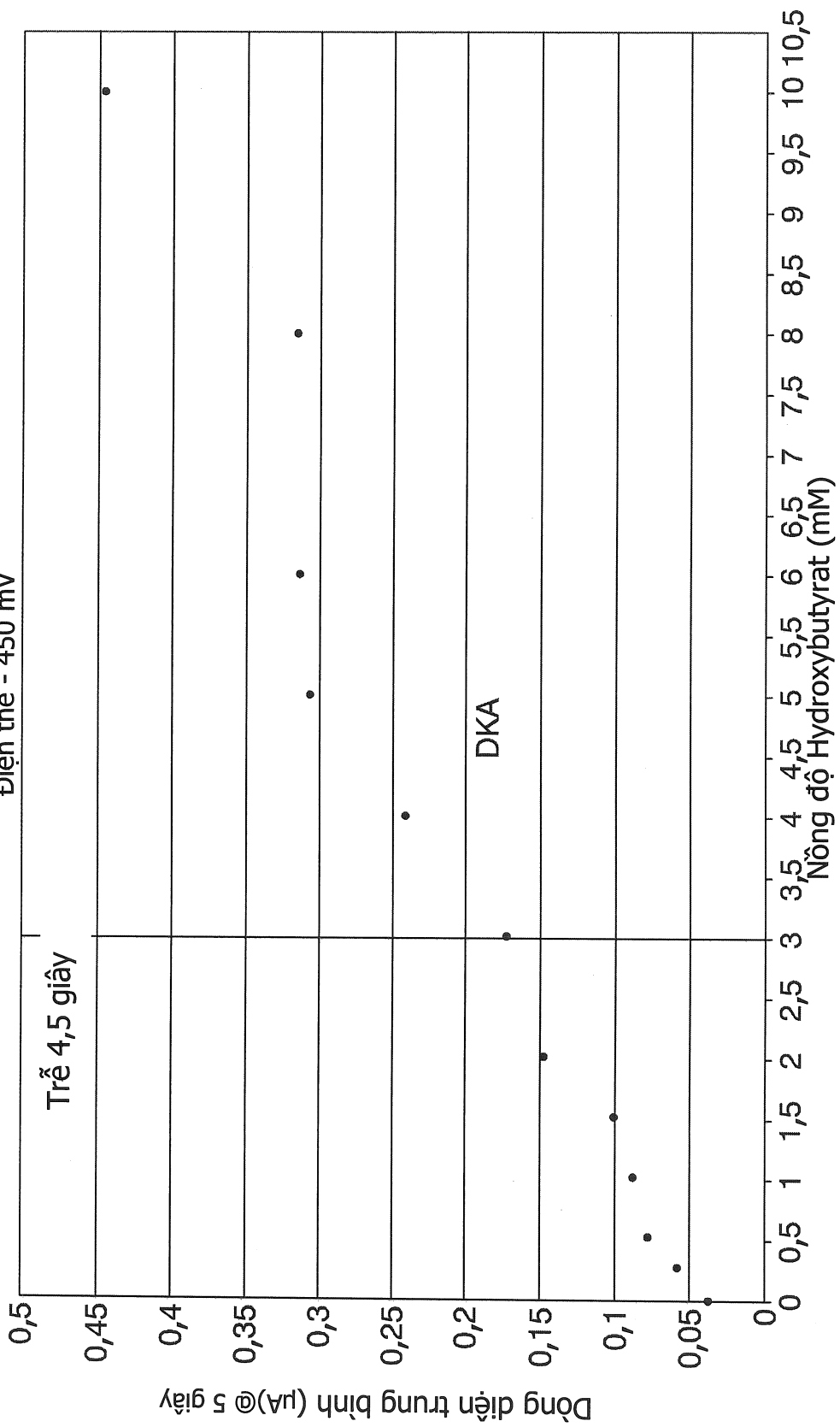


Fig. 18