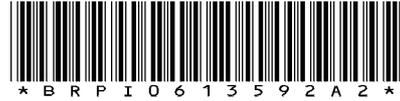




República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0613592-7 A2**



(22) Data de Depósito: 19/07/2006
(43) Data da Publicação: 18/01/2011
(RPI 2089)

(51) *Int.Cl.:*
G01N 27/49
G01N 33/487
C12Q 1/00
A61B 5/00

(54) Título: **AMPEROMETRIA CONECTADA POR PORTA**

(30) Prioridade Unionista: 20/07/2005 US 60/700.787,
08/05/2006 US 60/746.771, 08/05/2006 US 60/746.771, 20/07/2005
US 60/700.787

(73) Titular(es): BAYER HEALTHCARE LLC

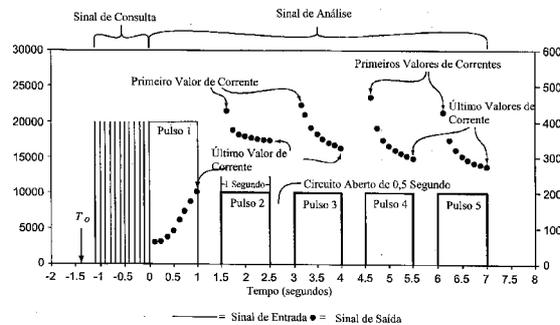
(72) Inventor(es): Christine D. Nelson, Greg P. Beer, Huan-Ping Wu

(74) Procurador(es): Alexandre Ferreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006028013 de 19/07/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/013915 de 01/02/2007

(57) Resumo: AMPEROMETRIA CONECTADA POR PORTA São descritos um sistema sensor, um dispositivo e métodos para determinar a concentração de analito em uma amostra. Sequências de pulsos amperométricos conectadas por porta que incluem vários ciclos de atividade de excitações e relaxamentos sequenciais podem apresentar um tempo de análise mais curto e/ou aperfeiçoar a exatidão e/ou precisão da análise. As sequências de pulsos amperométricos conectadas por porta reveladas podem reduzir os erros de análise que surgem do efeito de hematócrito, da variância nos volumes da tampa-intervalo, das condições não estáveis, do fundo de mediador, do sub-enchimento, das alterações na temperatura na amostra e de um único conjunto de constantes de calibração.



"AMPEROMETRIA CONECTADA POR PORTA"

Referência a Pedidos Correlatos

Este pedido reivindica o benefício do pedido provisório norte-americano No. 60/700 787, intitulado "Amperometria Conectada por Porta", depositado a 20 de julho de 2005, e do pedido provisório norte-americano No. 60/746 771, intitulado "Sistema de Detecção de Saída Anormal para Biossensor", depositado a 8 de maio de 2006, que são aqui incorporados à guisa de referência.

10 Antecedentes da Invenção

A determinação quantitativa de analitos em fluidos biológicos é útil no diagnóstico e tratamento de anormalidades fisiológicas. Por exemplo, a determinação do nível de glicose em fluidos biológicos, como o sangue, é importante para indivíduos diabéticos que devem verificar com frequência seu nível de glicose no sangue de modo a regular suas dietas e/ou medicação.

Sistemas eletroquímicos têm sido utilizados para estes tipos de análise. Durante a análise, o analito passa por uma reação redox com uma enzima ou espécie semelhante de modo a gerar uma corrente elétrica que pode ser medida ou correlacionada com a concentração do analito. Um benefício substancial pode ser proporcionado ao usuário com a diminuição do tempo necessário à análise, obtendo-se ao mesmo tempo as desejadas exatidão e precisão.

Um exemplo de sistema sensor eletroquímico para a análise de analitos em fluidos biológicos inclui um dispositivo de medição e uma tira sensora. A tira sensora inclui

reagentes para reagir com e transferir elétrons do analito durante a análise e eletrodos para fazer passar os eletrodos através de condutores que conectam a tira com o dispositivo. O dispositivo de medição inclui contatos para receber os e-
5 létrons da tira e a capacidade de aplicar um diferencial de tensão entre os contatos. O dispositivo pode registrar a corrente que passa através do sensor e traduzir os valores de corrente em uma medida do teor de analito da amostra. Estes sistemas sensores podem analisar uma única gota de san-
10 gue total (WB), de 1-5 microlitros (μL) em volume, por exemplo.

Exemplos de dispositivos de medição de topo de bancada incluem o Analisador BAS 100B, obtenível da BAS Instruments, de West Lafayette, Indiana; o Analisador de Ins-
15 trumento CH, obtenível da CH Instruments, de Austin, Texas; a Estação de Trabalho Eletroquímica Cypress, obtenível da Cypress Systems, de Lawrence, Kansas; e o Instrumento Eletroquímico EG&G, obtenível da Princeton Research Instruments, de Princeton, Nova Jersey. Exemplos de dispositivos de medi-
20 ção portáteis incluem os medidores Ascensia Breeze® e Elite®, da Bayer Corporation.

A tira sensora pode incluir um eletrodo operacional, no qual o analito passa por uma reação eletroquímica, e um contra-elétrodo, no qual ocorre a reação eletroquímica
25 oposta, permitindo assim que a corrente flua entre os eletrodos. Assim, se a oxidação ocorrer no eletrodo operacional, uma redução ocorre no contra-elétrodo. Veja-se, por exemplo, Fundamentals of Analytical Chemistry, 4ª Edição,

D.A. Skoog e D.M. West; Filadélfia: Saunders College Publishing (1982), págs. 304-341.

A tira sensora pode incluir também um eletrodo de referência verdadeiro para fornecer potencial de referência não variante ao dispositivo de medição. Embora vários materiais de eletrodo de referência sejam conhecidos, uma mistura de prata (Ag) e cloreto de prata (AgCl) é típica devido à insolubilidade da mistura no ambiente aquoso da solução de análise. Um eletrodo de referência pode ser também utilizado como o contra-eletrodo. Uma tira sensora que utiliza uma combinação de eletrodo de referência e contra-eletrodo é descrita na patente norte-americana No. 5 820 551.

A tira sensora pode ser formada imprimindo-se eletrodos em um substrato isolante com a utilização de várias técnicas, tais como as descritas nas patentes norte-americanas Nos. 6 531 040; 5 798 031; e 5 120 420. Uma ou mais camadas de reagente podem ser formadas pelo revestimento de um ou mais dos eletrodos, tais como o eletrodo operacional e/ou o contra-eletrodo. Sob um aspecto, mais de um dos eletrodos pode ser coberto pela mesma camada de reagente, como quando o eletrodo operacional e o contra-eletrodo são revestidos pela mesma composição. Sob outro aspecto, camadas de reagente com diferentes composições podem ser impressas ou micro-depositadas sobre o eletrodo operacional e o contra-eletrodo utilizando-se o método descrito em um pedido de patente provisório norte-americano depositado a 24 de outubro de 2003, o pedido No. 60/513 817. Assim, a camada de reagente sobre o eletrodo operacional pode conter a enzi-

ma, o mediador e um ligante, enquanto a camada de reagente sobre o contra-elétrodo contém uma espécie redox solúvel, que pode ser idêntica ao mediador ou diferente, e um ligante.

5 A camada de reagente pode incluir um agente de ionização para facilitar a oxidação ou redução do analito, assim como quaisquer mediadores ou outras substâncias que ajudem a transferir os elétrons entre o analito e o condutor. O agente de ionização pode ser uma enzima específica de analito, tal como a oxidase de glicose ou a de-hidrogenase de glicose, para catalisar a oxidação da glicose em uma amostra de sangue total (WB). A camada de reagente pode incluir também um ligante que mantenha juntos a enzima e o mediador. A Tabela 1 abaixo apresenta combinações convencionais de enzimas e mediadores para uso com analitos específicos.

Tabela I

| Analito | Enzima | Mediador |
|-------------|---------------------------|------------------|
| Glicose | Oxidase de Glicose | Ferricianeto |
| Glicose | De-hidrogenase de Glicose | Ferricianeto |
| Colesterol | Oxidase de Colesterol | Ferricianeto |
| Lactato | Oxidase de Lactato | Ferricianeto |
| Ácido Úrico | Uricase | Ferricianeto |
| Álcool | Oxidase de Álcool | Fenilenmediamina |

O ligante pode incluir diversos tipos e pesos moleculares de polímero, tais como a CMC (celulose de carboxil-metila) e/ou o PEO (óxido de polietileno). Além de ligar

os reagentes uns com os outros, o ligante pode ajudar a filtrar as células vermelhas do sangue, impedindo-as de revestir a superfície do(s) eletrodo(s).

Exemplos de sistemas sensores eletroquímicos convencionais para a análise de analitos em fluidos biológicos incluem os biossensores Precision®, obteníveis da Abbott, de Abbott Park, Illinois; os biossensores Accucheck®, obteníveis da Roche, de Indianápolis, Indiana; e os biossensores One Touch Ultra®, obteníveis da Lifescan, de Milpitas, Califórnia.

Um método eletroquímico, que tem sido usado para quantificar analitos em fluidos biológicos, e a coulometria. Por exemplo, Heller *et alii* descreveram o método coulométrico para medições de glicose no sangue total na patente norte-americana No. 6 120 676. Na coulometria, a concentração de analitos é quantificada pela oxidação exaustiva do analito dentro de um pequeno volume e pela integração da corrente ao longo do tempo de oxidação, de modo a se produzir uma carga elétrica que representa a concentração de analito. Em outras palavras, a coulometria capta a proporção total de glicose dentro da tira sensora.

Um aspecto importante da coulometria é que, perto do final da curva de integração de carga *versus* tempo, a taxa à qual a corrente se altera com o tempo se torna substancialmente constante, de modo a se produzir uma condição estável. Esta parte estável da curva coulométrica forma uma região de platô relativamente plana, permitindo assim a determinação da corrente correspondente. Entretanto, o método

coulométrico exige a conversão completa de todo o volume de analito para se atingir a condição estável. Consequentemente, este método é demorado e não apresenta os resultados rápidos procurados pelos usuários dos dispositivos eletroquímicos, tais como os produtos para monitoramento da glicose. Um outro problema com a coulometria é que o pequeno volume da célula sensora deve ser controlado de modo a se obterem resultados precisos, o que pode ser difícil com um dispositivo produzido em massa.

Um outro método eletroquímico que tem sido utilizado para quantificar analitos em fluidos biológicos é a amperometria. Na amperometria, a corrente é medida durante um pulso de leitura à medida que um potencial (tensão) constante é aplicado através do eletrodo operacional e do contraeletrodo da tira sensora. A corrente medida é utilizada para quantificar o analito na amostra. A amperometria mede a taxa à qual a espécie eletroquimicamente ativa e, portanto, o analito estão sendo oxidados ou reduzidos nas proximidades do eletrodo operacional. Muitas variações do método amperométrico para biossensores foram descritas, por exemplo, nas patentes norte-americanas Nos. 5 620 579; 5 653 863; 6 153 069; e 6 413 411.

Uma desvantagem dos métodos amperométricos convencionais é a natureza não estável da corrente depois de aplicado um potencial. A taxa de alteração da corrente com relação ao tempo é muito rápida inicialmente e se torna mais lenta à medida que a análise prossegue devido à natureza cambiante do processo de difusão subjacente. Até que a taxa

de consumo do mediador reduzido na superfície do eletrodo seja igual à taxa de difusão, uma corrente estável não pode ser obtida. Assim, nos métodos amperométricos, a medição da corrente durante o período de transição antes que uma condi-
5 ção estável seja atingida pode estar associada a mais inexatidão do que uma medição feita durante um período de tempo estável.

O "efeito de hematócrito" constitui um impedimento para a análise precisa da concentração de glicose em amostras de WB. As amostras de WB contêm células sanguíneas vermelhas (RB) e plasma. O plasma consiste, em sua maior parte, em água, mas contém algumas proteínas e glicose. Hematócrito é o volume do constituinte de célula RB em relação ao volume total da amostra de WB e é frequentemente expresso como uma
10 porcentagem. As amostras de sangue total têm geralmente porcentagens de hematócrito que variam na faixa de 20% a 60%, com ~40% sendo a média.

Em tiras sensoras convencionais para determinar concentrações de glicose, a glicose pode oxidada por uma en-
20 zima, que transfere então o elétron para um mediador. Este mediador reduzido em seguida se desloca até o eletrodo operacional, onde é oxidado eletroquimicamente. A proporção de mediador que é oxidada pode ser correlacionada com a corrente que flui entre o eletrodo operacional e o contra-eletrodo
25 da tira sensora. Quantitativamente, a corrente medida no eletrodo operacional é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão do mediador. O efeito de hematócrito interfere com este processo porque as células RB bloqueiam a difusão

do mediador para o eletrodo operacional. Em seguida, o efeito de hematócrito influencia a quantidade de corrente medida no eletrodo operacional sem qualquer ligação com a proporção de glicose na amostra.

5 Amostras de WB com concentrações variáveis de células RB podem causar inexatidões na medição, porque o sensor pode não distinguir entre uma concentração de mediador mais baixa e uma concentração de mediador mais elevada onde as células RB bloqueiam a difusão para o eletrodo operacional. Por exemplo, quando amostras de WB que contêm níveis de glicose idênticos, mas que têm hematócritos de 20, 40 e 60%, são analisadas, três leituras de glicose diferentes serão relatadas por um sistema sensor convencional com base em um conjunto de constantes de calibração (inclinação e interrupção, por exemplo). Embora as concentrações de glicose sejam as mesmas, o sistema não relatará que a amostra de hematócrito de 20% contém mais glicose que a amostra de hematócrito de 60% devido à interferência das células RB com a difusão do mediador até o eletrodo operacional.

20 A faixa de hematócrito normal (concentração de RBC) para seres humanos é de 20% a 60% e está centralizada em torno de 40%. O viés de hematócrito refere-se à diferença entre a concentração de glicose de referência obtida com um instrumento de referência, tal como o YSI 2300 STAT PLUS™, 25 obtenível da YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, e uma leitura de glicose experimental obtida de um sistema sensor portátil para amostras que contêm diferentes níveis de hematócrito. A diferença entre as leituras de referência e experimental re-

sulta dos níveis de hematócrito variáveis entre amostras de sangue total específicas.

Além do efeito de hematócrito, as inexatidões de medição podem surgir também quando a concentração de espécie mensurável não se correlaciona com a concentração de analito. Por exemplo, quando um sistema sensor determina a concentração de um mediador reduzido gerado em resposta à oxidação de um analito, qualquer mediador reduzido não gerado pela oxidação do analito levará à indicação, pelo sistema sensor, de que mais analito do que o correto está presente na amostra devido ao fundo de mediador.

Além dos efeitos de hematócrito e do fundo de mediador, outros fatores podem também levar a inexatidões na capacidade de um sistema sensor eletroquímico convencional na determinação da concentração de um analito em uma amostra. Sob um aspecto, estas inexatidões podem ser introduzidas porque a parte da tira sensora que contém a amostra pode variar em volume de tira para tira. Inexatidões podem ser também introduzidas quando uma amostra suficiente não é fornecida para encher completamente o volume da tampa-intervalo, condição referida como sub-enchimento. Sob outros aspectos, inexatidões podem ser introduzidas na medição por "ruído" aleatório e quando ao sistema sensor falta a capacidade de determinar com exatidão as alterações de temperatura na amostra.

Em uma tentativa de superar uma ou mais destas desvantagens, os sistemas sensores convencionais têm tentado várias técnicas, não só com relação ao desenho mecânico da

tira sensora e à seleção de reagentes, mas também com relação à maneira pela qual o dispositivo de medição aplica o potencial elétrico à tira. Por exemplo, os métodos convencionais para reduzir o efeito de hematócrito em sensores amperométricos incluem o uso de filtros, conforme revelado nas patentes norte-americanas Nos. 5 708 247 e 5 961 836; inverter a polaridade da corrente aplicada, conforme revelado no documento WO 01/57510; e por métodos que aumentam ao máximo a resistência intrínseca da amostra, conforme revelado na patente norte-americana No. 5 628 890.

Vários métodos para aplicar o potencial elétrico à tira, comumente referidos como métodos, seqüências ou ciclos de pulsos, têm sido utilizados para resolver as inexatidões na concentração de analito determinada. Na patente norte-americana No. 4 897 162, por exemplo, o método por pulsos inclui a aplicação contínua de potenciais de tensão que se elevam e caem, que são misturados de modo a se obter uma onda de conformação triangular. Além disto, o documento WO 2004/053476 e as publicações norte-americanas Nos. 2003/0178322 e 2003/0113933 descrevem métodos por pulsos que incluem a aplicação contínua de potenciais de tensão que se elevam e caem, que também alteram a polaridade.

Outros métodos convencionais combinam uma configuração de eletrodo específica com uma seqüência de pulsos adaptada para essa configuração. A patente norte-americana No. 5 942 102, por exemplo, combina a configuração de eletrodo específica proporcionada por uma célula de camada delgada com um pulso contínuo, de modo que os produtos de rea-

ção do contra-elétrodo cheguem ao eletrodo operacional. Esta combinação é utilizada para impulsionar a reação até que a alteração da corrente *versus* tempo se torne constante, atingindo assim uma condição estável para o mediador que se move
5 entre o eletrodo operacional e o contra-elétrodo durante a etapa de potencial. Embora cada um destes métodos equilibre diversas vantagens e desvantagens, nenhum deles é ideal.

Conforme se pode ver a partir da descrição acima, há uma necessidade crescente de sistemas sensores eletroquímicos aperfeiçoados, especialmente dos que podem proporcionar determinação cada vez mais precisa da concentração de analito em menos tempo. Os sistemas, dispositivos e métodos da presente invenção superam pelo menos uma das desvantagens associadas aos sistemas convencionais.

15 Sumário

É apresentado um método para determinar a concentração de um analito em uma amostra que inclui aplicar uma seqüência de pulsos à amostra, a seqüência de pulsos incluindo pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos. Os ciclos de atividade podem incluir, cada um, uma excitação a um potencial fixo, durante a qual uma corrente pode ser registrada, e um relaxamento. A seqüência de pulsos pode incluir um pulso de leitura terminal e pode ser aplicada a uma tira sensora que inclui uma camada de barreira à
20 difusão (DBL) sobre um eletrodo operacional. A concentração de analito determinada pode incluir menos viés atribuível ao fundo de mediador do que o mesmo ou outro método a que falta a seqüência de pulsos que inclui pelo menos 3 ciclos de ati-

vidade dentro de 180 segundos. Mediante a utilização de dados de corrente transitória, a concentração do analito pode ser determinada quando uma condição estável não é atingida durante as partes de excitação dos ciclos de atividade da seqüência de pulsos. Um tratamento com dados pode ser aplicado às correntes medidas de modo a se determinar a concentração do analito na amostra.

Um dispositivo de medição de analito de mão é apresentado para determinar a concentração de analito em uma amostra. O dispositivo inclui um dispositivo de medição amperométrico conectado por porta adaptado para receber uma tira sensora. O dispositivo de medição amperométrico conectado por porta inclui pelo menos dois contatos do dispositivo em comunicação elétrica com um monitor através de um conjunto de circuitos elétricos. A tira sensora inclui pelo menos um primeiro e um segundo contatos da tira sensora. O primeiro contato da tira sensora fica em comunicação elétrica com um eletrodo operacional, e o segundo contato da tira sensora fica em comunicação elétrica com um contra-eletrodo através de condutores. Uma primeira camada de reagente fica pelo menos sobre um dos eletrodos e inclui uma oxido-reductase e pelo menos uma espécie de um par redox.

Um dispositivo de medição de mão adaptado para receber uma tira sensora é apresentado para determinar a concentração de analito em uma amostra. O dispositivo inclui contatos, pelo menos um monitor e um conjunto de circuitos elétricos que estabelece comunicação elétrica entre os contatos e o monitor. O conjunto de circuitos inclui um carre-

gador elétrico e um processador, em que o processador fica em comunicação elétrica com um meio de armazenamento passível de leitura por computador. O meio inclui um código de software passível de leitura por computador que, quando executado pelo processador, faz com que o carregador implemente uma seqüência de pulsos que compreende pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos entre os contatos.

É apresentado um método para reduzir o viés atribuível ao fundo de mediador em uma concentração determinada de um analito em uma amostra, o qual inclui aplicar à amostra uma seqüência de pulsos que inclui pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos.

É apresentado um método para determinar a duração de uma seqüência de pulsos que inclui pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos, para determinar a concentração de um analito em uma amostra, o qual inclui determinar uma série de conjuntos de constantes de calibração determinados a partir das correntes registradas durante os pelo menos 3 ciclos de atividade e determinar a duração da seqüência de pulsos em resposta à concentração determinada do analito na amostra.

É apresentado um método para sinalizar ao usuário que adicione uma amostra adicional a uma tira sensora, o qual inclui determinar se a tira sensora está sub-enchida pela determinação de uma constante de queda a partir das correntes registradas durante uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta e sinalizar ao usuário para

adicionar uma amostra adicional à tira sensora se a tira estiver sub-enchida.

É apresentado um método para determinar a temperatura de uma amostra contida por uma tira sensora, que inclui
5 determinar uma constante de queda a partir das correntes registradas durante uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta e correlacionar a constante de queda com um valor de temperatura.

É apresentado um método para determinar a duração
10 de uma seqüência de pulsos para determinação da concentração de um analito em uma amostra, o qual inclui determinar a temperatura de uma amostra contida por uma tira sensora a partir das constantes de queda determinadas a partir das correntes registradas durante uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta.
15

As definições seguintes são incluídas para proporcionar um entendimento claro e consistente do relatório e das reivindicações.

O termo "analito" é definido como uma ou mais
20 substâncias presentes em uma amostra. A análise determina a presença e/ou concentração do analito presente na amostra.

O termo "amostra" é definido como uma composição que pode conter uma proporção desconhecida do analito. Tipicamente, uma amostra para análise eletroquímica apresenta-se
25 sob forma líquida, e de preferência a amostra é uma mistura aquosa. Uma amostra pode ser uma amostra biológica, tal como sangue, urina ou saliva. Uma amostra pode ser também um de-

rivado de uma amostra biológica, tal como um extrato, uma diluição, um filtrado ou um precipitado reconstituído.

O termo "espécie mensurável" é definido como uma espécie eletroquimicamente ativa que pode ser oxidada ou re-
5 duzida sob um potencial apropriado no eletrodo operacional de uma tira sensora eletroquímica. Exemplos de espécie mensurável incluem analitos, óxido-redutases e mediadores.

O termo "amperometria" é definido como um método de análise no qual a concentração de analito em uma amostra
10 é determinada pela medição eletroquímica da taxa de oxidação ou redução do analito a um potencial.

O termo "sistema" ou "sistema sensor" é definido como uma tira sensora em comunicação elétrica, através de seus condutores, com um dispositivo de medição, o que pro-
15 porciona a quantificação do analito na amostra.

O termo "tira sensora" é definido como um dispositivo que contém a amostra durante a análise e proporciona comunicação elétrica entre a amostra e o dispositivo de medição. A parte da tira sensora que contém a amostra é fre-
20 quentemente referida como a "tampa-intervalo".

O termo "condutor" é definido como uma substância eletricamente condutora que permanece estacionária durante uma análise eletroquímica.

O termo "dispositivo de medição" é definido como
25 um ou mais dispositivos eletrônicos que podem aplicar um potencial elétrico aos condutores de uma tira sensora e medir a corrente resultante. O dispositivo de medição pode incluir também a capacidade de processamento para determinar a pre-

sença e/ou concentração de um ou mais analitos em resposta aos valores de corrente registrados.

O termo "exatidão" é definido como quão intimamente a proporção de analito medida por uma tira sensora corresponde à proporção verdadeira de analito na amostra. Sob um aspecto, a exatidão pode ser expressa em termos de viés.

O termo "precisão" é definido como quão próximas várias medições de analito estão para a mesma amostra. Sob um aspecto, a precisão pode ser expressa em termos da dispersão ou variância entre várias medições.

O termo "reação redox" é definido como uma reação química entre duas espécies que envolve a transferência de pelo menos um elétron de uma primeira espécie para uma segunda espécie. Assim, uma reação redox inclui uma oxidação e uma redução. A meia célula de oxidação da reação envolve a perda de pelo menos um elétron pela primeira espécie, enquanto a meia célula de redução envolve a adição de pelo menos um elétron à segunda espécie. A carga iônica de uma espécie que é oxidada torna-se mais positiva em um grau igual ao número de elétrons removidos. Da mesma maneira, a carga iônica de uma espécie que é reduzida torna-se menos positiva em um grau igual ao número de elétrons ganhos.

O termo "mediador" é definido como uma substância que pode ser oxidada ou reduzida e que pode transferir um ou mais elétrons. Um mediador é um reagente em uma análise eletroquímica e não é o analito de interesse, mas proporciona a medição indireta do analito. Em um sistema simplista, o mediador passa por uma reação redox em resposta à oxidação ou

redução do analito. O mediador oxidado ou reduzido passa em seguida pela reação oposta no eletrodo operacional da tira sensora e é regenerado ao seu número de oxidação original.

O termo "ligante" é definido como um material que dá sustentação e contenção físicas aos reagentes, tendo ao mesmo tempo compatibilidade química com os reagentes.

O termo "fundo de mediador" é definido como o viés introduzido na concentração de analito medida atribuível a espécies mensuráveis que não respondem à concentração de analito subjacente.

O termo "sub-enchimento" é definido como uma amostra insuficiente que foi introduzida na tira sensora para obtenção de uma análise exata.

O termo "par redox" é definido como duas espécies conjugadas de uma substância química que têm diferentes números de oxidação. A redução da espécie que tem o número de oxidação mais elevado produz a espécie que tem o número de oxidação mais baixo. Alternativamente, a oxidação da espécie que tem o número de oxidação mais baixo produz a espécie que tem o número de oxidação mais elevado.

O termo "número de oxidação" é definido como a carga iônica formal de uma espécie química, como um átomo. Um número de oxidação mais elevado, como (III), é mais positivo, e um número de oxidação mais baixo, como (II), é menos positivo.

O termo "espécie redox solúvel" é definido como uma substância que é capaz de passar por oxidação ou redução e que é solúvel na água (pH 7, 25°C) a um nível de pelo me-

nos 1,0 grama por Litro. As espécies redox solúveis incluem moléculas orgânicas eletro-ativas, complexos de metal de organo-transição e complexos de coordenação de metal de transição. O termo "espécie redox solúvel" exclui metais elementares e íons de metal sozinhos, especialmente os que são insolúveis ou escassamente solúveis na água.

O termo "óxido-redutase" é definido como qualquer enzima que facilita a oxidação ou redução de um analito. Uma oxido-redutase é um reagente. O termo oxido-redutase inclui as "oxidases", que facilitam as reações de oxidação nas quais o oxigênio molecular é o aceitador de elétrons; as "redutases", que facilitam as reações de redução nas quais o analito é reduzido e o oxigênio molecular não é o analito; e as "de-hidrogenases", que facilitam as reações de oxidação nas quais o oxigênio molecular não é o aceitador de elétrons. *Veja-se, por exemplo, o Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Edição Revista, A.D. Smith, Ed., Nova York: Oxford University Press (1997), págs. 161, 476, 477 e 560.*

O termo "molécula orgânica eletro-ativa" é definido como uma molécula orgânica destituída de um metal que é capaz de passar por uma reação de oxidação ou redução. As moléculas orgânicas eletro-ativas podem servir como mediadores.

O termo "complexo de metal de organo-transição", também referido como "complexo OTM", é definido como um complexo no qual um metal de transição é ligado a pelo menos um átomo de carbono através de uma ligação sigma (carga formal

de -1 no sigma de átomo de carbono ligado ao metal de transição) ou de uma ligação pi (carga formal de 0 no pi de átomos de carbono ligado ao metal de transição). Por exemplo, o ferroceno é um complexo OTM com dois anéis de ciclopentadienila (Cp), cada um deles ligado através de seus cinco átomos de carbono a um centro de ferro por duas ligações pi e uma ligação sigma. Outro exemplo de complexo OTM é o ferricianeto (III) e sua contraparte de ferrocianeto reduzido (II), onde seis * ligands ciano (carga formal de -1 em cada um dos 6 * ligands) têm ligação sigma com um centro de ferro através dos átomos de carbono.

O termo "complexo de coordenação" é definido como um complexo que tem uma geometria de coordenação bem definida, tal como octaédrica ou planar quadrada. Diferentemente dos complexos OTM, que são definidos por sua ligação, os complexos de coordenação são definidos por sua geometria. Assim, os complexos de coordenação podem ser complexos OTM (tais como o ferricianeto mencionado anteriormente), ou complexos nos quais átomos não metálicos outros que não o carbono, tais como os hetero-átomos que incluem o nitrogênio, o enxofre e o fósforo, são dativamente ligados com o centro de metal de transição. Por exemplo, a hexa-amina de rutênio é um complexo de coordenação que tem uma geometria octaédrica bem definida, onde seis * ligands de NH_3 (carga formal de 0 em cada um dos 6 * ligands) são dativamente ligados com o centro de rutênio. Uma discussão mais completa dos complexos de metal de organo-transição, dos complexos de coordenação e da ligação de metal de transição pode ser encontrada em Col-

lman *et alii*, Principles and Applications of Organotransition Metal Chemistry (1987), e em Miessler & Tarr, Inorganic Chemistry (1991).

O termo "regime estável" é definido como quando a
5 alteração no sinal (corrente) eletroquímico com relação à sua variável (tensão ou tempo) de entrada independente é substancialmente constante, tal como dentro de ± 10 ou $\pm 5\%$.

O termo "ponto transitório" é definido como um valor de corrente obtido como uma função do tempo quando uma
10 taxa crescente de difusão de uma espécie mensurável até uma superfície condutora transita para uma taxa de difusão relativamente constante. Antes do ponto transitório, a corrente se altera rapidamente com o tempo. De maneira semelhante, após o ponto transitório, a taxa de queda de corrente se
15 torna relativamente constante, refletindo assim a taxa de difusão relativamente constante de uma espécie mensurável até uma superfície condutora.

O termo "relativamente constante" é definido como quando a alteração no valor da corrente ou na taxa de difusão
20 está dentro de ± 20 , ± 10 ou $\pm 5\%$.

O termo "espessura inicial média" refere-se à altura média de uma camada antes da introdução de uma amostra líquida. O termo média é utilizado porque a superfície de topo da camada é irregular, com picos e vales.

25 O termo "intensidade redox" (RI) é definido como o tempo de excitação total dividido pela soma dos retardos no tempo de excitação total e no tempo de relaxamento total para uma seqüência de pulsos.

O termo "dispositivo de mão" é definido como um dispositivo que pode ser seguro por uma mão humana e é portátil. Um exemplo de dispositivo de mão é o dispositivo de medição que acompanha o Sistema de Monitoramento de Glicose no Sangue Ascensia® Elite, obtível da Bayer HealthCare, LLC, Tarrytown, Nova York.

O termo "sobre" é definido como "acima" e é relativo à orientação que é descrita. Por exemplo, se um primeiro elemento é depositado sobre pelo menos uma parte de um segundo elemento, diz-se que o primeiro elemento é "depositado sobre" o segundo. Em outro exemplo, se um primeiro elemento está presente acima de pelo menos uma parte de um segundo elemento, diz-se que o primeiro elemento está "sobre" o segundo. O uso do termo "sobre" não exclui a presença de substâncias entre os elementos superior e inferior que são descritos. Por exemplo, um primeiro elemento pode ter um revestimento sobre sua superfície de topo, ainda um segundo elemento sobre pelo menos uma parte do primeiro elemento, e seu revestimento de topo pode ser descrito como estando "sobre" o primeiro elemento. Assim, o uso do termo "sobre" pode ou não significar que os dois elementos que estão relacionados estão em contato físico.

Breve Descrição dos Desenhos

A invenção pode ser mais bem entendida com referência aos desenhos e à descrição seguintes. Os componentes nas Figuras não estão necessariamente em escala, a ênfase sendo ao invés colocada na ilustração dos princípios da invenção. Além do mais, nas Figuras, os mesmos números de re-

ferência designam partes correspondentes em todas as diferentes vistas.

A Figura 1A é uma representação em perspectiva de uma tira sensora montada.

5 A Figura 1B é um diagrama de vista de topo de uma tira sensora, com a tampa removida.

A Figura 2 mostra um diagrama de vista de extremidade da tira sensora da Figura 1B.

10 A Figura 3 representa um método analítico eletroquímico para determinar a presença e a concentração de um analito em uma amostra.

As Figuras 4A e 4B mostram um eletrodo operacional que tem um condutor de superfície e uma DBL durante a aplicação de pulsos de leitura longos e curtos.

15 As Figuras 5A-5E representam cinco exemplos de seqüências de pulso, em que vários ciclos de atividade foram aplicados à tira sensora após a introdução da amostra.

20 A Figura 6A mostra as correntes de saída transitórias da seqüência de pulsos representada na Figura 5B para amostras de WB com 40% de hematócrito que contêm 50, 100, 200, 400 e 600 mg/dL de glicose.

25 A Figura 6B mostra perfis de contorno de corrente preparados lançando-se e conectando-se o valor de corrente final a partir de cada um dos perfis de corrente transitória mostrados na Figura 6A.

A Figura 6C mostra perfis de contorno de corrente preparados a partir de perfis de corrente transitória gerados pela seqüência de pulsos mostrada na Figura 5E.

A Figura 6D é um gráfico que mostra sinais de saída em relação a sinais de entrada para um sistema eletroquímico que utiliza seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta.

5 As Figuras 7A e 7B são gráficos que mostram o aperfeiçoamento na exatidão de medição quando uma DBL é combinada com um pulso de leitura curta.

As Figuras 7C e 7D são gráficos que mostram a redução no viés de hematócrito que pode ser obtida quando uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta é combinada com uma DBL.

10

A Figura 8 é um gráfico das correntes de ponto terminal registradas em vários ciclos de atividade quando a seqüência de pulsos da Figura 5B foi aplicada a amostras de WB que continham diversas concentrações de glicose.

15

A Figura 9A mostra os perfis de corrente transitória obtidos a partir da seqüência de pulsos representada na Figura 5B quando uma amostra de 2,0 μ L foi introduzida em 10 diferentes tiras sensoras.

20 A Figura 9B mostra os perfis da taxa de queda de cada seqüência de pulsos convertidos da Figura 9A como uma função do tempo.

A Figura 10 é um gráfico de K constantes determinadas a partir de uma seqüência de pulsos para concentrações de glicose de 50, 100 e 400 mg/dL como uma função da temperatura.

25

A Figura 11 é uma representação esquemática de um dispositivo de medição.

Descrição Detalhada

A presente invenção faz uso da descoberta de que seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta que incluem ciclos de atividade podem proporcionar exatidão e
5 precisão a uma análise, ao mesmo tempo que reduzem o tempo de conclusão da análise. Cada ciclo de atividade inclui uma excitação que pode se apresentada a uma tensão relativamente constante. Cada ciclo de atividade inclui também um relaxamento que pode ser proporcionado por um circuito aberto. As
10 seqüências de pulsos da presente invenção podem reduzir o tempo necessário à análise pela eliminação da necessidade de retardos e pulsos adicionais, tais como retardos de "incubação", para obter a re-hidratação do(s) reagente(s), pulsos de "remoção" para renovar os elétrodos e pulsos de regeneração do mediador para renovar o estado de oxidação do media-
15 dor, reduzindo assim o tempo de análise.

Mesmo com tempos de análise mais curtos, as seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta da presente invenção podem aperfeiçoar a exatidão e/ou precisão
20 em relação a métodos convencionais. Sob um aspecto, os erros de exatidão introduzidos pelo efeito de hematócrito e os erros de precisão introduzidos pelo volume variável na tampa-intervalo podem ser reduzidos por meio da combinação de uma cada de barreira à difusão com as seqüências de pulsos da presente invenção. Sob outro aspecto, os erros de outro modo resultantes de uma condição não estável do sensor e/ou do
25 fundo de mediador podem ser reduzidos. As seqüências de pulsos conectadas por porta da presente invenção podem também

permitir a determinação dos perfis de corrente transitória e de contorno que simulam uma condição estável. Os perfis de corrente transitória podem ser usados para se obter uma série de conjuntos de constantes de calibração, detecção de sub-enchimento e a capacidade de determinar a temperatura da amostra, em vez de se recorrer à temperatura do dispositivo de medição.

As Figuras 1A e 1B mostram uma tira sensora 100, que pode ser utilizada na presente invenção. A Figura 1A é uma representação em perspectiva de uma tira sensora montada 100, que inclui uma base sensora 110, coberta, pelo menos parcialmente, por uma tampa 120, que inclui um respiradouro 130, uma área côncava 140 e uma abertura de extremidade de entrada 150. Um volume parcialmente encerrado 160 (a tampa-intervalo) é formado entre a base 110 e a tampa 120. Outros desenhos de tira sensora compatíveis com a presente invenção podem ser também utilizados, tais como os descritos nas patentes norte-americanas Nos. 5 120 420 e 5 798 031.

Uma amostra líquida para análise pode ser transferida para dentro da tampa-intervalo 160 pela introdução do líquido na abertura 150. O líquido enche a tampa-intervalo expelindo ao mesmo tempo o ar anteriormente contido através do respiradouro 130. A tampa-intervalo 160 pode conter uma composição (não mostrada) que ajuda a reter a amostra líquida na tampa-intervalo. Exemplos de tais composições incluem polímeros dilatáveis na água, tais como a celulose de carboximetila e o glicol de polietileno; e matrizes poliméricas porosas, tais como o dextran e a poliacrilamida.

A Figura 1B mostra uma vista de topo da tira sensora 100, com a tampa 120 removida. Condutores 170 e 180 podem correr sob uma camada dielétrica 190 a partir da abertura 150 até um eletrodo operacional 175 e um contra-eletrodo 185, respectivamente. Sob um aspecto, o eletrodo operacional e o contra-eletrodo 175, 185 podem estar substancialmente no mesmo plano, conforme mostrado na Figura. Sob um aspecto afim, o eletrodo operacional e o contra-eletrodo 175, 185 podem estar separados por mais de 200 ou 250 μm e podem estar separados da parte superior da tampa 129 por pelo menos 100 μm . A camada dielétrica 190 pode cobrir parcialmente os eletrodos 175, 185 e pode ser fabricada a partir de qualquer material dielétrico adequados, tal como um polímero isolante.

O contra-eletrodo 185 equilibra o potencial no eletrodo operacional 175 da tira sensora 100. Sob um aspecto, este potencial pode ser um potencial de referência obtido pela formação do contra-eletrodo 185 a partir de um par redox, tal como a Ag/AgCl , de modo a se obter um contra-eletrodo de referência combinado. Sob outro aspecto, o potencial pode ser fornecido ao sistema sensor pela formação do contra-eletrodo 185 a partir de um material inerte, tal como o carbono, e pela inclusão de uma espécie redox solúvel, tal como o ferricianeto, dentro da tampa-intervalo 160. Alternativamente, a tira sensora 100 pode ser dotada de um terceiro condutor e eletrodo (não mostrados) de modo a se fornecer um potencial de referência ao sistema sensor.

A Figura 2 mostra uma diagrama de vista de extremidade da tira sensora mostrada na Figura 1B, que mostra a estrutura em camadas do elétrodo operacional 175 e do contra-elétrodo 185. Os condutores 170 e 180 podem ficar dis-
5 postos diretamente sobre a base 110. As camadas condutoras de superfície 270 e 280 podem opcionalmente ser depositadas sobre os condutores 170 e 180, respectivamente. As camadas condutoras de superfície 270, 280 podem ser fabricadas a partir dos mesmos ou diferentes materiais.

10 O material ou materiais usados para formar os condutores 170, 180 e as camadas condutoras de superfície 270, 280 podem incluir qualquer condutor elétrico. Os condutores elétricos preferíveis são não ionizantes, de modo que o material não passe por uma oxidação líquida ou uma redução líquida durante a análise da amostra. Os condutores 170, 180
15 incluem de preferência uma camada delgada de uma pasta de metal ou metal, tal como ouro, prata, platina, paládio, cobre ou tungstênio. As camadas condutoras de superfície 270, 280 incluem de preferência o carbono, o ouro, a platina, o paládio ou combinações deles. Se uma camada condutora de superfície não estiver presente em um condutor, o condutor é
20 de preferência fabricado a partir de um material não ionizante.

O material do condutor de superfície pode ser de-
25 positado sobre os condutores 170, 180 por qualquer dispositivo convencional compatível com o funcionamento da tira sensora, inclusive deposição de folha, deposição a vapor químico, deposição de pasta semi-fluida e semelhantes. No

caso de deposição de pasta semi-fluida, a mistura pode ser aplicada como uma tinta aos condutores 170, 180, conforme descrito na patente norte-americana No. 5 798 031.

As camadas de reagente 275 e 285 podem ser depositadas sobre os condutores 170 e 180, respectivamente, e incluem reagentes e opcionalmente um ligante. O material do ligante é de preferência um material polimérico que seja, pelo menos parcialmente, solúvel na água. Materiais poliméricos parcialmente solúveis na água adequados para uso como ligante podem incluir o óxido de poli(etileno) (PEO), a celulose de carboximetila (CMC), o álcool polivinílico (PVA), a celulose de hidroxietileno (HEC), a celulose de hidroxipropila (HPC), a celulose de metila, a celulose de etila, a celulose de etil-hidroxietila, a celulose de carboximetiletila, a pirrolidona de polivinila (PVP), os ácidos poliamínicos, tais como a polilisina, o sulfonato de poliestireno, a gelatina, o ácido acrílico, o ácido metacrílico, o amido, os sais de anidrido maléicos deles, derivados deles e combinações deles. Entre os materiais de ligante acima, o PEO, o PVA e a CMC são preferíveis, com a CMC e o PEO sendo mais preferíveis atualmente.

Além do ligante, as camadas de reagente 275 e 285 podem incluir os mesmos ou diferentes reagentes. Sob um aspecto, os reagentes presentes na primeira camada 275 podem ser selecionados para uso com o eletrodo operacional 175, enquanto os reagentes presentes na segunda camada 285 podem ser selecionados para uso com o contra-eleto do 185. Por exemplo, os reagentes na camada 285 podem facilitar o fluxo

livre de elétrons entre a amostra e o condutor 180. De maneira semelhante, os reagentes na camada 275 podem facilitar a reação do analito.

A camada de reagente 275 pode incluir uma óxido-redutase específica do analito que pode facilitar a reação do analito aumentando a especificidade do sistema sensor com relação ao analito, especialmente em amostras biológicas complexas. Exemplos de algumas óxido-redutases específicas e analitos correspondentes são dados a seguir na Tabela II.

10

Tabela II

| Óxido-redutase (camada de reagente) | Analito |
|---|------------------|
| De-hidrogenase de glicose | β -glicose |
| Oxidase de glicose | β -glicose |
| Estearase de colesterol; oxidase de colesterol | Colesterol |
| Lípase de lipoproteína; cina- nase de glicerol; oxidase de glicerol-3-fosfato | Triglicerídeos |
| Oxidase de lactato; de- hidrogenase de lactato; di- aforase | Lactato |
| Oxidase de piruvato | Piruvato |
| Oxidase de álcool | Álcool |
| Oxidase de bilirubina | Bilirubina |
| Uricase | Ácido úrico |
| Redutase de glutaciona | NAD(P)H |

| | |
|---------------------------------------|---------------------|
| Óxido-redutase de monóxido de carbono | Monóxido de carbono |
|---------------------------------------|---------------------|

Atualmente, as óxido-redutases especialmente preferidas para análise de glicose incluem a oxidase de glicose, a de-hidrogenase de glicose, derivados delas ou combinações delas.

5 A camada de reagente 275 pode incluir também um mediador para comunicar de maneira mais eficaz os resultados da reação do analito ao condutor de superfície 270 e/ou ao condutor 170. Exemplos de mediadores incluem complexos OTM, complexos de coordenação e moléculas orgânicas eletro-
10 ativas. Exemplos específicos incluem compostos de ferroceno, o ferrocianeto, o ferricianeto, coenzimas de quinonas de pirroloquinolina (PQQ) substituídas ou não substituídas, 3-fenilimino-3H-fenotiazinas (PIPT) substituídas ou não substituídas, 3-fenilimino-3H-fenoxazina (PIPO), benzoquinonas
15 substituídas ou não substituídas, naftoquinonas substituídas ou não substituídas, óxidos de N, os compostos nitrosos, as hidroxilaminas, as oxinas, as flavinas, as fenazinas, os derivados da fenazina, as fenotiazinas, os indofenóis e as indaminas. Estes e outros mediadores que podem ser incluídos
20 na camada de reagente podem ser encontrados nas patentes norte-americanas Nos. 5 653 863; 5 520 786; 4 746 607; 3 791 988; e nas patentes espanholas Nos. 0354441 e 0330517.

Atualmente, os mediadores especialmente preferidos para a análise da glicose incluem o ferricianeto, a hexamina de rutênio, a PIPT, a PIPO ou combinações deles. Um
25 exame de mediadores eletroquímicos úteis para sistemas redox

biológicos pode ser encontrado em *Analytica Clinica Acta*. 140 (1982), páginas 1-18.

As camadas de reagente 275, 285 podem ser depositadas por qualquer dispositivo convencional, tal como impressão, deposição líquida ou deposição a jato de tinta. Sob um aspecto, as camadas são depositadas por impressão. Com outros fatores sendo iguais, o ângulo da lâmina de impressão pode afetar inversamente a espessura das camadas de reagente. Por exemplo, quando a lâmina é movida a um ângulo de aproximadamente 82° com relação à base 110, a camada pode ter uma espessura de aproximadamente 10 µm. De maneira semelhante, quando é usado um ângulo de lâmina de aproximadamente 62° com relação à base 110, pode ser produzida uma camada de 30 µm mais espessa. Assim, ângulos de lâmina mais baixos podem produzir camadas de reagente mais espessas. Além do ângulo da lâmina, outros fatores, tais como a viscosidade do material que é aplicado, assim como o tamanho da peneira e a combinação das emulsões, pode afetar a espessura resultante das camadas de reagente 275, 285.

O eletrodo operacional 175 pode incluir também uma camada de barreira à difusão (DBL) que seja integrante com uma camada de reagente 275 ou que seja uma camada 290 distinta, conforme mostrado na Figura 2. Assim, a DBL pode ser formada como um reagente/DBL em combinação sobre o condutor, como uma camada distinta sobre o condutor ou como uma camada distinta sobre a camada de reagente. Quando o eletrodo operacional 175 inclui a DBL distinta 290, a camada de reagente 275 pode ou não residir sobre a DBL 290. Em vez de residir

sobre a DBL 290, a camada de reagente 275 pode residir sobre qualquer parte da tira sensora 100 que permite que o reagente se solubilize na amostra. Por exemplo, a camada de reagente 175 pode residir sobre a base 110 ou sobre a tampa
5 120.

A DBL apresenta um espaço poroso que tem um volume interno onde uma espécie mensurável pode residir. Os poros da DBL podem ser selecionados de modo que a espécie mensurável possa difundir-se para dentro da DBL, embora constituintes da amostra fisicamente maiores, tais como as células RB, estejam substancialmente excluídos. Embora tiras sensoras convencionais utilizem diversos materiais para filtrar células RB da superfície do eletrodo operacional, uma DBL apresenta um espaço poroso interno para conter e isolar da amostra uma parte da espécie mensurável.
10
15

Quando a camada de reagente 275 inclui um ligante solúvel na água, qualquer parte do ligante que não se solubilize na amostra antes da aplicação de uma excitação pode funcionar como uma DBL integral. A espessura inicial média de uma DBL/camada de reagente em combinação é de preferência inferior a 30 ou 23 micrômetros (μm) e, mais preferivelmente, inferior a 16 μm . Atualmente, uma espessura inicial média especialmente preferida de uma camada de DBL/reagente em combinação é de 1 a 30 μm ou de 3 a 12 μm . A espessura inicial média desejada de uma DBL/camada de reagente em combinação pode ser selecionada para uma duração de excitação específica na base de quando a taxa de difusão da espécie mensurável da DBL até a superfície condutora, tal como a super-
20
25

fície do condutor 170 ou a superfície do condutor de superfície 270 da Figura 2, se torna relativamente constante.

Além disso, o uso de uma DBL espessa demais com uma duração de excitação curta pode retardar o momento em que a taxa de difusão da espécie mensurável da DBL até a superfície condutora se torna relativamente constante. Por exemplo, quando ciclos de atividade que incluem excitações de 1 segundo sequenciais, separadas por relaxamentos de 0,5 segundo, são aplicados a um eletrodo operacional utilizando-se uma DBL/camada de reagente em combinação com uma espessura inicial média de 30 μm , uma taxa de difusão preferida pode não ser atingida até que pelo menos 6 ciclos de atividade tenham sido aplicados ($>\sim 10$ segundos). Inversamente, quando os mesmos ciclos de atividade são aplicados a um eletrodo operacional utilizando-se uma DBL/camada de reagente em combinação com uma espessura inicial média de 11 μm , uma taxa de difusão relativamente constante pode ser atingida após a segunda excitação ($\sim 2,5$ segundos). Assim, há um limite superior para a espessura inicial média preferida da DBL para um dado ciclo de atividade. Um tratamento mais em profundidade da correlação entre espessura da DBL, duração de excitação e tempo para atingir uma taxa de difusão relativamente constante pode ser encontrado no pedido provisório norte-americano No. 60/655 180, depositado a 22 de fevereiro de 2005, intitulado "Determinação de Concentração em Camada de Barreira à Difusão".

A DBL distinta 290 pode incluir qualquer material que apresente o espaço poroso desejado, sendo ao mesmo tempo

parcial ou lentamente solúvel na amostra. Sob um aspecto, a DBL distinta 290 pode incluir um material de ligante reagente destituído de reagentes. A DBL distinta 290 pode ter uma espessura inicial média de pelo menos 5 μm , de preferência de 8 a 25 μm e, mais preferivelmente, de 8 a 15 μm .

A Figura 3 representa uma análise eletroquímica 300 para determinar a presença e opcionalmente a concentração de um analito 322 em uma amostra 312. Em 310, a amostra 312 é introduzida em uma tira sensora 314, tal como a tira sensora mostrada nas Figuras 1A-1B e 2. As camadas de reagente, como a 275 e/ou 285 da Figura 2, começam a solubilizar na amostra 312, permitindo assim a reação. Neste ponto da análise, pode ser vantajoso obter um retardo de tempo inicial, ou "período de incubação", para que os reagentes reajam com a amostra 312. De preferência, o retardo de tempo inicial pode ser de 1 a 10 segundos. Um tratamento mais em profundidade dos retardos de tempo iniciais pode ser encontrado nas patentes norte-americanas Nos. 5 620 e 5 653 863.

Durante a reação, uma parte do analito 322 presente na amostra 312 é química ou bioquimicamente oxidada ou reduzida em 320, por uma óxido-redutase, por exemplo. Quando da oxidação ou redução, os elétrons podem ser opcionalmente transferidos entre o analito 322 e o mediador 332 em 330.

Em 340, uma espécie mensurável 342, que pode ser o analito 322 carregado de 320 ou o mediador 332 carregado de 330, é eletroquimicamente excitada (oxidada ou reduzida). Por exemplo, quando a amostra 312 é de sangue total que contém glicose que foi oxidada pela oxidase de glicose em 320,

que transfere então um elétron para reduzir um mediador de ferricianeto (III) ao ferrocianeto (II) em 330, a excitação de 340 oxida o ferrocianeto (II) para o ferricianeto (III) no eletrodo operacional. Desta maneira, um elétron é seletivamente transferido do analito de glicose para o eletrodo operacional da tira sensora, onde pode ser detectado por um dispositivo de medição.

A corrente resultante da excitação 340 pode ser registrada durante a excitação 340 como uma função do tempo em 350. Em 360, a amostra é submetida ao relaxamento. De preferência, a corrente não é registrada durante o relaxamento 360.

Em 370, a excitação 340, o registro 350 e o relaxamento 360 são repetidos pelo menos duas vezes para um total de pelo menos três ciclos de atividade dentro de um quadro de tempo de 180 segundos ou menos. Os valores de corrente e tempo registrados podem ser analisados de modo a se determinar a presença e/ou concentração do analito 322 na amostra 312 em 380.

Os sistemas sensores amperométricos aplicam um potencial (tensão) à tira sensora para excitar a espécie mensurável enquanto a corrente (amperagem) é monitorada. Sistemas sensores amperométricos convencionais podem manter o potencial enquanto medem a corrente por uma duração de pulso de leitura contínua de 5 a 10 segundos, por exemplo. Em contraste com métodos convencionais, os ciclos de atividade utilizados na análise eletroquímica 300 substituem os pulsos

de leitura de longa duração, contínuos, por várias excitações e relaxamentos de curta duração.

A análise 300 pode aumentar a exatidão e/ou precisão da determinação do analito quando a espécie mensurável excitada no elétrodo operacional em 450 é substancialmente retirada de dentro de uma DBL, em oposição à espécie mensurável presente na tampa-intervalo da tira. As Figuras 4A e 4B mostram um elétrodo operacional 400 que tem um condutor de superfície 430 e uma DBL distinta 405 durante a aplicação de um pulso de leitura longo e uma excitação curta. Quando uma amostra de WB é aplicada ao elétrodo operacional 400, as células RB 420 cobrem a DBL 405. O analito presente na amostra forma a espécie mensurável externa 410 externa à DBL 405. Uma parte da espécie mensurável externa 410 se difunde para dentro da DBL distinta 405 de modo a se obter a espécie mensurável interna 415.

Conforme mostrado na Figura 4A, quando um segundo pulso de leitura de 10 segundos, contínuo, é aplicado ao elétrodo operacional 400, tanto a espécie mensurável externa 410 quanto a espécie mensurável interna 415 são excitadas no condutor de superfície 430 por uma alteração no estado de oxidação. Durante o pulso de leitura longo, a espécie mensurável externa 410 se difunde através da região de amostra onde as células RB 420 residem e através da DBL 405 até o condutor de superfície 430. A difusão da espécie mensurável externa 410 através das células RB 420 durante o pulso de leitura introduz o efeito de hematócrito na análise. Uma vez que uma parte substancial da espécie mensurável excitada no

condutor de superfície 430 se origina de fora da DBL 420, um pulso de leitura longo aplicado a uma tira sensora que tem uma DBL pode ter um desempenho semelhante, no que se refere ao efeito de hematócrito, a um pulso de leitura curto aplicado a uma tira destituída de uma DBL.

Inversamente, a Figura 4B representa a situação na qual uma excitação curta é aplicada à tira sensora 400 equipada com DBL para excitar a espécie mensurável interna 415, embora excluindo substancialmente da excitação a espécie mensurável 410 externa à DBL 405. Durante a excitação curta, a espécie mensurável 410 ou permanece externa à DBL 405 ou não se difunde substancialmente através da DBL de modo a atingir o condutor de superfície 430. Desta maneira, a excitação curta pode proporcionar uma redução substancial na influência do efeito de hematócrito sobre a análise.

Pelo controle da duração da excitação no eletrodo operacional, a espécie mensurável interna à DBL pode ser analisada, enquanto a espécie mensurável externa à DBL pode ser substancialmente excluída da análise. Em relação ao condutor de superfície 430 do eletrodo operacional, acredita-se que a espessura e o volume interno da DBL 405 alteram a taxa de difusão da espécie mensurável interna 415 em relação à taxa de difusão da espécie mensurável externa 410.

Uma vez que a espécie mensurável interna à DBL pode difundir-se até o condutor do eletrodo operacional a uma taxa diferente daquela da espécie mensurável externa à DBL, a duração da excitação no eletrodo operacional pode selecionar qual espécie mensurável é preferencialmente analisada.

Embora idênticas do ponto de vista molecular, as diferentes taxas de difusão das espécies mensuráveis interna e externa à DBL podem permitir a diferenciação.

Embora não desejando ser limitado por qualquer teoria específica, acredita-se atualmente que a taxa de difusão da espécie mensurável de fora da DBL para dentro da DBL é variável, enquanto a taxa de difusão da espécie mensurável do volume interno da DBL até o condutor é relativamente constante. A taxa de difusão variável da espécie mensurável fora da DBL pode ser causada pelas células RB e por outros constituintes presentes na amostra e pode dar origem ao efeito de hematócrito. Assim, os erros (viés) de análise introduzidos pelos constituintes da amostra, inclusive as células RB, podem ser reduzidos limitando-se substancialmente a análise à espécie mensurável que tem uma taxa de difusão relativamente constante até o condutor.

Outra vantagem da análise seletiva da espécie mensurável interna à DBL é uma redução da imprecisão de medição das tiras sensoras que têm volumes de tampa-intervalo variáveis. Se um pulso de leitura continua além do momento em que substancialmente toda a espécie mensurável presente na tampa-intervalo foi analisada, a análise já não representa a concentração da espécie mensurável na amostra, mas, em vez disso, determinou a proporção da espécie mensurável na tampa-intervalo; uma medição muito diferente. À medida que a duração da excitação se torna longa com relação ao volume da tampa-intervalo, a medição da corrente dependerá do volume da tampa-intervalo, não da concentração de analito subjacen-

te. Assim, pulsos de leitura longos podem resultar em medições que são altamente imprecisas no que se refere à concentração de analito quando a extensão do pulso "ultrapassa" a espécie mensurável presente na tampa-intervalo.

5 Conforme descrito no pedido provisório norte-americano No. 60/617 889, depositado a 12 de outubro de 2004, intitulado "Determinação de Concentração em Camada de Barreira à Difusão", um único pulso de leitura ou excitação curto pode ser selecionado para limitar substancialmente a
10 excitação da espécie mensurável a uma DBL. Quando uma única excitação é utilizada, a duração da excitação e a espessura da DBL podem ser de preferência selecionadas de modo que uma taxa de difusão relativamente constante da espécie mensurável da DBL até a superfície condutora seja atingida durante
15 a excitação. Se uma taxa de difusão relativamente constante não for atingida durante a excitação, a concentração da espécie mensurável dentro da DBL pode não representar com exatidão a concentração da espécie mensurável na amostra, afetando adversamente assim a análise. Além disto, a excitação
20 única pode não reduzir efetivamente o sinal de fundo do mediador.

 Com referência à Figura 3, a excitação 340, o registro 350 e o relaxamento 360 constituem um único ciclo de atividade, que pode ser aplicado a uma tira sensora pelo me-
25 nos três vezes durante um período de tempo de 180 segundos ou menos. Mais preferivelmente, pelo menos 4, 6, 8, 10, 14, 18 ou 22 ciclos de atividade são aplicados durante um período de tempo de 120, 90, 60, 30, 15, 10 ou 5 segundos, sele-

cionado de maneira independente. Sob um aspecto, os ciclos de atividade são aplicados durante um período de tempo de 5 a 60 segundos. Sob outro aspecto, de 3 a 18 ou de 3 a 10 ciclos de atividade podem ser aplicados dentro de 30 segundos ou menos. Sob outro aspecto, de 4 a 8 ciclos de atividade podem ser aplicados dentro de 3 a 16 segundos.

O potencial aplicado durante a parte de excitação 340 do ciclo de atividade é de preferência aplicado a uma tensão e uma polaridade substancialmente constantes ao longo de toda a sua duração. Isto contrasta diretamente com os pulsos de leitura convencionais, nos quais a tensão é alterada ou "varrida" através de vários potenciais e/ou polaridades de tensão durante o registro de dados. Sob um aspecto, a duração da excitação 340 é no máximo de 4 ou 5 segundos, e de preferência de menos que 3, 2, 1,5 ou 1 segundo. Sob outro aspecto, a duração da excitação 340 é de 0,01 a 3 segundos, de 0,01 a 2 segundos ou de 0,01 a 1,5 segundo. Mais preferivelmente, a duração da excitação 340 é de 0,1 a 1,2 segundo.

Após a excitação 340, em 360 o dispositivo de medição pode abrir o circuito através da tira sensora 314, permitindo assim que o sistema relaxe. Durante o relaxamento 360, a corrente presente durante a excitação 340 é substancialmente reduzida em pelo menos uma metade, de preferência em uma ordem de magnitude, e mais preferivelmente a zero. De preferência, um estado de corrente zero é proporcionado por um circuito aberto ou outro método conhecido dos versados na técnica de modo a se obter um fluxo de corrente substancial-

mente zero. Pelo menos 3 relaxamentos podem ser obtidos durante os ciclos de atividade da seqüência de pulsos.

Sob um aspecto, o relaxamento 360 é de pelo menos 10, 5, 3, 2, 1,5, 1 ou 0,5 segundo de duração. Sob outro aspecto, o relaxamento 360 é de 0,1 a 3 segundos, de 0,1 a 2 segundos ou de 0,1 a 1,5 segundo de duração. Mais preferivelmente, o relaxamento 360 é de 0,2 a 1,5 segundo de duração e proporcionado por um circuito aberto.

Durante o relaxamento, o agente ionizante pode reagir com o analito de modo a gerar espécies mensuráveis adicionais sem os efeitos de um potencial elétrico. Assim, para um sistema detector de glicose que inclui a oxidase de glicose e um mediador de ferricianeto como reagentes, um ferrocianeto adicional (mediador reduzido) que responde à concentração de analito da amostra pode ser produzido sem interferência de um potencial elétrico durante o relaxamento 360.

Muitos métodos de análise convencionais aplicam continuamente uma tensão durante a duração do pulso de leitura. A tensão aplicada pode ter um potencial fixo ou pode ter um potencial que é varrido de um potencial positivo para um potencial negativo ou de um potencial positivo ou negativo para um potencial zero com relação a um potencial. Mesmo a um potencial relativo zero, estes métodos extraem continuamente corrente da tira sensora durante o pulso de leitura, o que permite que a reação eletroquímica continue por todo o pulso de leitura. Assim, a reação que produz espécies mensuráveis que respondem à concentração de analito e a difusão da espécie mensurável até o eletrodo operacional são ambas

afetadas pela corrente durante a parte de potencial zero de um pulso de leitura convencional.

Os métodos convencionais que aplicam continuamente tensão à e extraem corrente da tira sensora, mesmo a um potencial zero em relação a um potencial, são fundamentalmente diferentes dos relaxamentos da presente invenção. Os vários ciclos de atividade aplicados pela presente invenção são também acentuadamente diferentes dos métodos convencionais que utilizam um único pulso de longa duração com várias medições, tais como os revelados na patente norte-americana No. 5 243 516, devido aos vários relaxamentos da presente invenção. Em contraste com estes métodos convencionais, cada ciclo de atividade das seqüências de pulso da presente invenção apresenta um tempo de difusão e de reação do analito independente durante o relaxamento.

As Figuras 5A-5E mostram cinco exemplos de seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta, em que vários ciclos de atividade foram aplicados à tira sensora após a introdução da amostra. Nestes exemplos, foram usados pulsos de onda quadrada; entretanto, outros tipos de onda compatíveis com o sistema sensor e a amostra de teste podem ser também utilizados. As Figuras 5C-5D mostram seqüências de pulsos que incluem vários ciclos de atividade que têm os mesmos tempos de excitação e de retardo de circuito aberto.

As Figuras 5A-5B mostram seqüências de pulsos que incluem 9 ciclos de atividade que têm os mesmos tempos de excitação e retardo de circuito aberto além de um pulso de leitura terminal 510 de duração mais longa que aumenta em

tensão. A tensão aumentada deste pulso de leitura terminal tem a capacidade de detectar uma espécie que tem um potencial de oxidação mais elevado. Uma discussão mais completa sobre pulsos de leitura terminais pode ser encontrada no pedido provisório norte-americano No. 60/669 729, depositado a 8 de abril de 2005, intitulado "Espécie Oxidável como Referência Interna em Soluções de Controle para Biossensores".

A Figura 5A mostra uma seqüência de pulsos com 9 ciclos de atividade, em que excitações de 0,5 segundo são separadas por retardos de circuito aberto de 1 segundo de modo a se obter uma intensidade redox (RI) de 0,357 (5/14). Assim, na Figura 5A, o segundo ciclo de atividade tem uma parte de excitação 520 e uma parte de relaxamento 530. A Figura 5B mostra uma seqüência de pulsos com 9 ciclos de atividade, em que excitações de 1 segundo são separadas por retardos de circuito aberto de 0,5 segundo de modo a se obter uma RI de 0,69 (10/14,5). A Figura 5C mostra uma seqüência de pulsos de 7 ciclos de atividade, em que excitações de 1 segundo são separadas por retardos de circuito aberto de 1 segundo de modo a se obter uma RI de 0,53 (8/15). Foi aplicado um pulso de leitura terminal 540 da mesma duração e tensão utilizadas durante os 7 ciclos de atividade. A Figura 5D mostra uma seqüência de pulsos com 6 ciclos de atividade, onde excitações de 1,5 segundo são separadas por retardos de circuito aberto de 1 segundo de modo a se obter uma RI de 0,636 (10,5/16,5). Como na Figura 5C, foi aplicado o pulso de leitura terminal 540 da mesma duração e tensão dos pulsos dos ciclos de atividade anteriores. A Figura 5E mostra uma

seqüência de pulsos com 7 ciclos de atividade, onde excitações de 0,25 segundo relativamente curtas são separadas por relaxamentos de 1,5 segundo relativamente longos. A seqüência de pulsos da Figura 5E começa com um pulso inicial de 1 segundo 550 e termina com o pulso de leitura terminal de 1,25 segundo 540 de modo a se obter uma RI de 0,25 (4/16).

Quanto mais elevada a RI para uma seqüência de pulsos, menos fundo será introduzido na análise pelo mediador. As seqüências de pulsos representadas nas Figuras 5A-5E são pulsos oxidantes, designados para excitar (isto é, oxidar) um mediador reduzido, que é a espécie mensurável. Assim, quanto maior a corrente oxidante aplicada à tira sensora em um dado período de tempo, menos oportunidade de o mediador reduzido por trajetórias outras que não a oxidação do analito estar contribuindo para os valores de corrente registrados.

A Tabela III, a seguir, apresenta a inclinação, interrupção e razão interrupção-inclinação para os perfis de contorno dos quatro últimos ciclos de atividade das seqüências de pulsos (a) e (b). A seqüência de pulsos (a) era:

$$9 \times (0,5 \text{ seg ligado} + 1,0 \text{ seg desligado}) + 0,5 \text{ seg} \\ = 14 \text{ seg, RI} = 5/14 = 0,357.$$

A seqüência de pulsos (b) era:

$$9 \times (1,0 \text{ seg ligado} + 0,375 \text{ desligado}) + 1,0 \text{ seg} = \\ 25 \quad 13,375 \text{ seg, RI} = 10/13,375 = 0,748$$

Tabela III

| | Seqüência de Pulsos (a), RI = 0,357 | | | Seqüência de Pulsos (b), RI = 0,748 | | |
|--------------|--|------------------|--------------------|--|------------------|--------------------|
| Pulso No. | Incli nação | Inter- rupção | Int/Incli nação | Inclina- ção | Inter- rupção | Int/Inclin ação |
| 7 | 20,5 | 2581,6 | 125,93 | 14,07 | 741,29 | 52,69 |
| 8 | 19,99 | 2239,4 | 112,03 | 13,47 | 649,93 | 48,25 |
| 9 | 19,53 | 1973,4 | 101,04 | 12,92 | 580,94 | 44,96 |
| 10 | 19,1 | 1762,5 | 92,28 | 12,45 | 525,26 | 42,19 |

As razões interrupção-inclinação fornecem uma indicação da quantidade do sinal de fundo atribuível ao mediador, com valores de razão mais elevados indicando uma maior proporção do sinal registrado atribuível ao fundo de mediador. Assim, embora a frequência de pulso (número de excitações/tempo de análise total em segundos) das seqüências (a) e (b) são semelhantes a cerca de $0,7 \text{ seg}^{-1}$, o aumento na RI apresentado pela seqüência de pulsos (b) apresenta menos da metade do sinal de fundo. Em combinação, as várias excitações da seqüência de pulsos podem eliminar a necessidade de um pulso inicial para renovar a taxa de oxidação do mediador. Embora a corrente de fundo possa ser influenciada pelo mediador, para o ferricianeto, as seqüências de pulsos com valores de RI de pelo menos 0,01, 0,3, 0,6 ou 1 são preferidas, com valores de RI de 0,1 a 0,8, de 0,2 a 0,7 ou de 0,4 a 0,6 sendo mais preferidos.

Novamente com referência à Figura 3, em 350 a corrente que passa através dos condutores da tira sensora 314 para cada ciclo de atividade da seqüência de pulsos pode ser registrada como uma função do tempo. A Figura 6A mostra as correntes de saída lançadas em gráfico como uma função do tempo para a seqüência de pulsos representada na Figura 5B para amostras de WB com 40% de hematócrito que contêm 50, 100, 200, 400 e 600 mg/dL de glicose. Em vez de um pulso de leitura de longa duração convencional que resulta na oxidação extensiva da espécie mensurável, cada excitação é seguida de uma quebra no perfil de corrente.

Na Figura 6A, quando as correntes de saída são lançadas em gráfico como uma função do tempo, cada excitação resulta em um perfil de corrente transitória que tem um valor de corrente elevado inicial que cai ao longo do tempo. De preferência, os ciclos de atividade incluem excitações e relaxamentos independentes, curtos, que impedem o sistema de atingir uma condição estável ou uma condição de queda de corrente lenta durante cada excitação, conforme necessário durante o pulso de leitura de sistemas convencionais. Em vez de correntes convencionais de condição estável ou que caem lentamente, valores de corrente transitória (que cai rapidamente) são obtidos a partir das seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta porque a reação eletroquímica da espécie mensurável no eletrodo operacional é mais rápida que a velocidade à qual a espécie mensurável é fornecida ao eletrodo operacional por difusão.

A Figura 6B mostra um gráfico de perfil de contorno preparado conectando-se o valor de corrente final de cada um dos perfis de corrente transitória (isto é, o valor de corrente final de cada excitação) mostrados na Figura 6A. O perfil de contorno pode ser utilizado para simular os dados obtidos de um sistema convencional na condição estável, na qual a alteração da corrente com o tempo é substancialmente constante.

Os perfis de corrente transitória obtidos a partir das seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta e dos valores de corrente de contorno derivados são fundamentalmente diferentes dos perfis de corrente obtidos a partir de uma análise convencional que utiliza um único pulso de leitura. Embora as correntes registradas a partir de um único pulso de leitura derivem de um único relaxamento/difusão, cada ponto no tempo no perfil de contorno das correntes transitórias se origina de uma excitação após um processo de relaxamento/difusão. Além disto, à medida que aumenta a duração da excitação, a correlação entre a corrente e a concentração de analito pode diminuir, freqüentemente devido ao efeito de hematócrito. Assim, a exatidão de uma análise que utiliza várias excitações curtas pode ser aumentada em comparação com uma análise que utiliza um pulso de leitura mais longo que tem a duração de várias excitações combinadas.

Novamente com referência a Figura 6A, um ponto transitório 605 é atingido no perfil de corrente quando o último valor de corrente no tempo obtido para uma excitação

representa o último maior valor de corrente no tempo obtido para qualquer excitação. Assim, para a Figura 6A, o ponto transitório é atingido em aproximadamente 5 segundos. Para cada uma das concentrações de glicose, o equilíbrio referente à re-hidratação da DBL pode ser atingido no valor de corrente mais elevado no perfil de contorno para cada concentração de glicose. Assim, quando as correntes transitórias da Figura 6A são convertidas em correntes de contorno na Figura 6B, as leituras 610 (mais elevada) e 620 (mais baixa) estabelecem que o equilíbrio foi atingido quanto à difusão da espécie mensurável para dentro da DBL e à re-hidratação da DBL a cerca de cinco segundos para a concentração de glicose de 600 mg/dL.

Os valores de corrente registrados a uma taxa de difusão relativamente constante reduzem ao mínimo as inexactidões que seriam de outro modo introduzidas por variações nas taxas de re-hidratação e difusão dos reagentes. Assim, uma vez atingida uma taxa de difusão relativamente constante, os valores de corrente registrados correspondem mais exatamente à concentração da espécie mensurável e, portanto, do analito. Além disto, para a Figura 6B, a análise completa pode ser concluída em apenas sete segundos porque, uma vez conhecida o valor de corrente mais elevado 610 do perfil de contorno, seu valor pode ser diretamente correlacionado com a concentração do analito. Pontos de dados adicionais podem ser obtidos de modo a se reduzirem os erros de fundo atribuíveis ao mediador, conforme discutido anteriormente.

A Figura 6C mostra perfis de contorno preparados a partir de perfis de corrente transitória gerados pela sequência de pulsos mostrada na Figura 5E. Durante cada excitação de 0,25 segundo, os valores de corrente foram registrados no meio (~0,125 segundo) e no final (~0,25 segundo), podendo ser utilizados para determinar a constante de queda. Com a utilização do pulso inicial mais longo, com as excitações curtas e relaxamentos relativamente longos, a análise pode ser concluída em cerca de quatro segundos.

10 A Figura 6D é um gráfico que mostra sinais de saída em relação a sinais de entrada para um sistema eletroquímico que utiliza seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta. Os sinais de entrada são potenciais aplicados a uma amostra de fluido biológico. Os sinais de entrada
15 incluem um sinal de entrada de consulta e um sinal de entrada de análise. Os sinais de saída são correntes geradas a partir da amostra. Os sinais de saída incluem um sinal de saída de consulta e um sinal de saída de análise. A amostra gera o sinal de saída de análise a partir de uma reação redox de glicose no sangue total em resposta ao sinal de entrada de análise. Os sinais de entrada e saída podem ser para um biossensor que tem um eletrodo operacional e um contra-elétrodo. Podem ser utilizados outros biossensores, inclusive os com eletrodos adicionais e configurações diferentes.
25 Outras concentrações de analito podem ser medidas, inclusive aquelas em outros fluidos biológicos. Podem ser gerados outros sinais de saída, inclusive os que declinam inicialmente e os que declinam em todos os pulsos.

Em uso, uma amostra do fluido biológico é depositada em um biossensor. O biossensor aplica um sinal de consulta à amostra a partir de cerca de $\sim 1,25$ segundo até cerca de 0 segundo. Os pulsos têm uma largura de pulso de cerca de 5 - 10 ms e um intervalo entre pulsos de cerca de 125 ms. O biossensor gera um sinal de saída de consulta em resposta ao sinal de entrada de consulta. O biossensor mede o sinal de saída de consulta. O biossensor pode ter um potenciostato que fornece o sinal de saída de consulta à entrada de um comparador analógico.

Quando o sinal de saída de consulta for igual ou maior que um limite de consulta, o biossensor aplica o sinal de entrada de análise aos elétrodos a partir de cerca de 0 segundo a cerca de 7 segundos. O valor de limite de consulta pode ser de cerca de 250 nA. O comparador pode comparar o sinal de saída de consulta com o valor de limite de consulta. Quando o sinal de saída de consulta ultrapassa o valor de limite de consulta, o sinal de saída do comparador pode acionar a emissão do sinal de entrada de consulta.

Durante o sinal de entrada de análise, o biossensor aplica um ciclo de atividade com um primeiro pulso que tem um potencial de cerca de 400 mV durante cerca de 1 seg ao eletrodo operacional e ao contra-elétrodo. O primeiro pulso é seguido de um relaxamento de 0,5 seg, que pode ser um circuito essencialmente aberto ou semelhante. O sinal ou corrente de saída de análise dentro do primeiro pulso é medida e armazenada em um dispositivo de memória. O biossensor pode aplicar um segundo pulso ao eletrodo operacional e ao

contra-elétrodo a cerca de 200 mV durante cerca de 1 seg. O sinal ou corrente de saída de análise dentro do segundo pulso é medida e armazenada em um dispositivo de memória. O biossensor continua a aplicar pulsos do sinal de entrada de análise ao eletrodo operacional e ao contra-elétrodo até o fim do período de análise ou durante o tempo desejado pelo biossensor. O período de análise pode ser de cerca de 7 segundos. O biossensor pode medir e armazenar sinal ou corrente de saída de análise dentro de cada pulso.

10 O sinal de entrada de consulta é um sinal elétrico, tal como uma corrente ou potencial, que pulsa ou é ligado e desligado a um frequência ou intervalo estabelecido. A amostra gera um sinal de saída de consulta em resposta ao sinal de entrada de consulta. O sinal de saída de consulta é um sinal elétrico, tal como uma corrente ou potencial. O biossensor pode mostrar o sinal de saída de consulta em um monitor e/ou pode armazenar o sinal de saída de análise em um dispositivo de memória. O biossensor pode aplicar o sinal de consulta de modo a detectar quando uma amostra se conectada com os eletrodos. O biossensor pode utilizar outros métodos e dispositivos para detectar quando uma amostra está disponível para análise.

25 O sinal de entrada de consulta é um ciclo de atividade no qual uma seqüência de pulsos de consulta é separada por relaxamentos de consulta. Durante um pulso de consulta, o sinal elétrico fica ligado. Durante um relaxamento de consulta, o sinal elétrico fica desligado. Pode-se incluir períodos de tempo em que um sinal elétrico esteja presente.

O desligamento pode incluir períodos de tempo em que um sinal elétrico não está presente. O desligamento pode não incluir períodos de tempo em que um sinal elétrico está presente, mas que essencialmente não tem amplitude. O sinal elétrico pode ser comutado entre ligado e desligado pelo fechamento e a abertura de um circuito elétrico, respectivamente. O circuito elétrico pode ser aberto e fechado mecanicamente, eletricamente ou de maneira semelhante.

Um sinal de entrada de consulta pode ter um ou mais intervalos de pulso de consulta. Um intervalo entre pulsos de consulta é a soma de um pulso de consulta e um relaxamento de consulta. Cada pulso de consulta tem uma amplitude e uma largura de pulso de consulta. A amplitude indica a intensidade do potencial, da corrente, ou semelhante, do sinal elétrico. A amplitude pode variar ou ser uma constante durante o pulso de consulta. A largura de pulso de consulta é a duração de tempo de um pulso de consulta. As larguras de pulso de consulta em um sinal de entrada de consulta podem variar ou ser essencialmente as mesmas. Cada relaxamento de consulta tem uma largura de relaxamento de consulta, que é a duração de tempo de um relaxamento de consulta.

O sinal de entrada de consulta pode ter uma largura de pulso de consulta de menos de cerca de 300 milissegundos (ms) e um intervalo entre pulsos de consulta de menos de cerca de 1 seg. O sinal de entrada de consulta pode ter uma largura de pulso de consulta de menos de cerca de 100 ms e um intervalo entre pulsos de consulta de menos de cerca de 500 ms. O sinal de entrada de consulta pode ter uma largura

de pulso de consulta na faixa de cerca de 0,5 ms a cerca de 75 ms e um intervalo entre pulsos de consulta na faixa de cerca de 5 ms a cerca de 300 ms. O sinal de entrada de consulta pode ter uma largura de pulso de consulta na faixa de
5 cerca de 1 ms a cerca de 50 ms e um intervalo entre pulsos de consulta na faixa de cerca de 10 ms a cerca de 250 ms. O sinal de entrada de consulta pode ter uma largura de pulso de consulta de cerca de 5 ms e um intervalo entre pulsos de consulta de cerca de 125 ms. O sinal de entrada de consulta
10 pode ter outras larguras de pulso e intervalos de pulso.

O biossensor pode aplicar o sinal de entrada de consulta à amostra durante um período de consulta. O período de consulta pode ser inferior a cerca de 15 minutos, 5 minutos, 2 minutos ou 1 minuto. O período de consulta pode ser
15 mais longo dependendo de como o usuário utiliza o biossensor. O período de consulta pode estar na faixa de cerca de 0,5 segundo (seg) até cerca de 15 minutos. O período de consulta pode estar na faixa de cerca de 5 seg a cerca de 5 minutos. O período de consulta pode estar na faixa de 10 seg a
20 cerca de 2 minutos. O período de consulta pode estar na faixa de cerca de 20 seg a cerca de 60 seg. O período de consulta pode estar na faixa de cerca de 30 a cerca de 40 seg. O período de consulta pode ter menos que cerca de 200, 100, 50 ou 25 intervalos de pulso. O período de consulta pode ter
25 de cerca de 2 a cerca de 150 intervalos de pulso. O período de consulta pode ter de cerca de 5 a cerca de 50 intervalos de pulso. O período de consulta pode ter de cerca de 5 a cerca de 15 intervalos de pulso. O período de consulta pode

ter cerca de 10 intervalos de pulso. Outros períodos de consulta podem ser utilizados.

O biossensor aplica o sinal de entrada de análise quando o sinal de saída de consulta for igual ou superior a um limite de consulta. O limite de consulta pode ser maior que cerca de 5 por cento (%) do sinal de entrada de análise esperado no início do primeiro pulso. O limite de consulta pode ser superior a cerca de 15% do sinal de entrada de análise no início do primeiro pulso. O limite de consulta pode estar na faixa de cerca de 5 por cento (%) a cerca de 50% do sinal de entrada de análise no início do primeiro pulso. Outros limites de consulta podem ser utilizados. O biossensor pode indicar que o sinal de saída de consulta é igual ou superior ao limite de consulta em um monitor.

O sinal de entrada de análise é um sinal elétrico, tal como uma corrente ou potencial, que pulsa ou é ligado e desligado a uma frequência ou intervalo fixado. A amostra gera um sinal de saída de análise em resposta ao sinal de entrada de análise. O sinal de saída de análise é um sinal elétrico, como uma corrente ou potencial.

O sinal de entrada de análise é uma seqüência de pulsos de análise separados por relaxamentos de análise. Durante um pulso de análise, o sinal elétrico fica ligado. Durante um relaxamento de análise, o sinal elétrico fica desligado. São incluídos períodos de tempo em que um sinal elétrico está presente. O desligamento inclui períodos de tempo em que um sinal elétrico não está presente e não inclui períodos de tempo em que um sinal elétrico está presente, mas

que, essencialmente, não tem amplitude. O sinal elétrico é comutado entre ligado e desligado pelo fechamento e a abertura de um circuito elétrico, respectivamente. O circuito elétrico pode ser aberto e fechado mecanicamente, eletricamente ou de maneira semelhante.

Um sinal de entrada de análise pode ter um ou mais intervalos de pulso de análise. Um intervalo entre pulsos de análise é a soma de um pulso de análise e um relaxamento de análise. Cada pulso de análise tem uma amplitude e uma largura de pulso de análise. A amplitude indica a intensidade do potencial, da corrente, ou semelhante, do sinal elétrico. A amplitude pode variar ou ser uma constante durante o pulso de análise. A largura do pulso de análise é a duração de tempo de um pulso de análise. As larguras de pulso de análise em um sinal de entrada de análise podem variar ou ser essencialmente as mesmas. Cada relaxamento de análise tem uma largura de relaxamento de análise, que é a duração de tempo de um relaxamento de análise. As larguras de relaxamento de análise em um sinal de entrada de análise podem variar ou ser essencialmente as mesmas.

O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise de menos de cerca de 5 seg e um intervalo entre pulsos de análise de menos de cerca de 15 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise de menos de cerca de 3, 2, 1,5 ou 1 seg e um intervalo entre pulsos de análise de menos de cerca de 13, 7, 4, 3, 2,5 ou 1,5 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise na faixa de cerca de 0,1 a

cerca de 3 seg e um intervalo entre pulsos de análise na faixa de cerca de 0,2 a cerca de 6 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise na faixa de cerca de 0,1 seg até cerca de 2 seg e um intervalo entre pulsos de análise na faixa de cerca de 0,2 seg a cerca de 4
5 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise na faixa de cerca de 0,1 seg até cerca de 1,5 seg e um intervalo entre pulsos de análise na faixa de 0,2 seg até cerca de 3,5 seg. O sinal de entrada de análise
10 pode ter uma largura de pulso de análise na faixa de cerca de 0,4 seg a cerca de 1,2 seg e um intervalo entre pulsos de análise na faixa de cerca de 0,6 seg a cerca de 3,7 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise na faixa de cerca de 0,5 seg a cerca de 1,5 seg e um
15 intervalo entre pulsos de análise na faixa de cerca de 0,75 seg até cerca de 2,0 seg. O sinal de entrada de análise pode ter uma largura de pulso de análise de cerca de 1 seg e um intervalo entre pulsos de análise de cerca de 1,5 seg. O
20 sinal de entrada de análise pode ter outras larguras de pulso e intervalos entre pulsos.

O biossensor aplica o sinal de entrada de análise à amostra durante um período de análise. O período de análise pode ter a mesma duração ou uma duração diferente da do período de consulta. O período de análise dos sinal de entrada de análise pode ser inferior a cerca de 180, 120, 90,
25 60, 30, 15, 10 ou 5 seg. O período de análise pode estar na faixa de cerca de 1 seg a cerca de 100 seg. O período de análise pode estar na faixa de cerca de 1 seg a cerca de 25

seg. O período de análise pode estar na faixa de cerca de 1
seg a cerca de 10 seg. O período de análise pode estar na
faixa de cerca de 2 seg a cerca de 3 seg. O período de aná-
lise pode ser de cerca de 2,5 seg. O período de análise pode
5 ter menos que cerca de 50, 25, 20, 15, 10, 8, 6 ou 4 inter-
valos entre pulsos. O período de análise pode ter intervalos
entre pulsos de análise na faixa de cerca de 2 a cerca de
50. O período de análise pode ter intervalos entre pulsos de
análise na faixa de cerca de 2 a cerca de 25. O período de
10 análise pode ter intervalos entre pulsos na faixa de cerca
de 2 a cerca de 15. O período de análise pode ter cerca de
10 intervalos entre pulsos de análise. Outros períodos de
análise podem ser utilizados.

As Figuras 7A e 7B são gráficos que mostram o a-
15 perfeiçoamento na exatidão de medição quando uma DBL é com-
binada com um pulso de leitura curto. Amostras de sangue to-
tal foram combinadas com o ferrocianeto em uma razão de di-
luição de 1:5 para representar uma concentração de glicose
subjacente e medidas com um pulso de leitura de 1 segundo.
20 Assim, os 20%, 40% e 60% de amostras de WB de hematócrito
foram diluídos em 16%, 32% e 48% de hematócrito (uma redução
de 20% de todos os três valores de hematócrito). As linhas
de 20%, 40% e 60% representam a corrente medida para as a-
mostras de sangue que continham 16%, 32% e 48% de hematócri-
25 to, respectivamente.

A Figura 7A mostra as inexatidões introduzidas pe-
lo efeito de hematócrito e outros efeitos de uma tira senso-
ra de condutor nua destituída de uma DBL. A inexatidão é re-

presentada como a diferença entre as linhas de 20% e 60% de hematócrito (a extensão total de viés do hematócrito total) e representa a inexatidão de medição máxima atribuível ao efeito de hematócrito. Valores de viés menores representam um resultado mais preciso. Um desempenho semelhante foi observado quando uma DBL foi usada com um pulso de leitura mais longo, conforme discutido acima com relação à Figura 4A.

Inversamente, a Figura 7B mostra uma diminuição acentuada na distância entre as linhas de calibração de 20% e 60% quando uma DBL é combinada com um pulso de leitura de 1 segundo. Uma DBL distinta de polímero de PEO e 10% de KCI (sem reagentes) foi impressa sobre um condutor, conforme utilizado para a Figura 7A acima. A extensão total de viés do hematócrito com a DBL/pulso de leitura curto foi quase dois terços menor que a extensão de viés total sem a DBL. Assim, as seqüências de pulsos que incluem vários ciclos de atividade em combinação com uma DBL podem aumentar de maneira significativa a exatidão de medição e proporcionar uma redução desejável no fundo de mediador.

As Figuras 7C e 7D mostram a redução no viés do hematócrito que pode ser obtida quando uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta é combinada com uma DBL. A Figura 7C demonstra que o viés de medição atribuível ao efeito de hematócrito está dentro de $\pm 5\%$ quando uma DBL foi combinada com a seqüência de pulsos da Figura 5E e os valores de corrente foram registrados a 14,875 segundos ou 0,125 segundo a partir do último pulso. Para comparação, a

Figura 7D estabelece que o viés aumenta até $\pm 15\%$ quando o valor de corrente a 16 segundos (1,25 segundo a partir do último pulso) é utilizado para determinar a concentração de glicose da amostra. Assim, quanto mais longa a duração da
5 excitação, maior o viés do hematócrito observado.

Além da capacidade da presente invenção de reduzir a inexatidão causada pelo efeito de hematócrito e pelo sinal de fundo do mediador, a combinação do perfil de corrente transitória de cada excitação e dos perfis de contorno re-
10 sultantes pode ser usada para obter vários conjuntos de constantes de calibração para o sistema sensor, aumentando assim a exatidão da análise. Cada conjunto de constantes de calibração obtidas pode ser usado para correlacionar uma
15 leitura de corrente específica com uma concentração específica de espécie mensurável na amostra. Assim, sob um aspecto, um aumento na exatidão pode ser obtido tirando-se a média dos valores de glicose obtidos utilizando-se vários conjuntos de constantes de calibração.

Os sistemas sensores eletroquímicos convencionais
20 utilizam geralmente um conjunto de constantes de calibração, tal como inclinação e interrupção, para converter as leituras de corrente em uma concentração correspondente do analito na amostra. Entretanto, um único conjunto de constantes de calibração pode resultar em inexatidões na concentração
25 de analito determinada a partir dos valores de corrente registrados uma vez que o ruído aleatório é incluído na medição.

Obtendo-se o valor de corrente em um tempo fixo dentro de cada ciclo de atividade das seqüências de pulsos da presente invenção, podem ser estabelecidos vários conjuntos de constantes de calibração. A Figura 8 é um gráfico as correntes de ponto terminal registradas a 8,5, 10, 11,5, 13 e 14.5 segundos (ciclos de atividade 6-9 e primeira parte do pulso de leitura terminal) quando a seqüência de pulsos mostrada na Figura 5B foi aplicada a amostras de WB que continham diversas concentrações de glicose. Cada uma destas cinco linhas de calibração é independente das outras e pode ser utilizada de duas maneiras, pelo menos.

Em primeiro lugar, os vários conjuntos de constantes de calibração podem ser usados para determinar o número de ciclos de atividade que deve ser aplicado durante a seqüência de pulsos de modo a se obter a desejada exatidão, precisão e tempo de análise. Por exemplo, se os valores de corrente obtidos a partir das três primeiras excitações indicarem uma concentração de glicose elevada, tal como >150 ou 200 mg/dL, o sistema sensor pode terminar a análise a cerca de 5,5 segundos, encurtando assim consideravelmente o tempo necessário à análise. Tal encurtamento é possível porque a imprecisão a concentrações de glicose elevadas é tipicamente menor do que a concentrações de glicose mais baixas. Inversamente, se os valores de corrente obtidos a partir das três primeiras excitações indicarem uma concentração de glicose baixa, tal como ≤ 150 ou 100 mg/dL, o sistema sensor pode estender a análise a mais de 7, como, por exemplo, mais

de 8 ou 10 segundos, de modo a aumentar a exatidão e/ou precisão da análise.

Em segundo lugar, os vários conjuntos de constantes de calibração podem ser utilizados para aumentar a exatidão e/ou precisão da análise por divisão proporcional. Por exemplo, se o tempo de medição de glicose alvo é de 11,5 segundos, as correntes a 8,5, 10 e 11,5 segundos podem ser utilizadas para calcular as concentrações de glicose utilizando-se as inclinações e interceptações das linhas de calibração correspondentes; portanto, $G_{8,5} = (i_{8,5} - \text{Int}_{8,5}) / \text{Inclinação}_{8,5}$, $G_{10} = (i_{10} - \text{Int}_{10}) / \text{Inclinação}_{10}$ e $G_{11,5} = (i_{11,5} - \text{Int}_{11,5}) / \text{Inclinação}_{11,5}$. Teoricamente, estes três valores de glicose devem ser equivalentes, diferindo apenas por variações aleatórias. Assim, os valores de glicose $G_{8,5}$, G_{10} e $G_{11,5}$ podem ser divididos proporcionalmente e o valor de glicose final de $(G_{8,5} + G_{10} + G_{11,5}) / 3$ pode ser calculado. A diversão proporcional dos valores das linhas de calibração pode proporcionar uma redução no ruído à taxa de $1/\sqrt{3}$.

Um benefício inesperado das seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta que incluem excitações relativamente curtas e relaxamentos relativamente longos, tal como mostrado na Figura 5E, é a capacidade de simplificar a calibração. Embora os vários conjuntos de constantes de calibração que podem ser obtidos a partir dos perfis transitórios e de contorno possam proporcionar uma vantagem para a exatidão da análise, uma seqüência de pulsos como a mostrada na Figura 5E pode proporcionar exatidão semelhante à obtida com a utilização de vários conjuntos de constantes

de calibração a partir de um único conjunto de constantes de calibração. Embora não pretendendo se limitado por qualquer teoria específica, este resultado pode ser atribuível aos tempos de relaxamento relativamente longos em comparação com os relaxamentos curtos. Os tempos de relaxamento longos podem proporcionar um estado no qual a taxa média da conversão da espécie mensurável durante a excitação é equilibrada pela taxa de difusão da espécie mensurável para dentro da DBL. Desta maneira, os vários conjuntos de constantes de calibração podem reduzir-se a um único conjunto, e a conversão dos dados registrados em uma concentração de analito pode ser simplificada executando-se o processo de divisão proporcional nos dados de corrente registrados antes de se determinar a concentração de analito.

A combinação do perfil de corrente transitória de cada excitação e dos perfis de contorno resultantes pode ser também usada para determinar se a tira sensora foi sub-enchida com amostra, permitindo assim ao usuário adicionar amostra adicional à tira sensora. Além do eletrodo operacional e do contra-eletródo, os sistemas sensores convencionais podem determinar uma condição de sub-enchimento utilizando um terceiro eletrodo ou par de eletrodos; entretanto, o terceiro eletrodo ou par de eletrodos acrescenta complexidade e custo ao sistema sensor.

Sistemas de dois eletrodos convencionais podem reconhecer que uma análise é "ruim", mas podem não determinar se a razão da análise falha foi causada por sub-enchimento ou uma tira sensora defeituosa. A capacidade de determinar

se o sub-enchimento causou a falha da análise é benéfica porque pode ser corrigida adicionando uma amostra adicional à mesma tira sensora e repetindo-se a análise, impedindo assim que uma tira boa seja descartada.

5 A Figura 9A mostra os perfis de corrente transitória obtidos a partir da seqüência de pulsos representada na Figura 5B para 10 análises, cada uma utilizando uma tira sensora diferente, em que 2,0 µL de amostra foram introduzidos na tira. Dependendo da velocidade de enchimento e do volume de tampa-intervalo de uma tira sensora específica, 2,0
10 µL de amostra podem ou não ser suficientes para encher a tira.

Na Figura 9B, os perfis de corrente transitória da Figura 9A foram convertidos em perfis de contorno da taxa de queda como uma função do tempo. Sob um aspecto, a taxa de queda pode ser representada como uma constante K determinada por uma ou outra das seguintes equações:

$$K_1 = \frac{\ln(i_{0,125}) - \ln(i_{1,0})}{\ln(t_{0,125}) - \ln(t_{1,0})}$$

$$K_2 = \frac{\ln(i_{0,5}) - \ln(i_{1,0})}{\ln(t_{0,5}) - \ln(t_{1,0})}$$

15 onde os valores de 0,125, 0,5 e 1,0 são em segundos. Assim, utilizando-se a constante K de um processo de queda, os perfis de corrente da Figura 9A podem ser convertidos nos perfis de constante de queda da Figura 9B.

20 A Figura 9B estabelece que existe uma diferença substancialmente entre os perfis de queda dos sensores sub-enchidos e dos sensores enchidos normalmente, especialmente

na faixa de tempo de 3 a 7 segundos. O sub-enchimento pode ser determinado a partir dos perfis de constante de queda pela comparação da diferença entre a constante de queda real e um valor previamente selecionado. Por exemplo, se -0,1 for
5 selecionado como o limite superior para um sensor enchido normalmente com relação à Figura 9B, qualquer constante K_1 que tenha um valor mais baixo que -0,1, determinado a partir das excitações durante o período de tempo de 3 a 5 segundos, pode ser considerada como enchido normalmente. Da mesma ma-
10 neira, qualquer sensor que tenha um valor de K_1 mais elevado que -0,1 pode ser considerado sub-enchido. Desta maneira, o sub-enchimento pode ser determinado em resposta a uma taxa de queda obtida a partir de um perfil de corrente transitória.

15 Assim, na Figura 9B as tiras sensoras representadas pelas séries 3 e 8 foram enchidas o suficiente, enquanto as oito tiras sensoras representadas pelas séries 1-2, 4-7 e 9-10 foram sub-enchidas. Desta maneira, as seqüências de pulsos amperométricos conectadas por porta da presente in-
20 venção proporcionaram a detecção do sub-enchimento em uma tira sensora de dois elétrodos, uma função que exige tipicamente um terceiro eletrodo para sistemas sensores convencionais. Além disto, a determinação de sub-enchimento foi feita em menos de dez segundos, dando tempo ao dispositivo de me-
25 dição para sinalizar ao usuário, enviando, por exemplo, um sinal a um dispositivo emissor de luz ou a um monitor, para adicionar mais amostra(s) à tira.

Uma vez que o sub-enchimento pode ser determinado a partir dos perfis de corrente transitória, os mesmos valores de corrente usados para determinar a presença e/ou concentração do analito podem ser usados para determinar se existe uma condição de sub-enchimento. Assim, o sub-enchimento pode ser determinado durante os vários ciclos de atividade da seqüência de pulsos sem se prolongar a duração da análise eletroquímica além do necessário para a determinação da concentração.

A combinação do perfil de corrente transitória de cada excitação e do perfil de contorno resultante pode ser também usada para determinar se uma alteração na temperatura da amostra pode afetar adversamente a análise. Os sistemas sensores convencionais incluem um termistor no dispositivo de medição ou na tira de modo a se obter a temperatura do dispositivo ou tira, respectivamente. Embora esta temperatura seja uma aproximação da temperatura da amostra, tipicamente, o dispositivo ou tira está a uma temperatura diferente daquela da amostra. A diferença de temperatura entre o dispositivo ou tira e a amostra pode introduzir um viés na análise.

Pela determinação de uma taxa de queda, como com uma constante K conforme discutido anteriormente, a temperatura da amostra pode ser determinada. A Figura 10 mostra constantes K representadas graficamente como uma função da temperatura que foram obtidas a partir da quinta excitação de uma seqüência de pulsos para concentrações de glicose de 50, 100 e 400 mg/dL. O gráfico estabelece que a taxa de

queda aumentou em valor absoluto com o aumento da temperatura. Embora não desejando ser limitado por qualquer teoria específica, este fenômeno pode ser atribuído a temperaturas mais baixas, retardando a taxa de difusão dos diversos constituintes presentes na tampa-intervalo. Desta maneira, a temperatura de uma amostra pode ser determinada em resposta a uma taxa de queda obtida a partir de um perfil de corrente transitória.

Uma vez que a temperatura da amostra pode ser determinada a partir dos perfis de corrente transitória, os mesmos valores de corrente utilizados para determinar a presença e/ou concentração do analito podem ser utilizados para determinar a temperatura da amostra. Assim, a temperatura da amostra pode ser determinada durante os vários ciclos de atividade da seqüência de pulsos sem se prolongar a duração da análise eletroquímica além do necessário para a determinação da concentração.

Sob um aspecto, a temperatura da amostra pode ser determinada pela solução de K por meio da seguinte equação:

$$K = \frac{\ln i_{0,125} - \ln i_{0,375}}{\ln(0,125) - \ln(0,375)}$$

onde $i_{0,125}$ e $i_{0,375}$ são as correntes a 0,125 e 0,375 segundos da excitação mais sensível à alteração na temperatura, tal como a excitação que gera a queda de corrente mais sensível com relação à alteração na temperatura. $\ln(0,125)$ e $\ln(0,375)$ são os termos logarítmicos normais dos tempos de 0,125 e 0,375, respectivamente. A partir do gráfico destas constantes K versus temperatura, conforme mostrado na Figura

10, a temperatura da amostra pode ser determinada pela função de correlação do gráfico. A função de correlação pode ser um encaixe polinomial da curva. A temperatura determinada a partir deste gráfico pode ser diferente da temperatura do dispositivo e pode refletir de maneira mais precisa a temperatura da amostra.

Uma vantagem da determinação da temperatura da amostra, em oposição à do dispositivo, é que a duração da análise pode ser ajustada de modo a permitir tempo suficiente para que a re-hidratação de uma DBL atinja o equilíbrio, aumentando assim a exatidão da análise. Por exemplo, se a temperatura da amostra, determinada durante a seqüência de pulsos, é de pelo menos 5 ou 10°C abaixo da temperatura ambiente, a seqüência de pulsos pode ser prolongada, tal como com ciclos de atividade adicionais.

A Figura 11 é uma representação esquemática de um dispositivo de medição 1100, que inclui contatos 1120 em comunicação elétrica com um conjunto de circuitos 1110 e um monitor 1130. Sob um aspecto, o dispositivo 1100 é portátil e é adaptado para ser seguro com a mão e para receber uma tira sensora, como a tira 100 da Figura 1A. Sob outro aspecto, o dispositivo de medição 1100 é um dispositivo de medição de mão adaptado para receber uma tira sensora e implementar seqüência de pulsos amperométricos conectadas por porta.

Os contatos 1120 são adaptados para proporcionar comunicação elétrica com o conjunto de circuitos elétricos 1110 e com os contatos de uma tira sensora, como os contatos

170 e 180 da tira sensora 100 mostrada na Figura 1B. O conjunto de circuitos elétricos 1110 pode incluir um carregador elétrico 1150, um processador 1140 e um meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145. O carregador elétrico 1150 pode ser um potenciostato, um gerador de sinais ou semelhante. Assim, o carregador 1150 pode aplicar uma tensão aos contatos 1120 enquanto registra a corrente resultante, funcionando como um carregador-registrador.

O processador 1140 pode estar em comunicação elétrica com o carregador 1150, com o meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145 e com o monitor 1130. Se o carregador não for adaptado para registrar a corrente, o processador 1140 pode ser adaptado para registrar a corrente nos contatos 1120.

O meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145 pode ser qualquer meio de armazenamento, tal como magnético, óptico, memória de semicondutor e semelhantes. O meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145 pode ser um dispositivo de memória fixo ou um dispositivo de memória removível, tal como um cartão de memória removível. O monitor 1130 pode ser analógico ou digital, sob um aspecto um tela LCD adaptada para exibir uma leitura numérica.

Quando os contatos de uma tira sensora que contém uma amostra estão em comunicação elétrica com os contatos 1120, o processador 1140 pode orientar o carregador 1150 para que aplique à amostra uma seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta, iniciando assim a análise. O

processador 1140 pode iniciar a análise em resposta à inserção de uma tira sensora, à aplicação de uma amostra a uma tira sensora inserida anteriormente, ou em resposta a uma entrada do usuário, por exemplo.

5 As instruções referentes à implementação da seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta podem ser fornecidas por um código de software passível de leitura por computador armazenado no meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145. O código pode ser um código-
10 objeto ou qualquer outro código que descreva ou controle a funcionalidade descrita neste pedido. Os dados que resultam da seqüência de pulsos amperométricos conectada por porta podem ser submetidos a um ou mais tratamentos de dados, inclusive a determinação de taxas de queda, constantes K, in-
15 clinações, intercepções e/ou temperatura da amostra no processador 1140, e os resultados, tal como uma concentração de analito corrigida, transmitidos para o monitor 1130. Como ocorre com as instruções referentes à seqüência de pulsos, o tratamento dos dados pode ser implementado pelo processador
20 1140 a partir do código de software passível de leitura por computador armazenado no meio de armazenamento passível de leitura por computador 1145.

Sem limitar o alcance, a aplicação ou implementação, os métodos e sistemas descritos anteriormente podem ser
25 implementados utilizando-se o seguinte algoritmo:

Etapa 1: Ligar a força do biossensor

Etapa 2: Efetuar o auto-teste do biossensor

- Etapa 3: Configurar consulta para aplicação da amostra
ao sensor
- Ajustar potencial de consulta de ASIC para V_{poll}
- 5 Ajustar nível de limite do ASIC para $i_{trigger}$
- Ajustar cronômetro periódico de consulta para
expirar no int_{poll}
- Etapa 4: Configurar para analisar corrente do sensor
- Esperar que cronômetro periódico de consulta
- 10 expire
- Habilitar bomba de carga ASIC
- Habilitar detector de limite de ASIC ($i_{trigger}$)
- Habilitar potencial de consulta (V_{poll})
- Selecione canal de sensor que aplique poten-
- 15 cial a sensor
- Aguardar tempo de consolidação t_{poll}
- Etapa 5: Verificar se a corrente do sensor ultrapassa
o limite
- Etapa 6: Retardar e testar corrente do sensor novamente
- 20 Etapa 7: Quando da detecção da Aplicação de Amostra
começar a contar o tempo
- lançar seqüência de pulsos
- Etapa 8: Pulso 1 - Medir correntes de sensor $i_{1,1}$ e $i_{1,8}$
- Pulso 1 começa no tempo t_{p1}
- 25 Fixar a duração do Pulso 1 em d_{p1}
- Fixar o potencial de sensor do Pulso 1 em V_{p1}
- Selecione canal de sensor para aplicar poten-
- cial a sensor

No tempo $t_{1,1}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{S11}

No tempo $t_{1,8}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{S18}

5 Etapa 9: Retardo 1 - Re-padronizar componentes eletrônicos

Retardo 1 começa no final da leitura de AD_2 , desconectar canal de sensor

10 Retardo 1 termina no início do Pulso 2

Fixar potencial em $V_{standardize}$

No tempo t_{c1} , selecionar canal de resistor de referência, em seguida medir sinal, salvar valor como AD_{R1}

15 No tempo t_{c2} , selecionar canal de deslocamento, em seguida medir sinal, salvar valor como AD_{O1}

Obs.: as correntes do sensor que começam no Pulso 1 são calculadas a partir das medições AD_{R1} e AD_{O1}

20 Etapa 10: Pulso 2 - Medir correntes de sensor $i_{2,1}$ e $i_{2,8}$

Pulso 2 começa no tempo t_{p2}

Fixar duração do Pulso 2 em d_{p2}

Fixar potencial do sensor no Pulso 2 em V_{p2}

25 Selecionar canal de sensor para aplicar potencial a sensor

No tempo $t_{2,1}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{S21}

No tempo $t_{2,8}$, medir sinal de sensor,
salvar valor como AD_{S28}

Etapa 11: Retardo 2 -

Retardo 2 começa no final da leitura
5 de AD_{S3} , desconectar canal de sensor

Retardo 2 termina no início do Pulso 3

Selecionar canal de deslocamento para
desconectar sensor

Etapa 12: Pulso 3 - Medir correntes de sensor: $i_{3,1}$ e $i_{3,8}$

10 Pulso 3 começa no tempo t_{p3}

Fixar duração do Pulso 3 em d_{p3}

Fixar potencial de sensor no Pulso 3
em V_{p3}

Selecionar canal de sensor para a-
15 plicar potencial a sensor

No tempo $t_{3,1}$, medir sinal de sensor,
salvar valor como AD_{S31}

No tempo $t_{3,8}$, medir sinal de sensor,
salvar valor como AD_{S38}

20 Etapa 13: Retardo 3 - T_1 e i_{wet}

Retardo 3 começa no final da lei-
tura de AD_{S38} ,

desconectar canal de sensor

Retardo 3 termina no início do Pulso4

25 Fixar potencial em $V_{standardize}$

No tempo t_{c3} , selecionar canal de
termistor, em seguida medir sinal, salvar valor como AD_{T1}

No tempo t_{wet} , selecionar canal de deslocamento, em seguida medir sinal, salvar valor como AD_{wet}

Etapa 14: Pulso 4 - Medir correntes de sensor: $i_{4,1}$, $i_{4,4}$ e $i_{4,8}$

5 Pulso 4 começa no tempo t_{p4}
 Fixar duração do Pulso 4 em d_{p4}
 Fixar potencial de sensor no Pulso 4 em v_{p4}
 Selecionar canal de sensor para aplicar potencial a sensor

10 No tempo $t_{4,1}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{s41}

No tempo $t_{4,4}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{s44}

15 No tempo $t_{4,8}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{s48}

Etapa 15: Retardo 4 -

Retardo 4 começa no final da leitura de AD_{s48} , desconectar canal de sensor

Retardo 4 termina no início do Pulso 5

20 Selecionar canal de deslocamento para desconectar sensor

Etapa 16: Pulso 5 - Medir correntes de sensor: $i_{5,1}$, $i_{5,4}$ e $i_{5,8}$

Pulso 5 começa no tempo t_{p5}

Fixar duração do Pulso 5 em d_{p5}

25 Fixar potencial do sensor no Pulso 5 em v_{p5}

No tempo $t_{5,1}$, medir sinal de sensor, salvar valor como AD_{s51}

No tempo $t_{5,4}$, medir sinal de sensor,
salvar valor como AD_{S54}

No tempo $t_{5,8}$, medir sinal de sensor,
salvar valor como AD_{S58}

5 Desabilitar funções analógicas do ASIC

Etapa 17: Buscar número de calibração de lote na incli-
nação e interrupção

S = Valor de inclinação para número de
calibração de lote de corrente

10 Int = Valor de interrupção para número
de calibração de lote de corrente

Etapa 18: Ajustar inclinação e interrupção para efeito
da temperatura

Etapa 19: Calcular concentração de glicose a $25^{\circ}C$

15 Etapa 20: Converter em referência alvo (plasma vs, refe-
rência de WB)

Etapa 21: Verificar sub-enchimento

Etapa 22: Verificar se há "Comportamento Anormal"

20 Etapa 23: Se glicose baixa, verificar novamente se há
"Comportamento Anormal"

Etapa 25: Verificar se há níveis extremos de glicose

Etapa 26; Exibir resultado

O algoritmo pode ter outras sub-rotinas que inclu-
am aquelas para verificar se há erros, tais como as condi-
ções de temperatura e sub-enchimento da amostra. As constan-
tes que podem ser usadas no algoritmo são dadas nas Tabela
III abaixo. Outras constantes podem ser usadas.

TABELA III

| Constante | Descrição | Valor | Unidades |
|----------------|---|-------|----------|
| V_{poll} | tensão de consulta | 400 | mV |
| int_{poll} | intervalo de consulta | 125 | ms |
| t_{poll} | duração de consulta | 10 | minutos |
| $i_{ltrigger}$ | Corrente de acionamento para detectar limite | 250 | nA |
| t_{p1} | tempo de partida do pulso 1 | 0 | Seg |
| d_{p1} | duração do pulso 1 | 1 | Segundo |
| V_{p1} | nível de tensão do pul- so 1 | 400 | Mv |
| $t_{1,1}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 1 | 0,125 | Seg |
| $t_{1,8}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 2 | 1,00 | Seg |
| t_{c1} | tempo de leitura de deslocamento | 1,125 | Seg |
| t_{c2} | tempo de leitura de re- ferência | 1,25 | Seg |
| t_{p2} | tempo de partida do pulso 2 | 1,5 | Seg |
| d_{p2} | duração do pulso 2 | 1 | segundo |
| V_{p2} | nível de tensão do pul- so 2 | 200 | mV |
| $t_{2,1}$ | tempo da leitura de corrente de sensor 3 | 1,625 | seg |

| | | | |
|-----------|--|-------|---------|
| $t_{2,8}$ | tempo da leitura de corrente de sensor 4 | 2,50 | seg |
| t_{p3} | tempo de partida do pulso 3 | 3 | seg |
| d_{p3} | duração do pulso 3 | 1 | segundo |
| V_{p3} | nível de tensão do pulso 3 | 200 | mV |
| $t_{3,1}$ | tempo da leitura de corrente de sensor 5 | 3,125 | seg |
| $t_{3,8}$ | tempo da leitura de corrente de sensor 6 | 4,00 | seg |
| t_{c3} | tempo de leitura do termistor | 4,125 | Seg |
| t_{wet} | tempo de leitura de corrente do sensor úmido | 4,25 | Seg |
| t_{p4} | tempo de partida do pulso 4 | 4,5 | Segundo |
| d_{p4} | duração do pulso 4 | 1 | Segundo |
| V_{p4} | nível de tensão do pulso 4 | 200 | mV |
| $t_{4,1}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 7 | 4,625 | Seg |
| $t_{4,4}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 8 | 5,00 | Seg |
| $t_{4,8}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 9 | 5,50 | Seg |
| t_{p5} | tempo de partida do pulso 5 | 6 | seg |

| | | | |
|-----------|---|-------|---------|
| d_{p5} | duração do pulso 5 | 1 | Segundo |
| v_{p5} | nível de tensão do pulso 5 | 200 | mV |
| $t_{5,1}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 10 | 6,125 | Seg |
| $t_{5,4}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 11 | 6,50 | seg |
| $t_{5,8}$ | tempo de leitura de corrente de sensor 2 | 7,00 | seg |

Embora tenham sido descritas diversas modalidades da invenção, será evidente aos versados na técnica que outras modalidades e implementações são possíveis dentro do alcance da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para determinar a concentração de um analito em uma amostra, **CARACTERIZADO** por compreender:

5 aplicar um sinal de entrada à amostra, o sinal de entrada compreendendo pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos e cada ciclo de atividade compreendendo uma excitação e um relaxamento;

medir um sinal de saída que responde a uma espécie mensurável; e

10 determinar a concentração do analito na amostra em resposta ao sinal de saída medida.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender também introduzir a amostra em uma tira sensora e transferir pelo menos um elétron do analito na amostra para um mediador na tira sensora, em que o
15 sinal de entrada excita eletroquimicamente a espécie mensurável, e a espécie mensurável é selecionada do grupo que consiste no analito, no mediador e em combinações deles.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1,
20 **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação tem uma tensão substancialmente constante.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sinal de entrada compreende um pulso de leitura terminal.

25 5. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sinal de entrada compreende excitações de onda quadrada.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sinal de entrada tem uma intensidade redox de pelo menos 0,01.

5 7. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a concentração do analito determinada a partir do método inclui menos viés atribuível ao fundo de mediador do que a concentração do analito determinada a partir do mesmo ou outro método destituído do sinal de entrada que compreende pelo menos 3 ciclos de atividade
10 dentro de 180 segundos.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender também registrar pelo menos uma corrente como uma função do tempo durante a aplicação do sinal de entrada.

15 9. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a determinação compreende aplicar pelo menos um tratamento com dados a pelo menos uma corrente do sinal de saída.

20 10. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender também:

excitar a espécie mensurável interna a uma camada de barreira à difusão; e

excluir substancialmente da excitação a espécie mensurável externa à camada de barreira à difusão.

25 11. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** por compreender também determinar a concentração do analito em resposta a um perfil de corrente quando

uma taxa de difusão relativamente constante da espécie mensurável é atingida.

12. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o sinal de saída compreende pelo menos um perfil de corrente, e a concentração do analito na amostra é determinada em resposta ao pelo menos um perfil de corrente.

13. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação é de menos que 5 segundos.

14. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o relaxamento responde a um circuito aberto.

15. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o relaxamento é de pelo menos 0,5 segundo.

16. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o perfil de corrente inclui uma queda transitória e a concentração de analito é determinada a partir da queda transitória.

17. Método, de acordo com a reivindicação 12, **CARACTERIZADO** por compreender também estabelecer vários conjuntos de constantes de calibração em resposta ao sinal de saída.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** por compreender também determinar o número de ciclos de atividade no sinal de entrada em resposta aos vários conjuntos de constantes de calibração.

19. Método, de acordo com a reivindicação 17,
CARACTERIZADO por compreender também:

determinar a concentração do analito na amostra em
resposta a cada conjunto de constantes de calibração; e

5 tirar a média das concentrações do analito a par-
tir dos conjuntos de constantes de calibração.

20. Método, de acordo com a reivindicação 12,
CARACTERIZADO por compreender também determinar a temperatu-
ra da amostra contida por uma tira sensora em resposta à ta-
10 xa de queda do perfil de corrente.

21. Método, de acordo com a reivindicação 12,
CARACTERIZADO por compreender também determinar quando um
tira sensora está sub-enchida em resposta ao perfil de cor-
rente.

15 22. Método, de acordo com a reivindicação 21,
CARACTERIZADO por compreender também determinar quando uma
tira sensora está sub-enchida quando a taxa de queda do per-
fil de corrente é inferior a um valor selecionado.

20 23. Método, de acordo com a reivindicação 22,
CARACTERIZADO pelo fato de que o valor selecionado é -0,1.

24. Dispositivo de medição de mão, para determinar
a concentração de analito em uma amostra, **CARACTERIZADO** pelo
fato de que

25 o dispositivo é adaptado para receber uma tira
sensora e o dispositivo compreende:

contatos;

pelo menos um monitor; e

um circuito eletrônico que estabelece comunicação elétrica entre os contatos e o monitor, o circuito compreendendo:

um carregador elétrico e um processador em comunicação elétrica, o processador em comunicação elétrica com um meio de armazenamento passível de leitura por computador compreendendo um código de software passível de leitura por computador que, quando executado pelo processador, faz com que o carregador implemente um sinal de entrada que compreende pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos entre os contatos, cada ciclo de atividade compreendendo uma excitação e um relaxamento.

25. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação está a uma tensão substancialmente constante.

26. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é acionável para medir pelo menos um perfil de corrente nos contatos e para determinar a concentração de analito do analito na amostra em resposta ao pelo menos um perfil de corrente.

27. Método para reduzir o viés atribuível ao fundo de mediador em uma concentração determinada de analito em uma amostra, **CARACTERIZADO** por compreender:

aplicar um sinal de entrada à amostra, o sinal de entrada compreendendo pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos.

28. Método para sinalizar ao usuário que acrescente uma amostra adicional a uma tira sensora, **CARACTERIZADO** por compreender:

determinar se a tira sensora está sub-enchida pela
5 determinação de uma constante de queda a partir das correntes registradas durante pelo menos duas excitações de um sinal de entrada que inclui pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos; e

sinalizar ao usuário que acrescente uma amostra
10 adicional à tira sensora se a tira estiver sub-enchida.

29. Método para determinar a temperatura de uma amostra contida por uma tira sensora, **CARACTERIZADO** por compreender:

determinar uma constante de queda a partir das
15 correntes registradas durante pelo menos duas excitações de um sinal de entrada que inclui pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos; e

correlacionar a constante de queda com um valor de temperatura.

20 30. Método para determinar a duração de um sinal de entrada que inclui pelo menos 3 ciclos de atividade dentro de 180 segundos, para determinar a concentração de analito em uma amostra, **CARACTERIZADO** por compreender:

determinar uma série de pontos de calibração de-
25 terminados a partir das correntes registradas durante os pelo menos 3 ciclos de atividade; e

determinar a duração do sinal de entrada em resposta à concentração determinada de analito na amostra.

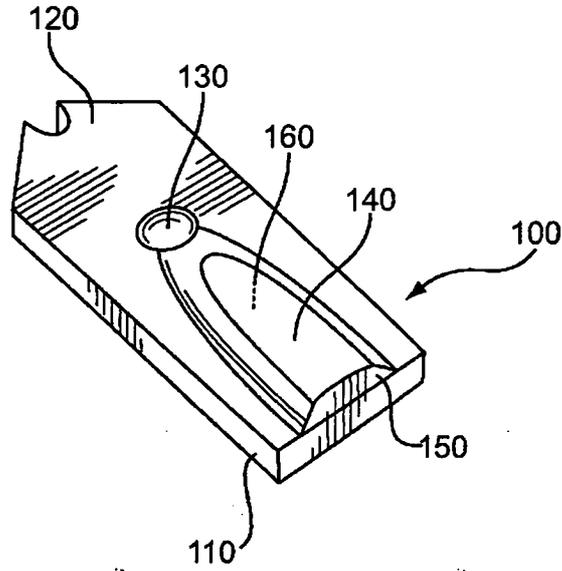


Fig. 1A

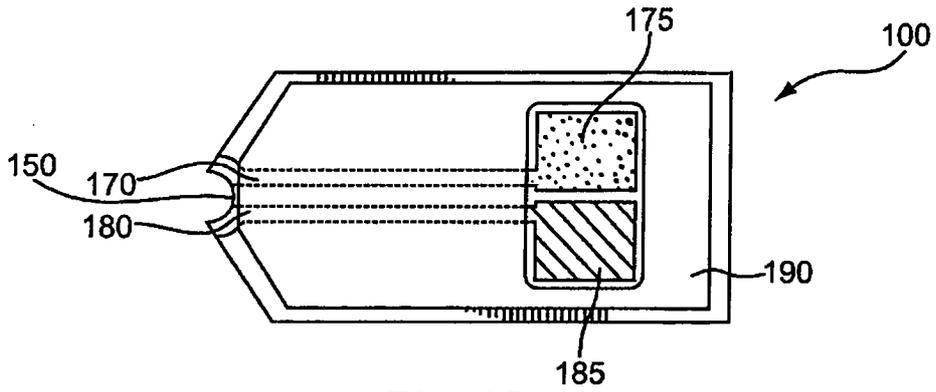


Fig. 1B

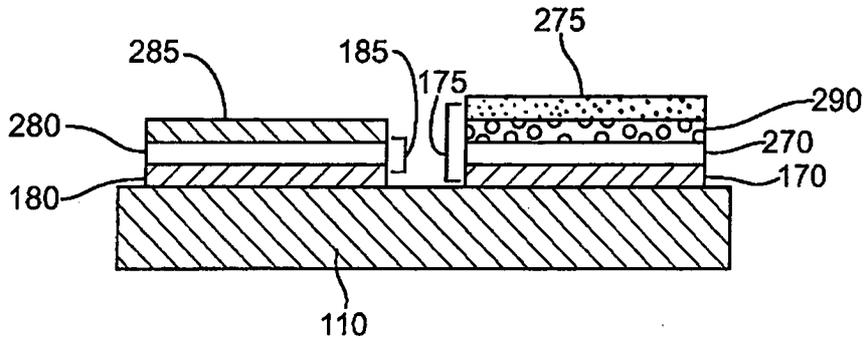


Fig. 2

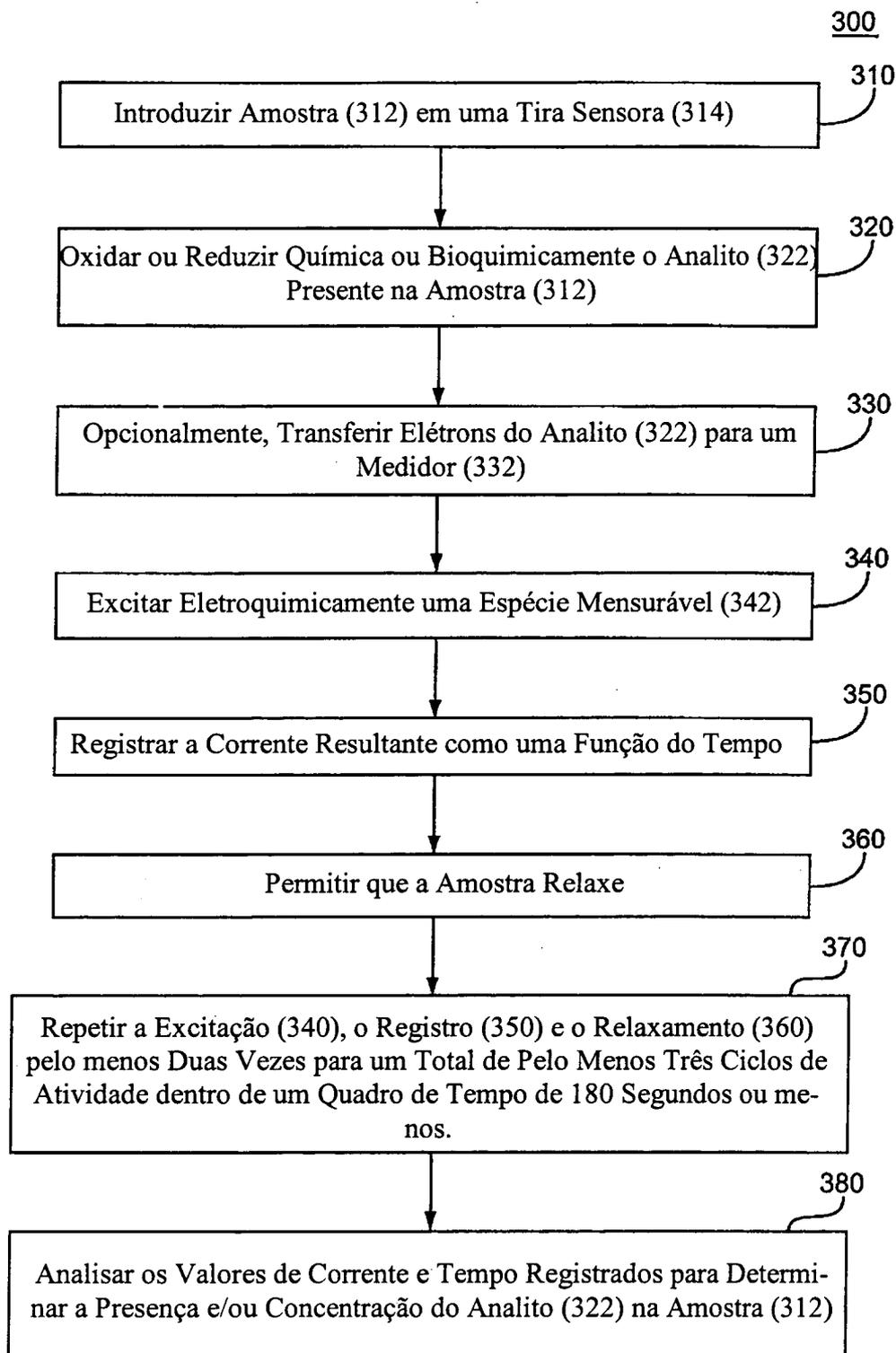


Fig.3

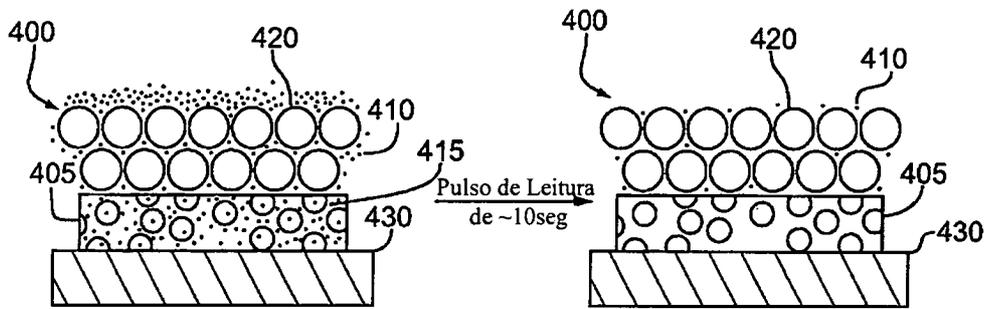


Fig.4A

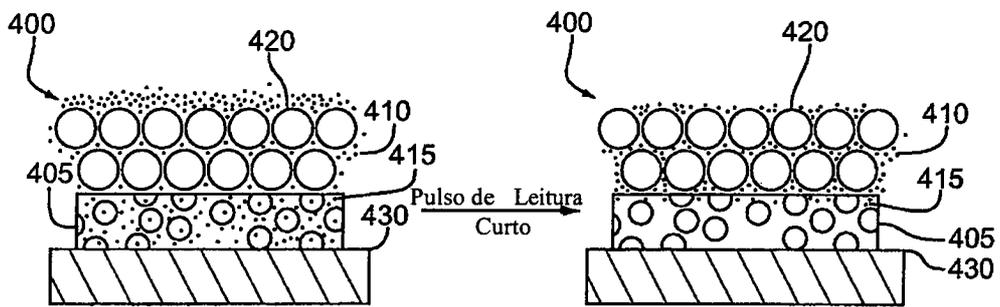
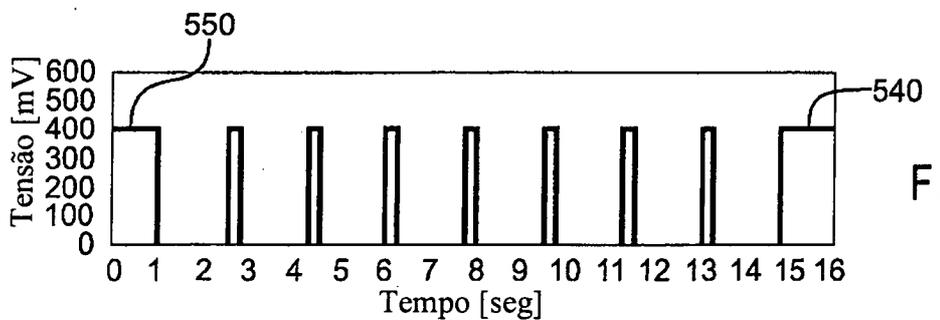
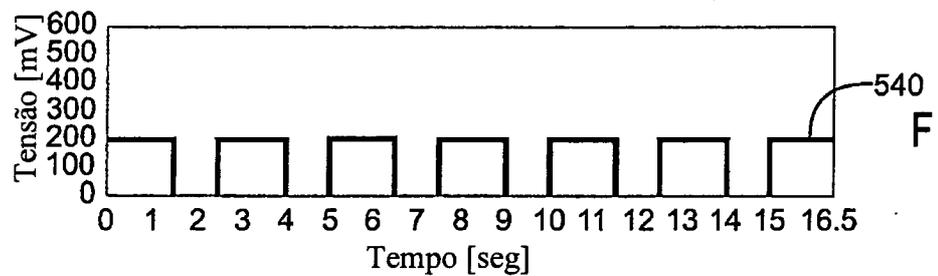
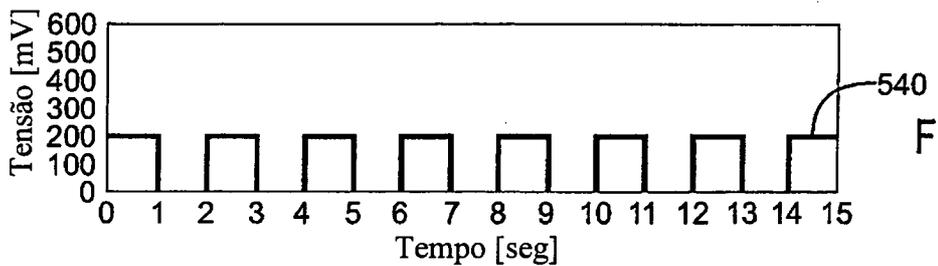
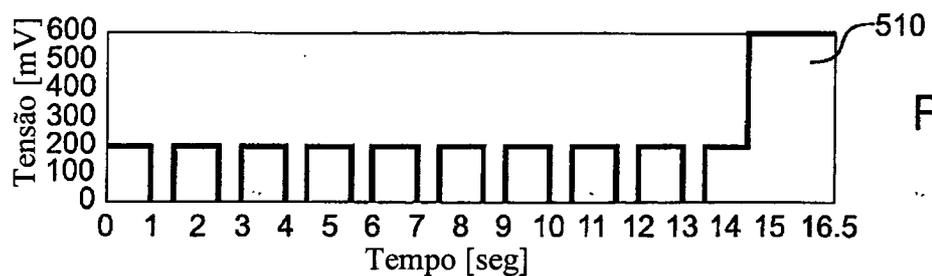
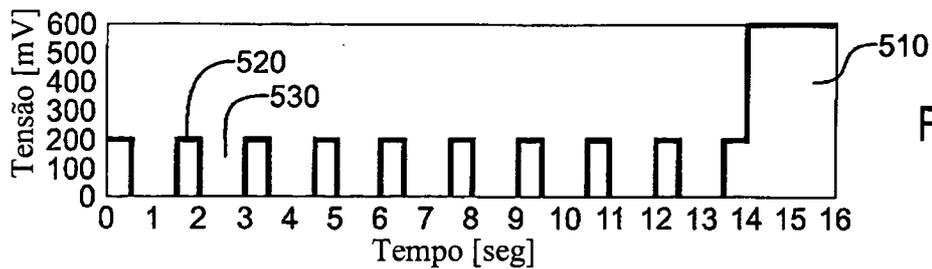


Fig.4B



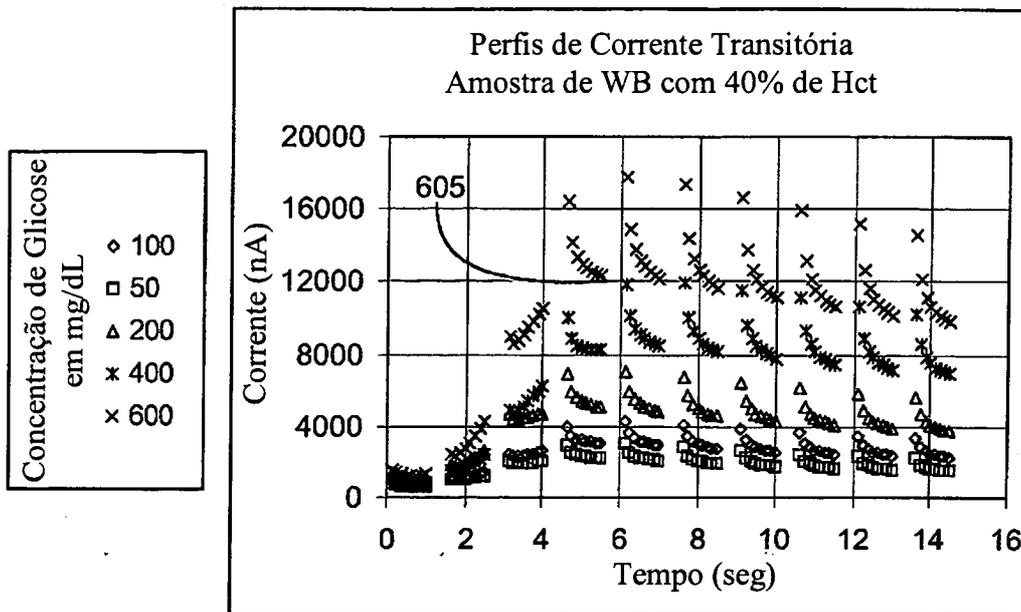


Fig.6A

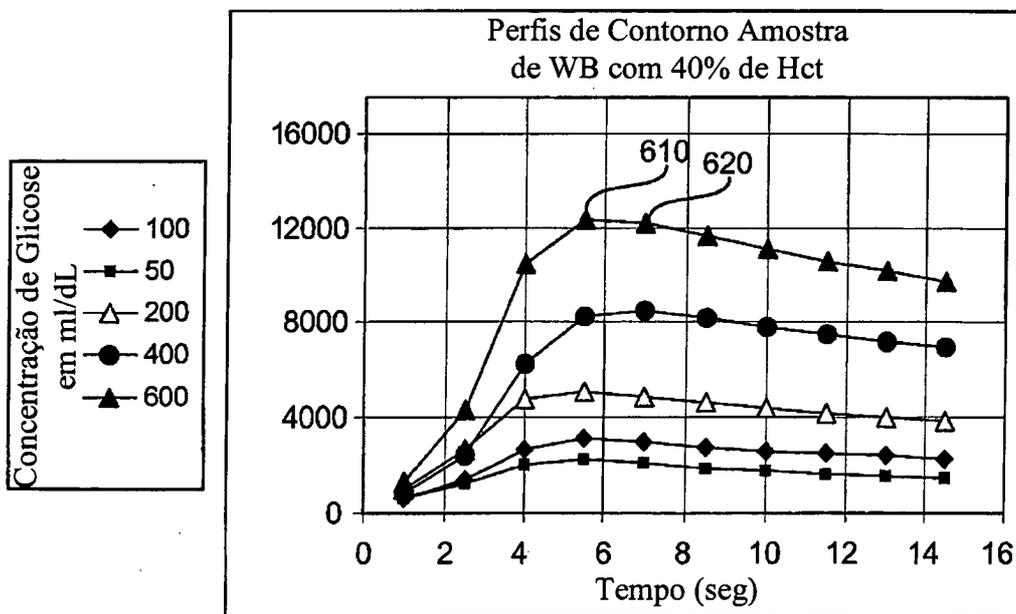


Fig.6B

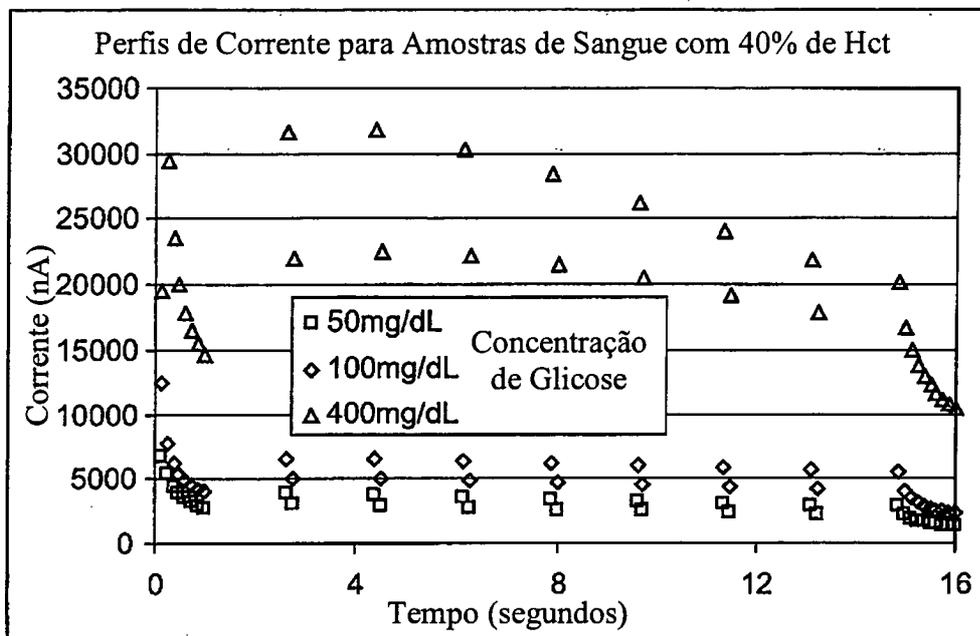
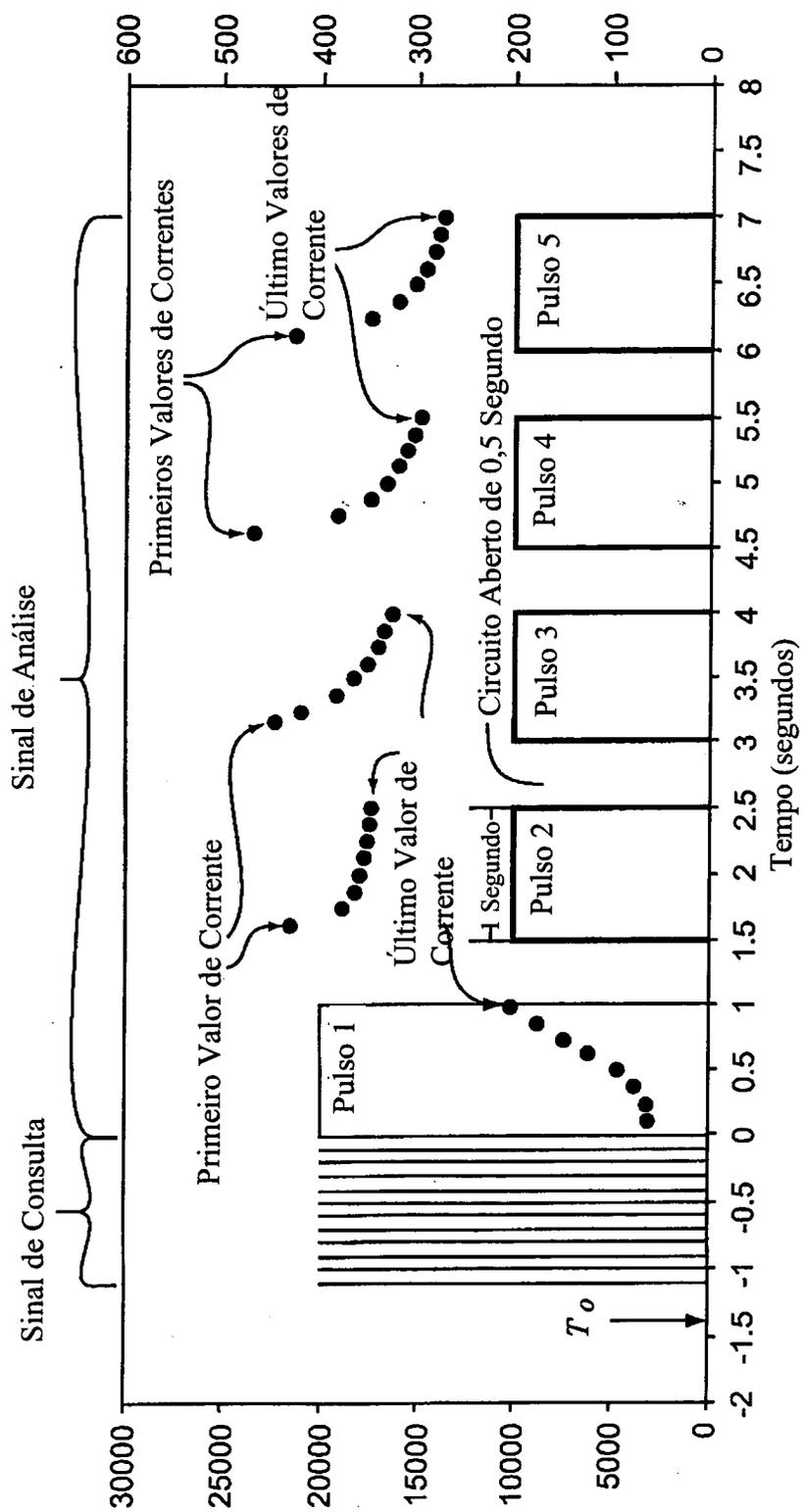


Fig.6C



— = Sinal de Entrada ● = Sinal de Saída

Fig.6D

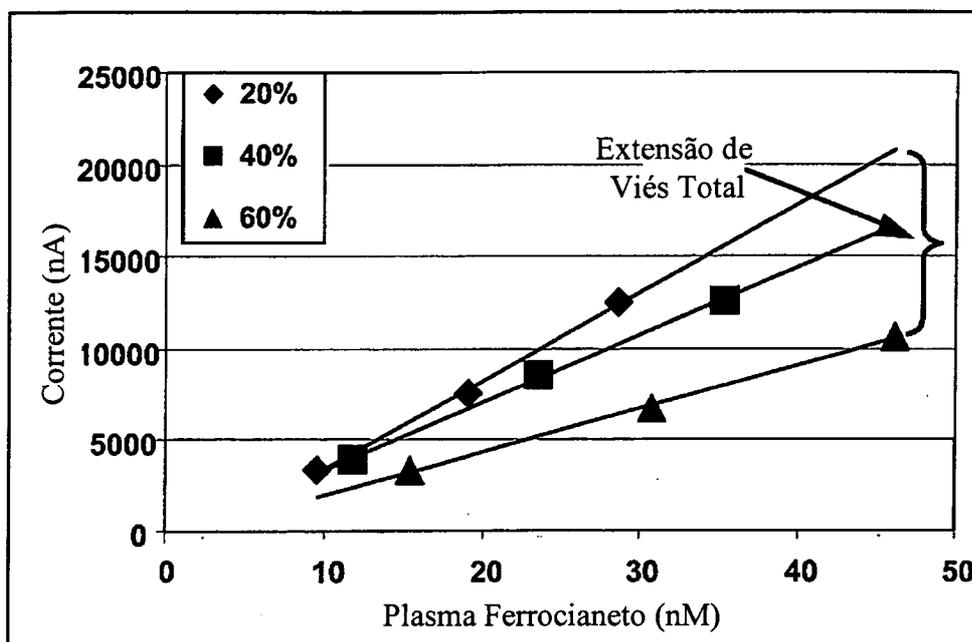


Fig.7A

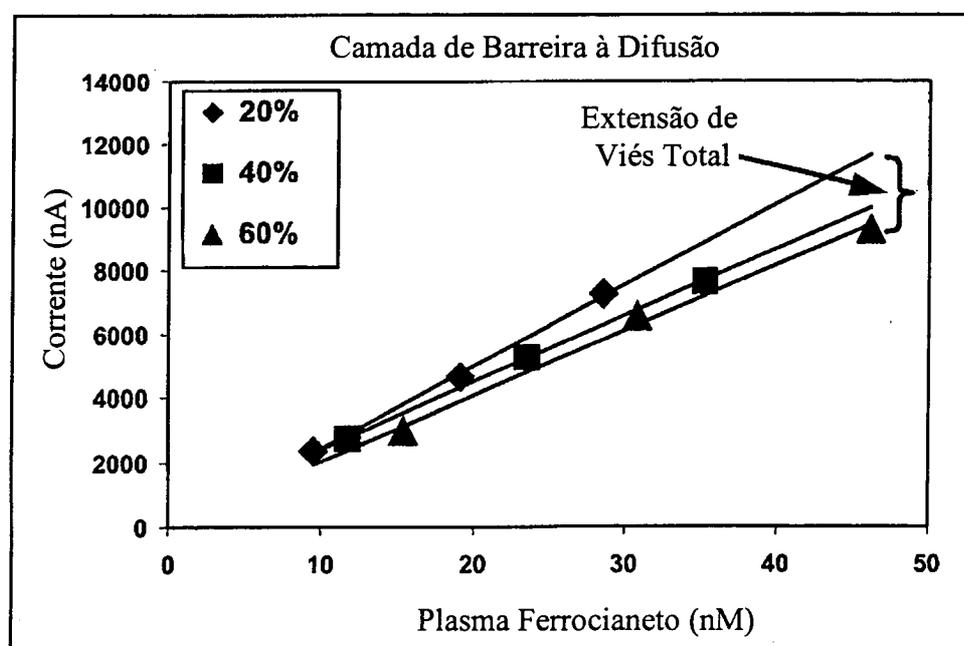


Fig.7B

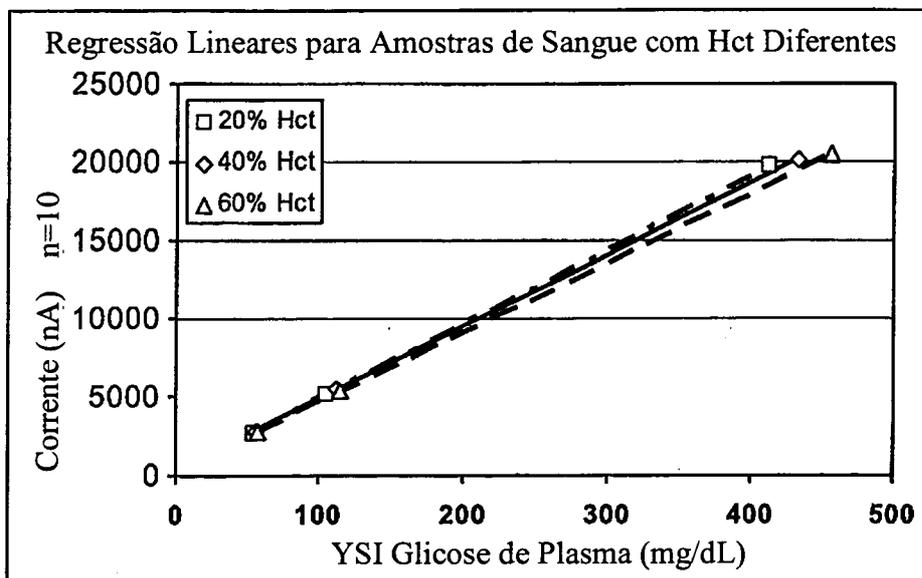


Fig.7C

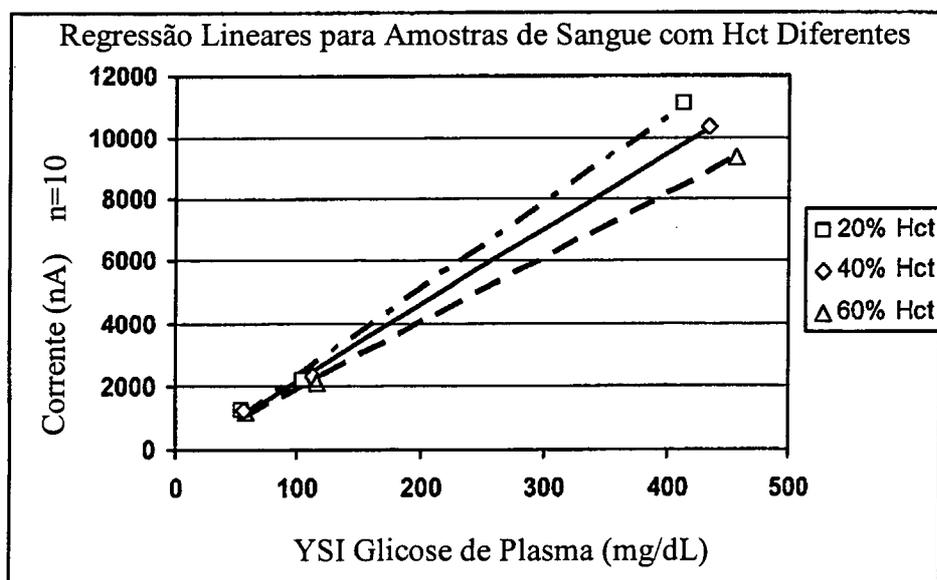


Fig.7D

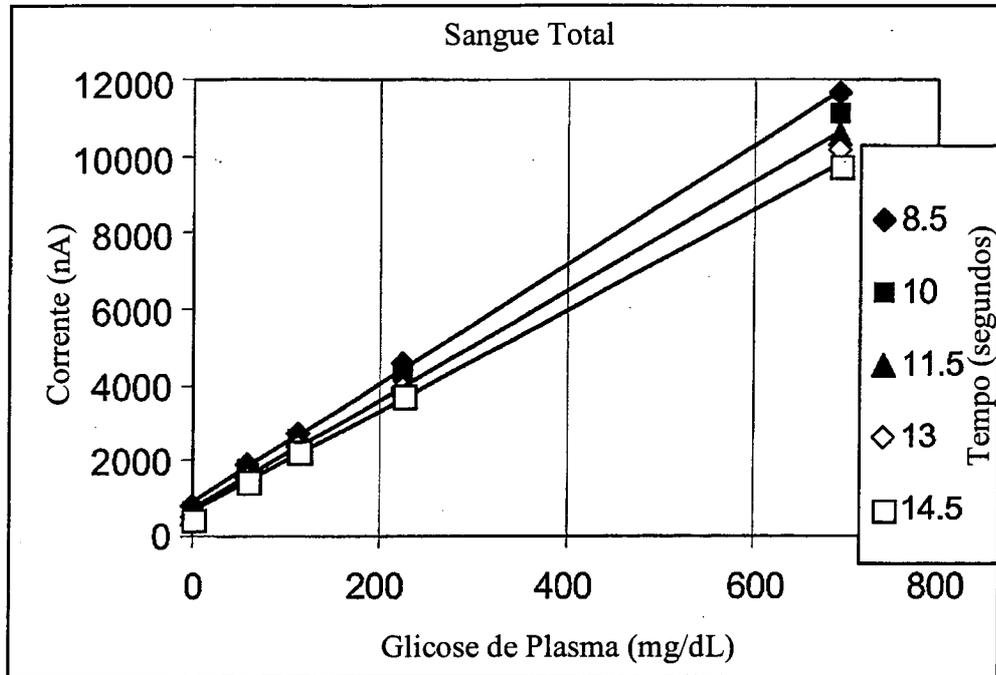
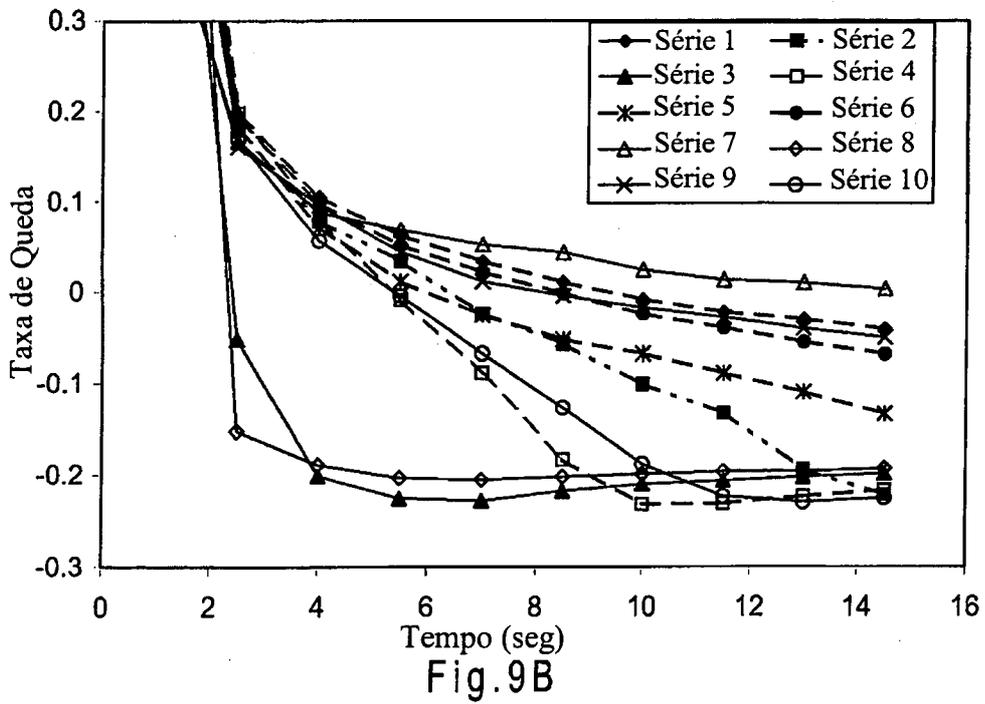
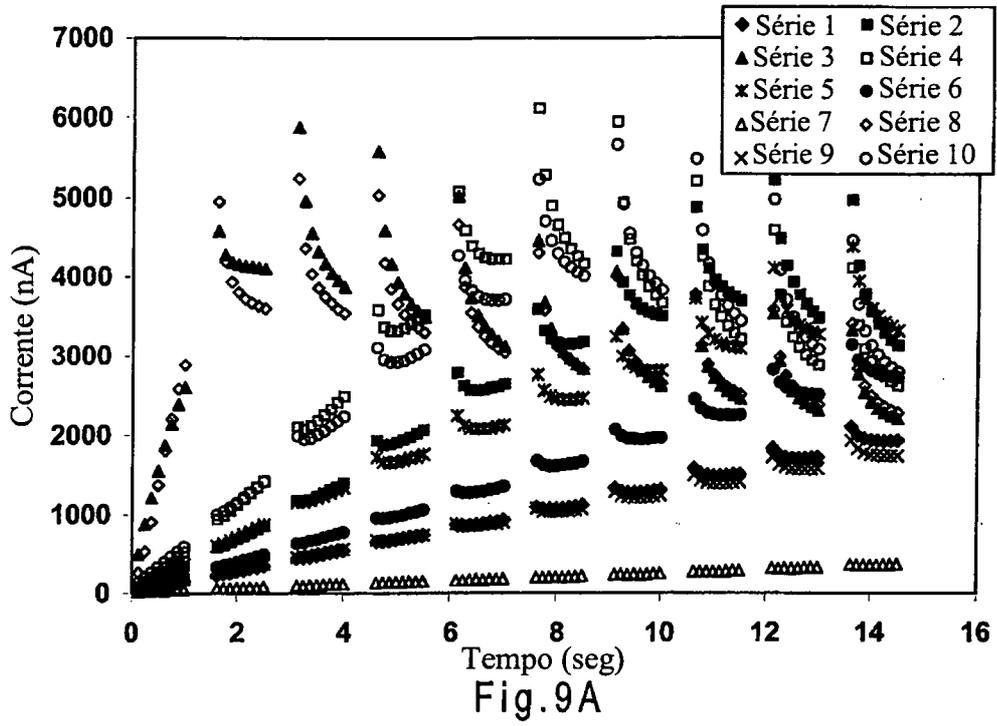


Fig.8



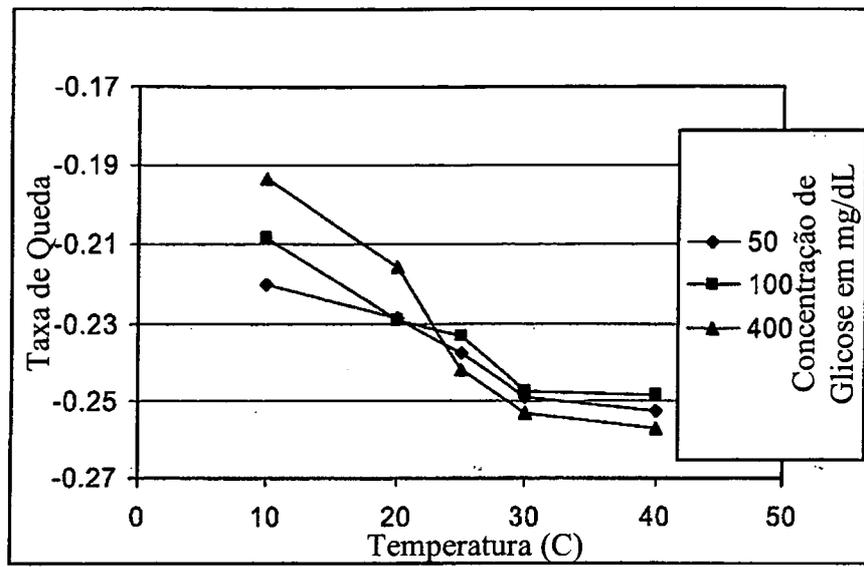


Fig.10

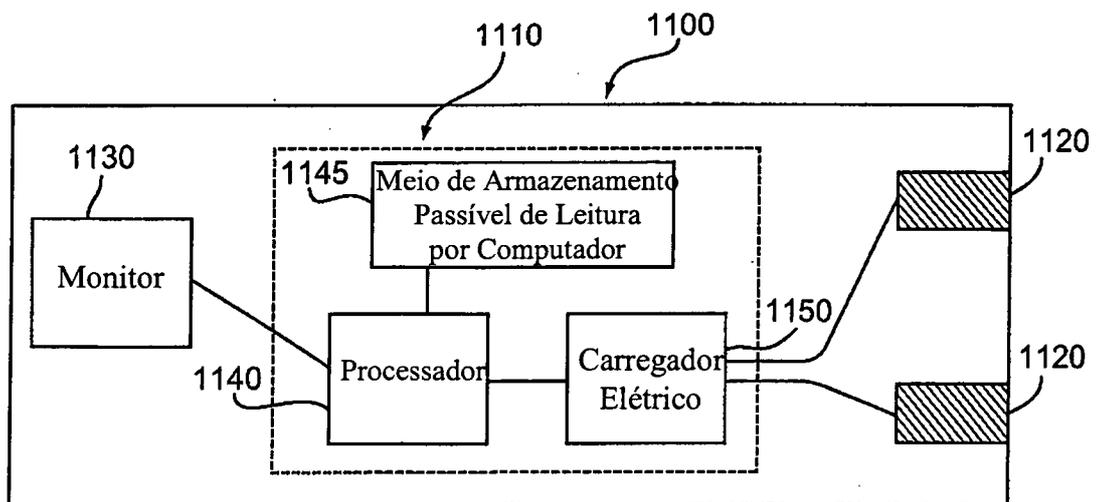


Fig.11

RESUMO

"AMPEROMETRIA CONECTADA POR PORTA"

São descritos um sistema sensor, um dispositivo e métodos para determinar a concentração de analito em uma amostra. Sequências de pulsos amperométricos conectadas por porta que incluem vários ciclos de atividade de excitações e relaxamentos sequenciais podem apresentar um tempo de análise mais curto e/ou aperfeiçoar a exatidão e/ou precisão da análise. As sequências de pulsos amperométricos conectadas por porta reveladas podem reduzir os erros de análise que surgem do efeito de hematócrito, da variância nos volumes da tampa-intervalo, das condições não estáveis, do fundo de mediador, do sub-enchimento, das alterações na temperatura na amostra e de um único conjunto de constantes de calibração.