

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

(21) **PI0616743-8 A2**

(22) Data de Depósito: 11/09/2006
(43) Data da Publicação: 28/06/2011
(RPI 2112)



(51) *Int.Cl.:*
G01N 27/48 2006.01
G01N 33/487 2006.01
C12Q 1/00 2006.01
A61B 5/00 2006.01

(54) Título: **MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS E DISPOSITIVOS PARA MEDIÇÃO DE ANALITO EM AMOSTRA**

(30) Prioridade Unionista: 30/09/2005 US 60/722,584

(73) Titular(es): BAYER HEALTHCARE LLC

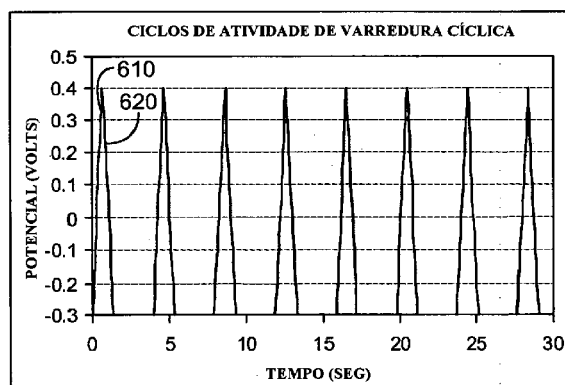
(72) Inventor(es): Huan Ping Wu

(74) Procurador(es): NELLIE ANNE DANIEL SHORES

(86) Pedido Internacional: PCT US2006035129 de 11/09/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/040913 de 12/04/2007

(57) Resumo: MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS E DISPOSITIVOS PARA MEDIÇÃO DE ANALITO EM AMOSTRA. Um sistema sensor, dispositivo e métodos para determinar a concentração de um analito em uma amostra são descritos. Sequências de pulsos voltamétricos sincronizados que incluem múltiplos ciclos de atividade de excitações e relaxamentos seqüenciais podem fornecer um tempo de análise mais curto e/ou podem aperfeiçoar a acurácia e/ou precisão da análise. As seqüências de pulsos descritas podem reduzir erros de análise que aparecem a partir do efeito hematócrito, variância em volumes do vão, condições de estado não estável, fundo mediador, um único conjunto de constantes de calibração, sub-preenchimento e mudanças no conteúdo de agente de ionização ativo da tira sensora.



"MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS E DISPOSITIVOS PARA MEDIÇÃO
DE ANALITO EM AMOSTRA"

Referência a Pedidos Relacionados

Esse pedido reivindica o benefício do Pedido Pro-
5 visório Norte-Americano No. 60/722.584 intitulado "Voltame-
tria Sincronizada" em 30 de Setembro de 2005, que é incor-
porado aqui como referência.

Fundamentos da Invenção

A determinação quantitativa de analitos em fluidos
10 biológicos é útil no diagnóstico e tratamento de anormali-
dades fisiológicas. Por exemplo, determinar o nível de gli-
cose em fluidos biológicos, tal como sangue, é importante
para indivíduos diabéticos que devem frequentemente verifi-
car seu nível de glicose para regular suas dietas e/ou me-
15 dicação.

Sistemas eletroquímicos têm sido usados para esse
tipo de análise. Durante a análise, o analito passa por uma
reação redox com uma enzima ou espécie similar para gerar
uma corrente elétrica que pode ser medida e correlacionada
20 com a concentração do analito. Um benefício substancial po-
de ser fornecido ao usuário diminuindo o tempo exigido para
a análise enquanto fornecendo a acurácia e a precisão dese-
jada.

Um exemplo de um sistema sensor eletroquímico para
25 analisar analitos em fluidos biológicos inclui um disposi-
tivo de medição e uma tira sensora. A tira sensora inclui
reagentes para reagirem e transferirem elétrons a partir do
analito durante a análise e eletrodos a passarem os elé-
trons através de condutores ao dispositivo. O dispositivo

de medição inclui contatos para receberem os elétrons a partir da tira e a capacidade de aplicar um diferencial de voltagem entre os contatos. O dispositivo pode registrar a corrente que está passando através do sensor e traduzir os valores de corrente em uma medição do conteúdo de analito da amostra. Esses sistemas sensores podem analisar uma única gota do sangue todo (WB), tal como a partir de 1-15 microlitros (μL) em volume.

Exemplo de dispositivos de medição de topo de bancada incluem o Analisador BAS 100B disponível a partir da BAS Instruments em West Lafayette, Indiana; o Analisar de Instrumento CH disponível a partir da CH Instruments em Austin, Texas; a Estação de Trabalho Eletroquímica Cypress disponível a partir da Cypress Systems em Lawrence, Kansas; e o Instrumento Eletroquímico EG&G disponível a partir da Princeton Research Instruments em Princeton, New Jersey. Exemplos de dispositivos de medição portáteis incluem os medidores Ascencia Breeze® e Elite® da Bayer Corporation.

A tira sensora pode incluir um eletrodo de trabalho onde o analito passa por reação eletroquímica e um contra-eletrodo onde a reação eletroquímica oposta ocorre, assim permitindo que a corrente flua entre os eletrodos. Assim, se oxidação ocorre no eletrodo de trabalho, a redução ocorre no contra-eletrodo. Ver, por exemplo, Fundamentos de Química Analítica, 4ª Edição, D.A. Skoog e D.M. West; Filadélfia: Saunders College Publishing (1982), pg. 304-341.

A tira sensora também pode incluir um eletrodo de referência verdadeiro para fornecer um potencial de refe-

rencia não variante ao dispositivo de medição. Enquanto múltiplos materiais de eletrodo de referência são conhecidos, uma mistura de prata (Ag) e cloreto de prata (AgCl) é típica devido a insolubilidade da mistura no ambiente aquoso da solução de análise. Um eletrodo de referência pode ser usado como o contra-eletrodo. Uma tira sensora usando tal combinação contra-eletrodo-referência é descrita na Patente Norte-Americana No. 5.820.551.

A tira sensora pode ser formada imprimindo os eletrodos em um substrato isolante usando múltiplas técnicas, tal como aquelas descritas na Patente Norte-Americana Nos. 6.531.040; 5.798.031; e 5.120.420. Uma ou mais camadas reagentes podem ser formadas revestindo-se um ou mais dos eletrodos, tal como o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo. Em um aspecto, mais do que um dos eletrodos pode ser revestido pela mesma camada reagente, tal como quando o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo são revestidos pela mesma composição. Em um outro aspecto, as camadas reagentes que têm diferentes composições podem ser impressas ou micro-depositadas no eletrodo de trabalho e no contra-eletrodo usando o método descrito em um pedido de patente provisório depositado em 24 de Outubro de 2003, No. Serial 60/513.817. Assim, a camada reagente no eletrodo de trabalho pode conter a enzima, o mediador, e um ligante enquanto a camada reagente no contra-eletrodo contém uma espécie redox solúvel, que poderia ser a mesma do mediador ou diferente, e um ligante.

A camada reagente pode incluir um agente de ionização para facilitar a oxidação ou a redução do analito, bem como quaisquer mediadores ou outras substâncias que auxiliam na transferência de elétrons entre o analito e o condutor. O agente de ionização pode ser uma enzima específica de analito, tal como glicose oxidase ou glicose desidrogenase, para catalisar a oxidação de glicose em uma amostra WB. A camada reagente também pode incluir um ligante que mantém a enzima e o mediador juntos. A tabela I, fornece combinações convencionais de enzimas e mediadores para uso com analitos específicos.

Analito	Enzima	Mediador
Glicose	Glicose Oxidase	Ferricianeto
Glicose	Glicose Desidrogenase	Ferricianeto
Colesterol	Colesterol Oxidase	Ferricianeto
Lactato	Lactato Oxidase	Ferricianeto
Ácido Úrico	Uricase	Ferricianeto
Álcool	Álcool Oxidase	Fenilenodiamina

Tabela I

O ligante pode incluir vários tipos de pesos moleculares de polímeros, tal como CMC (carboxil metil celulose) e/ou PEO (óxido polietileno). Em adição a ligar os reagentes juntos, o ligante pode auxiliar em filtrar células de sangue vermelhas, impedindo-os de revestir a superfície do eletrodo.

Exemplos de sistemas sensores eletroquímicos convencionais para analisar analitos em fluidos biológicos in-

cluem biosensores Precision® disponíveis a partir da Abbott em Abbott Park, Illinois; biosensores Accucheck® disponíveis a partir da Roche em Indianápolis, Indiana; e biosensores OneTouch Ultra® disponíveis a partir da Lifescan em
5 Milpitas, Califórnia.

Um método eletroquímico que foi usado para quantificar analitos em fluidos biológicos, em coulometria. Por exemplo, Heller e outros descreveram o método coulométrico para medições de glicose WB na Patente Norte-Americana No.
10 6.120.676. Em coulometria, a concentração de analito é quantificada oxidando-se exaustivamente o analito em um pequeno volume e integrando-se a corrente pelo tempo de oxidação para produzir a carga elétrica representando a concentração de analito. Assim, a coulometria captura a quantidade total de analito presente na tira sensora.
15

Um aspecto importante de coulometria é que em direção ao fim da curva de integração de carga vs. tempo, a taxa na qual a corrente muda com o tempo se torna substancialmente constante para resultar uma condição de estado
20 estável. Essa parte de estado estável da curva coulométrica forma uma região de nível relativamente plano, assim permitindo a determinação da corrente correspondente. Entretanto, o método coulométrico exige que a conversão completa do volume inteiro de analito alcance a condição de estado
25 estável. Como um resultado, esse método consome tempo e não fornece os resultados rápidos que os usuários de dispositivos eletroquímicos, tal como produtos de monitoramentos de glicose, demandam. Um outro problema com coulometria é que

o pequeno volume da célula sensora deve ser controlado de modo a fornecer resultados precisos, que podem ser difíceis com um dispositivo produzido em massa.

Um outro método eletroquímico que foi usado para quantificar analitos em fluidos biológicos em amperometria. Em amperometria, a corrente é medida durante um pulso lido à medida que um potencial constante (voltagem) é aplicado através do eletrodo de trabalho e do contra-eletrodo da tira sensora. A corrente medida é usada para quantificar o analito na amostra. A amperometria mede a taxa na qual a espécie eletroquimicamente ativa, tal como o analito, está sendo oxidada ou reduzida próxima ao eletrodo de trabalho. Muitas variações do método amperométrico para biosensores foram descritas, por exemplo, nas Patentes Norte-Americanas Nos. 5.620.579; 5.653.863; 6.153.069; e 6.413.411.

Uma desvantagem de métodos amperométricos convencionais é a natureza de estado não estável da corrente depois que um potencial é aplicado. A taxa de mudança de corrente com relação ao tempo é muito rápida inicialmente e se torna mais lenta à medida que a análise prossegue devido à natureza alterável do processo de difusão subjacente. Até que a taxa de consumo do mediador reduzido na superfície do eletrodo se iguale à taxa de difusão, uma corrente de estado estável não pode ser obtida. Assim, para métodos de amperometria convencionais, medir a corrente durante o período transiente antes que uma condição de estado estável é alcançada pode estar associado com mais imprecisão do que

uma medição obtida durante um período de tempo de estado estável.

O "efeito hematócrito" fornece um impedimento a analisar precisamente a concentração de glicose em amostras WB. As amostras WB contêm células de sangue vermelhas (RB) e plasma. O plasma é na maior parte água, mas contém algumas proteínas e glicose. Hematócrito é o volume da célula RB constituinte em relação ao volume total da amostra WB e é freqüentemente expresso como uma porcentagem. Enquanto amostras de sangue geralmente têm porcentagens de hematócritos na faixa de 20% a 60%, com ~40% sendo a média.

Em tiras sensoras convencionais, a glicose pode ser oxidada por uma enzima, que então transfere o elétron a um mediador. Esse mediador reduzido então viaja para o eletrodo de trabalho onde ele é oxidado eletroquimicamente. A quantidade de mediador que está sendo oxidada pode estar correlacionada à corrente fluindo entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo da tira sensora. Quantitativamente, a corrente medida no eletrodo de trabalho é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão do mediador. O efeito hematócrito interfere com esse processo porque as células RB bloqueiam a difusão do mediador ao eletrodo de trabalho. Subseqüentemente, o efeito hematócrito influencia na quantidade de corrente medida no eletrodo de trabalho sem qualquer conexão com a quantidade de glicose na amostra.

As amostras WB que têm concentrações variantes de células RB podem causar imprecisões na medição porque o sensor pode não distinguir entre uma concentração de media-

dor mais baixa e uma concentração de mediador mais alta onde as células RB bloqueiam a difusão ao eletrodo de trabalho. Por exemplo, quando as amostras WB contendo níveis de glicose idênticos, mas tendo hematócritos de 20, 40 e 60% são analisadas, três leituras de glicose diferentes serão relatadas por um sistema sensor convencional baseado em um conjunto de constantes de calibração (rampa e interseção, por exemplo). Apesar das concentrações de glicose serem as mesmas, o sistema relatará que a amostra de 20% de hematócrito contém mais glicose do que a amostra de 60% de hematócrito devido às células RB interferirem com a difusão do mediador ao eletrodo de trabalho.

A faixa de hematócrito normal (concentração RBC) para humanos é de 20% a 60% e é centrada em torno de 40%. A polarização de hematócrito se refere à diferença entre a concentração de glicose de referência obtida com um instrumento de referência, tal como o YSI 2300 STAT PLUSTM disponível a partir da YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, e uma leitura de glicose experimental obtida a partir de um sistema sensor portátil para amostras contendo diferentes níveis de hematócrito. A diferença entre a leitura de referência e a experimental resulta dos níveis de hematócrito variáveis entre amostras WB específicas.

Em adição ao efeito hematócrito, as imprecisões de medição também podem acontecer quando a concentração de espécies mensuráveis não se correlaciona com a contração 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 por oxidação do analito levará ao sistema sensor indicando que mais analito está presente na amostra do que é correto devido ao fundo mediador.

5 Em adição aos efeitos hematócrito e de fundo mediador, outros fatores também levam a imprecisões na capacidade de um sistema sensor eletroquímico convencional determinar a concentração de um analito em uma amostra. Em um aspecto, essas imprecisões podem ser introduzidas porque a
10 parte da tira sensora que contém a amostra pode variar em volume de tira para tira. Imprecisões podem também ser introduzidas quando amostra suficiente não é fornecida para completamente preencher o volume do vão, uma condição referida como um sub-preenchimento. Em outros aspectos, imprecisões podem ser introduzidas na medição por "ruído" alea-
15 tório e quando o sistema sensor carece da capacidade de precisamente determinar mudanças de temperatura na amostra.

 Em uma tentativa de superar uma ou mais dessas desvantagens, sistemas sensores convencionais têm tentado
20 múltiplas técnicas, não somente com relação projeto mecânico da tira sensora e seleção de reagente, mas também considerando a maneira na qual o dispositivo de medição aplica o potencial elétrico à tira. Por exemplo, métodos convencionais de reduzir o efeito hematócrito para sensores ampero-
25 métricos incluem o uso de filtros, como descrito nas Patentes Norte-Americanas Nos. 5.708.247 e 5.951.836; reverter a polaridade da corrente aplicada, como descrito em WO 01/57510; e por métodos que maximizam a resistência ineren-

te da amostra, como descrito na Patente Norte-Americana No. 5.628.890.

Múltiplos métodos de aplicar o potencial elétrico à tira, usualmente referidos como métodos de pulso, seqüências, ou ciclos, têm sido usados para abordar imprecisões na concentração de analito determinada. Por exemplo, na Patente Norte-Americana No. 4.897.162, o método de pulso inclui uma aplicação contínua de potencias de voltagem elevando e caindo que são misturados para dar uma onda de forma triangular. Além disso, WO 2004/053476 e os Documentos de Patente Norte-Americana 2003/0178322 e 2003/0113933 descreve métodos de pulso que incluem a aplicação contínua de potenciais de voltagem elevando e caindo que também mudam a polaridade.

Outros métodos convencionais combinam uma configuração de eletrodo específica com uma seqüência de pulsos adaptada a essa configuração. Por exemplo, a Patente Norte-Americana No. 5.942.102 combina a configuração de eletrodo específica fornecida por uma célula de fina camada com um pulso contínuo tal que os produtos da reação a partir do contra-eletrodo cheguem no eletrodo de trabalho. Essa combinação é usada para acionar a reação até que a mudança de corrente versus tempo se torne constante, assim alcançando uma condição de estado estável verdadeiro para o mediador se movendo entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo durante a etapa de potencial. Enquanto cada um desses métodos equilibra várias vantagens e desvantagens, nenhum é ideal.

Como pode ser visto a partir da descrição acima, há uma necessidade em andamento por sistemas sensores eletroquímicos aperfeiçoados, especialmente aqueles que podem fornecer determinação crescentemente precisa da concentração de analito em menos tempo. Os sistemas, dispositivos e métodos da presente invenção superam pelo menos uma das desvantagens associadas com sistemas convencionais.

Sumário da Invenção

Um método voltamétrico de determinar a concentração de um analito em uma amostra é fornecido, o qual inclui aplicar uma seqüência de pulsos à amostra e medir as correntes resultantes, a seqüência de pulsos inclui pelo menos dois ciclos de atividade. Em adição a pelo menos dois ciclos de atividade, a seqüência de pulsos pode incluir um pulso de leitura terminal e/ou um retardo de tempo inicial e pode ser aplicada a uma tira sensora incluindo uma camada de barreira de difusão em um eletrodo de trabalho. O método pode incluir menos polarização atribuível ao fundo mediador do que uma concentração do analito determinada a partir de um outro método ou a partir de um método voltamétrico corrente de uma seqüência de pulsos compreendendo pelo menos dois ciclos de atividade. A amostra pode ser um líquido incluindo um fluido biológico e o analito pode ser glicose.

Os ciclos de atividade podem incluir uma excitação incluindo um potencial variado com o tempo ou um potencial variado linearmente com o tempo, tal como linear, cíclica, acíclica, ou uma combinação desses tipos de excitação. Um valor de corrente pode ser registrado durante cada uma das

excitações e a sequência de pulsos pode incluir um pulso de leitura terminal. Os ciclos de atividade podem incluir excitações acíclicas substancialmente excluindo um pico de oxidação reversa ou um pico de redução reversa e podem reduzir a concentração de um mediador na amostra não responsivo ao analito em relação ao método onde os ciclos de atividade compreendem excitações cíclicas. Os ciclos de atividade podem incluir excitações acíclicas terminando antes da iniciação de um pico de corrente reversa, as excitações acíclicas substancialmente excluem picos de oxidação e de redução direta e reversa, ou excitações acíclicas substancialmente em uma região de corrente limitada por difusão de um par redox.

O método pode incluir a determinação de pelo menos um perfil de contorno e pode incluir aplicar pelo menos um tratamento de dados, tal como semi-integral, semiderivada, ou derivada, às correntes resultantes. O método também pode incluir determinar uma pluralidade de conjuntos de calibração a partir das correntes e determinar o número de ciclos de atividade a partir da pluralidade de conjuntos de calibração. A determinação da concentração de analito pode incluir múltiplos valores de concentração média obtidos a partir da pluralidade de conjuntos de calibração.

O método também pode incluir determinar se uma tira sensora contendo a amostra está sub-preenchida com a amostra. Essa determinação pode incluir comparar pelo menos um valor de corrente a um valor pré-selecionado. O método também pode incluir determinar o conteúdo de agente de io-

nização ativo de uma tira sensora, uma determinação que pode ser feita determinando-se uma relação dos valores de corrente de varredura direta e reversa. Em um aspecto, essa relação foi previamente correlacionada a quantidades conhecidas do agente de ionização ativo. Em um outro aspecto, uma rampa de calibração pode ser alterada em resposta ao conteúdo de agente de ionização ativo da tira sensora. Em um outro aspecto, a relação de tempo de excitação/relaxamento dos ciclos de atividade pode ser de 0,3 a 0,2.

Um dispositivo de medição de analito portátil é fornecido para determinar a concentração de um analito em uma amostra. O dispositivo inclui um dispositivo de medição voltamétrica ligado por porta lógica adaptado para receber uma tira sensora. O dispositivo de medição amperométrica ligado com porta lógica inclui pelo menos dois contatos de dispositivo em comunicação elétrica com uma tela através de circuito elétrico. A tira sensora inclui pelo menos primeiro e segundo contatos de tira sensora. O primeiro contato de tira sensora está em comunicação elétrica com um contra-eletrodo através de condutores. Uma primeira camada reagente está em pelo menos um dos eletrodos e inclui uma oxido-reductase e pelo menos uma espécie de par redox. Os eletrodos podem estar no mesmo substrato ou em diferentes substratos.

Um dispositivo de medição portátil adaptado para receber uma tira sensora é fornecido para determinar a concentração de um analito em uma amostra. O dispositivo in-

clui contatos, pelo menos uma tela, e circuito eletrônico estabelecendo comunicação elétrica entre os contatos e a tela. O circuito inclui um carregador elétrico e um processador, onde o processador está em comunicação elétrica com um meio de armazenamento legível por computador. O meio inclui código de software legível por computador, que quando executado pelo processador, leva o carregador a implementar uma sequência de pulsos voltamétricos sincronizados incluindo pelo menos dois ciclos de atividade.

10 Um método de reduzir a polarização atribuível ao fundo mediador em uma concentração determinada de um analito em uma amostra é fornecido, o qual inclui aplicar uma sequência de pulsos voltamétricos sincronizados incluindo pelo menos dois ciclos de atividade.

15 Um método de determinar a duração de uma sequência de pulsos incluindo pelo menos 2 ciclos de atividade, para determinar a concentração de um analito em uma amostra é fornecido, o qual inclui determinar uma pluralidade de conjuntos de constantes de calibração determinados a partir de correntes registradas durante pelo menos 2 ciclos de atividade e determinar a duração da sequência de pulsos em resposta à concentração determinada do analito na amostra. A sequência de pulsos pode se uma sequência de pulsos voltamétricos sincronizados.

25 Um método de sinalizar a um usuário para adicionar amostra a uma tira sensora é fornecido, o qual inclui determinar se a tira sensora está sub-preenchida comparando-se pelo menos um valor de corrente registrado a

partir de uma seqüência de pulsos incluindo pelo menos 2 ciclos de atividade a um valor pré-selecionado e sinalizar ao usuário para adicionar amostra adicional à tira sensora se a tira está sub-preenchida. A seqüência de pulsos pode ser uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados. A tira sensora pode incluir dois eletrodos e a determinação pode ser executada em menos do que cinco segundos.

Um método voltamétrico de determinar a concentração de um analito em uma amostra é fornecido, o qual inclui aplicar uma seqüência de pulsos à amostra e medir as correntes resultantes, a seqüência de pulsos inclui pelo menos 2 ciclos de atividade tendo relações de tempo de excitação/relaxamento de 0,3 a 0,2. O método pode ser mais preciso do que uma concentração do analito determinada a partir de um outro método onde a relação de tempo de excitação/relaxamento é maior do que 0,3.

Um método eletroquímico para determinar a concentração de uma analito em uma amostra é fornecido, o qual inclui um aperfeiçoamento incluindo aplicar uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados à amostra incluindo pelo menos 2 ciclos de atividade.

As seguintes definições são incluídas para fornecer um entendimento claro e consistente da especificação e das reivindicações.

O termo "analito" é definido como uma ou mais substancias 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 quantidade desconhecida do analito. Tipicamente, uma amostra para análise eletroquímica está na forma líquida, e preferencialmente a amostra é uma mistura aquosa. Uma amostra pode ser uma amostra biológica, tal como sangue, urina, ou saliva. Uma amostra pode ser uma derivada de uma amostra biológica, tal como um extrato, uma diluição, um filtrado, ou um precipitado reconstituído.

O termo "voltametria" é definido como um método de análise onde a concentração de um analito em uma amostra é determinada por medir eletroquimicamente a taxa de oxidação ou redução do analito em um potencial variável.

O termo "sistema" ou "sistema sensor" é definido como uma tira sensora em comunicação elétrica através de seus condutores com um dispositivo de medição, que permite a quantificação de um analito em uma amostra.

O termo "tira sensora" é definido como um dispositivo que contém a amostra durante a análise e fornece comunicação elétrica entre a amostra e o dispositivo de medição. A parte da tira sensora que contém a amostra é frequentemente chamada de "vão".

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 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 também

inclui a capacidade de processamento para determinar a presença e/ou concentração de um ou mais analitos em resposta aos valores de corrente registrados.

5 O termo "acurácia" é definido como quão próxima a quantidade de analito medida por uma tira sensora corresponde à quantidade verdadeira de analito na amostra. Em um aspecto, a acurácia pode ser expressa em termos de polarização.

10 O termo "precisão" é definido como quão próximas múltiplas medições de analito estão para a mesma amostra. Em um aspecto, a precisão pode ser expressa em termos do spread ou variância entre múltiplas medições.

15 O termo "reação redox" é definido como uma reação química entre duas espécies envolvendo 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 oxidação meia célula da reação envolve a perda de pelo menos um elétron pela primeira espécie, enquanto a redução meia célula envolve a adição de pelo menos
20 um elétron à segunda espécie. A carga iônica de uma espécie que é oxidada é feita mais positiva por uma quantidade igual ao número de elétrons removidos. Igualmente, a carga iônica de uma espécie que é reduzida é feita menos positiva por uma quantidade igual ao número de elétrons ganhos.

25 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 fornece a

medição direta 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 então passa pela reação oposta no eletrodo de trabalho da tira sensora e é regenerado para seu número de oxidação original.

O termo "ligante" é definido como um material que fornece suporte físico e contenção para os reagentes enquanto tendo compatibilidade química com os reagentes.

O termo "fundo mediador" é definido como a polarização introduzida na concentração de analito medida atribuível a espécies mensuráveis não responsivas à concentração de analito subjacente.

O termo "espécie mensurável" é definido como qualquer espécie eletroquimicamente ativa que pode ser oxidada ou reduzida sob um material apropriado no eletrodo de trabalho de uma tira sensora eletroquímica. Exemplos de espécies mensuráveis incluem analitos, oxidoredutases, e mediadores.

O termo "sub-preenchimento" é definido como quando amostra insuficiente foi introduzida na tira sensora para obter uma análise precisa.

O termo "par redox" é definido como duas espécies conjugadas de uma substância química tendo diferentes números de oxidação. A redução das espécies tendo o número de oxidação mais alto produz as espécies que têm o número de oxidação mais baixo. Alternativamente, a oxidação das espé-

cies que têm número de oxidação mais baixo produz as espécies que têm o número de oxidação mais alto.

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

O termo "par redox reversível" é definido como um par de espécies redox onde a separação entre as varreduras direta e reversa do semi-integral é no máximo 30 mV na meia altura da transição si_{ss} . Por exemplo, na FIG. 10A, as varreduras semi-integrais direta e reversa para o par redox ferricianeto/ferrocianeto em adição à altura de transição si_{ss} são mostradas. Na linha onde a linha de transição si_{ss} de meia altura intercepta as linhas de varredura direta e reversa, a separação entre as linhas é 29 mV, estabelecendo a reversibilidade do par redox ferricianeto/ferrocianeto na taxa de varredura representada.

O termo "par redox quase reversível" é definido como um par redox onde a separação entre as varreduras direta e reversa do semi-integral é maior do que 30 mV na meia altura da transição si_{ss} para o par redox.

O termo "espécie redox solúvel" é definido como uma substância que é capaz de passar por oxidação ou redução e que é solúvel em água (pH 7,25° C) em um nível de pelo menos 1,0 grama por Litro. As espécies redox solúveis incluem moléculas orgânicas eletroativas, complexos de metal de organotransição, e complexos de coordenação de metal de

transição. O termo "espécie redox solúvel" exclui metais elementares e íons de metal solitários, especialmente aqueles que são insolúveis ou moderadamente solúveis em água.

O termo "oxidoreductase" é definido como qualquer
5 enzima que facilita a oxidação ou redução de um analito. Uma oxidoreductase é um reagente. O termo oxidoreductase inclui "oxidases", que facilitam reações de oxidação onde o oxigênio molecular é o aceitador de elétrons; "reductases", que facilitam as reações de redução onde o analito é redu-
10 zido e o oxigênio molecular não é o analito; e "desidrogenases", que facilitam as reações de oxidação onde oxigênio molecular não é o aceitador de elétrons. Ver, por exemplo, Dicionário Oxford de Bioquímica e Biologia Molecular, Edição Revisada, Ed. A. D. Smith, New York: Oxford University
15 Press (1997), pg. 161, 476, 477 e 560.

O termo "molécula orgânica eletroativa" é definido como uma molécula orgânica carente de um metal que é capaz de passar por uma reação de oxidação ou redução. Moléculas orgânicas eletroativas podem servir como mediadores.

20 O termo "complexo de metal de organotransição", também referido como "complexo OTM" é definido como um complexo onde um metal de transição é ligado a pelo menos um átomo de carbono através de uma ligação sigma (carga formal de -1 no átomo de carbono ligado por sigma ao metal de
25 transição) ou uma ligação pi (carga formal de 0 nos átomos de carbono ligados por pi ao metal de transição). Por exemplo, ferroceno é um complexo OTM com dois anéis de ciclopentadienil (Cp), cada um ligado através de seus cinco áto-

mos de carbono a um centro de ferro por duas ligações π e uma ligação σ . Um outro exemplo de um complexo OTM é ferricianeto (III) e sua contra-parte de ferrocianeto (II) reduzida, onde seis ligantes ciano (carga forma de -1 em
5 cada um dos 6 ligantes) são ligadas por σ a um centro de ferro através de átomos de carbono.

O termo "complexo de coordenação" é definido como um complexo que tem geometria de coordenação bem definida, tal como octaedro ou quadrado plano. Diferente de complexos
10 OTM, que são definidos por sua ligação, complexos de coordenação são definidos por sua geometria. Assim, os complexos de coordenação podem ser complexos OTM (tal como o ferricianeto previamente mencionado), ou complexos onde átomos de não metal além de carbono, tal como heteroátomos inclu-
15 indo nitrogênio, enxofre, oxigênio, e fósforo, são ligados de forma dativa ao centro de metal de transição. Por exemplo, rutênio hexamina é um complexo de coordenação que tem uma geometria de octaedro bem definida onde seis ligantes NH_3 (carga formal de 0 em cada um dos 6 ligantes) são liga-
20 dos de forma dativa ao centro de rutênio. Uma discussão mais completa de complexos de metal de organotransição, complexos de coordenação, e ligação de metal de transição podem ser encontrados em Collman e outros, Princípios e A-
25 Miessler e Tarr, Química Orgânica (1991).

O termo "estado estável" é definido como quando a mudança em sinal eletromagnético (corrente) com relação a

sua entrada independente variável (voltagem ou tempo) é substancialmente constante, tal como dentro de ± 10 ou $\pm 5\%$.

O termo "relativamente constante" é definido como quando a mudança em um valor de corrente ou uma taxa de difusão está dentro de ± 20 , ± 10 , ou $\pm 5\%$.

O termo "ponto de reversão" é definido como o ponto em uma varredura cíclica ou acíclica quando a varredura direta é parada e a varredura reversa é iniciada.

O termo "excitação linear" é definido como uma excitação onde a voltagem é variada em uma única direção "direta" em uma taxa fixa, tal como de $-0,5$ V a $0,5$ V para fornecer uma faixa de excitação de $1,0$ V. A faixa de excitação pode cobrir o estado reduzido e o oxidado de um par redox tal que uma transição de um estado para o outro ocorre. Uma excitação linear pode ser aproximada por uma série de mudanças incrementais em potencial. Se os incrementos ocorrem muito próximos no tempo, eles correspondem a uma excitação linear contínua. Assim, aplicar uma mudança de potencial aproximando uma mudança linear pode ser considerado uma excitação linear.

O termo "excitação linear" é definido como uma combinação de uma excitação direta linear e uma excitação reversa linear onde a faixa de excitação inclui os picos de oxidação e redução de um par redox. Por exemplo, variar o potencial de uma maneira cíclica de $-0,5$ V a $+0,5$ V e de volta para $-0,5$ V é um exemplo de uma excitação cíclica para o par redox ferricianeto/ferrocianeto como usado em um

sensor de glicose, onde ambos os picos de oxidação e de redução estão incluídos na faixa de excitação.

O termo "excitação acíclica" é definido em um aspecto como uma excitação que inclui mais do que um pico direto ou reverso do que o outro pico de corrente. Por exemplo, uma excitação incluindo excitações lineares direta e reversa onde a excitação direta é iniciada em uma voltagem diferente do que onde a excitação reversa para, tal como de -0,5 V a +0,5 V e de volta para +0,25 V, é um exemplo de uma excitação acíclica. Em um outro exemplo, uma excitação acíclica pode iniciar e terminar em substancialmente a mesma voltagem quando a excitação é iniciada no máximo em ± 20 , ± 10 , ou ± 5 mV do potencial formal E° do par redox. Em um outro aspecto, uma excitação acíclica é definida como uma excitação que inclui excitações lineares direta e reversa que substancialmente excluem os picos de oxidação e de redução de um par redox. Por exemplo, a excitação pode iniciar, reverter, e terminar na região limitada de difusão de um par redox, assim excluindo os picos de oxidação e de redução do par.

Os termos "excitação rápida", "taxa de excitação rápida", "varredura rápida", e "taxa de varredura rápida" são definidos como uma excitação onde a voltagem é mudada e uma taxa de pelo menos 176 mV/seg. Taxas preferenciais de excitação rápida são taxas maiores do que 200, 500, 1.000 ou 2.000 mV/seg.

Os termos "excitação lenta", "taxa de excitação lenta", "varredura lenta", e "taxa de varredura lenta" são

definidos como uma excitação onde a voltagem é mudada em uma taxa de no máximo 175 mV/seg. Taxas de excitação lenta preferenciais são taxas mais lentas do que 150, 100, 50 ou 10 mV/seg.

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 usado porque a superfície superior da camada é irregular, tendo picos e vales.

10 O termo "intensidade redox" (RI) é definido como o tempo de excitação total dividido pela soma do tempo de excitação total e os retardos de tempo de relaxamento total para uma sequência de pulsos.

15 O termo "dispositivo portátil" é definido como um dispositivo que pode ser mantido em uma mão humana e é portátil. Um exemplo de um dispositivo portátil é o dispositivo de medição executando o Sistema de Monitoramento de Glicose no Sangue Ascensia® Elite, disponível a partir da Bayer HealthCare, LLC, Elkhart, IN.

20 O termo "sobre" é definido como "acima" e é relativo à orientação sendo descrita. Por exemplo, se um primeiro elemento é depositado sobre pelo menos uma parte de um segundo elemento, o primeiro elemento é dito como sendo "depositado sobre" o segundo. Em um outro exemplo, se um primeiro elemento está presente acima de pelo menos uma
25 parte de um segundo elemento, o primeiro elemento é dito como estando "sobre" o segundo. O uso do termo "sobre" não exclui a presença de substancias entre o elemento superior e o inferior sendo descritos. Por exemplo, um primeiro ele-

mento pode ter um revestimento sobre sua superfície superior, ainda um segundo elemento sobre pelo menos uma parte do primeiro elemento e seu revestimento superior pode ser descrito como "sobre" o primeiro elemento. Assim, o uso do
5 termo "sobre" pode ou não significar que os dois elementos sendo relatados estão em contato físico.

Breve Descrição dos Desenhos

A invenção pode ser mais bem entendida com relação aos seguintes desenhos e descrição. Os componentes nas figuras não estão necessariamente em escala, ênfase ao invés
10 de serem localizados mediante a ilustração dos princípios da invenção. Além disso, nas figuras, números similares designam partes correspondentes por todas as vistas diferentes.

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

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

20 A FIG. 2 representa um diagrama de vista de extremidade da tira sensora da FIG. 1B.

As FIGs. 3A e 3B representam um eletrodo de trabalho que tem uma superfície condutora e um DBL durante a aplicação de pulsos de leitura longos e curtos.

25 As FIGs. 4A e 4B são gráficos que ilustram o aperfeiçoamento em acurácia de medição quando o DBL é combinado com uma curta excitação.

A FIG. 5 representa um método analítico eletroquímico de determinar a presença e concentração de um analito em uma amostra.

5 As FIGs. 6A-6F representam seis exemplos de seqüências de pulsos onde múltiplos ciclos de atividade foram aplicados à tira sensora depois da introdução da amostra.

A FIG. 7A é um gráfico que mostra um voltamograma cíclico de um sistema sensor.

10 A FIG. 7B compara uma varredura cíclica com uma varredura acíclica, onde a excitação direta da varredura acíclica foi iniciada próxima ao potencial formal $E^{\circ'}$ para o par redox.

A FIG. 7C mostra uma varredura acíclica, onde a varredura reversa é terminada no pico de corrente reversa.

15 A FIG. 7D mostra uma varredura cíclica com uma varredura acíclica sobreposta na região DLC.

As FIGs. 8A-8D mostram as correntes de saída representadas como voltamogramas da seqüência de pulsos representada na FIG. 6C para amostras WB com 40% de hematócritos contendo 50, 100, e 400 mg/dL de glicose.

As FIGs. 9A-9C mostram perfis de contorno dos voltamogramas das FIGs. 8A-8C.

A FIG. 10A é um gráfico da semi-integral correspondente ao voltamograma cíclico da FIG. 7A.

25 A FIG. 10B apresenta a semi-integral dos dados acíclicos correspondentes ao voltamograma acíclico da FIG. 7C.

A FIG. 10C apresenta as semi-integrais das excitações cíclicas e acíclicas da FIG. 7B.

A FIG. 10D mostra os valores semi-integrais e registrados para a excitação acíclica da FIG. 7D.

5 A FIG. 11 mostra perfis de contorno preparados por voltamogramas de semi-integração de uma sequência de pulso de sete excitações para amostras WB contendo quantidades variáveis de glicose.

10 A FIG. 12A representa o voltamograma cíclico, semi-integral, e de semiderivada de 16 mM de ferrocianeto em uma amostra WB com 20% de hematócritos.

A FIG. 12B é um aumento da curva semiderivada da FIG. 12A.

15 As FIGs. 13A-13C representam as derivadas de voltamogramas cíclicos.

A FIG. 14 representa as correntes semi-integrais registradas como uma função do tempo para os perfis de contorno da FIG. 11.

20 A FIG. 15 representa os voltamogramas cíclicos obtidos a partir de uma tira sensora sub-preenchida.

A FIG. 16A representa gráficos semi-integrais de voltamogramas cíclicos obtidos a partir de cinco tiras sensoras com taxas de varredura de 1V/seg para uma amostra incluindo 100 mg/dL de glicose e 40% de hematócritos em WB.

25 A FIG. 16B representa a relação dos valores de corrente de varredura direta e reversa obtidos no potencial de 0,15 como uma função de concentração de enzimas.

A FIG. 16C representa uma reposta típica da rampa da calibração de resposta linear da tira sensora como uma função do conteúdo GO (% peso seco).

5 A FIG. 17 é uma representação esquemática de um dispositivo de medição.

Descrição Detalhada da Invenção

Um sistema analítico eletroquímico determina a concentração de analitos em uma amostra, tal como a concentração de glicose de sangue todo. O sistema inclui pelo menos um dispositivo que aplica seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados incluindo múltiplos ciclos de atividade à amostra. Cada ciclo de atividade inclui uma excitação linear, cíclica ou acíclica durante a qual correntes (amperagem) são medidas a partir de uma tira sensora enquanto um potencial (voltagem) aplicado à tira é variado linearmente com o tempo. Cada ciclo de atividade também inclui um relaxamento que pode ser fornecido por um circuito aberto. O sistema pode comparar os dados de corrente resultantes para determinar a concentração do analito na amostra, enquanto corrigindo os resultados para variações em fatores responsáveis a não analito. O sistema também pode aplicar um ou mais tratamentos de dados, incluindo aqueles baseados em semi-integração, derivadas, ou semiderivadas para analisar os dados voltamétricos.

25 As seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados podem fornecer acurácia e precisão aperfeiçoadas à análise, enquanto reduzindo o tempo de término da análise. Erros de acurácia introduzidos pelo efeito hematócrito e er-

ros de precisão introduzidos por variação do volume de vão podem ser reduzidos através da combinação de uma camada de barreira de difusão com as seqüências de pulsos sincronizados. Erros, de outra forma, resultantes de uma condição de sensor em estado não estável e/ou fundo mediador também podem ser reduzidos. O tempo exigido para análise pode ser reduzido eliminando-se a necessidade por retardos e pulsos adicionais, tal como retardos de "incubação" para fornecer re-hidratação de reagente, pulsos de remoção por combustão ("burn-off") para renovar os eletrodos, e pulsos de regeneração de mediador para renovar o estado de oxidação do mediador. As seqüências de pulsos sincronizados podem também permitir a determinação de corrente dinâmica e perfis de contorno que fornecem múltiplos pontos de calibração, detecção de sub-preenchimento, e a capacidade de aplicar compensação de temperatura para a análise. Como as seqüências de pulsos sincronizados podem gerar dados úteis rapidamente, os longos tempos de espera de coulometria convencional e a imprecisão de medições de estado não estável em amperometria convencional podem ser evitados.

As FIGs. 1A-1B representam uma tira sensora 100, que pode ser usada no sistema sensor presente. A FIG. 1A é uma representação em perspectiva de uma tira sensora montada 100 que inclui uma base sensora 110, pelo menos coberta por uma tampa 120 que inclui um respiradouro 130, uma área côncava 140, e uma abertura de extremidade de entrada 150. Um volume parcialmente fechado 160 (o vão) é formado entre a base 110 e a tampa 120. Outros projetos de tira sensora

compatíveis com a presente invenção podem também ser usados, tal como aqueles descritos nas Patentes Norte-Americanas Nos. 5.120.420w 5.798.031.

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

A FIG. 1B representa uma vista de topo da tira sensora 100, com a tampa 120 removida. Os condutores 170 e 180 podem correr sob uma camada dielétrica 190 da abertura 150 a um eletrodo de trabalho 175 e um contra-eletrodo 185, respectivamente. Em um aspecto, o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo 175, 185 podem estar substancialmente no mesmo plano, como representado na figura. Em um outro aspecto, os eletrodos 175, 185 podem estar voltados um para o outro, tal como descrito no Pedido de Patente Norte-Americana 2004/0054267.

Enquanto o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo 175, 185 podem estar mais próximos, em um aspecto, os eletrodos 175, 185 podem estar separados por mais do que 200 ou 250 μm . Similarmente, enquanto pelo menos um dos eletrodos 175, 185 pode estar mais próximo, em um aspecto, pelo menos um eletrodo pode estar separado de uma parte supe-

rior da tampa 120 por pelo menos 100 μm . Em um aspecto, o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo 175, 185 podem ter áreas de superfície de aproximadamente 1 mm^2 e 1,2 mm^2 , respectivamente. A camada dielétrica 190 pode parcialmente cobrir os eletrodos 175, 185 e pode ser feita de qualquer material dielétrico adequado, tal como um polímero isolante.

O contra-eletrodo 185 equilibra o potencial no eletrodo de trabalho 185 da tira sensora 100. Em um aspecto, esse potencial pode ser um potencial de referência alcançado formando-se o contra-eletrodo 185 a partir de um par redox, tal como Ag/AgCl, para fornecer um contra-eletrodo-eletrodo de referência combinado. Em um outro aspecto, o potencial pode ser fornecido ao sistema sensor formando-se o contra-eletrodo 185 de um material inerte, tal como carbono, e incluindo uma espécie redox solúvel, tal como ferriicianeto, no vão 160.

Alternativamente, a tira sensora 100 pode ser fornecida com um terceiro condutor e eletrodo (não mostrado) para fornecer um potencial de referência ao sistema sensor. Esse terceiro eletrodo pode ser configurado como um eletrodo de referência verdadeiro ou como um material inerte que conta com uma espécie redox solúvel para fornecer o potencial de referência. O terceiro eletrodo pode também permitir que o dispositivo de medição determine a inserção de uma tira sensora e/ou se o vão 160 foi preenchido com amostra. Condutores adicionais e/ou eletrodos também podem ser fornecidos na tira 100 para fornecer essas e outras funções.

A FIG. 2 representa um diagrama de vista de extremidade da tira sensora representada na FIG. 1B que mostra a estrutura de camada do eletrodo de trabalho 175 e do contra-eletrodo 185. OS condutores 170 e 180 podem repousar
5 diretamente na base 110. As camadas condutoras de superfície 270 e 280 opcionalmente podem ser depositadas nos condutores 170 e 180, respectivamente. As camadas condutoras de superfície 270, 280 podem ser feitas dos mesmos materiais ou de materiais diferentes.

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 preferenciais são não ionizantes, tal que o material não passa por uma oxidação líquida ou uma redução líquida durante a análise da amostra. Os condutores 170, 180
15 preferencialmente incluem uma fina camada de uma pasta metálica ou metal, tal como ouro, prata, platina, paládio, cobre, ou tungstênio. As camadas condutoras de superfície 270, 280 preferencialmente incluem carbono, ouro, platina, paládio, ou combinações desses. Se uma camada condutora de
20 superfície não está presente em um condutor, este é preferencialmente feito de um material não ionizante.

O material condutor de superfície pode ser depositado nos condutores 170, 180 por qualquer dispositivo convencional compatível com a operação da tira sensora, incluindo deposição em folha, deposição de vapor químico, deposição de pasta fluida, metalização, e seus similares. No
25 caso de deposição de pasta fluida, a mistura pode ser apli-

cada como uma tinta aos condutores 170, 180 como descrito na patente Norte-Americana No. 5.798.031.

As camadas reagentes 275 e 285 podem ser depositadas nos condutores 170 e 180, respectivamente, e incluem reagentes e opcionalmente um ligante. O material ligante é preferencialmente um material polimérico que é pelo menos parcialmente solúvel em água. Materiais poliméricos parcialmente solúveis em água adequados para uso como o ligante podem incluir poli(etileno óxido) (PEO), carboxi metil celulose (CMC), polivinil álcool (PVA), hidroxietileno celulose (HEC), hidroxipropil celulose (HPC), metil celulose, etil celulose, etil hidroxietil celulose, carboximetil etil celulose, polivinil pirrolidona (PVP), poliaminoácidos tal como polilisina, polistireno sulfonato, gelatina, ácido acrílico, ácido metacrílico, amido, anidrido maléico, sais desses, derivados desses, e combinações desses. Entre os materiais ligantes acima, PEO, PVA, CMC, e PVA são preferenciais, com CMC e PEO sendo mais preferenciais no presente.

Em adição ao ligante, as camadas reagentes 275 e 285 podem incluir os mesmos reagentes ou reagentes diferentes. Em um aspecto, os reagentes presentes na primeira camada 275 podem ser selecionados para uso com o eletrodo de trabalho 175, enquanto os reagentes presentes na segunda camada 285 podem ser selecionados para uso com o contra-eletrodo 185. Por exemplo, os reagentes na camada 285 podem facilitar o livre fluxo de elétrons entre a amostra e o

condutor 180. Similarmente, os reagentes na camada 275 podem facilitar a reação do analito.

A camada reagente 275 pode incluir uma oxidoreductase específica ao analito que pode facilitar a reação do analito enquanto aperfeiçoando a especificidade do sistema sensor para o analito, especialmente em amostras biológicas complexas. Exemplos de algumas oxidoreductases específicas e analitos correspondentes são dados abaixo na Tabela II.

Oxidoreductase (camada reagente)	Analito
Glicose desidrogenase	β -glicose
Glicose oxidase	β -glicose
Colesterol esterase; colesterol oxidase	colesterol
Lipoproteína lipase; glicerol quinase; glicerol-3-fosfato oxidase	Triglicerídeos
Lactato oxidase; lactato desidrogenase; diaforase	Lactato
Piruvato oxidase	Piruvato
Álcool oxidase	Álcool
Bilirrubina oxidase	Bilirrubina
Uricase	Ácido úrico
Glutathione redutase	NAD(P)H
Monóxido de carbono redutase	Monóxido de carbono

10

Tabela II

No presente, oxidoreductases especialmente preferenciais para análise de glicose incluem glicose oxidase,

glicose desidrogenase, derivados desses, ou combinações desses.

A camada reagente 275 também pode incluir um mediador para comunicar mais eficientemente os resultados da reação de analito ao condutor de superfície 270 e/ou ao condutor 170. Exemplos de mediadores incluem complexos OTM, complexos de coordenação, e moléculas orgânicas eletroativas. Exemplos específicos incluem compostos de ferroceno, ferrocianeto, ferricianeto, co-enzimas de pirroloquinolina quinona (PQQ) substituída ou não substituída, 3-fenilimino-3H-fenotiazinas (PIPT) substituídas ou não substituídas, 3-fenilimino-3H-fenoxazina (PIPO), benzoquinonas substituídas ou não substituídas, naftoquinonas substituídas ou não substituídas, N-óxidos, compostos nitrosos, hidroxilaminas, oxinas, flavonas, fenazinas, derivadas de fenazina, fenotiazinas, indofenóis, e indaminas. Esses e outros mediadores que podem ser incluídos na camada reagente podem ser encontrados nas Patentes Norte-Americanas Nos. 5.653.863; 5.520.786; 4.746.607; 3.791.988; e Patente EP Nos. 0 345 441 e 0 330 517.

No presente, mediadores especialmente preferenciais para análise de glicose incluem ferricianeto, rutênio hexamina, PIPT, PIPO, ou combinações desses. Uma revisão de mediadores eletroquímicos úteis para sistemas redox biológicos pode ser encontrada em *Analytica Clinica Acta*. 140(1982), páginas 1-18.

As camadas reagentes 275, 285 podem ser depositadas por qualquer meio conveniente, tal como impressão, de-

posição de líquido, ou deposição por jato de tinta. Em um aspecto, as camadas são depositadas por impressão. Com outros fatores sendo iguais, o ângulo da lâmina de impressão pode inversamente afetar a espessura das camadas reagentes.

5 Por exemplo, quando a lâmina é movida em um ângulo de aproximadamente 82° com a base 110, a camada pode ter uma espessura de aproximadamente $10\text{ }\mu\text{m}$. Similarmente, quando o ângulo da lâmina de aproximadamente 62° com a base 110 é usado, uma camada mais grossa de $30\text{ }\mu\text{m}$ pode ser produzida. Assim, os
10 ângulos da lâmina inferior podem fornecer camadas reagentes mais grossas. Em adição ao ângulo da lâmina, outros fatores, tal como a viscosidade do material que está sendo aplicado bem como a combinação de tamanho da tela e emulsão, podem afetar a espessura resultante das camadas reagentes
15 275, 285.

O eletrodo de trabalho 175 pode também incluir uma camada de barreira de difusão (DBL) que é integrada a uma camada reagente 275 ou que é uma camada distinta 290, tal como representado na FIG. 2. Assim, a DBL pode ser formada
20 como uma combinação reagente/DBL no condutor, como uma camada distinta no condutor, ou como uma camada distinta na camada reagente. Quando o eletrodo de trabalho 175 inclui a DBL distinta 290, a camada reagente 275 pode ou não residir na DBL 290. Ao invés de residir na DBL 290, a camada reagente 275 pode residir em qualquer parte da tira sensora
25 100 que permite que o reagente solubilize na amostra. Por exemplo, a camada reagente 175 pode residir na base 110 ou na tampa 120.

A DBL fornece um espaço poroso tendo um volume interno onde uma espécie mensurável pode residir. Os poros da DBL podem ser selecionados tal que a espécie mensurável pode difundir na DBL, enquanto constituintes de amostra fisicamente grandes, tal como células RB, são substancialmente excluídos. Embora tiras sensoras convencionais tenham usado vários materiais para filtrar células RB a partir da superfície do eletrodo de trabalho, uma DBL fornece um volume interno para conter e isolar uma parte da espécie mensurável da amostra.

Quando a camada reagente 275 inclui um ligante solúvel em água, qualquer parte do ligante não solubiliza na amostra antes da aplicação de uma excitação poder funcionar como uma DBL integral. A espessura inicial média de uma combinação DBL/camada reagente é preferencialmente menor do que 30 ou 23 micrometros (μm) e mais preferencialmente menor do que 16 μm . No presente, uma espessura inicial média especialmente preferencial de uma combinação DBL/camada reagente é de 1 a 30 μm ou de 3 a 12 μm . A espessura inicial média desejada de uma combinação DBL/camada reagente pode ser selecionada para um comprimento de excitação específico com base em quando a taxa de difusão da espécie mensurável da DBL a uma superfície condutora, tal como a superfície do condutor 170 ou a superfície do condutor de superfície 270 da FIG. 2, se torna relativamente constante.

Além disso, usar uma DBL muito grossa com um comprimento de excitação curto pode retardar quando a taxa de difusão da espécie mensurável da DBL à superfície condutora

se torna relativamente constante. Por exemplo, quando ciclos de atividade incluindo excitações sequenciais de 1 segundo separadas por relaxamentos de 0,5 segundo são aplicadas a um eletrodo de trabalho usando uma combinação

5 DBL/camada reagente tendo uma espessura inicial média de 30 μm , uma taxa de difusão de espécie mensurável preferencial da DBL à superfície condutora pode não ser alcançada até que pelo menos 6 ciclos de atividade tenham sido aplicados ($>\sim 10$ segundos). De forma oposta, quando os mesmos ciclos

10 de atividade são aplicados a um eletrodo de trabalho usando uma combinação DBL/camada reagente tendo uma espessura inicial média de 11 μm , uma taxa de difusão relativamente constante pode ser alcançada depois da segunda excitação ($\sim 2,5$ segundos). Assim, há um limite superior para a espessura

15 inicial média da DBL para um dado ciclo de atividade. Um tratamento mais profundo da correlação entre espessura de DBL, comprimento de excitação, e tempo para alcançar uma taxa de difusão relativamente constante pode ser encontrado em WO 2006/042304, depositado em 12 de Outubro de 2005, in-

20 titulado "Determinação de Concentração em Uma Camada de Barreira de Difusão".

A DBL distinta 290 pode incluir qualquer material que fornece o espaço de poro desejado, enquanto é parcialmente ou lentamente solúvel na amostra. Em um aspecto, a

25 DBL distinta 290 pode incluir um material ligante reagente carente dos reagentes. A DBL distinta 290 pode ter uma espessura inicial média de pelo menos 1 μm , preferencialmente de 5 a 25 μm , e mais preferencialmente de 8 a 15 μm .

As FIGs. 3A e 3B representam um eletrodo de trabalho 300 que tem um condutor de superfície 330 e uma DBL distinta 305 durante a aplicação de pulsos de leitura longos e curtos. Quando uma amostra WB é aplicada ao eletrodo de trabalho 300, as células RB 320 cobrem a DBL 305. O analito presente na amostra forma a espécie mensurável externa 310 externa à DBL 305. Uma parte da espécie mensurável externa 310 difunde na DBL distinta 305 para obter a espécie mensurável interna 315.

10 Como mostrado na FIG. 3A, quando um pulso de leitura contínuo de 10 segundos é aplicado ao eletrodo de trabalho 300, ambas a espécie mensurável externa e a interna 310 e 315 são excitadas no condutor de superfície 330 por uma mudança no estado de oxidação. Durante o pulso de leitura longo, a espécie mensurável externa 310 difunde através da região da amostra onde as células RB 320 residem e através da DBL 305 ao condutor de superfície 330. A difusão da espécie mensurável externa 310 através das células RB 320 durante o pulso de leitura introduz o efeito hematócrito à análise. Como uma parte substancial da espécie mensurável excitada no condutor de superfície 330 se origina a partir do exterior da DBL 320, um longo pulso de leitura aplicado a uma tira sensora tendo uma DBL pode executar similarmente com relação ao efeito hematócrito a um curto pulso de leitura aplicado a uma tira carente de uma DBL.

25 De forma oposta, a FIG. 3B representa a situação onde uma curta excitação é aplicada à tira sensora equipada com DBL 330 para excitar a espécie mensurável interna 315,

enquanto substancialmente excluindo da excitação a espécie mensurável 310 externa à DBL 305. Durante a excitação curta, a espécie mensurável 310 ou permanece externa à DBL 305 ou não substancialmente difunde através da DBL para alcançar o condutor de superfície 330. Dessa maneira, a curta excitação pode fornecer uma redução substancial na influência do efeito hematócrito na análise. Reduzindo-se o efeito hematócrito, os erros de análise (polarização) introduzidos nos constituintes da amostra, incluindo células RB, podem ser reduzidos.

Uma outra vantagem de seletivamente analisar a espécie mensurável interna à DBL com uma curta excitação é uma redução de imprecisão de medição a partir das tiras sensoras que têm volumes de vão variáveis. As variâncias no volume de vão entre as tiras sensoras podem levar à imprecisão porque a eletrônica em dispositivos de medição convencionais aplica o mesmo potencial elétrico e executa os mesmos cálculos para cada análise. Se um pulso de leitura continua passado o tempo quando substancialmente toda a espécie mensurável presente no vão foi analisada, a análise não mais representa a concentração de espécies mensuráveis na amostra, mas ao invés, representa a quantidade de espécies mensuráveis no vão; uma medição muito diferente. Assim, uma tira sensora que tem um volume de cap-cap maior mostrará uma concentração de analito mais alta do que uma tira sensora que tem um volume de vão menor, independente da concentração de analito da amostra. Substancialmente limitando-se a análise às espécies mensuráveis presentes na

DBL, a imprecisão de outra forma introduzida pela variabilidade de fabricação entre as tiras sensoras pode ser reduzida.

As FIGs. 4A e 4B são gráficos que ilustram o aperfeiçoamento na acurácia de medição quando uma DBL foi combinada com uma curta excitação. A FIG. 4A mostra uma grande imprecisão representada como a diferença entre as linhas de calibração de 16% e 48% (amplitude de polarização de hematócrito total) resultante de uma tira sensora com ausência de uma DBL depois de uma excitação de 1 segundo. Ao contrário, a FIG. 4B mostra uma diferença menor entre as linhas de calibração que representam um resultado mais acurado quando uma DBL foi combinada com uma excitação de 1 segundo. A amplitude de polarização de hematócrito total para a DBL combinada com uma curta excitação era quase dois terços menos do que a amplitude de polarização total sem a DBL.

Como descrito acima e mais detalhadamente em WO 2006/042304, um curto pulso de leitura ou excitação pode fornecer um aperfeiçoamento na acurácia e/ou precisão de uma análise. Entretanto, se uma única excitação curta é usada para a análise, uma taxa de difusão relativamente constante da espécie mensurável a partir da DBL à superfície condutora pode não ser alcançada durante a análise. Essa condição pode também resultar em imprecisão de medição porque a concentração da espécie mensurável na DBL não representa precisamente aquela na amostra. Além disso, a única excitação pode não efetivamente reduzir o sinal de fundo do mediador.

A FIG. 5 representa uma análise eletroquímica 500 para determinar a presença e opcionalmente a concentração de um analito 522 em uma amostra 512 que pode superar as desvantagens associadas com curtas excitações. Em um aspecto, a análise 500 pode reduzir polarização do fundo mediador enquanto fornece um tempo de análise menor com ou sem uma DBL. Em um aspecto preferencial, a análise 500 pode ser completada em menos do que 3 ou menos do que 1 minuto. Em um aspecto mais preferencial, a análise 500 pode ser completada de 2 a 50 ou de 4 a 32 segundos.

Em 510, a amostra 512 é introduzida em uma tira sensora 514, tal como a tira sensora representada nas FIGs. 1A-1B e 2. As camadas reagentes, tal como 275 e/ou 285 da FIG. 2, começam a solubilizar na amostra 512, assim permitindo reação. Nesse ponto na análise, um retardo de tempo inicial, ou "período de incubação", opcionalmente pode ser fornecido para os reagentes reagirem com a amostra 512. Preferencialmente, o retardo de tempo inicial pode ser de 1 a 10 segundos. Um tratamento mais profundo de retardos de tempo iniciais pode ser encontrado nas Patentes Norte-Americanas Nos. 5.620.579 e 5.653.863. Em um aspecto, a análise 500 pode reduzir a necessidade por um período de incubação.

Durante a reação, uma parte do analito 522 presente na amostra 512 é química ou bioquimicamente oxidada ou reduzida em 520, tal como por uma oxidoreductase. Mediante a oxidação ou redução, os elétrons opcionalmente podem ser transferidos entre o analito 522 e um mediador 532 em 530.

Em 540, uma espécie mensurável 542, que pode ser o analito carregado 522 a partir de 520 ou o mediador carregado 532 a partir de 530, é eletroquimicamente excitada (oxidada ou reduzida). Por exemplo, quando a amostra 512 é sangue todo contendo glicose oxidada por glicose oxidase em 520 e transferindo um elétron para reduzir um mediador ferricianeto (III) para ferrocianeto (II) em 530, a excitação de 540 oxida ferrocianeto (II) para ferricianeto (III) no eletrodo de trabalho. Dessa maneira, um elétron é seletivamente transferido do analito glicose para o eletrodo de trabalho da tira sensora onde ele pode ser detectado por um dispositivo de medição (não mostrado).

A excitação 540 inclui varredura voltamétrica onde um potencial variável ou "varredura" é aplicado através dos eletrodos da tira sensora 514 em uma taxa substancialmente fixa (V/seg). A taxa de varredura pode ser lenta ou rápida; entretanto, rápidas varreduras são preferenciais devido à natureza das seqüências de pulsos sincronizados. Em um aspecto, a taxa na qual o potencial é varrido é pelo menos 2 mV/seg, preferencialmente de 20 a 5000 mV/seg, mais preferencialmente de 200 a 2000 mV/seg. No presente, uma taxa de varredura especialmente preferencial é de 500 a 1500 mV/seg.

A duração da excitação 540 é no máximo 4 ou 5 segundos, e preferencialmente menos do que 3, 2, 1,5, ou 1 segundo. Em um outro aspecto, a duração da excitação 540 é de 0,1 a 3 segundos, de 0,1 a 2 segundos, ou de 0,1 a 1,5

segundo. Mais preferencialmente, a duração da excitação 540 é de 0,4 a 1,2 segundo.

Em 550, as correntes resultantes da excitação de varredura 540 podem ser monitoradas e registradas como uma
5 função do potencial aplicado (voltagem). Isso contrasta com a amperometria ou coulometria convencional onde uma voltagem constante é aplicada enquanto a corrente é medida como uma função do tempo. Em um aspecto, a corrente é monitorada e registrada durante a excitação 540. Em um outro aspecto,
10 a corrente não é monitorada durante o relaxamento 560 ou pelo menos durante uma parte do relaxamento 560. Em um outro aspecto, a corrente e o potencial no eletrodo de trabalho podem ser monitorados durante pelo menos uma parte do relaxamento 560, mas os valores não são usados na determi-
15 nação da concentração do analito 522.

Em 560, a amostra passa por relaxamento, onde o dispositivo de medição pode abrir o circuito através da tira sensora 514, assim permitindo que o sistema relaxe. Durante o relaxamento 560, a corrente aplicada durante a ex-
20 citação 540 é substancialmente reduzida em pelo menos metade, preferencialmente por uma ordem de magnitude, e mais preferencialmente em zero. Preferencialmente, um estado de corrente nula é fornecido por um circuito aberto. Em um aspecto, o relaxamento 560 tem pelo menos 10, 5, 3, 2, 1,5, 1
25 ou 0,5 segundos de duração. Em um outro aspecto, o relaxamento 560 tem duração de 0,1 a 3 segundos, de 0,1 a 2 segundos, ou de 0,1 a 1,5 segundo. Mais preferencialmente, o

relaxamento 360 tem duração de 0,2 a 1,5 segundo e fornecido por um circuito aberto.

Durante o relaxamento 560, o agente de ionização pode reagir com o analito para gerar espécies mensuráveis adicionais sem os efeitos de um potencial elétrico. Assim, para um sistema sensor de glicose incluindo glicose oxidase e um mediador ferricianeto como reagentes, ferrocianeto adicional (mediador reduzido) responsivo à concentração de analito da amostra pode ser produzido sem interferência de um potencial elétrico durante o relaxamento 560.

A excitação 540, o registro 550, e o relaxamento 560 constituem um único ciclo de atividade. Em 570, o ciclo de atividade é repetido pelo menos uma vez para um total de pelo menos dois ciclos de atividade. Em um aspecto, o ciclo de atividade é repetido pelo menos duas vezes para um total de pelo menos três ciclos de atividade em 180 segundos, 90 segundos, ou menos. Em um outro aspecto, a sequência de pulsos da análise 500 inclui pelo menos 4, 6, 8, 10, 14, 18 ou 22 ciclos de atividade aplicados durante um período de tempo independentemente selecionado de 120, 90, 60, 30, 15, 10 ou 5 segundos. Em um outro aspecto, os ciclos de atividade são aplicados durante um período de tempo de 5 a 60 segundos. Em um outro aspecto, de 3 a 18 ou de 3 a 10 ciclos de atividade podem ser aplicados dentro de 30 segundos ou menos. Em um outro aspecto, de 4 a 8 ciclos de atividade podem ser aplicados dentro de 3 a 16 segundos. A natureza repetitiva "ligada" ou "desligada" dos ciclos de atividade da análise 500 diretamente contrasta com métodos convencio-

nais onde a voltagem é continuamente aplicada e a corrente é continuamente direcionada a partir da tira sensora por 5 a 10 segundos durante a duração do pulso de leitura. Para esses métodos convencionais, a voltagem aplicada pode ter
5 um potencial fixo ou pode ter um potencial que é varrido de um potencial positivo para um negativo ou de um potencial positivo ou negativo a um potencial nulo em relação a um potencial de referência. Mesmo em um potencial relativo nulo, esses métodos continuamente direcionam corrente da tira
10 sensora durante o pulso de leitura, o que permite que a reação eletroquímica continue por todo o pulso de leitura. Assim, nesses métodos convencionais, a reação que produz espécies mensuráveis responsivas à concentração de analito e a difusão das espécies mensuráveis para o eletrodo de
15 trabalho são ambas afetadas pela corrente durante a parte de potencial nulo de um pulso de leitura convencional. As seqüências de pulsos de análise 500 são também acentuadamente diferentes dos métodos convencionais que usam um único pulso de duração longa com múltiplas medições, tal como
20 aqueles descritos na Patente Norte-Americana No. 5.243.516, devido aos múltiplos relaxamentos 560.

Em 580, os valores de corrente de voltagem registrados podem ser transformados com um ou mais tratamento de dados. Os valores transformados podem ser usados para de-
25 terminar a presença e/ou concentração do analito 522 na amostra 512. Os valores transformados também podem ser usados para determinar outras características da análise 500, incluindo a concentração de hematócrito da amostra, múlti-

plos conjuntos de calibração, sub-preenchimento, e o conteúdo de agente de ionização ativo da tira sensora, como descrito abaixo.

As FIGs. 6A-6F representam seis exemplos de sequências de pulsos voltamétricos sincronizados que podem ser usadas com o método 500. Em cada sequência de pulsos, múltiplos ciclos de atividade foram aplicados à tira sensora depois da introdução da amostra. A parte de excitação voltamétrica de cada ciclo de atividade pode ser aplicada de uma maneira linear (FIG. 6A), cíclica (FIG. 6B), ou acíclica (FIGs. 6C-6F). Nesses exemplos, pulsos de excitação inclinada (linear) ou de onda triangular (cíclica ou acíclica) foram usados; entretanto, outros tipos de ondas compatíveis com o sistema sensor e a amostra também podem ser usados.

A FIG. 6A representa múltiplas excitações inclinadas onde a voltagem aumentou linearmente com o tempo a um ponto final. A FIG. 6B representa múltiplas excitações de onda triangular fornecendo dados cíclicos que incluem a faixa de potencial completa do mediador ferricianeto. A FIG. 6C representa seis ciclos de atividade incluindo seis excitações de onda triangular fornecendo dados acíclicos que iniciam e terminam em substancialmente as mesmas voltagens. Como a última excitação da FIG. 6C, um pulso de leitura terminal 640, carece de um relaxamento, somente seis ciclos de atividade são mostrados. A FIG. 6D representa sete ciclos de atividade incluindo sete excitações de onda triangular fornecendo dados acíclicos. O primeiro ciclo de

atividade é precedido por um período de incubação inicial. A FIG. 6E representa múltiplas excitações de onda triangular fornecendo dados acíclicos que iniciam e terminam em voltagens diferentes. A FIG. 6F representa múltiplas exci-
5 tações de onda triangular resultantes em dados acíclicos que substancialmente excluem os picos de oxidação e de redução do par redox ferricianeto/ferrocianeto.

O pulso de leitura terminal 640 pode ter a mesma duração de taxa de varredura das excitações dos ciclos de
10 atividade anteriores, como representado na FIG. 6C, ou o pulso de leitura terminal 640 pode ter uma duração ou taxa diferente. Em um aspecto, o pulso de leitura terminal 640 pode ser de duração mais longa e voltagem aumentada em relação às excitações dos ciclos de atividades anteriores. A
15 voltagem aumentada pode fornecer a capacidade de detectar uma espécie tendo um potencial de oxidação mais alto, tal como uma solução de controle. Uma discussão mais completa com relação a pulsos de leitura terminais pode ser encontrada no Pedido Provisório Norte-Americano No. 60/669.729,
20 depositado em 8 de Abril de 2005, intitulado "Espécies Oxidáveis como uma Referência Interna em Soluções de Controle para Biosensores".

As soluções de controle contendo quantidades conhecidas de glicose podem ser usadas para verificar que o
25 sistema de análise está operando apropriadamente. Fórmulas específicas para soluções de controle podem ser encontradas nas Patentes Norte-Americanas Nos. 3.920.580; 4.572.899; 4.729.959; 5.028.542; 5.605.837; e Publicações PCT WO

93/21928; WO 95/13535; e WO 95/13536. Se o dispositivo de medição não pode distinguir entre um sinal de uma solução de controle versus uma amostra, as leituras da solução de controle podem ser armazenadas como valores de analito. Assim, o histórico de leituras de glicose de um paciente, por exemplo, pode ser impreciso com relação à condição de diabético.

Se as soluções de controle não podem ser identificadas e suas respostas separadas daquelas das amostras de sangue pelo medidor de teste, as leituras de glicose das soluções de controle serão incluídas no histórico de medições de glicose, que poderia levar a interpretação errada da condição de diabetes de um paciente.

Cada um dos ciclos de atividade para as seqüências de pulsos representadas nas FIGs. 6A-6F fornece tempos de excitação de menor duração do que os seguintes tempos de relaxamento de circuito aberto; entretanto, isso não é exigido. Na FIG. 6C, a duração das excitações é 0,8 segundo a uma taxa de 1 V/seg enquanto a duração de cada relaxamento é aproximadamente 3,2 segundos. Assim, cada ciclo de atividade tem uma duração de aproximadamente 4 segundos e a seqüência de pulsos dura aproximadamente 24,8 segundos, incluindo um pulso de leitura terminal para fornecer uma intensidade redox (RI) de 0,226 ($5,6/24,8$). A seqüência de pulsos da FIG. 6D fornece um RI menor de 0,2 ($5,6/28$), atribuível ao período de incubação antes do primeiro ciclo de atividade.

Quanto mais alto o RI para uma sequência de pulsos, menos imprecisão de fundo introduzida na análise pelo mediador. As seqüências de pulso representadas nas FIGs. 6A-6F são pulsos oxidativos, projetados para excitar (por exemplo, oxidar) um mediador reduzido, que é a espécie mensurável. Assim, quanto maior a corrente oxidativa aplicada à tira sensora em um dado período de tempo, menor a chance de que o mediador reduzido por caminhos além da oxidação do analito contribua com os valores de corrente registrados.

Em combinação, as múltiplas excitações da seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados podem eliminar a necessidade por um pulso inicial para renovar o estado de oxidação do mediador. Para ferricianeto, as seqüências de pulsos com valores RI de pelo menos 0,01, 0,3, 0,6 ou 1 são preferenciais, com valores RI de 0,1 a 0,8, de 0,2 a 0,7, ou de 0,4 a 0,6 sendo mais preferencial no presente.

Durante uma excitação linear, tal como a excitação direta 610 representada na FIG. 6A, a corrente no eletrodo de trabalho é medida enquanto o potencial neste muda linearmente com o tempo em uma taxa constante. A faixa de excitação, tal como de -0,5V a +0,5V, pode cobrir o estado reduzido e o oxidado de um par redox tal que uma transição de um primeiro estado para um segundo estado ocorre. A corrente medida no eletrodo de trabalho pode ser apesar de ter três componentes: a corrente de equilíbrio, a corrente de difusão, e a corrente de superfície. A corrente de superfície, que pode derivar de quaisquer espécies adsorvidas no eletrodo, é geralmente pequena. As correntes de equilíbrio

e de difusão são os componentes primários representados no voltamograma resultante.

Um voltamograma linear (um gráfico de corrente versus voltagem) pode ser **CARACTERIZADO** por um gráfico que
5 inicia em uma corrente inicial, alcança uma corrente de pico, e decai a um nível de corrente limitada por difusão mais baixa (DLC) durante a excitação. A corrente inicial é substancialmente dependente do potencial aplicado, enquanto a DLC não é. Se a varredura é lenta o suficiente, a DLC po-
10 de ser vista como uma região de nível plano em um voltamograma.

A região DLC representa um estado onde a oxidação ou a redução da espécie mensurável na superfície condutora alcança uma taxa máxima substancialmente limitada por difu-
15 são. A difusão pode ser limitada pela taxa na qual a espécie mensurável viaja da amostra à superfície condutora. Alternativamente, quando o eletrodo de trabalho da tira sensora inclui uma DBL, a difusão pode ser limitada pela taxa na qual a espécie mensurável viaja da DBL à superfície con-
20 dutora.

Os valores DLC registrados em uma taxa de difusão relativamente constante depois de re-hidratação da camada reagente podem minimizar imprecisões que seriam, de outra forma, introduzidas por variações nas taxas de re-
25 hidratação e de difusão dos reagentes. Assim, uma vez que uma taxa de difusão relativamente constante é alcançada, os valores DLC registrados podem corresponder mais precisamen-

te à concentração das espécies mensuráveis, e assim do analito.

Depois do termino da excitação direta 610, para uma excitação cíclica ou acíclica, tal como aquelas representadas nas FIGs. 6B e 6C, respectivamente, uma excitação linear de potencial reverso 620 é aplicada. A varredura linear de potencial reverso da excitação 620 pode ser aplicada em substancialmente a mesma taxa da varredura direta 610. Assim, a faixa de excitação é varrida de um primeiro valor mais baixo a um valor mais alto e de volta a um segundo valor mais baixo, onde o primeiro e o segundo valor mais baixo pode ou não se o mesmo para varreduras cíclicas ou acíclicas, respectivamente. Excitações cíclicas, e em alguns casos acíclicas, pode examinar a transição de uma espécie redox de um estado reduzido para um estado oxidado (e vice versa) em relação ao potencial aplicado ou em relação à taxa de difusão da espécie redox à superfície condutora.

Em relação a uma excitação linear, excitações cíclicas e acíclicas podem fornecer uma melhor representação da região DLC da excitação. A vantagem das excitações cíclica e acíclica pode ser especialmente vantajosa para quantificar a DLC de pares redox quase reversíveis em taxas de varredura rápidas. Informação adicional sobre voltametria de varredura linear e cíclica pode ser encontrada em "Métodos Eletroquímicos: Fundamentos e Aplicações" por A.J. Bard e L.R. Faulkner, 1980.

A FIG. 7A apresenta os dados de uma excitação cíclica de 25 mV/seg de um par redox ferricianeto/ferrocianeto como um voltamograma cíclico. O voltamograma é **CARACTERIZADO** por um pico de corrente direta durante a
 5 parte direta da varredura de -0,3 V a +0,6 V, indicando oxidação de ferrocianeto e um pico de corrente reversa durante a voltagem reversa de +0,6 V de volta a -0,3 V indicando redução de ferricianeto. Os picos de corrente direta e reversa centram em torno do potencial formal E^0 do par
 10 redox ferrocianeto/ferricianeto, quando relacionado ao contra-eletrodo. Nesse aspecto, o potencial do contra-eletrodo é substancialmente determinado pelo potencial de redução de ferricianeto, a principal espécie redox presente no contra-eletrodo.

15 Enquanto os potenciais onde as varreduras direta e reversa iniciam (a faixa de excitação) podem ser selecionados para incluir o estado reduzido e o oxidado do par redox, a faixa de excitação pode ser reduzida para encurtar o tempo de análise. Entretanto, a faixa de excitação preferencialmente inclui a região DLC para o par redox. Por exemplo, em uma taxa de varredura de 25 mV/seg, a concentração da espécie reduzida [Red] e oxidada [Ox] do par redox reversível ferrocianeto/ferricianeto e o potencial de eletrodo resultante são descritos pela equação Nernst como se-
 20 gue:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]} \xrightarrow{T=25^\circ C} E^0 + \frac{0,059}{n} \log \frac{[Ox]}{[Red]} \xrightarrow{n=1} E^0 + 0,059 \log \frac{[Ox]}{[Red]}$$

(1)

Na equação Nernst, R é a constante de gás de 8,314 Joul/(Mole*K), F é a constante Faraday de 96.500 Coul./equiv., n é o número de equivalentes por mole, e T é a temperatura em graus Kelvin. Quando o potencial no eletrodo de trabalho é relacionado a seu próprio potencial redox, o potencial formal E^0 , se tornará substancialmente zero e a equação se contrai para:

$$E = 0,059 \log \frac{[Ox]}{[Red]} = 0,059 \log \frac{[Fe(CN)_6^{-3}]}{[Fe(CN)_6^{-4}]}$$

(2)

A partir da equação (2), quando a relação do mediador oxidado com o mediador reduzido muda em 10, o potencial no eletrodo de trabalho muda em aproximadamente 60 mV. O reverso é também verdadeiro. Assim, para relações de concentração de ferricianeto [Ox] para ferrocianeto [Red] de 10:1, 100:1, 1000:1, e 10.000:1, o potencial no eletrodo de trabalho será aproximadamente 60, 120, 180 e 240 mV do potencial nulo, respectivamente.

Assim, quando a relação de ferricianeto para ferrocianeto é ~1000:1, uma faixa de varredura de -180 mV para +180 mV forneceria oxidação substancialmente completa da espécie reduzida no eletrodo de trabalho. Em 180 mV, a taxa de oxidação é limitada por quão rápida a forma reduzida do mediador pode difundir na superfície condutora, e a partir desse potencial direto, existe uma região DLC. Assim, se o ponto de reversão é configurado para ~400 mV do potencial nulo, ~200 mV de região DLC pode ser fornecido.

Para sistemas reversíveis, pode ser preferencial fornecer uma faixa de excitação de 400 a 600 mV, assim ex-

citando de 200 a 300 mV em cada lateral do potencial formal E^0 do par redox. Para sistemas quase reversíveis, pode ser preferencial fornecer uma faixa de excitação de 600 a 1000 mV, assim excitando de 300 a 500 mV em cada lateral do potencial formal E^0 do par redox.

A faixa de excitação maior pode ser preferencial para sistemas quase reversíveis porque a região DLC pode ser menor. Em adição a pares redox que são inerentemente quase reversíveis, a excitação de varredura rápida pode levar um par redox que é reversível em taxas de excitação lentas a demonstrar comportamento quase reversível. Assim, pode ser preferencial fornecer uma faixa de excitação quase reversível maior para um par redox reversível em rápidas taxas de excitação.

Preferencialmente, pelo menos 25, 50, 100, 150, ou 300 mV de região DLC é fornecido pela faixa de excitação selecionada. Em um outro aspecto, o ponto de reversão para uma excitação cíclica ou acíclica é selecionado tal que de 25 a 400 mV, de 50 a 350 mV, de 100 a 300 mV, ou de 175 a 225 mV de região DLC é fornecido. Para sistemas reversíveis, o ponto de reversão para uma excitação cíclica ou acíclica pode ser selecionado tal que de 180 a 260 mV ou de 200 a 240 mV de região DLC é fornecido. Para sistemas quase reversíveis, o ponto de reversão para uma excitação cíclica ou acíclica pode ser selecionado tal que de 180 a 400 mV ou de 200 a 260 mV de região DLC é fornecido.

Uma vez que o ponto de reversão é selecionado para fornecer a região DLC desejada, a duração da varredura re-

versa pode ser selecionada por uma varredura acíclica. Como pode ser visto na FIG. 7B, iniciar a varredura direta e terminar a varredura reversa em aproximadamente $-0,025$ mV resultou em uma varredura acíclica que incluiu mais do pico de corrente direta do que o pico de corrente reversa. A partir da comparação da FIG. 7B, enquanto correntes de pico obtidas para a varredura cíclica (a) ou acíclica (b) diferem, a região DLC das varreduras foi quase a mesma, especialmente com relação à varredura reversa.

Em um outro aspecto, a excitação reversa pode ser terminada antes do pico de corrente reversa ser alcançado, como representado na FIG. 7C. Quando a excitação direta iniciou em um potencial suficientemente negativo, tal como em $-0,3$ mV na FIG. 7C, até o meio da faixa de potencial do par redox, tal como $-0,05$ mV na FIG. 7C, a excitação direta incluiu a faixa completa do potencial redox do par redox. Assim, terminar a excitação reversa em um potencial de 50 a 500 mV, de 150 a 450 mV, ou de 300 a 400 mV negativo do ponto de reversão, por exemplo, o pico de corrente reversa pode ser excluído para o par redox ferricianeto/ferrocianeto.

Similarmente, a excitação reversa também pode ser terminada antes do pico de corrente reversa ser alcançado terminando a excitação quando a corrente de excitação reversa desvia em valor da DLC. Uma mudança na corrente de excitação reversa de pelo menos 2%, 5%, 10%, ou 25% pode ser usada para indicar o início do pico de corrente de excitação reversa.

A FIG. 7D compara um voltamograma cíclico de 1V/seg incluindo os picos de oxidação direta e reversa do par redox com um voltamograma acíclico de 1V/seg que exclui os picos de oxidação direta e reversa de um par redox. A
5 excitação acíclica teve início e pontos finais de 200 mV e um ponto de reversão de 300 mV. Faixas de excitação preferenciais para excitações acíclicas na região DLC do par redox ferricianeto/ferrocianeto, que excluem os picos de redução e oxidação direta e reversa, são de 10 a 200 mV, mais
10 preferencialmente de 50 a 100 mV. Enquanto o voltamograma cíclico incluindo a faixa de varredura completa significativamente decaiu depois de alcançar o pico de corrente, o voltamograma acíclico forneceu uma região de corrente substancialmente plana pela faixa de varredura. Essa região de
15 corrente pode estar diretamente correlacionada com a concentração de analito da amostra.

Como visto na FIG. 7D, os valores de corrente registrados para a excitação acíclica são numericamente menores do que aqueles da excitação cíclica, enquanto a corrente de fundo é menor para a excitação acíclica. Essa redução
20 benéfica na corrente de fundo foi inesperadamente obtida sem ter que iniciar a excitação acíclica na parte de pico de redução da excitação cíclica. Assim, uma excitação acíclica rápida e curta na região DLC de um par redox pode aumentar a acurácia da determinação de analito devido a uma
25 redução na corrente de fundo, o que pode fornecer um aumento na relação sinal-fundo.

As excitações cíclicas e acíclicas podem fornecer múltiplos benefícios em relação a excitações lineares. Em um aspecto, a parte da varredura reversa a partir do ponto de reversão ao ponto onde o pico de corrente reversa inicia
5 pode ser uma melhor representação dos valores DLC verdadeiros do que a região DLC da varredura direta. A região DLC da excitação reversa pode ser uma representação mais acurada da concentração de analito para sistemas redox quase reversíveis ou em taxas de excitação rápidas porque a excitação
10 direta pode não mostrar uma região DLC distinta.

As excitações acíclicas podem ter múltiplas vantagens sobre excitações cíclicas incluindo um tempo de excitação menor e uma diminuição substancial na quantidade de mediador eletroquimicamente convertido ao estado mensurável.
15 Assim, se o mediador é reduzido em resposta ao analito e é eletroquimicamente oxidado durante a medição, terminar a excitação reversa antes do mediador oxidado ser eletroquimicamente reduzido diminui a quantidade de mediador reduzido na amostra não responsivo ao analito. Similarmente,
20 iniciar a excitação direta em um potencial acima daquele no qual a espécie mensurável é reduzida também pode diminuir a quantidade de mediador reduzido na amostra não responsivo ao analito. Ambas as excitações acíclicas podem permitir um tempo de análise menor, um benefício significativo para o
25 usuário.

As FIGs. 8A-8D mostram as correntes dinâmicas de saída representadas como uma função de potencial da sequência de pulsos da FIG. 6C usando excitações de forma de onda

triangular para amostras WB contendo 40% de hematócritos e 0, 50, 100 e 400 mg/dL de glicose. A taxa de varredura foi de 1 V/seg. Ao invés de um pulso de leitura de longa duração convencional resultante em oxidação extensiva da espécie mensurável, cada excitação triangular foi seguida por um relaxamento para fornecer uma quebra no perfil de corrente. As correntes a partir de cada excitação sucessiva foram representadas como uma linha "rep" diferente, assim fornecendo rep1 até rep7 para cada Figura.

Os valores de corrente a partir de cada uma das múltiplas excitações (cada rep) nos voltamogramas das FIGs. 8A-8D foram convertidos em um único ponto dados e conectados para obter os perfis de contorno das FIGs. 9A-9C. Para as FIGs. 9A e 9B, a conversão foi executada selecionando-se um valor de corrente no mesmo potencial na região DLC de cada excitação sucessiva, tal como 300 mV. Na FIG. 9A, os valores de corrente das FIGs. 8A-8D foram diretamente representados como uma função do tempo da partir do fim da sequência de pulsos. Na FIG. 9B, um tratamento de dados semi-integral foi aplicado aos valores de corrente antes da representação. Para a FIG. 9C, as múltiplas excitações foram convertidas em únicos pontos de dados selecionando-se o valor de corrente de pico de cada rep e usando um tratamento de dados de semiderivada. Dessa maneira, o eixo X dos perfis de contorno é expresso em termos de tempo, assim imitando os dados obtidos a partir de um sistema convencional em estado estável, onde a mudança da corrente com o tempo é substancialmente constante. Enquanto as correntes

de voltamograma registradas podem ser tratadas de múltiplas formas para extrair informação útil, tratamentos de dados de semi-integral, semiderivada e derivada são presentemente preferenciais.

5 Os perfis de corrente dinâmicos obtidos a partir de seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados são fundamentalmente diferentes dos perfis de corrente obtidos a partir de uma análise convencional usando um único pulso de leitura. Enquanto as correntes registradas a partir de
10 um único pulso de leitura derivam de um único relaxamento/difusão, cada ponto no tempo no perfil de contorno das correntes dinâmicas se origina de uma excitação depois de um processo de relaxamento/difusão independente. Além disso, à medida que o comprimento de uma excitação aumenta, a
15 correlação entre a corrente e a concentração de analito pode diminuir, freqüentemente devido ao efeito hematócrito. Assim, a acurácia de uma análise usando múltiplas excitações curtas pode ser aumentada em comparação a uma análise usando um pulso de leitura mais longo tendo a duração das
20 múltiplas excitações combinadas.

A aplicação desses tratamentos de dados para análise de glicose é descrita abaixo. Entretanto, uma discussão mais profunda de tratamentos de dados para transformar correntes eletroquímicas e as implementações digitais relacionadas pode ser encontrada em Bard, A.J., Faulkner. L.R.,
25 "Métodos Eletroquímicos: Fundamentos e Aplicações", 1980; Oldham, K.B.; "Um Método Eletro-analítico Independente de Sinal", Química Anal. 1972, 44, 196; Goto, M., Oldham,

- K.B., "Eletro-análise Semi-Integral: Formas de Neopolarogramas", Química Anal. 1973, 45, 2043; Dalrymple-Alford, P., Goto, M., Olham, K.B, "Formas de Pico em Eletro-análise SemiDiferencial", Química Anal. 1997, 49, 1930; Oldham, K.B., "Convolução: Um Procedimento Eletroquímico Geral Implementado por um Algoritmo Universal", Química Anal. 1986, 58, 2296; Pedrosa, J.M., Martin, M.T., Ruiz, J.J., Camacho, L., "Aplicação da Volumetria Semi-Integral Cíclica e Volumetria Semidiferencial Cíclica à Determinação do Mecanismo de Redução de um Ni-Porfirin", J. Química Eletro-Analítica, 2002, 523, 160; Klicka, R., "Adsorção em Voltametria Semidiferencial", J. Química Eletro-analítica 1998, 455, 253.

A semi-integração de um voltamograma pode separar a DLC da corrente de equilíbrio afetada por hematócrito (pico inicial) porque sinais separados podem ser observados para a corrente de equilíbrio afetada por hematócrito e o hematócrito. Isso é especialmente verdadeiro em taxas de varredura lentas. A semi-integral da corrente voltamétrica experimentalmente obtida $i(t)$ tem a seguinte forma matemática:

$$\frac{d^{-1/2}}{dt^{-1/2}} i(t) = I(t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du$$

(3)

onde $i(t)$ é a função do tempo da corrente voltamétrica obtida durante a varredura;

- $I(t)$ é uma transformada e a semi-integral de $i(t)$;
 u é um parâmetro e transformada; e
 $d^{-1/2}/dt^{-1/2}$ é o operador da semi-integração.

Em um potencial de oxidação suficientemente alto, a corrente semi-integral de estado estável é dada por:

$$I_{lim} = nFAD^{1/2}C(\text{coul/seg}^{1/2}) \quad (4)$$

Onde I_{lim} é a DLC sob a condição da concentração de superfície da espécie oxidável sendo zero. Nota-se que a
5 unidade da corrente semi-integral é $\text{coul/seg}^{1/2}$, que não é a unidade tradicional para expressar a corrente elétrica, que é coul/seg .

Para simplicidade, I_{lim} refere-se à DLC de semi-integração (SI) com uma unidade de $\text{coul/seg}^{1/2}$. Essa corren-
10 te SI ($\text{coul/seg}^{1/2}$) é somente uma integração de meia etapa da corrente (coul/seg). A integração de meia etapa é fundamentalmente diferente da coulometria onde uma integral completa é aplicada à curva $i-t$ para fornecer a carga total passando através dos eletrodos.

Embora a equação (3) dê uma definição teórica da
15 semi-integral, para processamento digital, os dados $i-t$ podem ser divididos em N intervalos de tempo igualmente espaçados entre $t = 0$ e $t = N\Delta t$. Um tal algoritmo de processamento digital é dado pela equação (5) onde $t = k\Delta t$ e $u =$
20 $j\Delta t$, e i é determinado no ponto intermediário de cada intervalo.

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{j=k} \frac{i(j\Delta t - 1/2\Delta t)\Delta t^{1/2}}{\sqrt{k-j+1/2}}$$

(5)

Um algoritmo preferencial para processamento digi-
25 tal é dado por:

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=0}^{k-1} \frac{\Gamma(k-j+1/2)}{(k-j)!} \Delta t^{1/2} i(j\Delta t)$$

(6)

onde $\Gamma(x)$ é a função gama de x , onde $\Gamma(1/2) = \pi^{1/2}$, $\Gamma(3/2) = 1/2\pi^{1/2}$, e $\Gamma(5/2) = 3/2 \cdot 1/2\pi^{1/2}$, etc.

5 A partir da equação (4) pode-se ver que a corrente SI carece do fator de dependência do tempo de métodos amperométricos convencionais. Assim, a resposta da corrente Si pode ser considerada uma série de correntes de nível plano, ao invés das correntes amperométricas continuamente alterando obtidas a partir de amperometria convencional. Como a
10 semi-integração permite quantificação da DLC, uma taxa de varredura mais rápida pode ser usada do que quando correntes de pico são quantificadas. Assim, voltametria linear, cíclica ou acíclica em combinação com semi-integração pode
15 gerar rapidamente uma DLC em resposta a concentrações de glicose. Dessa maneira, as desvantagens de longos tempos de espera de coulometria e a natureza de estado não estável da corrente em amperometria convencional podem ser reduzidas.

 A equação (4) também mostra que pares redox reversíveis ou quase reversíveis são preferenciais para uso com
20 semi-integração. Isso ocorre porque a semi-integral de um par redox reversível ou quase reversível pode exibir uma transição afiada do estado reduzido para o estado oxidado (e vice-versa) e uma ampla região DLC, assim tornando a
25 transição mais fácil de determinar. Ferricianeto/ferrocianeto e os estados +3 e +2 de rutênio hexamina são exemplos de pares redox que demonstram comportamentos

reversíveis (varredura lenta) ou quase reversíveis (varredura rápida) preferenciais.

Eletrodos ativados pobremente podem não fornecer uma condição DLC aceitável mesmo com pares redox reversíveis ou quase reversíveis. Assim, os procedimentos de ativação de eletrodo, tal como aqueles descritos na Patente Norte-Americana No. 5.429.735, podem ser usados para alcançar a atividade de eletrodo preferencial.

Em adição a semi-integrais, semiderivadas de um voltamograma também podem ser usadas para quantificar o analito medindo-se o pico da semiderivada. A semiderivada da corrente voltamétrica experimentalmente obtida $i(t)$ tem as seguintes formas matemáticas:

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t)$$

15 (7)

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t) = \frac{dI(t)}{dt} = \frac{d}{dt} \left[\frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du \right], (\text{coul} / \text{seg}^{3/2})$$

(8)

onde $I(t)$ é a semi-integral da função do tempo $i(t)$. As equações usadas para os tratamentos de dados semi-integral, semiderivada, e derivada descritos abaixo, foram implementadas com o pacote de software Electrochemical Workstation, versão 4.07, revisada em 26 de Abril de 2004, que acompanha a Estação de trabalho Eletroquímica CH Instruments, modelo CHI 660A.

25 A FIG. 10A apresenta a representação de semi-integral do voltamograma cíclico da FIG. 7A. Similarmente, a FIG. 10B apresenta a representação de semi-integral do

voltamograma acíclico da FIG. 7C, onde a excitação reversa terminou antes da iniciação do pico de corrente reversa. A FIG. 10C estabelece que quando as semi-integrais das excitações cíclicas e acíclicas da FIG. 7GB são representadas, a região DLC da varredura de retorno foi prontamente estabelecida, permitindo uma leitura de corrente acurada em apenas 50 mV a partir do ponto de reversão. Além disso, a parte de pico da representação semi-integral foi responsiva ao conteúdo hematócrito da amostra e a magnitude do pico pode ser quantitativamente relacionada ao nível de hematócrito.

A FIG. 10D mostra as semi-integrais para as excitações cíclicas e acíclicas de 200 a 300 mV da FIG. 7D. A forma do voltamograma si para a excitação acíclica curta difere da do voltamograma da excitação cíclica porque a região de transição oxidação-redução está faltando da excitação acíclica. Iniciando a excitação acíclica na região DLC, a corrente si de fundo diminuiu em uma taxa mais rápida em comparação àquela observada para o voltamograma cíclico, assim aperfeiçoando a relação sinal-fundo para a excitação acíclica. Além disso, a corrente si reversa a partir da excitação acíclica mostra um nível plano mais precisamente descrevendo a concentração de analito da amostra do que a corrente si direta. Dessa maneira, a varredura acíclica da região DLC forneceu um aumento na precisão para a análise quando comparada à excitação cíclica.

A FIG. 11 mostra perfis de contorno preparados por voltamogramas de semi-integração a partir de uma sequência

de sete pulsos de excitação para amostras WB contendo 0, 56, 111, 221,75, 455,25, e 712,5 mg/dL de glicose de plasma. Para cada uma das concentrações de glicose, o equilíbrio com relação à re-hidratação DBL foi alcançado no valor
5 de corrente mais alto no perfil de contorno para cada concentração de glicose. Assim, as leituras 1110 (mais alta) e 1120 (mais baixa) estabelecem que o equilíbrio foi alcançado considerando a re-hidratação DBL em aproximadamente 4 segundos para a concentração de glicose de 455 mg/dL.

10 Os valores de corrente registrados em uma taxa de difusão relativamente constante podem minimizar imprecisões que de outra forma seriam introduzidas por variações nas taxas de re-hidratação e de difusão dos reagentes. Assim, uma vez que uma taxa de difusão relativamente constante é
15 alcançada, os valores de corrente registrados podem mais precisamente corresponder à concentração da espécie mensurável, e assim ao analito. Além disso, para a FIG. 11, a análise completa pode ser completada em apenas sete segundos porque uma vez que o valor de corrente mais alto 1110
20 do perfil de contorno é conhecido, seu valor pode ser diretamente correlacionado à concentração de analito. Pontos de dados adicionais podem ser obtidos para reduzir erro de fundo atribuível ao mediador, como previamente discutido com relação ao RI.

25 Uma outra forma de tratamento de dados que pode ser usada para gerar um perfil de contorno é semiderivação. Uma implementação de uma semiderivada é obter uma derivada de etapa completa da semi-integral, como previamente des-

crito em relação à equação (8). Diferente da região de nível plano que representa a varredura voltamétrica em representações de semi-integral, as representações semiderivadas convertem os dados de varredura voltamétrica em um pico centrado na transição do par redox.

A FIG. 12A representa o voltamograma cíclico (a), semi-integral (b), e semiderivado (c) de 16 mM de ferrocianeto em uma amostra WB com 20% de hematócritos. Nesse caso, o eletrodo de trabalho da tira sensora carece de enzima e mediador oxidado. A FIG. 12B é um aumento da curva semiderivada da FIG. 12A mostrando a altura de pico para a varredura direta. O valor da altura de pico de varredura direta ou reversa pode estar correlacionado com a concentração de analito na amostra. Além disso, o tratamento de dados de semiderivada pode inerentemente fornecer compensação de hematócritos para determinação de glicose, especialmente para amostras incluindo menos do que 40% de hematócritos. Uma descrição mais detalhada da aplicação de tratamento de dados de semiderivada à análise de glicose pode ser encontrada em WO 2005/114164, depositado em 16 de Maio de 2005, intitulado "Sistemas Voltamétricos para Analisar Analitos Biológicos".

Em adição aos tratamentos de dados de semi-integral e semiderivada, um tratamento de dados de derivada também pode ser usado para gerar um perfil de contorno, e assim determinar a concentração do analito na amostra. As FIGs. 13A-13C representam as derivadas de voltamogramas cíclicos para amostras tendo 20, 40, e 60% de hematócritos.

Essas representações derivadas mostram um aumento inicial na corrente à medida que a voltagem aumenta, seguida por uma diminuição, e finalmente uma região DLC. O efeito hematócrito pode ser visto no pico negativo localizado em aproximadamente 0,1 volt nas FIGs. 12A-12C, com concentrações de células RB mais altas refletidas como valores de pico mais negativos.

Enquanto os valores dos picos de derivadas positivos e negativos, tal como aqueles representados na representação de derivada da FIG. 13B, são dependentes da concentração, a relação do pico negativo com o pico positivo cancela a dependência da concentração, assim sendo dependente de hematócrito. Como essa relação (HI-DER) é independente de concentração e dependente de hematócrito, a relação indica a porcentagem de hematócritos na amostra. Assim, essa relação dos picos de derivadas pode ser usada para determinar uma equação de compensação de hematócrito para determinação de analito. Uma descrição mais detalhada da aplicação de tratamento de dados de derivada para análise de glicose pode ser encontrada em WO 2005/114164.

Em adição à capacidade das seqüências de pulsos sincronizados reduzirem a imprecisão a partir do efeito hematócrito e do sinal de fundo do mediador, a combinação do perfil de corrente dinâmica de cada excitação e os perfis de contorno resultantes pode ser usada para fornecer múltiplos conjuntos de constantes de calibração ao sistema sensor, assim aumentando a acurácia da análise. Cada conjunto de constantes de calibração obtido pode ser usado para cor-

relacionar uma leitura de corrente específica a uma concentração específica de espécies mensuráveis na amostra. Assim, em um aspecto, um aumento na acurácia pode ser obtido tirando a média dos valores de glicose obtidos usando múltiplos conjuntos de constantes de calibração.

Sistemas sensores eletroquímicos convencionais geralmente usam um conjunto de constantes de calibração, tal como rampa e interseção, para converter leituras de corrente em uma concentração correspondente do analito na amostra. Entretanto, um único conjunto de constantes de calibração pode resultar em imprecisões na concentração de analito determinada a partir dos valores de corrente registrados porque o ruído aleatório está incluído na medição.

Obtendo o valor da corrente ou o valor da corrente transformado depois do tratamento de dados em um tempo fixo dentro de cada ciclo de atividade de uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados, múltiplos conjuntos de constantes de calibração podem ser estabelecidos. A FIG. 14 representa as correntes semi-integrais registradas em 7,4, 10,65, 13,9 e 17,15 segundos para os perfis de contorno da FIG. 11. Cada um dessas quatro linhas de calibração é independente da outra e podem ser usadas de pelo menos duas formas.

Primeiro, os múltiplos conjuntos de constantes de calibração podem ser usados para determinar o número de ciclos de atividade que deveriam ser aplicados durante a seqüência de pulsos para obter a acurácia e a precisão desejadas. Por exemplo, se os valores de corrente obtidos a

partir das três primeiras excitações indicam uma alta concentração de glicose, tal como > 150 ou 200 mg/dL , o sistema sensor pode terminar a análise cedo, tal como depois da 4ª excitação representada na FIG. 11, Dessa maneira, o tempo

5 exigido para a análise pode ser substancialmente encurtado. Tal encurtamento pode ser possível porque a imprecisão em altas concentrações de glicose é tipicamente menor do que em concentrações de glicose menores. De forma oposta, se os valores de corrente obtidos a partir das primeiras três ex-

10 citações indicam uma baixa concentração de glicose, tal como < 150 ou 100 mg/dL , o sistema sensor pode estender a análise para mais do que 5 ou 7 excitações. Assim, Assim, a acurácia e/ou precisão da análise pode ser aumentada incluindo-se 5 ou mais ciclos de atividade.

15 Segundo, os múltiplos conjuntos de constantes de calibração podem ser usados para aumentar a acurácia e/ou precisão da análise na média. Por exemplo, se o tempo de medição de glicose alvo é 17,15 segundos, as correntes em 10,65, 13,9 e 17,15 segundos podem ser utilizadas para calcular as concentrações de glicose usando as rampas e inter-

20 seções a partir das linhas de calibração correspondentes; portanto, $G_{10,65} = (t_{10,65} - \text{Int}_{10,65}) / \text{Rampa}_{10,65}$, $G_{13,9} = (t_{13,9} - \text{Int}_{13,9}) / \text{Rampa}_{13,9}$ e $G_{17,15} = (t_{17,15} - \text{Int}_{17,15}) / \text{Rampa}_{17,15}$. Teoricamente, esses três valores de glicose deveriam ser equivalentes, diferindo somente por variações aleatórias. Assim,

25 os valores de glicose $G_{10,65}$, $G_{13,9}$ e $G_{17,15}$ podem ser calculados a média e o valor de glicose final de $(G_{10,65} + G_{13,9} + G_{17,15}) / 3$ pode ser calculado. Calcular a média dos valores a

partir das linhas de calibração pode fornecer uma redução no ruído na taxa de $1/\sqrt{3}$.

Um benefício inesperado de seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados incluindo excitações relativamente curtas e relaxamentos relativamente longos, tal como aqueles representados na FIG. 6C, é a capacidade de simplificar a calibração. Enquanto os múltiplos conjuntos de constantes de calibração que podem ser obtidos a partir dos perfis de contorno e dinâmicos podem fornecer uma vantagem à acurácia da análise, a seqüência de pulsos tal como representada na FIG. 6C, pode fornecer acurácia similar àquela obtida usando múltiplos conjuntos de constantes de calibração a partir de um único conjunto de constantes de calibração. Esse efeito pode ser observado nos perfis de contorno da FIG. 11 e nas linhas de calibração resultantes na FIG. 14.

Esse aumento inesperado em acurácia pode ser atribuível aos tempos de relaxamento relativamente longos em comparação aos relaxamentos curtos. Em um aspecto, as relações de tempos de excitação/relaxamento (ERT) de 0,3 a 0,2 são preferenciais, com relações ERT de 0,27 a 0,22 sendo mais preferencial. Por exemplo, uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados tendo uma relação ERT de 0,25 (0,8 segundo/3,2 segundos), tal como representado na FIG. 6C, pode ser preferencial a um pulso tendo uma relação ERT de mais do que 0,3, tal como a seqüência de pulsos da FIG. 6B tendo uma relação ERT de 0,56 (1,4 segundo/2,5 segundos). Enquanto não pretendendo ser limitados por qualquer

teoria particular, os tempos de relaxamento relativamente longos podem fornecer um estado onde a taxa de consumo média de espécies mensuráveis durante a excitação é equilibrada pela taxa de fornecimento de espécies mensuráveis difundindo na DBL. Dessa maneira, os múltiplos conjuntos de constantes de calibração podem contrair em um único conjunto e a conversão dos dados registrados em uma concentração de analito pode ser simplificada executando-se o processo de cálculo da média nos dados de corrente registrados antes de determinar a concentração de analito.

Os perfis de corrente dinâmica fornecidos pelos múltiplos ciclos de atividade podem ser usados para determinar se a tira sensora foi sub-preenchida com amostra, assim permitindo que o usuário adicione amostra adicional à tira sensora. Em adição ao eletrodo de trabalho e ao contra-eletrodo, os sistemas sensores convencionais podem determinar uma condição de sub-preenchimento através do uso de um terceiro eletrodo ou par de eletrodos; entretanto, o terceiro eletrodo ou par de eletrodos adiciona complexidade e custo ao sistema sensor.

Sistemas de dois eletrodos convencionais podem ser capazes de reconhecer que uma análise é "ruim", mas não podem determinar se razão para a análise ter falhado foi causada por sub-preenchimento ou uma tira sensora com defeito. A capacidade de determinar se sub-preenchimento causou a falha da análise é benéfica porque ela pode ser corrigida adicionando amostra adicional à mesma tira sensora e repe-

tindo a análise, assim impedindo que uma boa tira seja descartada.

A FIG. 15 representa voltamogramas cíclicos obtidos a partir de uma tira sensora sub-preenchida, enquanto a

5 FIG. 8A representa uma série de sete voltamogramas cíclicos obtidos com uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados a partir de uma tira sensora normalmente preenchida. Em ambos os casos, a taxa de varredura foi 1 V/seg. Mesmo que a amostra da FIG. 8A careça de qualquer glicose e a a-

10 mostra usada para a FIG. 15 incluiu 400 mg/dL de glicose, os valores de corrente obtidos a partir da tira sub-preenchida tendo a concentração de glicose de 400 mg/dL foram muito menores do que aqueles da tira normalmente preenchida não tendo glicose. Assim, pode ser determinado pelo

15 segundo ciclo de atividade da seqüência de pulsos que as correntes obtidas são menores do que um valor previamente selecionado e que a tira sensora é sub-preenchida. Por exemplo, para o sistema da FIG. 15, valores de corrente inicial menores do que 0 significam que a tira sensora está

20 sub-preenchida.

Dessa maneira, as seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados da presente invenção permitiram detecção de sub-preenchimento em uma tira sensora de dois eletrodos, uma função tipicamente exigindo um terceiro eletrodo para

25 sistemas sensores convencionais. Além disso, a determinação de sub-preenchimento pode ser feita em apenas 5 segundos, fornecendo tempo para o dispositivo de medição sinalizar ao

usuário, tal como enviando um sinal a um dispositivo de emissão de luz ou uma tela, para adicionar amostra à tira.

Um problema comum para a acurácia dos métodos de análise baseados em tira é que os reagentes, especialmente a enzima, degradam com o tempo. Um dos efeitos da degradação da enzima é uma mudança nos valores de calibração, e assim na precisão e/ou acurácia da análise.

Os perfis de corrente dinâmica fornecidos pelos múltiplos ciclos de atividade da presente invenção podem ser usados para determinar o conteúdo de agente de ionização ativo de tiras sensoras envelhecidas, onde as espécies ionizantes podem ter degradado. Conhecer a quantidade de agente de ionização disponível para reagir com o analito pode permitir a identificação de tiras sensoras com defeito e a correção do valor de concentração de analito para fornecer a acurácia e precisão desejada à análise. Dessa maneira, a acurácia e/ou precisão da análise obtida a partir de tiras sensoras tendo quantidades variáveis de agente de ionização ativo devido à variabilidade de fabricação ou degradação de reagente pode ser obtida.

A FIG. 16A representa representações semi-integrais de voltamogramas acíclicos obtidos a partir de cinco tiras sensoras com taxas de varredura de 1 V/seg para uma amostra incluindo 100 mg/dL de glicose e 40% de hematócritos em WB. Enquanto a FIG. 16A apresenta voltamogramas acíclicos, o método também pode ser aplicado a varreduras cíclicas. O agente de ionização usado na camada reagente para as tiras sensoras foi a enzima glicose oxidase (GO).

Cada tira sensora incluiu uma porcentagem de peso seco de 1,7, 3,5, 5,3, 7 ou 10 por cento (peso/peso) de GO em relação ao peso seco total do material que forma a camada reagente. Como visto na figura, os valores de corrente para as varreduras diretas aumentam em relação às aquelas varreduras reversas à medida que o agente de ionização aumenta. Assim, a diferença entre os valores de corrente de varredura direta e reversa pode ser usada para determinar a porcentagem de agente de ionização ativo presente na camada reagente da tira sensora.

A FIG. 16B representa a relação dos valores de corrente si direta e reversa obtidos no potencial 0,15 como uma função da porcentagem de GO. Uma vez que a correlação entre as relações de corrente direta e reversa e a porcentagem de GO ativa é determinada, a quantidade de GO ativa presente em uma camada reagente pode ser determinada a partir dos valores de corrente medidos para uma tira. A relação das varreduras direta e reversa pode ser determinada antes ou durante a parte de análise do analito da sequência de pulsos, assim permitindo que o usuário seja notificado se a tira tem defeito.

O conteúdo de agente de ionização ativo real da tira pode ser então usado para alterar a rampa de calibração através de uma relação tal como mostrada na FIG. 16C. A FIG. 16C representa uma resposta típica da rampa da calibração de resposta linear da tira sensora como uma função do conteúdo de GO (% peso seco). Essa representação mostra que à medida que o conteúdo de GO aumenta, a rampa de cali-

bração diminui. Assim, se o conteúdo de GO real da camada reagente é calculado a partir da FIG. 16B, a rampa afetada da tira sensora baseada em GO pode ser calculada a partir do polinômio de 2ª ordem da FIG. 16C usando o conteúdo de GO
5 como a entrada. A rampa de saída então pode ser usada para corrigir o valor de concentração de glicose em resposta a quantidades diferentes de agente de ionização ativo presente na camada reagente da tira sensora. Dessa maneira, inexactidão e/ou imprecisão que de outra forma resultaria a
10 partir da degradação da enzima pode ser reduzida.

A FIG. 17 é uma representação esquemática de um dispositivo de medição 1700 incluindo contatos 1720 em comunicação elétrica com o circuito elétrico 1710 e uma tela 1730. Em um aspecto, o dispositivo de medição 1700 é portátil
15 til e é adaptado para ser manual e para receber uma tira sensora, tal como a tira 100 da FIG. 1A. Em um outro aspecto, o dispositivo de medição 1700 é um dispositivo de medição portátil adaptado para receber uma tira sensora e implementar seqüências de pulsos voltamétricos sincronizados.

20 Os contatos 1720 são adaptados para fornecer comunicação elétrica com o circuito elétrico 1710 e os contatos de uma tira sensora, tal como os contatos 170 e 180 da tira sensora 100 representada na FIG. 1B. O circuito elétrico 1710 pode incluir um carregador elétrico 1750, um processador 1740, e um meio de armazenamento legível por computador
25 1745. O carregador elétrico 1750 pode ser um potentiostato, gerador de sinal, ou seus similares. Assim, o carregador 1750 pode aplicar uma voltagem aos contatos 1720 enquanto

registrando a corrente resultante para funcionar como um carregador-registrador.

O processador 1740 pode estar em comunicação elétrica com o carregador 1750, com o meio de armazenamento legível por computador 1745, e com a tela 1730. Se o carregador não é adaptado para registrar corrente, o processador 1740 pode ser adaptado para registrar a corrente nos contatos 1720.

O meio de armazenamento legível por computador 1745 pode ser qualquer meio de armazenamento, tal como magnético, óptico, memória semicondutora, e seus similares. O meio de armazenamento legível por computador 1745 pode ser um dispositivo de memória fixa ou um dispositivo de memória removível, tal como um cartão de memória removível. A tela 1730 pode ser analógica ou digital, em um aspecto, uma tela de LCD adaptada para exibir uma leitura numérica.

Quando os contatos de uma tira sensora contendo uma amostra estão em comunicação idêntica com os contatos 1720, o processador 1740 pode direcionar ao carregador 1750 para aplicar uma seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados à amostra, assim iniciando a análise. O processador 1740 pode iniciar a análise em resposta à inserção de uma tira sensora, a aplicação de uma amostra a uma tira sensora previamente inserida, ou em resposta a uma entrada de usuário, por exemplo.

Instruções considerando a implementação da seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados podem ser fornecidas por código de software legível por computador armaze-

nado no meio de armazenamento legível por computador 1745. O código pode ser código objeto ou qualquer outro código que descreve ou controla a funcionalidade descrita nessa aplicação. Os dados que resultam da seqüência de pulsos voltamétricos sincronizados podem ser submetidos a um ou mais tratamentos de dados, incluindo a determinação de taxas de decaimento, constantes K, rampas, interseções, e/ou temperatura da amostra no processador 1740 e os resultados, tal como uma concentração de analito corrigida, emitidos à tela 1730. Como com as instruções considerando a seqüência de pulsos, o tratamento de dados pode ser implementado pelo processador 1740 a partir do código de software legível por computador armazenado no meio de armazenamento legível por computador 1745.

15 Exemplos

Exemplo 1: Coleta de Dados Voltamétricos

O voltamograma cíclico da FIG. 7A foi obtido a partir de uma Estação de Trabalho Eletroquímica CH aplicando-se um potencial entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo de uma tira sensora que variou linearmente em 1 V/seg em uma taxa de varredura de 0,025 V/seg. A corrente gerada no eletrodo de trabalho durante a aplicação do potencial foi registrada e representada como uma função do potencial aplicado. Depois da excitação inicial de 0,8 segundo, o potentiostato abriu o circuito para fornecer um relaxamento de 3,2 segundos. Seis excitações adicionais foram aplicadas à tira usando a seqüência de pulsos da FIG. 6C. Dessa maneira, sete voltamogramas acíclicos para con-

centrações de glicose de 0, 50, 100, e 400 mg/dL, como mostrado nas FIGs. 8A-8D, respectivamente, foram obtidos.

Exemplo 2: Estabelecendo Representações de Contorno para Múltiplos Tratamentos de Dados

5 As FIGs. 9A, 9B e 9C são representações de contorno de correntes voltamétricas não processadas, tratamentos de dados de semi-integral, e semiderivada, respectivamente. Na FIG. 9A, os valores de corrente não processados em 0,3 V foram obtidos a partir de cada varredura direta para fornecer sete pontos de dados. A representação de contorno re-

10 sultante apresenta os valores de corrente não processados como uma função do tempo já que cada ciclo de atividade incluiu uma excitação de 0,8 segundo seguida por um relaxamento de 3,2 segundos.

15 A FIG. 9B apresenta uma representação de contorno dos mesmos dados voltamétricos convertidos com processamento de dados de semi-integral de acordo com a equação (3) e implementados com equações (5) e (6). O processamento de dados semi-integral implementado foi aquele presente no pacote de software Electrochemical Work Station, versão 4.07,

20 revisado em 26 de Abril de 2004, que acompanha a Estação de Trabalho Eletroquímica de CH Instruments, modelo CHI 660A. Depois de processamento semi-integral, as correntes semi-integrais em 0,3 V onde tomadas a partir da parte reversa

25 de cada varredura e representada como função do tempo, como previamente descrito com relação à FIG. 9A.

 A FIG. 9C apresenta uma representação de contorno dos mesmos dados voltamétricos convertidos com processamen-

to de dados de semiderivadas de acordo com a equação (8). O processamento de dados de semiderivada usados foi apresentado no pacote de software CH Electrochemical Work Station, versão 4.07, revisão em 26 de Abril de 2004, que acompanha a Estação de Trabalho Eletroquímica CH Instruments, modelo CHI 660A. Depois do processamento de semiderivada, o valor de corrente de pico foi obtido a partir de cada varredura e representado como função do tempo, como previamente descrito com relação às FIGs. 9A e 9B. Assim, o eixo Y da FIG. 9C tem a unidade de $\mu\text{Coul}/\text{seg}^{3/2}$ para as correntes semiderivadas.

Exemplo 3: Construindo Gráficos de Calibração e Determinando Concentração de Analito

Como mostrado na FIG. 14, um gráfico de calibração para o método de processamento de dados semi-integral foi formado obtendo-se as correntes semi-integrais para as quatro concentrações de glicose diferentes em 8,8, 12,8, 16,8 e 20,8 segundos a partir da FIG. 9B e representando as correntes como uma função da concentração de glicose de plasma YSI. As concentrações de amostra de glicose foram determinadas a partir do gráfico de calibração ligando-se a corrente processada semi-integral a partir de uma medição de amostra em um tempo específico na rampa e interseção da linha de calibração.

Os gráficos de calibração para os dados não processados e processados por semiderivada foram gerados similarmente. Os gráficos de calibração foram então usados para determinar concentrações de amostra de glicose a partir de

valores de corrente medidos não processados e processados por semiderivada obtidos em um tempo específico.

Exemplo 4: Determinando Concentração de Analito a partir de Múltiplos Conjuntos de Calibração

5 A FIG. 4 representa pelo menos quatro linhas de calibração para tempos até 20,8 segundos. Para um tempo de análise de 16,8 segundos, os pontos de calibração em 8,8 e 12,8 segundos foram usados para calibrar os valores de glicose. Os três valores de glicose calculados a partir dos
10 segundos pontos de calibração 8,8, 12,8 e 16,8 foram o resultado de oxidações independentes separadas pelo tempo de relaxamento antes da segunda excitação 8,8, 12,8 e 16,8. Enquanto representando a mesma concentração de glicose, os valores de concentração diferem pelo ruído experimental.
15 Assim, calculando a média, $G = (G_{8,8} + G_{12,8} + G_{16,8})/3$, esses valores, a relação sinal-ruído do valor de concentração de glicose final foi aumentada.

 Enquanto várias modalidades da invenção foram descritas, estará aparente àqueles versados na técnica que outras modalidades e implementações são possíveis dentro do
20 escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Método voltamétrico para determinar a concentração de um analito em uma amostra, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

5 aplicar uma seqüência de pulsos à amostra, a seqüência de pulsos compreendendo pelo menos dois ciclos de atividade;

 em que cada ciclo de atividade inclui uma excitação e um relaxamento;

10 em que cada excitação inclui uma varredura voltamétrica; e

 em que o relaxamento é de 0.1 a 3 segundos e inclui uma redução de corrente para pelo menos metade da taxa de excitação máxima;

15 medir correntes resultantes a partir de pelo menos uma excitação; e

 determinar a concentração do analito na amostra a partir de pelo menos uma das correntes resultantes.

20 2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o relaxamento inclui uma redução da taxa de corrente de pelo menos uma ordem de magnitude inferior a taxa de corrente na excitação máxima.

25 3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o relaxamento inclui uma redução de corrente a um estado de taxa de corrente zero.

 4. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação é de 0,1 a 1,5 segundos.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o relaxamento é de 0,1 a 2 segundos.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a seqüência de pulsos compreende pelo menos três ciclos de atividade dentro de 90 segundos.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a seqüência de pulsos compreende pelo menos três ciclos de atividade dentro de 5 segundos.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a determinação da concentração do analito na amostra está completa dentro de 2 a 50 segundos.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a seqüência de pulsos compreende um pulso de leitura terminal.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda aplicar a seqüência de pulsos a uma tira sensora que inclui um contador de eletrodo e uma camada de barreira de difusão em um eletrodo de trabalho.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar a concentração do analito em uma amostra com menos polarização atribuível ao fundo mediador do que uma concentração do analito determinada em resposta a cor-

rentes resultantes medidas a partir de uma seqüência de pulsos carente de pelo menos dois ciclos de atividade.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a amostra é um líquido que compreende um fluido biológico.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o analito é glicose.

14. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação compreende um potencial variado linearmente na taxa de pelo menos 2 mV/s.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a excitação é selecionada a partir do grupo que consiste em linear, cíclico, acíclico e combinações desses.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **CARACTERIZADO** pelo fato de que pelo menos dois valores de corrente resultante são registrados durante a excitação.

17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, **CARACTERIZADO** pelo fato de que as excitações são acíclicas e excluem substancialmente um pico de oxidação reversa ou um pico de redução reversa de espécies mensuráveis responsivas a concentração do analito na amostra.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda a determina-

ção da concentração do analito em uma amostra com menos polarização de espécies mensuráveis não responsivas a concentração do analito na amostra do que uma concentração do analito na amostra determinada em resposta a uma sequência de pulso incluindo excitações cíclicas.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, **CARACTERIZADO** pelo fato de que as excitações são acíclicas e terminam antes da iniciação de um pico de corrente reversa.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, **CARACTERIZADO** pelo fato de que as excitações são acíclicas e excluem substancialmente picos de redução e oxidação direta e reversa de espécies mensuráveis responsivas a concentração do analito na amostra.

21. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, **CARACTERIZADO** pelo fato de que as excitações são acíclicas e estão substancialmente em uma região de corrente limitada por difusão de um par redox.

22. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar pelo menos um perfil de contorno das correntes resultantes.

23. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 22, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda aplicar às correntes resultantes pelo menos um tratamento de dados selecionado a partir do grupo que consiste em semi-integral, semiderivada e derivada.

24. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 23, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar uma pluralidade de conjuntos de calibração a partir das correntes resultantes.

5 25. Método, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar o número de ciclos de atividade da sequência de pulso a partir da pluralidade de conjuntos de calibração.

10 26. Método, de acordo com a reivindicação 24, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a determinação da concentração de analito na amostra compreende calcular a média de múltiplos valores de concentração obtidos a partir da pluralidade de conjuntos de calibração.

15 27. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda comparar pelo menos uma corrente resultante a um valor pré-selecionado; e determinar se uma tira sensora contendo a amostra está sub-preenchida com a amostra da comparação.

20 28. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar a relação das corrente resultantes de varredura direta ou reversa; e determinar o conteúdo de agente de ionização ativo de uma tira sensora.

25 29. Método, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a relação foi previamente correlacionada às quantidades conhecidas do agente de ionização ativo.

30. Método, de acordo com a reivindicação 28, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda alterar a rampa de calibração em resposta ao conteúdo de agente de ionização ativo da tira sensora.

5 31. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 30, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a relação de tempo de excitação/relaxamento dos ciclos de atividade é de 0,3 a 0,2.

10 32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar a concentração do analito na amostra de forma mais acurada que uma concentração do analito na amostra determinada em resposta a correntes resultantes a partir de uma seqüência de pulso tendo uma relação de tempo de excitação/relaxamento
15 dos ciclos de atividade maior do que 0,3.

 33. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 32, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar a concentração do analito na amostra com menos polarização atribuível ao fundo mediador do que uma
20 concentração do analito determinada em resposta a correntes resultantes de uma seqüência de pulsos tendo menos que pelo menos dois ciclos de atividade.

 34. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda determinar
25 uma pluralidade de conjuntos de calibração a partir de correntes resultantes registradas durante pelo menos dois ciclos de atividade; e determinar a duração da seqüência de

pulsos em resposta à concentração determinada do analito na amostra.

35. Método, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda

5 comparar pelo menos uma corrente resultante a um valor pré-selecionado;

 determinar se a tira sensora está sub-preenchida pela comparação; e

 comparando pelo menos um valor de corrente registrado a partir de uma sequência de pulsos incluindo pelo me-
10 nos dois ciclos de atividade a um valor pré-selecionado; e

 sinalizar para adicionar amostra adicional à tira sensora se a tira estiver sub-preenchida.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a sinalização ocorre em menos
15 de 5 segundos.

37. Dispositivo de medição portátil para determinar a concentração de um analito em uma amostra, adaptado para receber uma tira sensora, **CARACTERIZADO** pelo fato de
20 que compreende:

 pelo menos dois contatos; e

 circuito elétrico, em que o circuito elétrico inclui um processador em comunicação elétrica com um carregador elétrico e um meio de armazenamento legível por computa-
25 dor,

 em que o processador é operável para implementar uma sequência de pulsos do carregador elétrico em pelo menos

dois contatos, onde a seqüência de pulsos compreende pelo menos dois ciclos de atividade,

em que cada um dos ciclos de atividade incluem uma excitação e um relaxamento;

5 em que cada excitação inclui uma varredura voltamétrica; e

em que durante o relaxamento, o carregador elétrico reduz a taxa de corrente aos pelo menos dois contatos pela metade da excitação máxima por 0,1 a 3 segundos;

10 em que o processador é operável para medir pelo menos um perfil de corrente em pelo menos dois contatos, e

em que o processador é operável para determinar a concentração do analito na amostra em resposta a pelo menos um perfil de corrente.

15 38. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 37, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para aplicar pelo menos um tratamento de dados a partir do grupo que consiste em semi-integral, semiderivada e derivada ao perfil de corrente para determinar a concentração de analito
20 na amostra.

39. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 37 ou 38, **CARACTERIZADO** pelo fato de que durante o relaxamento o carregador elétrico reduz a corrente a pelo menos dois contatos por pelo menos uma ordem de magnitude em relação a
25 taxa de corrente na excitação máxima.

40. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 37 a 39, **CARACTERIZADO** pelo fato de que durante o relaxamento o processador faz com que o carregador

elétrico para abra o circuito entre pelo menos dois contatos.

41. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 37 a 40, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para valores médios de concentrações múltiplas obtidos a partir de perfis de correntes múltiplas.

42. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 37 a 41, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para comparar pelo menos uma corrente do pelo menos um perfil de corrente com um valor pré-selecionado de um meio de armazenamento legível por computador para determinar se a tira sensora em comunicação elétrica com pelo menos dois contatos está sub-preenchida com a amostra.

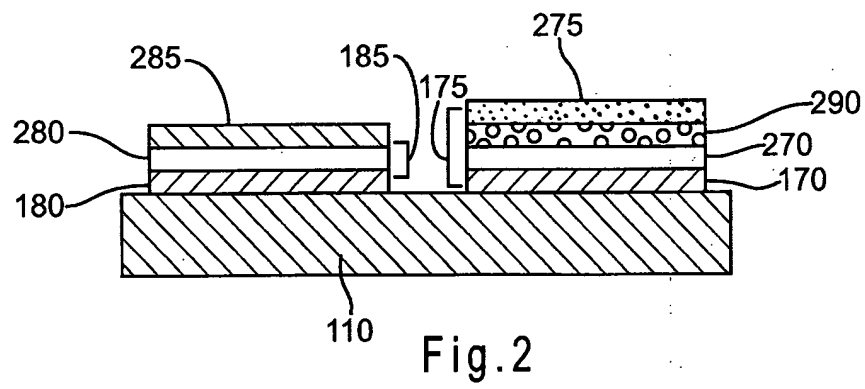
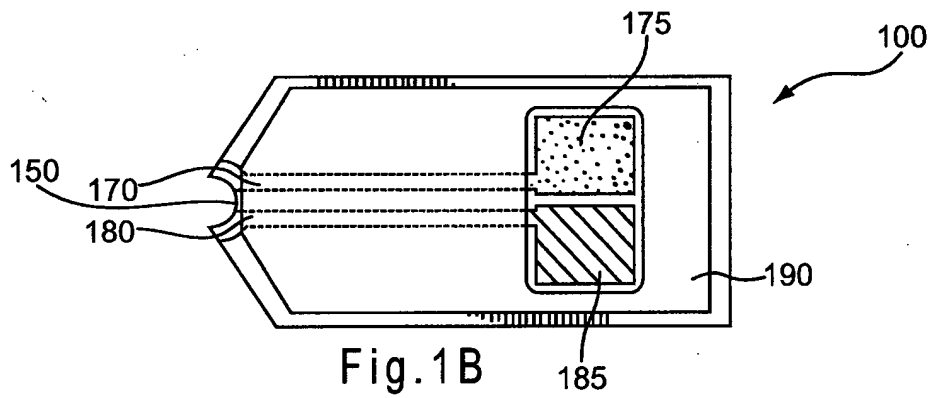
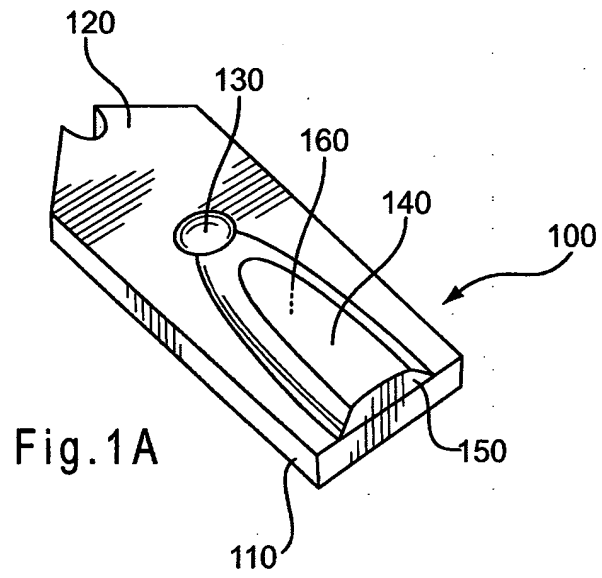
43. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 42, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para sinalizar um mostrador em uma comunicação elétrica com o processador para instruir ao usuário a adição de mais uma amostra.

44. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 37 a 43, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para comparar correntes resultantes de varredura direta ou reversa para determinar uma relação e para determinar a partir da relação um conteúdo de agente de ionização ativo a partir de uma tira sensora em comunicação elétrica com os pelo menos dois contatos.

45. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 44, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador é operável para

alterar uma rampa de calibração a partir de um meio de armazenamento legível por computador em resposta ao conteúdo de agente de ionização ativo da tira sensora.

46. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das
5 reivindicações 37 a 45, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o processador e o carregador elétrico são operáveis para manter uma relação de tempo de excitação/relaxamento dos ciclos de atividade de 0,3 a 0,2.



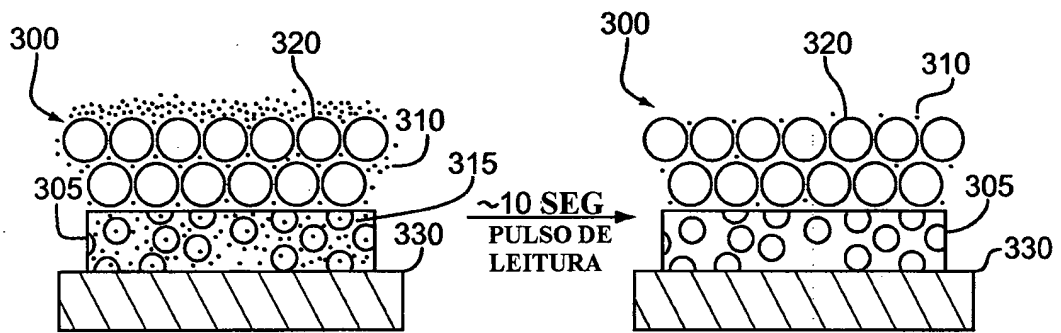


Fig.3A

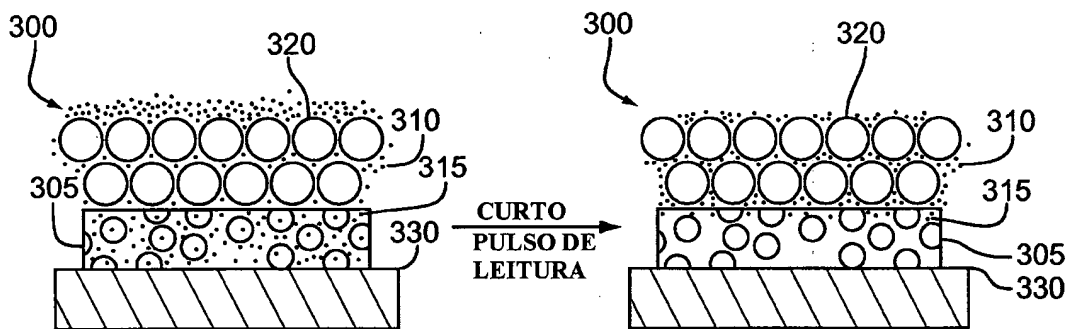


Fig.3B

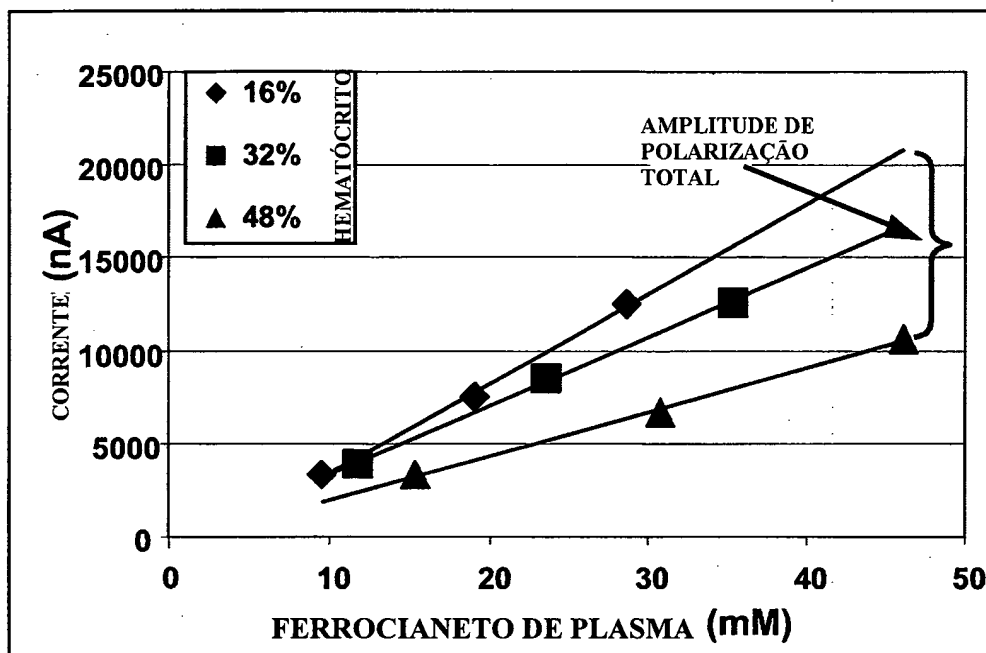


Fig.4A

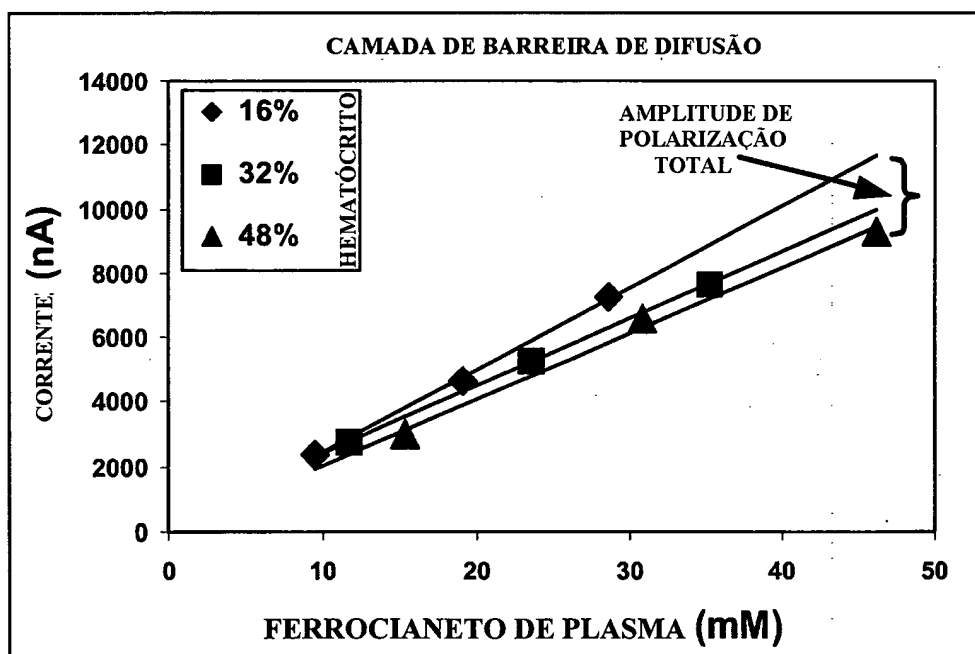


Fig.4B

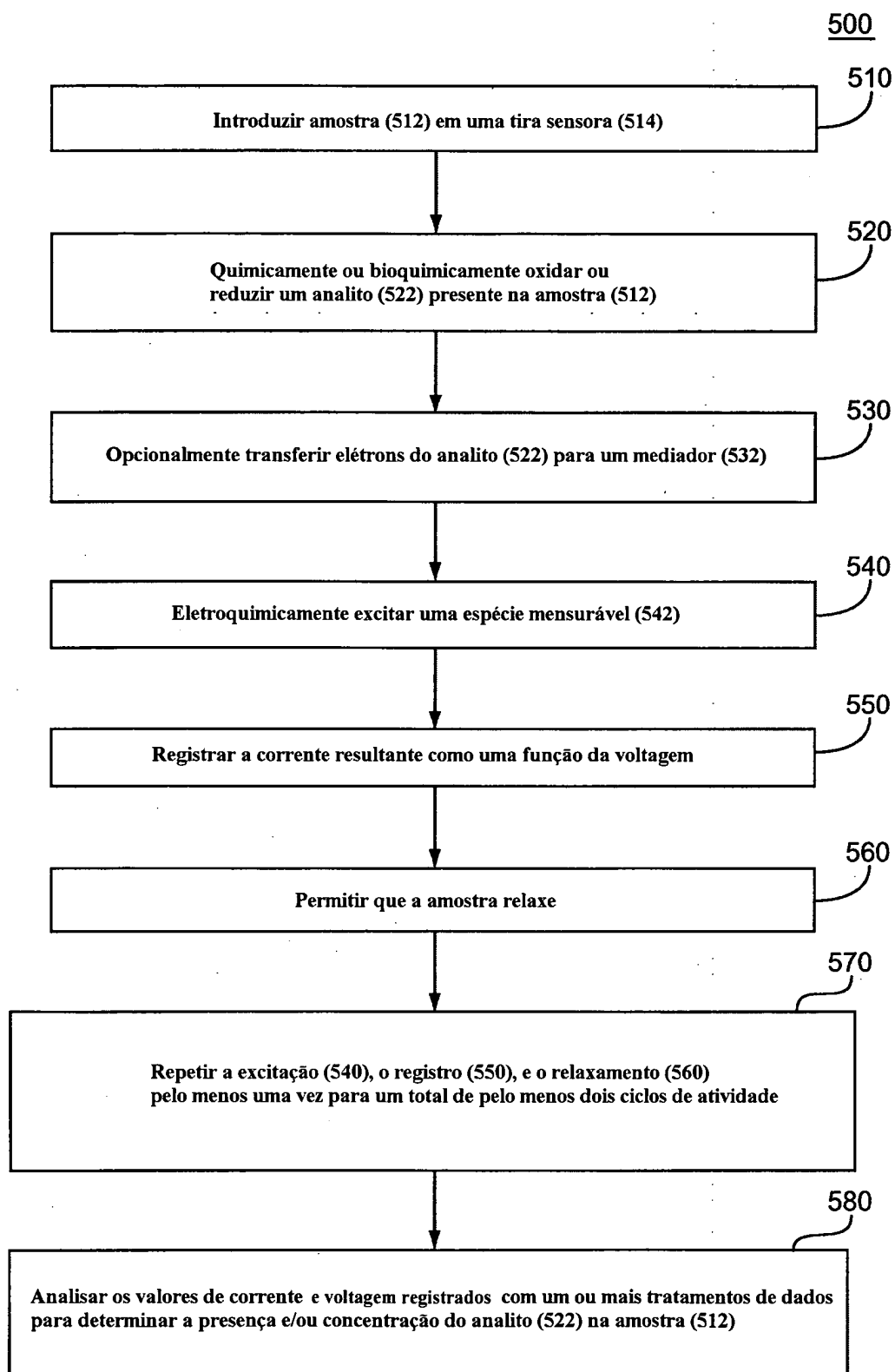


Fig.5

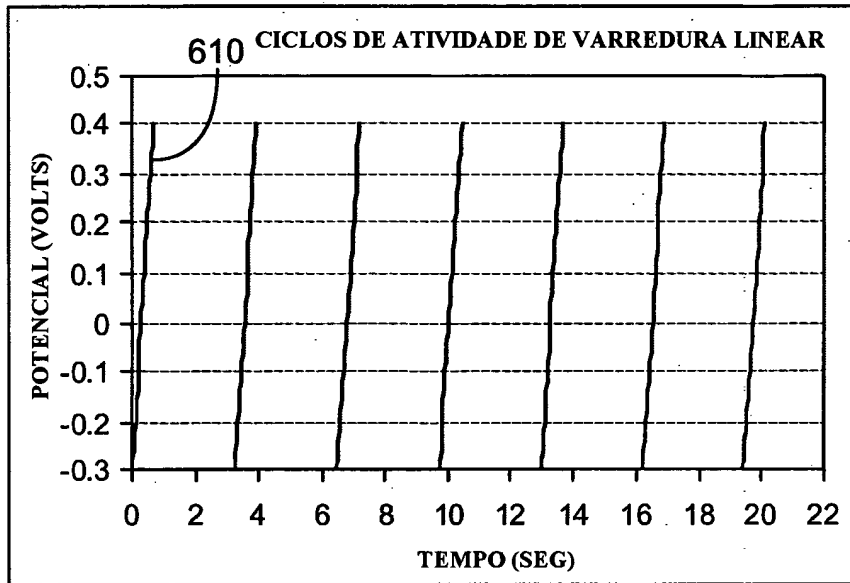


Fig.6A

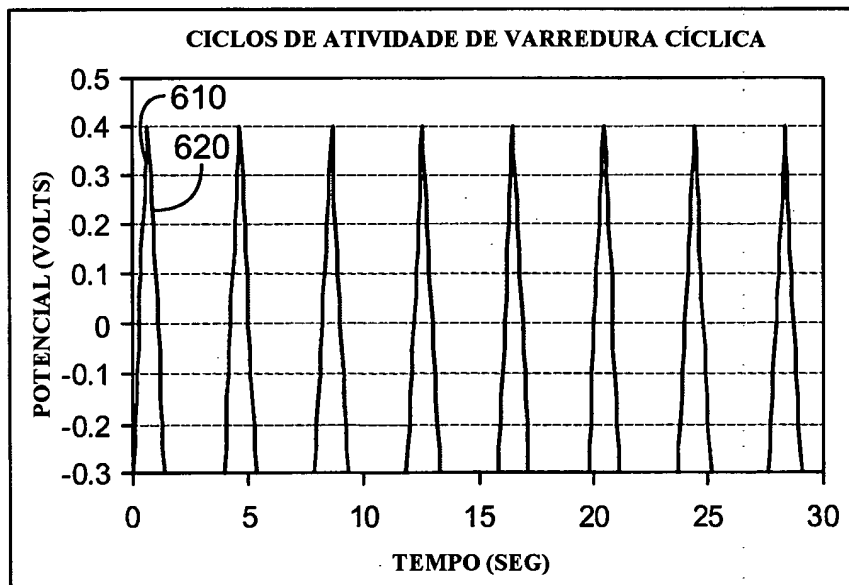


Fig.6B

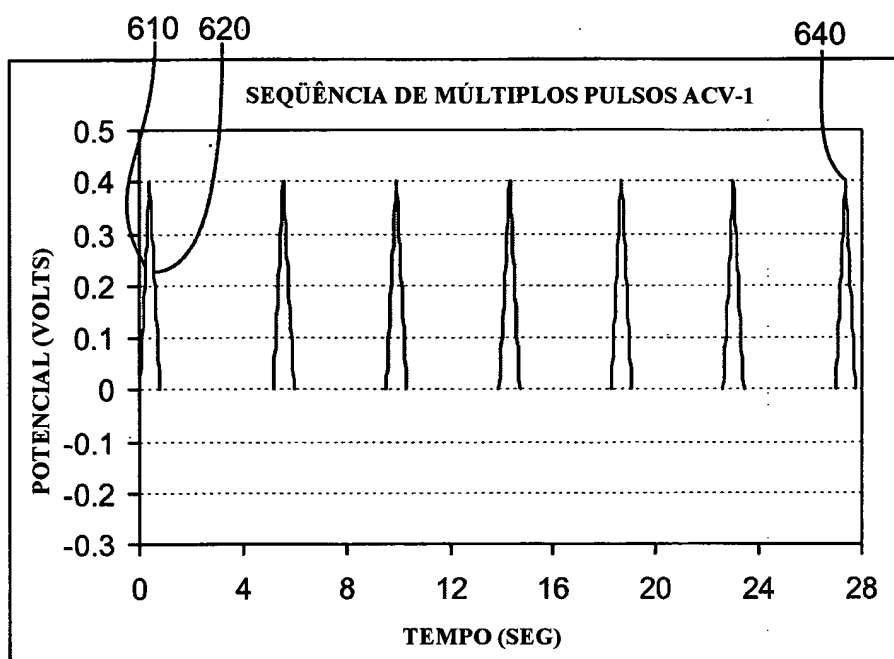


Fig.6C

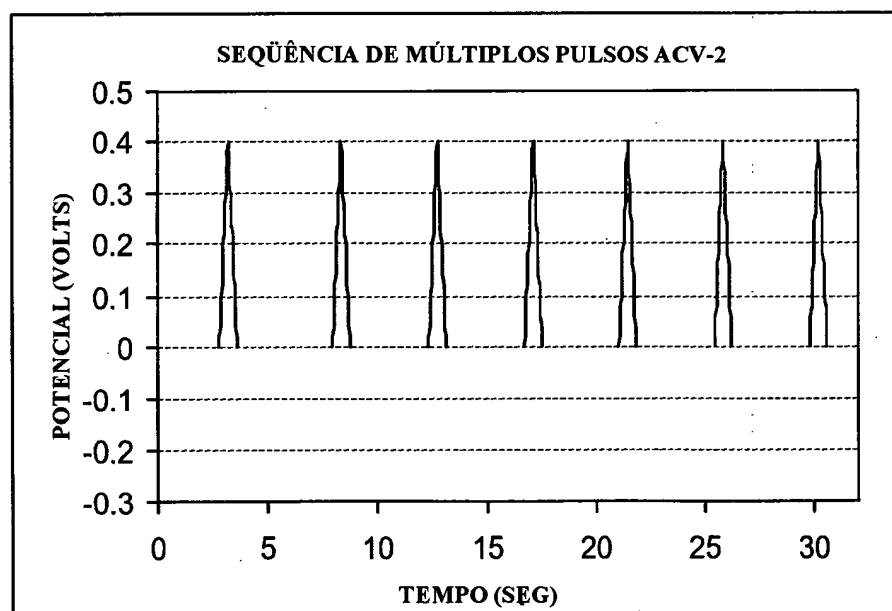


Fig.6D

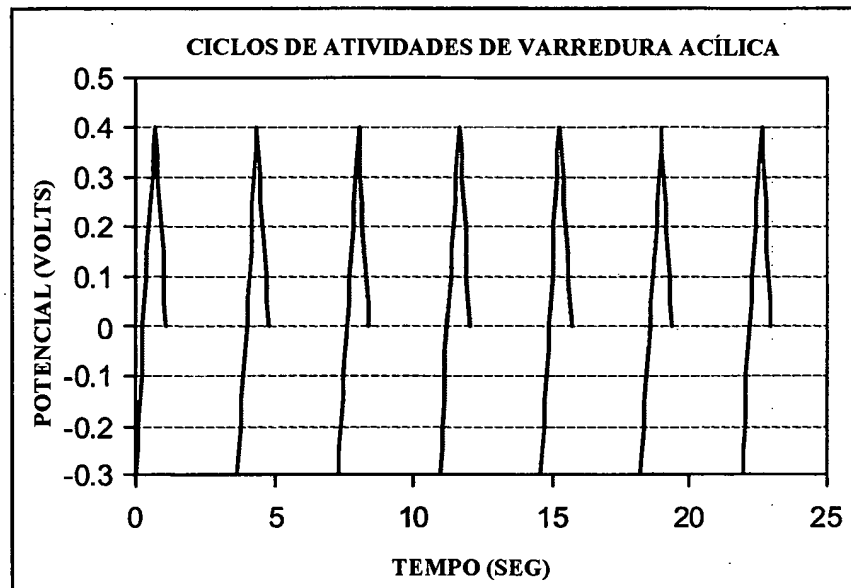


Fig.6E

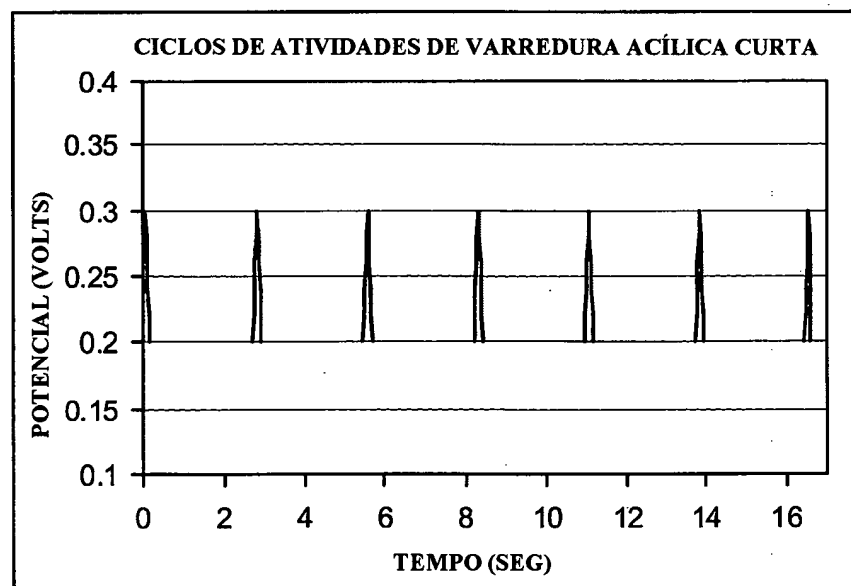


Fig.6F

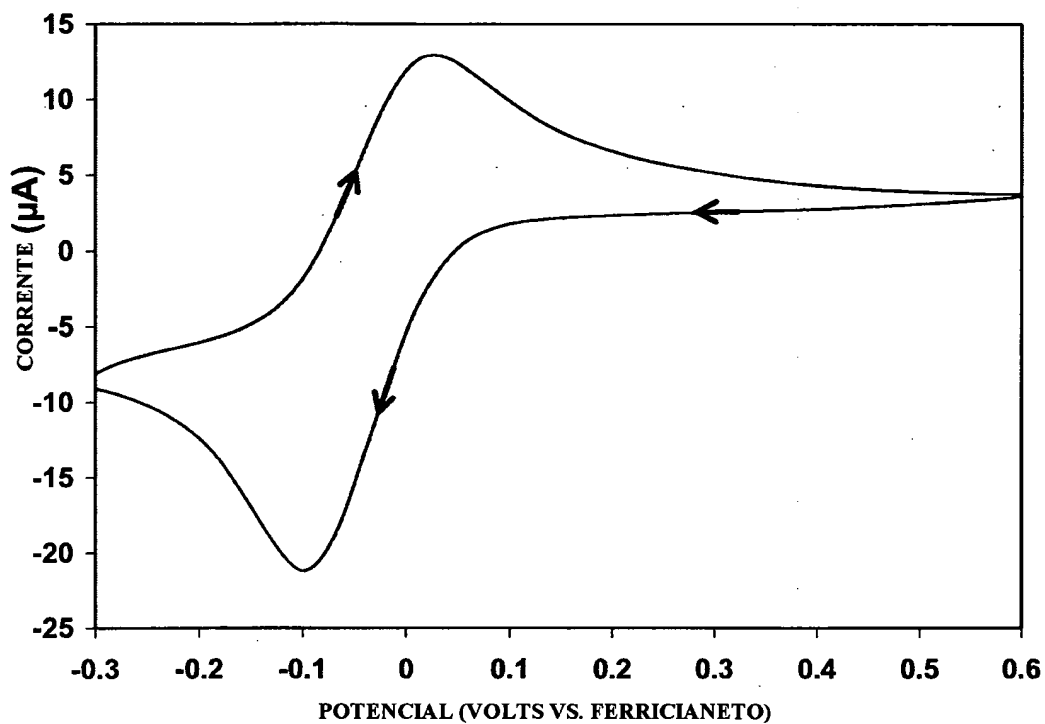


Fig.7A

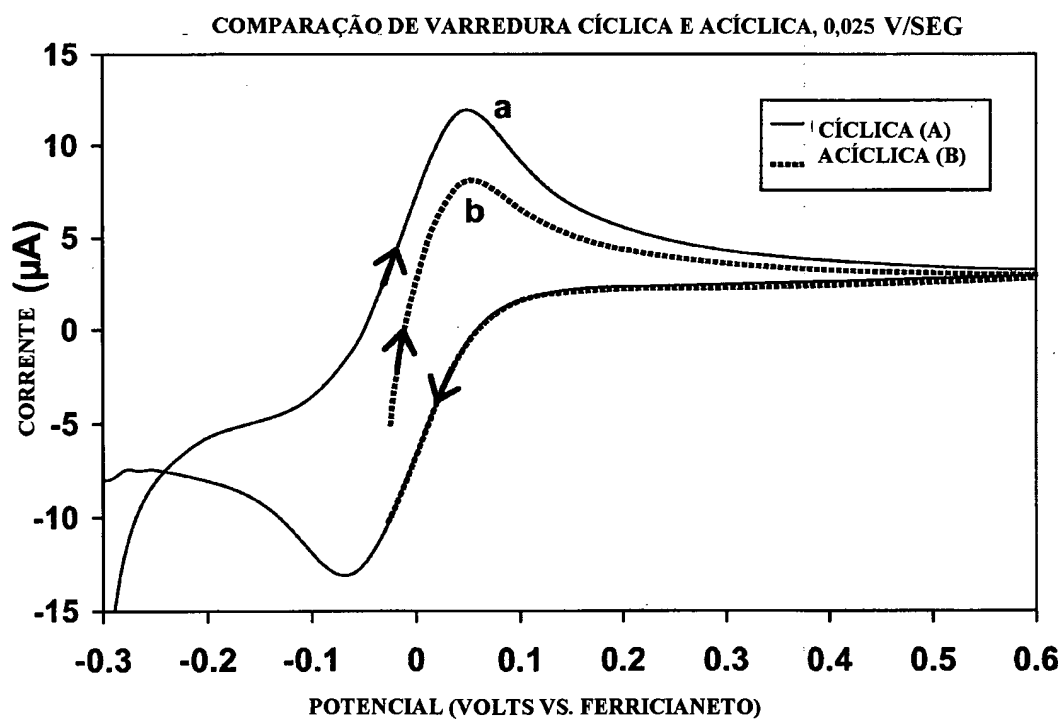


Fig.7B

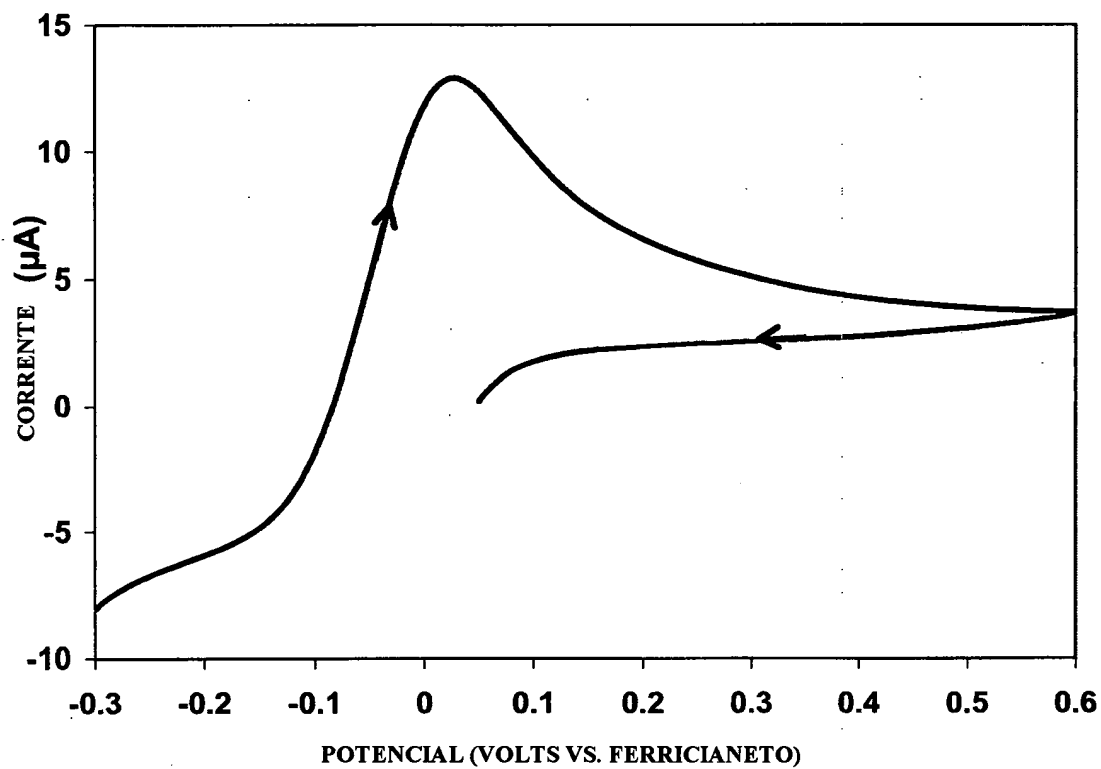


Fig.7C

VOLTAMETRIA CÍCLICA E ACÍCLICA COM
TAXA DE VARREDURA RÁPIDA

1V/SEG, 100mg/dL

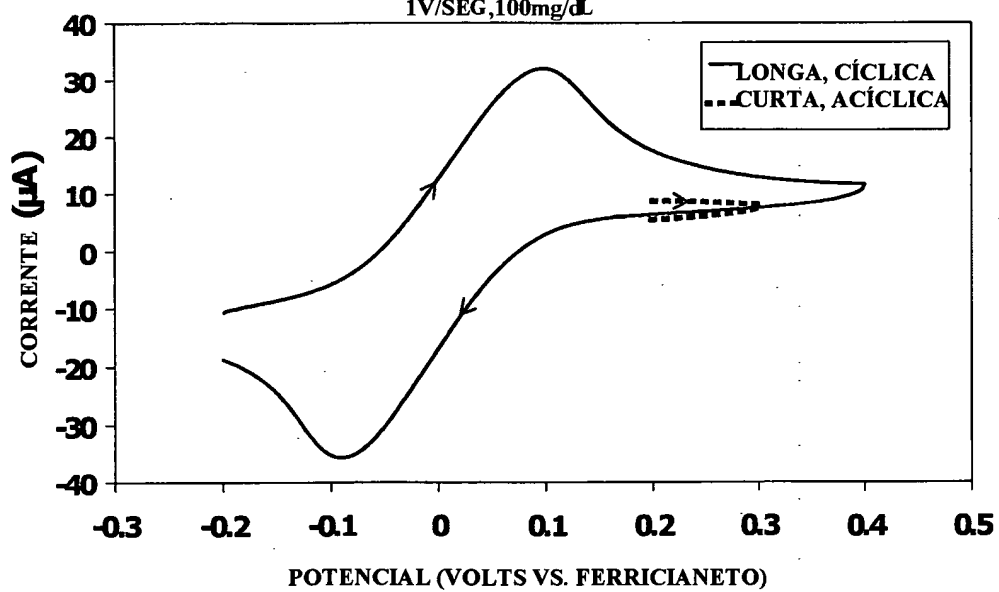


Fig.7D

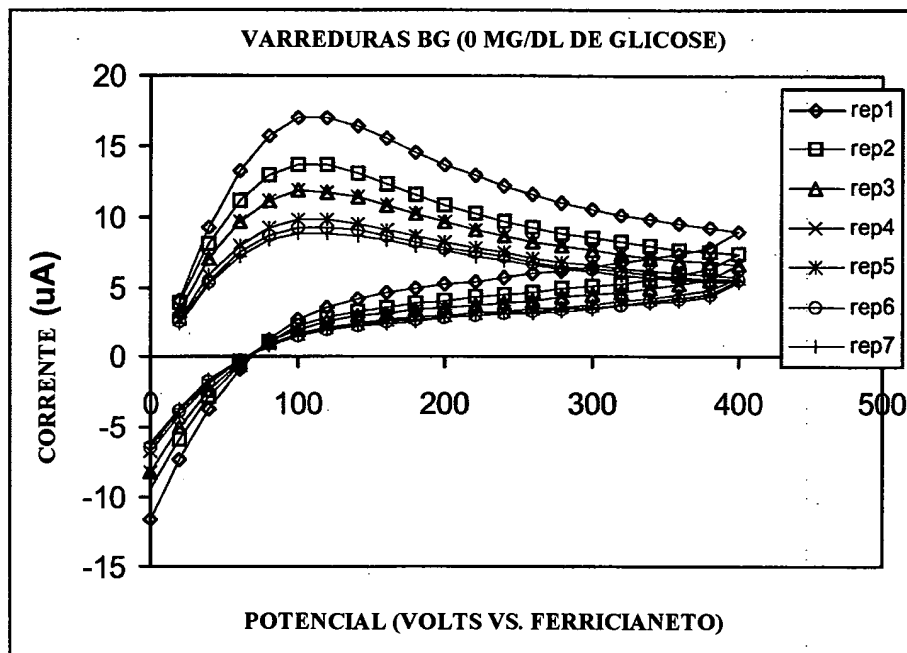


Fig.8A

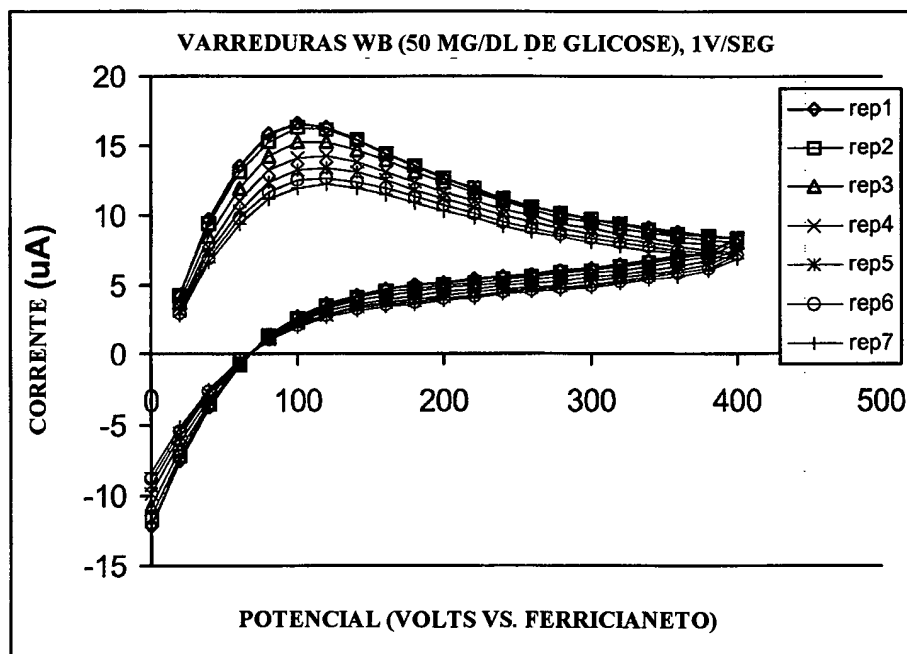
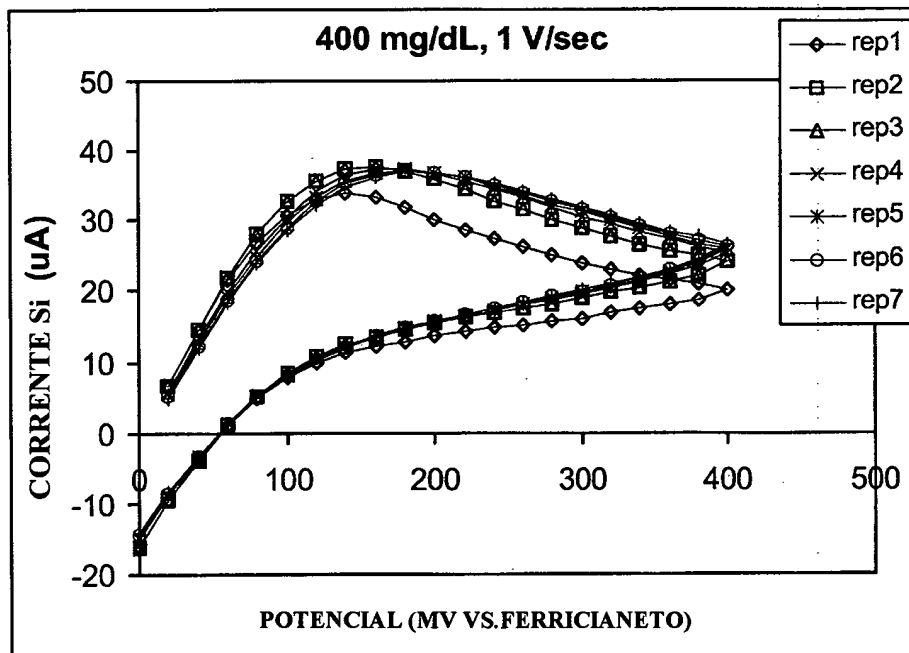
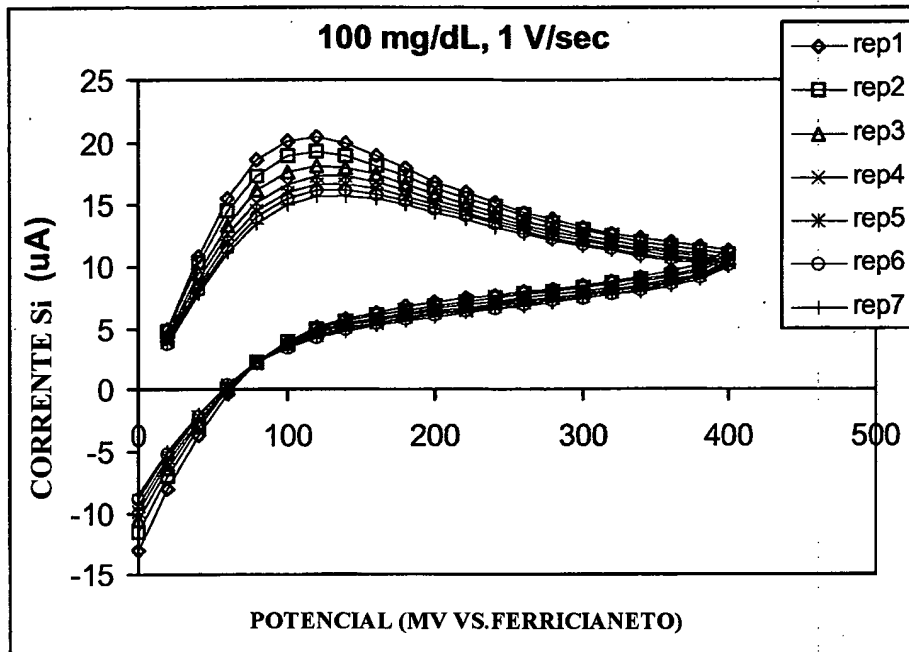


Fig.8B



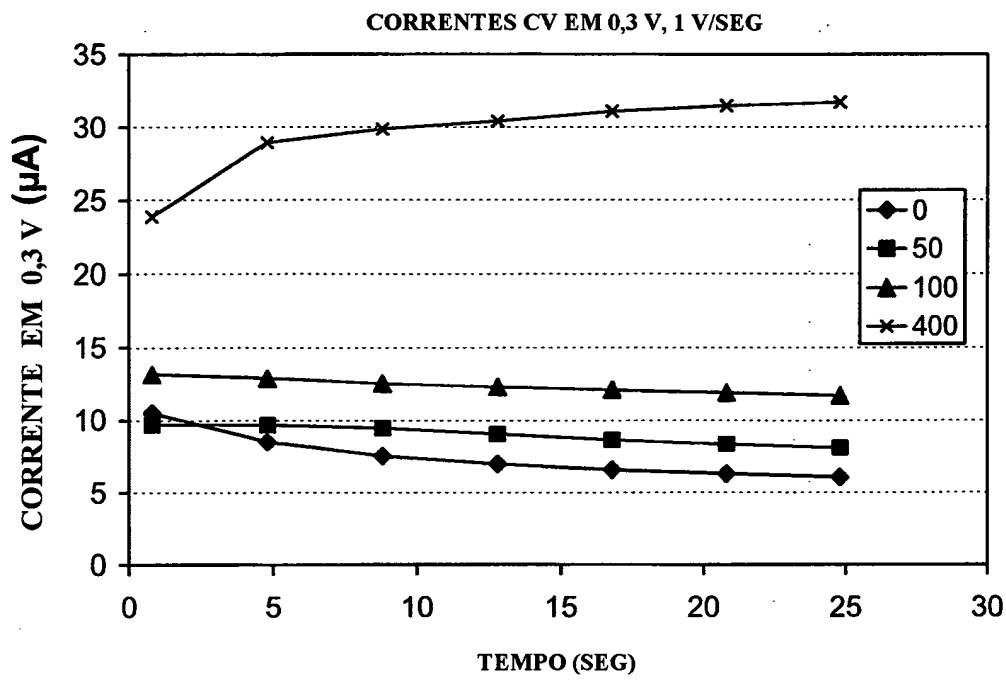


Fig.9A

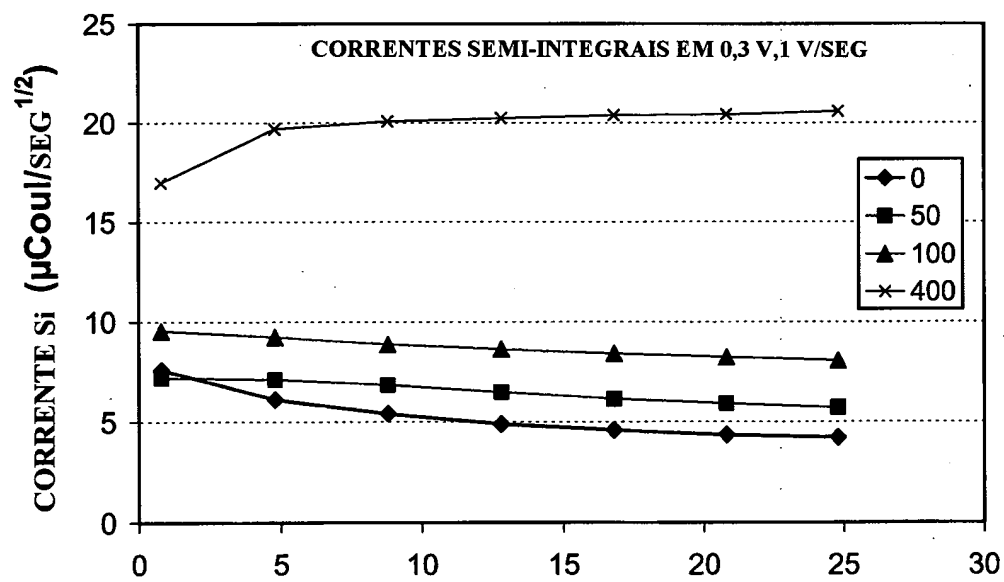


Fig.9B

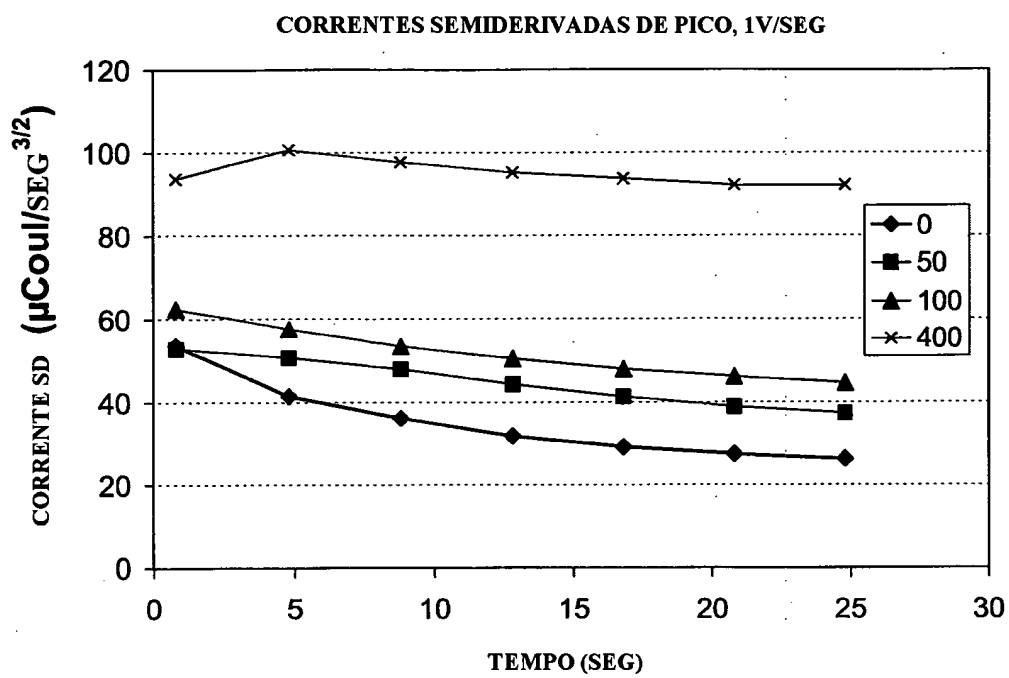


Fig.9C

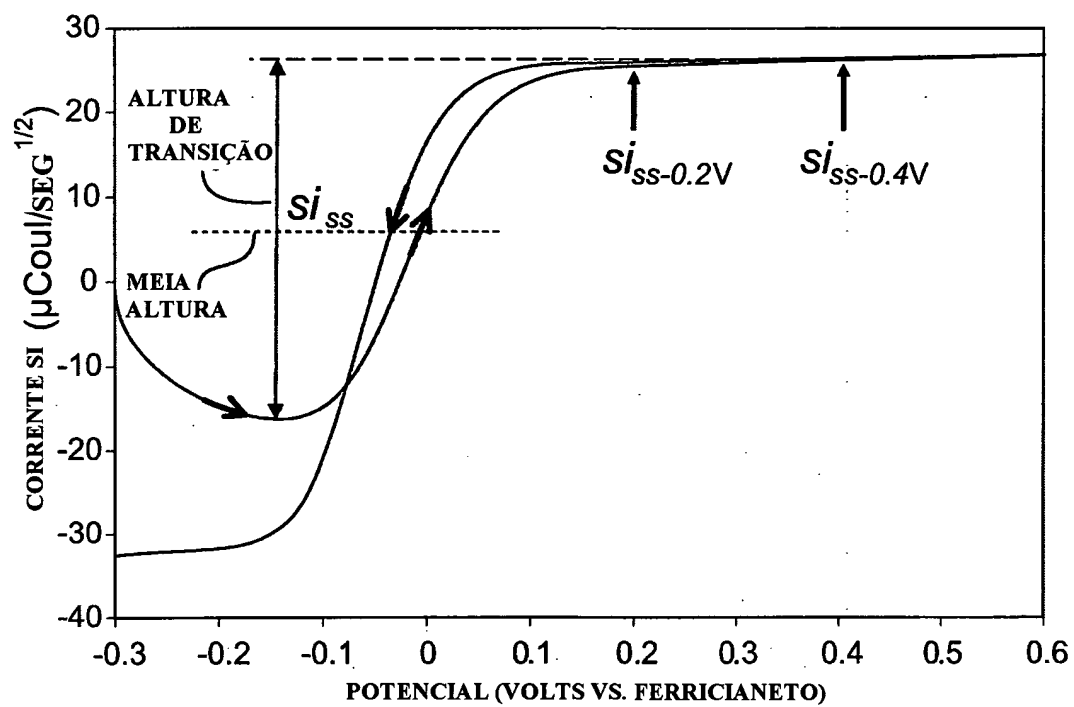


Fig.10A

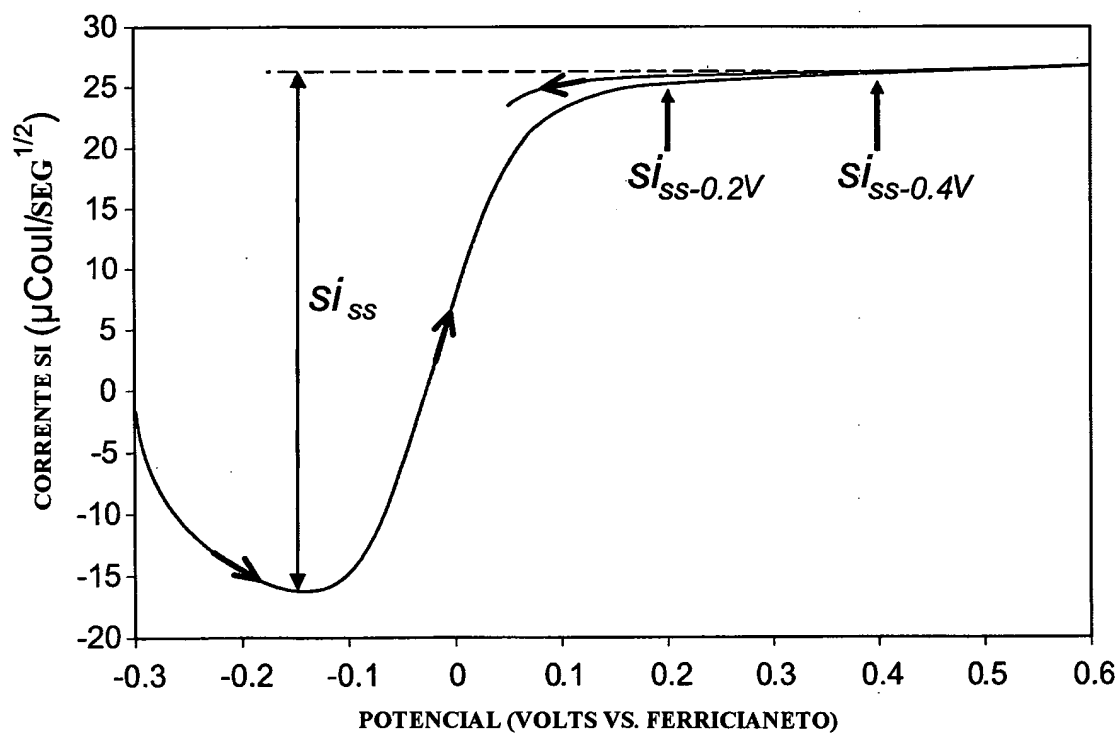


Fig.10B

Semi-integral de varreduras cíclicas e acíclicas, 0,025 V/seg

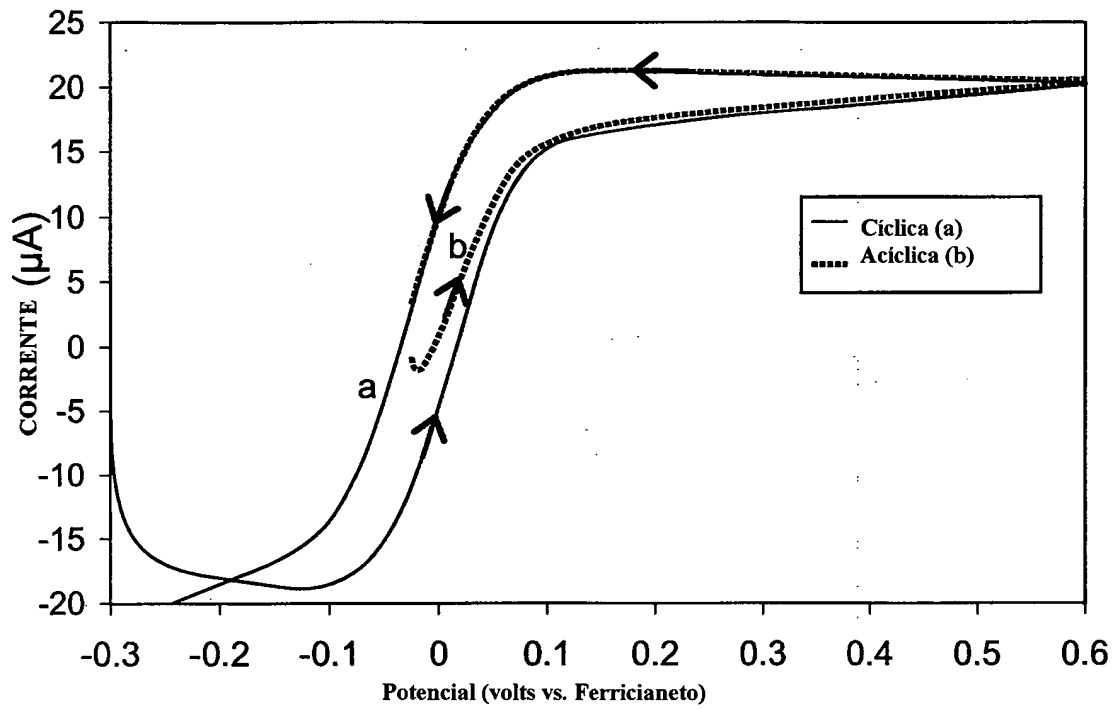


Fig.10C

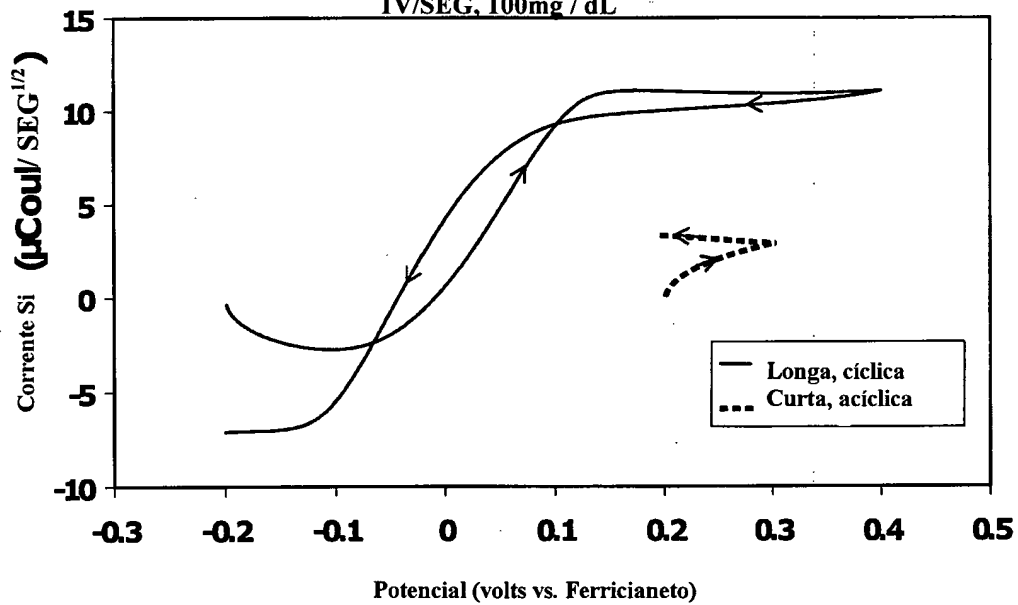
Semi-integrais de voltametria de taxa de varredura rápida
1V/SEG, 100mg / dL

Fig.10D

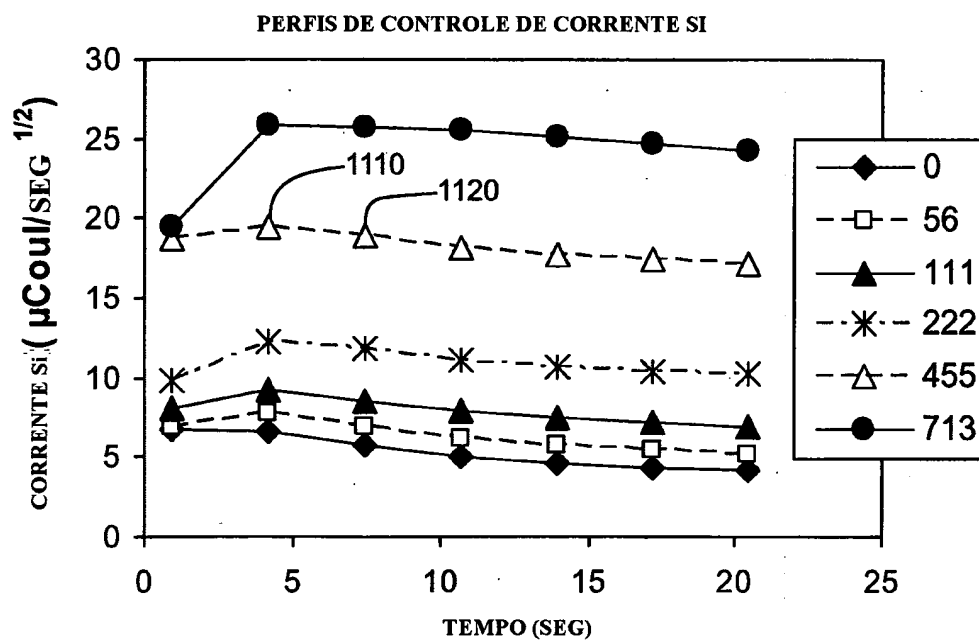


Fig.11

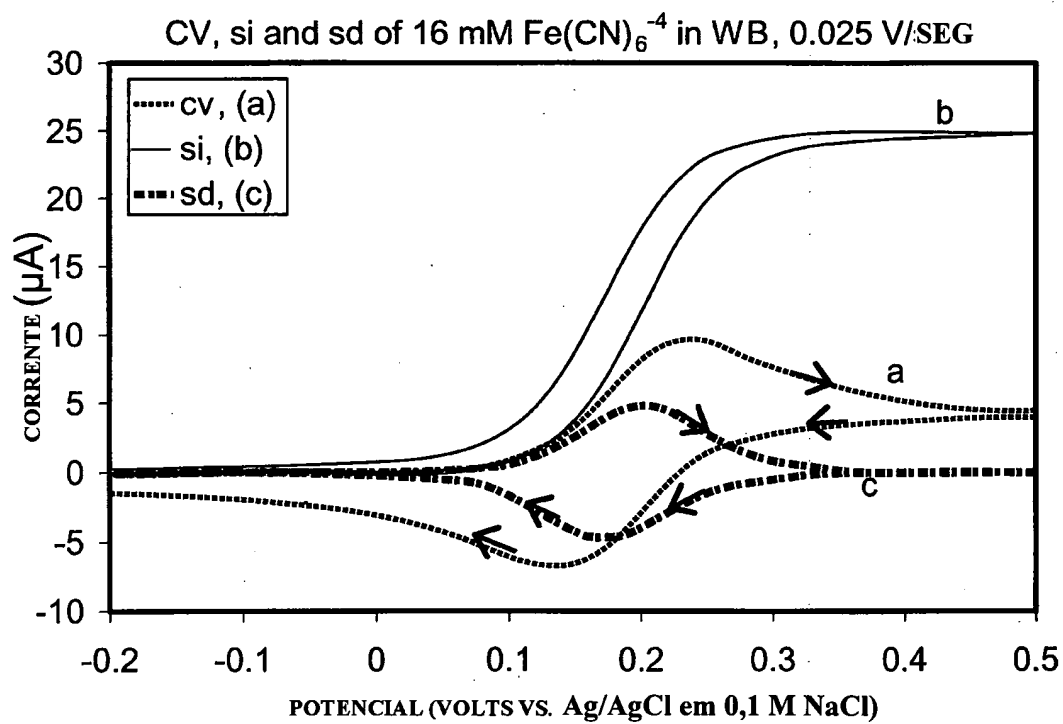


Fig.12A

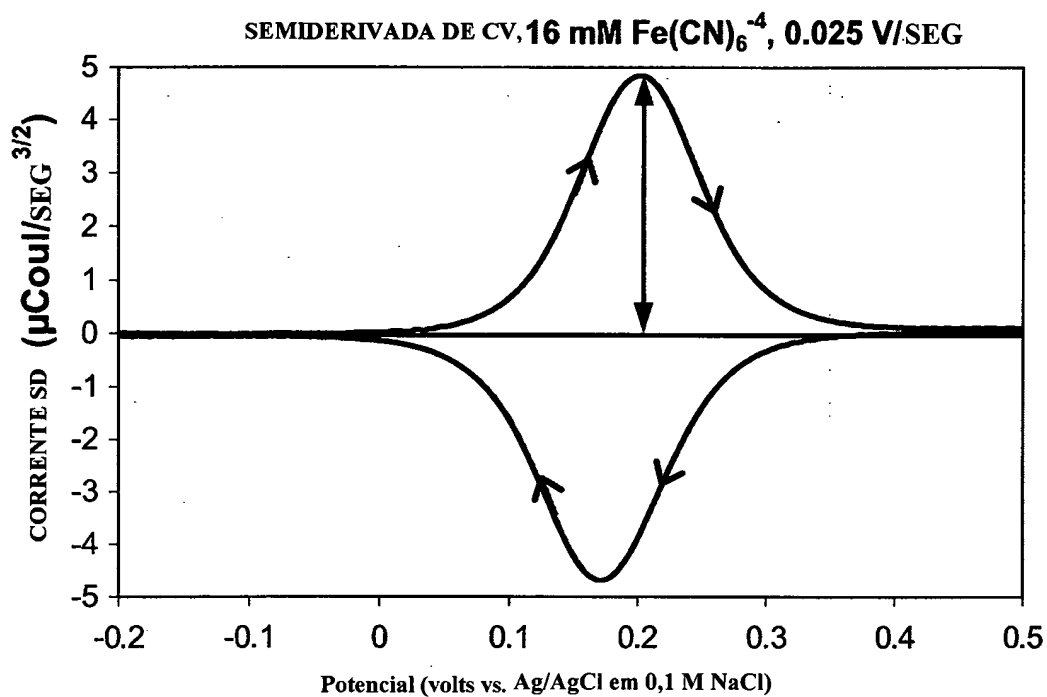


Fig.12B

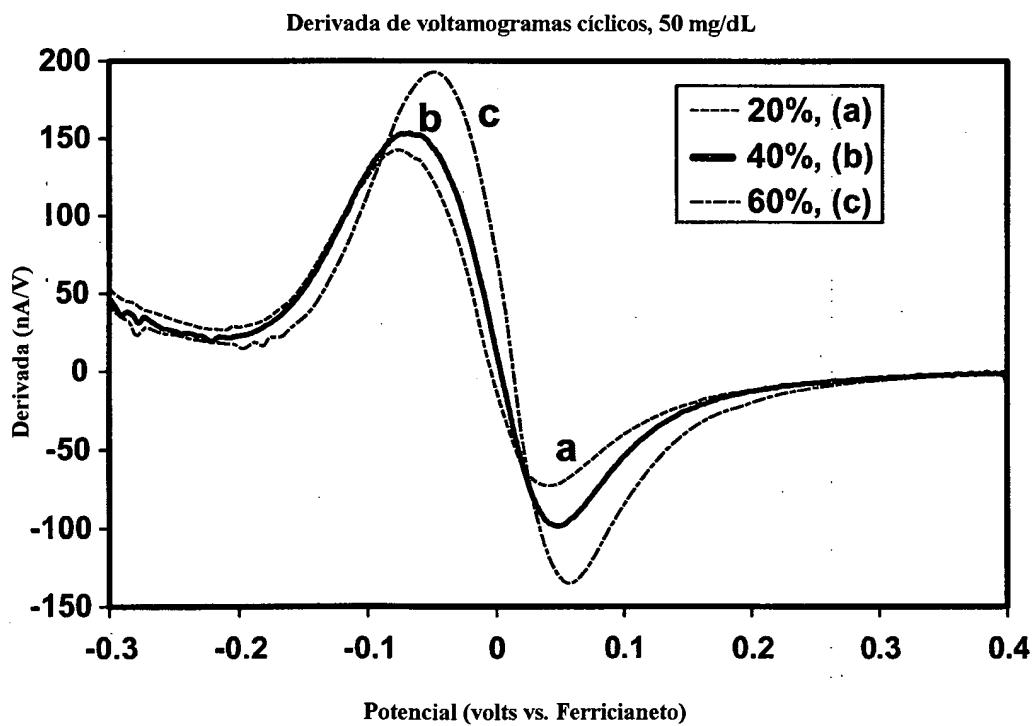


Fig.13A

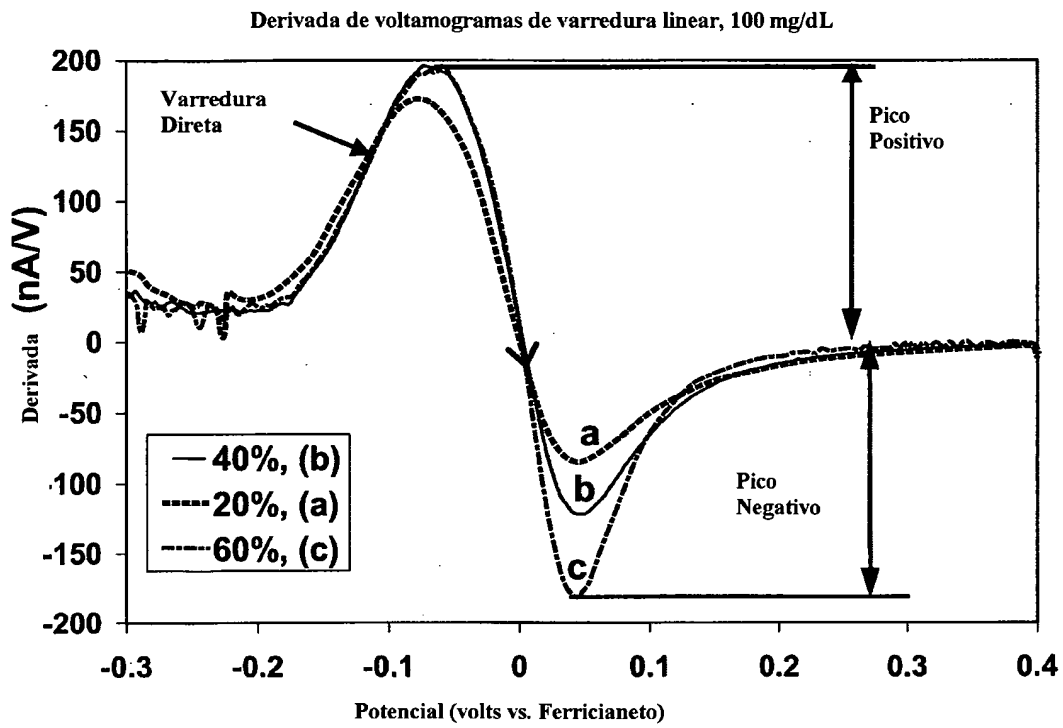


Fig.13B

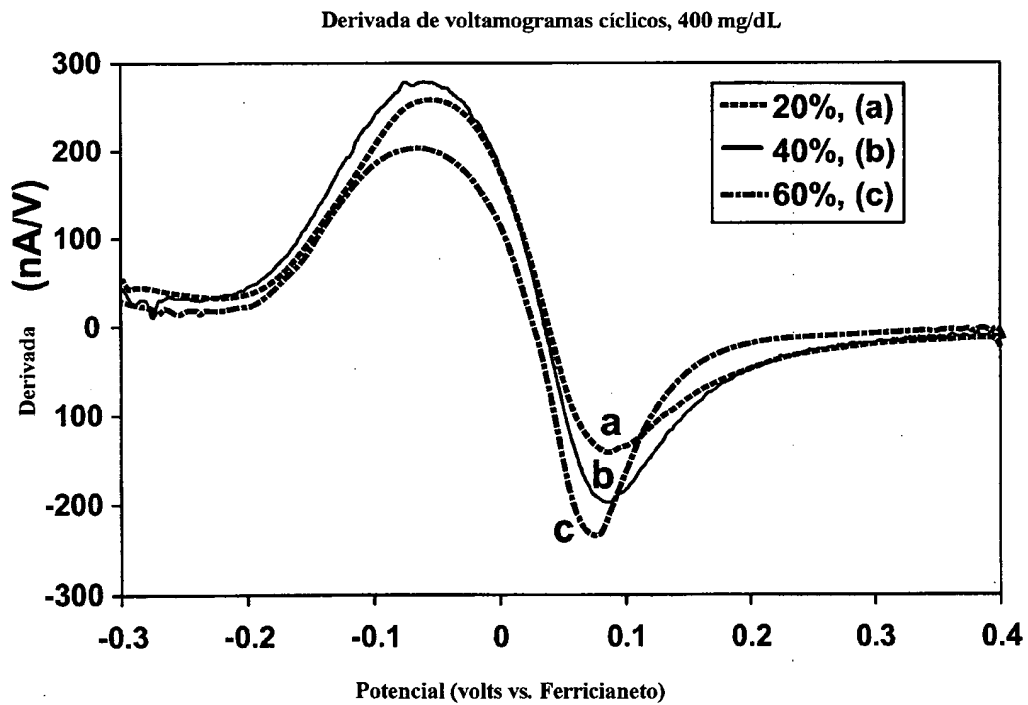


Fig.13C

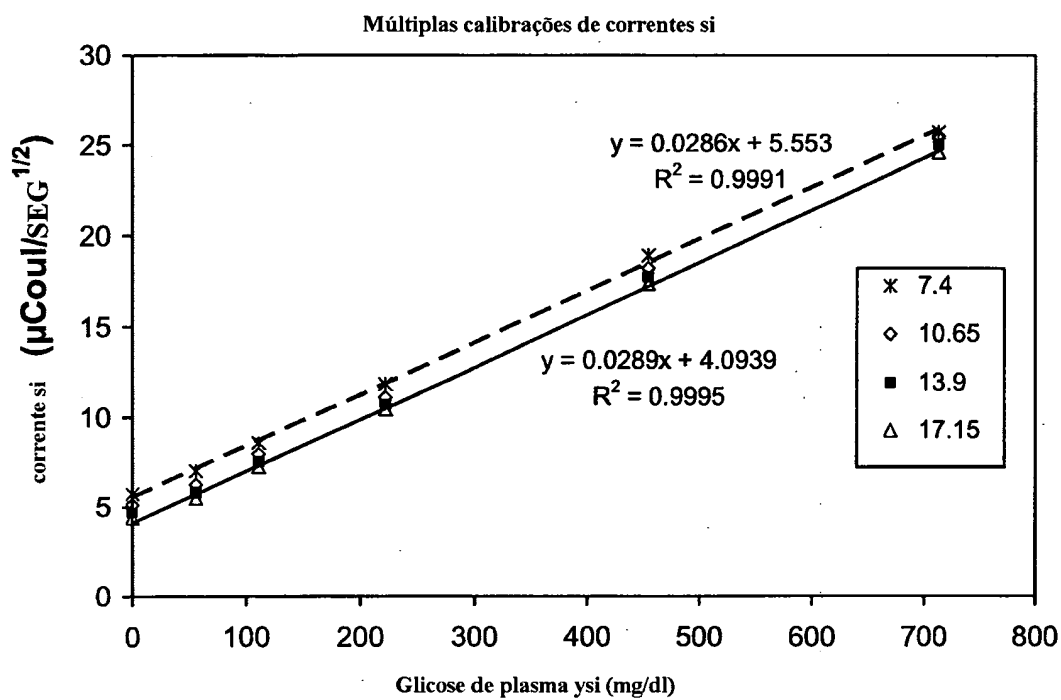


Fig.14

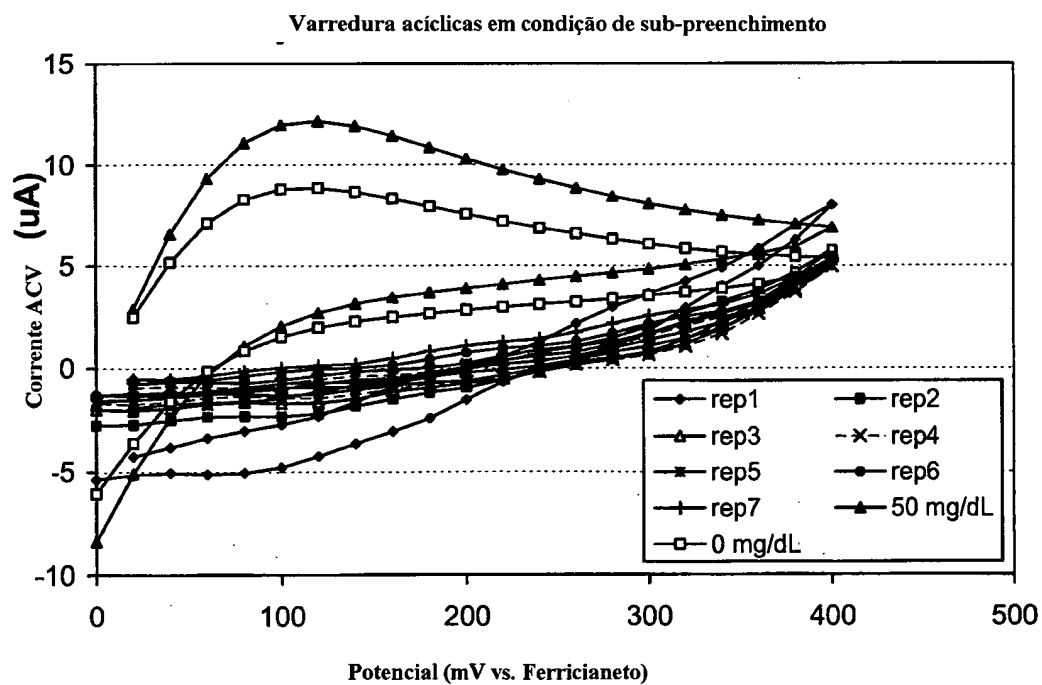


Fig.15

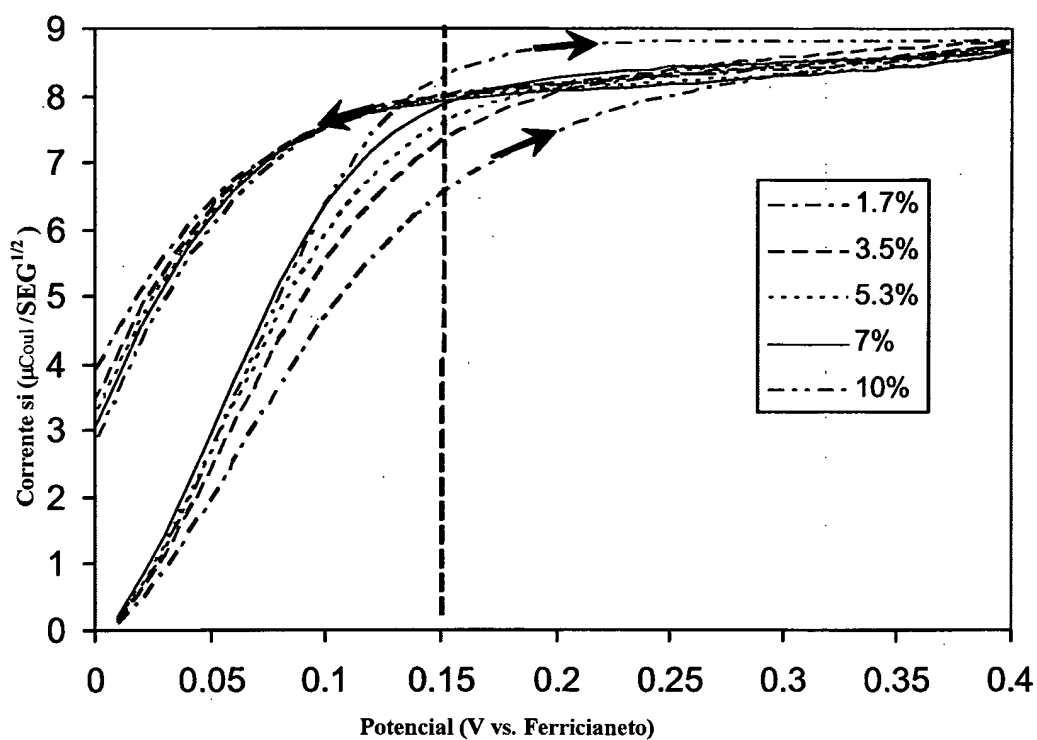


Fig.16A

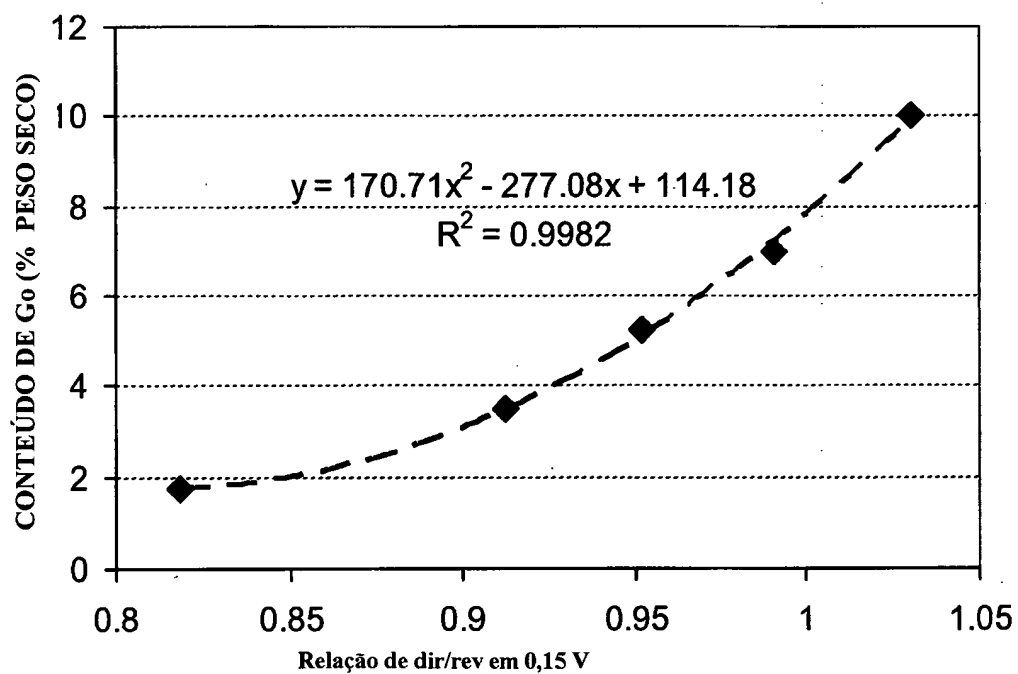


Fig.16B

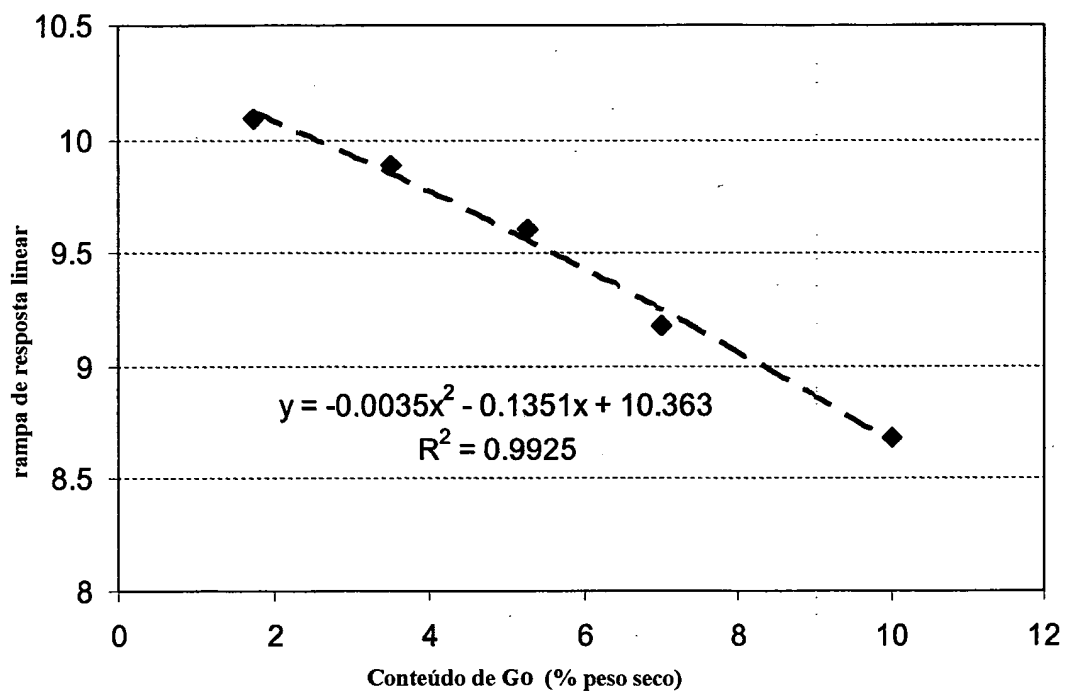


Fig.16C

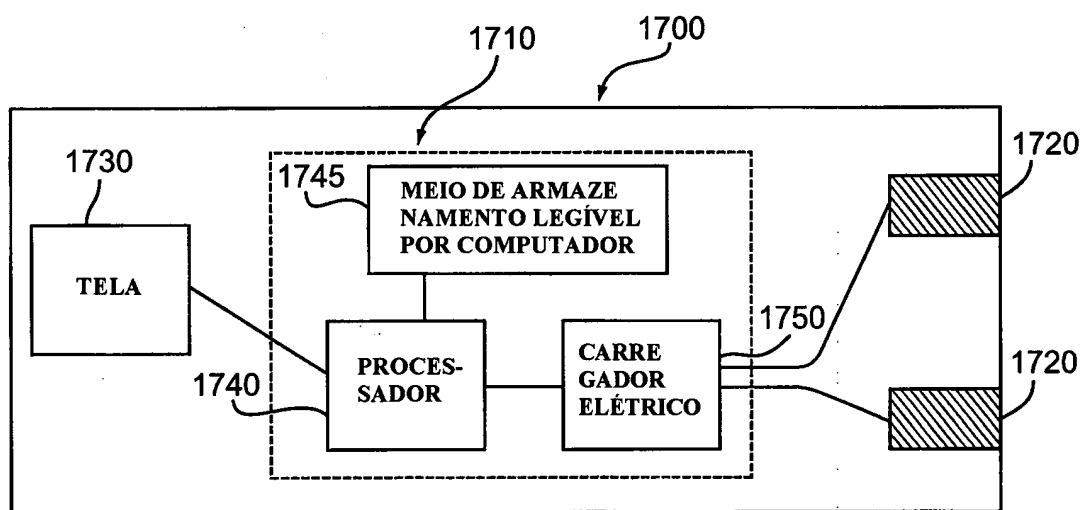


Fig.17

RESUMO

"MÉTODOS VOLTAMÉTRICOS E DISPOSITIVOS PARA MEDIÇÃO
DE ANALITO EM AMOSTRA"

Um sistema sensor, dispositivo e métodos para determinar a concentração de um analito em uma amostra são
5 descritos. Sequências de pulsos voltamétricos sincronizados
que incluem múltiplos ciclos de atividade de excitações e
relaxamentos sequenciais podem fornecer um tempo de análise
mais curto e/ou podem aperfeiçoar a acurácia e/ou precisão
da análise. As sequências de pulsos descritas podem reduzir
10 erros de análise que aparecem a partir do efeito hematócrito,
variância em volumes do vão, condições de estado não estável,
fundo mediador, um único conjunto de constantes de
calibração, sub-preenchimento e mudanças no conteúdo de agente
de ionização ativo da tira sensora.