

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

(21) PI 0714393-1 A2



(22) Data de Depósito: 13/07/2007
(43) Data da Publicação: 26/03/2013
(RPI 2203)

(51) Int.CI.:
G01N 33/483
G01N 11/00
G01N 27/26
G01N 27/403

(54) Título: DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA MOBILIDADE DAS PARTÍCULAS MAGNÉTICAS

(30) Prioridade Unionista: 17/07/2006 US 60/831.240

(73) Titular(es): Universal Biosensors Pty Ltd.

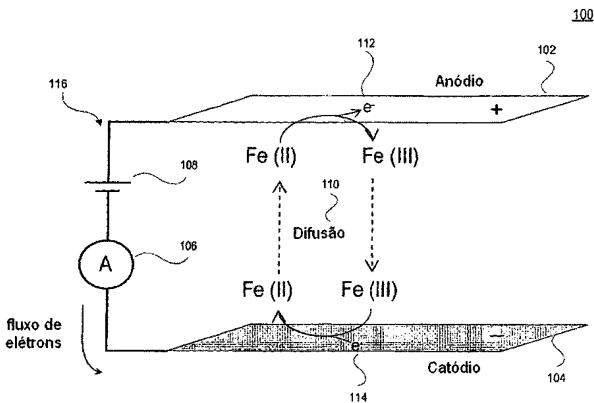
(72) Inventor(es): Peter M. Newman, Ronald Christopher Chatelier

(74) Procurador(es): Orlando de Souza

(86) Pedido Internacional: PCT IB2007001990 de 13/07/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/010058de
24/01/2008

(57) Resumo: DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA MOBILIDADE DAS PARTÍCULAS MAGNÉTICAS. Uma modalidade exemplar da invenção pode incluir um método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, o método pode incluir monitorar uma característica elétrica do fluido em uma célula eletroquímica, o fluido compreendendo partículas que podem ser movidas sob a influência de um campo externamente aplicado; observar mudanças na característica elétrica causada pelo movimento das partículas induzido pelo campo externo; e inferir uma mudança no estado físico do fluido a partir de uma mudança na magnitude da característica elétrica observada.



**DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA MOBILIDADE DAS PARTÍCULAS
MAGNÉTICAS**

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Campo da Invenção

5 Esse pedido se refere geralmente à detecção eletroquímica.

Descrição da Técnica Relacionada

Amperometria é uma área de eletroquímica onde um potencial é aplicado através dos eletrodos em uma solução e 10 a corrente fluindo através da solução é medida. O potencial é mantido, tipicamente, suficientemente baixo para impedir a eletrólise de água ou a detecção eletroquímica de interferentes, mas suficientemente elevado para obter um sinal mensurável a partir das espécies de interesse. Quando 15 o potencial é primeiramente aplicado, a corrente é relativamente alta devido à elevada concentração de mediadores eletroquímicos próximos à superfície dos eletrodos. Subsequentemente, os mediadores próximos ao eletrodo são esgotados de modo que a corrente é reduzida. 20 Simultaneamente, a difusão de mediadores a partir da solução de volume para o eletrodo recarrega os mediadores esgotados, desse modo levando a um lento enfraquecimento da corrente.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

25 É descrito um método eletroquímico de detectar uma mudança em uma modalidade de partículas magnéticas. A mobilidade das partículas pode ser monitorada por intermédio de picos em corrente dentro de uma célula eletroquímica. Se mudar a mobilidade das partículas (por 30 exemplo, o líquido se tornar sólido), então muda a

amplitude dos picos. Uma modalidade exemplar da invenção tem aplicação, entre outras coisas, na medição do tempo de coagulação do sangue. Uma modalidade exemplar da invenção pode incluir um método para monitorar eletroquimicamente a mobilidades das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, o método pode incluir monitorar uma característica elétrica do fluido em uma célula eletroquímica, o fluido compreendendo partículas que podem ser movidas sob a influência de um campo externamente aplicado; observando mudanças na característica elétrica causadas pelo movimento das partículas induzido pelo campo externo; e inferindo uma mudança no estado físico do fluido a partir de uma mudança na magnitude da característica elétrica observada.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir um método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, o método incluindo: monitorar uma característica elétrica do fluido em uma célula eletroquímica, o fluido compreendendo partículas que podem ser movidas sob a influência de um campo externamente aplicado; observando mudanças na característica elétrica causadas pelo movimento das partículas, induzido pelo campo externo; e inferir uma mudança no estado físico do fluido a partir de uma mudança na magnitude da característica elétrica observada.

Uma modalidade da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o fluido compreende ainda ao menos uma espécie

eletroativa solúvel que é capaz de ser oxidada ou reduzida em um eletrodo na célula eletroquímica.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde a característica elétrica sendo medida é a corrente eletroquímica mediante amperometria.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde as espécies eletroativas são sais de ferricianeto e ferrocianeto.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde as partículas são magnéticas e se deslocam em resposta a um campo magnético externo que muda.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o fluido é sangue integral ou plasma e a mudança no estado físico do sangue ou plasma se deve à coagulação.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde as partículas são magnéticas e se movem em resposta a um campo magnético externo que muda e a característica elétrica é a corrente eletroquímica, onde um algoritmo é adaptado para identificar picos na corrente

eletroquímica que são causados pelo movimento das partículas magnéticas e determinar o tempo de coagulação do sangue ou plasma.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o algoritmo define o tempo de coagulação com base em quando o enésimo percentil dos dados em torno de cada ponto cai abaixo de um limite predeterminado, onde o enésimo percentil está na faixa de 50°-100° percentil.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o enésimo percentil é aproximadamente o 80° percentil.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o algoritmo calcula a altura dos picos em corrente e define o tempo de coagulação com base em quando a altura do pico cai abaixo de um limite predeterminado.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o algoritmo realiza picos em corrente, mais fáceis de identificar mediante cálculo de $i_t - i_{t-2} + i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+2} + i_t - i_{t+1}$ ou $i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+1}$, onde i_t é a corrente medida em um determinado ponto em tempo e i_{t-1} é a corrente medida

um ponto em tempo mais cedo; i_{t-2} , dois pontos em tempo mais cedo; e i_{t+1} , um ponto em tempo mais tarde e i_{t+2} , dois pontos em tempo mais tarde.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o algoritmo determina se um pico em corrente ocorreu dentro de um tempo predeterminado da mudança do campo magnético e define o tempo de coagulação com base em se tal pico está abaixo de um limite predeterminado.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde a célula eletroquímica compreende uma tira compreendendo dois eletrodos.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde os dois eletrodos são paralelos um ao outro e são separados em 0,05 a 0,5 mm, preferivelmente 0,075-0,15mm, e mais preferivelmente 0,09-0,13 mm.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde os dois ou mais eletrodos são coplanares.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um

campo externo, onde os dois eletrodos são separados por uma camada eletricamente isolante, onde a camada tem uma cavidade cortada na mesma para receber o líquido de analito, assim como um orifício de entrada para permitir 5 que o líquido entre na cavidade e um orifício de saída para o ar deslocado.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um 10 campo externo, onde a tira também contém um ou mais fatores de coagulação os quais substituem os fatores de coagulação deficientes na amostra.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a 15 mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o dispositivo compreendendo uma tira compreendendo dois eletrodos, uma área de recebimento de fluido, e uma área de conexão de medidor, em que a tira é acoplada ao medidor por intermédio da área de conexão do 20 medidor.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o dispositivo compreende ainda um 25 medidor compreendendo um conector para se acoplar eletricamente aos eletrodos na área de conexão do medidor da tira, e conjunto de circuitos para monitorar uma característica elétrica do fluido em contato com os eletrodos.

30 Uma modalidade exemplar da presente invenção pode

incluir o método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o dispositivo compreendendo um medidor compreendendo um conector acoplando-se eletricamente aos 5 eletrodos em uma área de conexão de medidor da tira, e conjunto de circuitos monitorando uma característica elétrica do fluido em contato com os eletrodos.

Uma modalidade exemplar da presente invenção pode incluir o método para monitorar eletroquimicamente a 10 mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, onde o dispositivo compreende ainda uma tira compreendendo uma pluralidade de eletrodos, uma área de recebimento de fluido e a área de conexão de medidor.

Características e vantagens adicionais da 15 invenção, assim como a estrutura e operação das várias modalidades da invenção, são descritas em detalhe abaixo com referência aos desenhos anexos.

DESCRIÇÃO RESUMIDA DOS DESENHOS

A presente invenção será discutida em mais 20 detalhe abaixo, utilizando algumas modalidades exemplares, com referência aos desenhos anexos, nos quais:

A Figura 1 mostra um diagrama exemplar ilustrando uma modalidade exemplar de um sistema de amperometria de dois eletrodos e processo de acordo com uma modalidade 25 exemplar;

A Figura 2 ilustra um diagrama exemplar de um sensor de uso único exemplar, de acordo com uma modalidade exemplar;

A Figura 3 ilustra um diagrama exemplar de um 30 medidor exemplar e tira, de acordo com uma modalidade

exemplar;

A Figura 4 ilustra um gráfico exemplar de uma reação de coagulação exemplar de um teste de tempo de protrombina (PT) exemplar utilizando contas paramagnéticas, 5 representando graficamente corrente versus tempo, de acordo com uma modalidade exemplar;

A Figura 5 ilustra um gráfico logarítmico exemplar de uma calibração exemplar de sensores utilizando plasmas com relação normalizada internacional conhecida 10 (INR), representando graficamente tempo de coagulação PT versus INR conhecida, de acordo com uma modalidade exemplar; e

A Figura 6 ilustra um gráfico exemplar de dados de teste PT, exemplares, transformados para otimizar os 15 picos, representando graficamente a corrente versus tempo de acordo com uma modalidade exemplar.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Conforme ilustrado no diagrama 100 da Figura 1 discutido adicionalmente abaixo, para uma corrente elétrica fluir, os elétrons 112, 114, a partir de um circuito externo 116, causam a redução de uma espécie eletroativa no catódio 104 e a oxidação de uma espécie eletroativa no anódio 102. Para uma corrente de estado constante ser alcançada, transporte de massa (difusão 110, migração ou 25 convecção) de uma espécie eletroativa ocorre entre os eletrodos 102, 104. Essencialmente, para uma modalidade exemplar da invenção, a taxa de transporte de massa pode afetar a corrente elétrica.

Considere uma modalidade exemplar onde os 30 eletrodos 102, 104 são colocados próximos um do outro e a

solução entre eles contém uma amostra de sangue e mediadores eletroquímicos tal como ferricianeto (Fe^{III}) e ferrocianeto (Fe^{II}). Quando uma pequena voltagem é aplicada, o ferricianeto (contendo Fe^{III}) é reduzido a 5 ferrocianeto (contendo Fe^{II}) ganhando um elétron no catódio negativo 104. Similarmente, ferrocianeto (Fe^{II}) é oxidado para ferricianeto (Fe^{III}) mediante perda de um elétron para um anódio positivo 102. Isso leva a uma corrente elétrica no circuito 116, a qual pode ser medida utilizando-se, por 10 exemplo, mas não limitada a um amperômetro 106. As reações ocorrendo nos eletrodos 102, 104 podem resultar em um acúmulo relativo de ferricianeto no anódio 102 e ferrocianeto no catódio 104. Isso rapidamente pode resultar na corrente eletroquímica caindo para muito próximo de zero 15 não fosse pelo fato de que as espécies eletroativas podem se difundir entre os eletrodos. Em vez disso, a corrente de estado constante é alcançada onde a taxa de difusão do mediador limita a corrente. Essencialmente, qualquer coisa que cause uma mistura de uma solução entre os eletrodos 20 redistribui as espécies eletroativas e produz um aumento transitório em corrente, de acordo com uma modalidade exemplar.

A Figura 1 ilustra um diagrama exemplar 100 ilustrando uma modalidade exemplar de um exemplo de 25 amperometria de dois eletrodos utilizando dois eletrodos 102, 104 e medindo uma corrente utilizando um amperômetro 106 através da célula eletroquímica 108 como um todo. A reação em um dos eletrodos pode limitar a corrente através do circuito inteiro 116. O eletrodo limitador é 30 frequentemente denominado eletrodo "de trabalho". Outras

configurações de célula eletroquímica podem ser usadas de acordo com outras modalidades exemplares, mediante introdução de mais eletrodos e eletrônica mais complicada. Um sistema de três eletrodos, por exemplo, pode ser usado para medir a corrente em um potencial ajustadamente controlado no eletrodo de trabalho. A modalidade de três eletrodos (não mostrada) pode usar um eletrodo de "referência" posicionado para medir o potencial imediatamente fora da superfície do eletrodo de trabalho. O potencial de um eletrodo "contador" pode ser ajustado constantemente de modo que o circuito eletrônico detecta a voltagem exigida no eletrodo de referência, em relação ao eletrodo de trabalho. O circuito externo mede a corrente através do eletrodo de trabalho e do eletrodo contador.

Perturbação da solução em torno do eletrodo de trabalho pode alterar a corrente entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo contador. Alternativamente, o circuito poderia ser designado para detectar mudança na voltagem do eletrodo contador que é usado para manter uma corrente constante quando a solução em torno do eletrodo de trabalho é perturbada. Embora um sistema de três eletrodos possa ser usado em uma modalidade exemplar da presente invenção, o uso de três eletrodos não é necessário, de modo que os exemplos serão descritos utilizando-se um sistema exemplar de dois eletrodos.

O estado típico (por exemplo, sólido, líquido ou gasoso, etc.) de uma substância é obviamente uma característica importante. Mudanças em um líquido para ou a partir de um sólido podem corresponder a processos importantes tal como, por exemplo, congelamento/fusão,

polimerização, etc. Monitorar tal mudança pode ser difícil quando os volumes da amostra são pequenos, porém uma modalidade da invenção é idealmente adequada para quantidades de microlitro. Especificamente, medir o tempo 5 de coagulação de plasma sanguíneo tem uma função de diagnóstico importante.

Um dos testes de coagulação mais comuns é o teste de tempo de protrombina (PT). O teste de PT é usado tanto para diagnóstico como para a monitoração de terapia com 10 varfarina (coumarina). Varfarina é tomada pelos pacientes que estão sob um risco aumentado de trombose (coágulos sanguíneos). A dose de varfarina pode ser monitorada e ajustada de modo que o paciente não seja anticoagulado abaixo do normal nem anticoagulado acima do normal. 15 Diretrizes de corrente indicam que uma Relação Normalizada Internacional (INR) de 2-3 é apropriada na maioria dos casos. Contudo, uma faixa superior pode ser usada para algumas indicações específicas. O sistema INR é um método para padronização internacional de testes PT, usados para 20 monitorar terapia com varfarina. O sistema INR requer que os sistemas de teste sejam calibrados com padrões que são determináveis para padrões internacionais da Organização Mundial de Saúde (OMS).

Tipicamente os testes de coagulação realizados em 25 analisadores de bancada que podem misturar o plasma do paciente com um reagente líquido, o qual é específico para o teste, e pode determinar qual o tempo que leva para a mistura coagular. A coagulação pode ser detectada pela turbidez ótica aumentada ou fisicamente por intermédio de 30 resistência aumentada ao movimento das partículas através

da mistura. Comumente, partículas magnéticas macroscópicas e microscópicas são usadas para monitorar a coagulação. Um campo magnético oscilante pode fazer com que as partículas magnéticas se movam, mas esse movimento pode cessar quando 5 as partículas se tornam retidas dentro de um coágulo. Várias formas exemplares foram concebidas para monitorar o movimento das partículas. Convencionalmente, a monitoração ótica tem sido usada em um medidor pequeno no local de atendimento ao paciente. Contudo, a monitoração ótica pode 10 exigir sensores transparentes e pode aumentar o custo do medidor.

Uma modalidade exemplar da invenção pode usar eletroquímica para monitorar o movimento das partículas. O uso de eletroquímica é distinto da monitoração do movimento 15 das partículas mediante algum outro meio (por exemplo, ótico) ou a partir da detecção de mudanças em viscosidade por intermédio de mudanças no coeficiente de difusão eletroquímica. Isto é, modalidades exemplares da invenção podem perturbar repetidamente a concentração mediadora 20 limitadora no eletrodo de trabalho, mais propriamente do que alterar o coeficiente de difusão das espécies eletroativas.

Amperometria pode ser usada para detecção de coágulos. Nos métodos de detecção de coágulo, as mudanças 25 em viscosidade são medidas pelas mudanças no coeficiente de difusão das espécies eletroativas, em uma modalidade exemplar. Contudo, coágulos de fibrina formam uma estrutura relativamente livre com domínios intersticiais completamente líquidos, através dos quais as pequenas 30 espécies eletroativas podem se mover. Portanto, utilizando

os métodos de detecção de coágulo, é frequentemente difícil detectar as mudanças relativamente pequenas no coeficiente de difusão da espécie eletroativa. Ao contrário, uma modalidade exemplar da invenção pode usar partículas que 5 são efetivamente retidas pelo coágulo de fibrina e assim são mais sensíveis ao processo de coagulação.

Uma modalidade exemplar inclui monitorar os pontos de gelificação de líquido. Quando um líquido gelifica, o líquido pode resistir ao movimento das 10 partículas e pode diminuir os picos em corrente eletroquímica, causados pelo movimento das partículas. A monitoração dos pontos de gelificação de líquido poderia ser aplicada à coagulação de sangue, plasma e outros fluidos, etc. Aplicações similares podem ser encontradas no 15 ensaio de enzimas de formação de gel na indústria de alimentos.

Outra modalidade exemplar pode detectar a amarração das partículas magnéticas a uma superfície que pode impedir a mobilidade das partículas. Por exemplo, em 20 uma modalidade exemplar, contas revestidas com uma molécula específica poderiam se tornar imobilizadas quando a molécula se liga a um anticorpo, antígeno, receptor, correspondente, etc.

Várias Modalidades Exemplares de Modalidades de Aplicações

25 Exemplares

Uma modalidade exemplar da invenção pode ser usada para construir um dispositivo que pode medir o tempo de coagulação de sangue utilizando um pequeno volume de amostra. Tal dispositivo pode ser adequado para monitoração 30 no local de atendimento ao paciente e/ou monitoração

doméstica de terapia com varfarina. O ponto de coagulação de uma amostra é detectado pela perda de movimento das partículas através da mistura de reação. Tipicamente as partículas são magnéticas ou paramagnéticas e são movidas 5 por um campo magnético. O movimento das partículas pode causar um aumento na corrente eletroquímica através da mistura de reação mediante aumento de forma transitória da concentração das espécies eletroativas limitadoras de corrente no eletrodo limitador de corrente (eletrodo de 10 trabalho). Quando a mistura de reação coagula, as partículas são incapazes de se mover, e os aumentos transitórios em corrente não mais ocorrem. O ponto de transição quando cessa o movimento das partículas, pode ser definido como o tempo de coagulação.

15 Em modalidades exemplares específicas, um sensor exemplar pode incluir em uma modalidade exemplar, duas chapas de eletrodo as quais podem estar voltadas uma para a outra, por exemplo, mas não limitado a, aproximadamente 0,1 mm de separação. A Figura 2 ilustra um sensor de uso único 20 exemplar 200. Um separador eletricamente não-condutivo 205 pode manter as superfícies de chapa de eletrodo 204, 206 paralelas e pode definir o espaçamento. O formato do separador e dos eletrodos pode definir duas câmaras que podem conter uma amostra: um canal de enchimento 201 e uma 25 câmara de detecção 202 (vide Figura 2). O canal de enchimento 201 pode carregar uma amostra para dentro da câmara de detecção 202, a qual pode conter reagentes secos que podem ser exigidos para iniciar e detectar a coagulação. Especificamente, uma modalidade exemplar pode 30 conter um reagente de coagulação (por exemplo, mas não

limitado a, tromboplastina, veneno de cobra, ativadores de contato, etc.), partículas magnéticas e um par redox eletroquímico (por exemplo, mas não limitado a, ferricianeto/ferrocianeto, etc.).

5 Antes do uso, a tira 304 de sensor 200 pode ser inserida no medidor 300 descrito abaixo. A inserção pode estabelecer contato elétrico pode intermédio dos conectores exemplares 203 e pode colocar a câmara de detecção 202 dentro do alojamento de medidor 302 de modo que o medidor
10 30 pode controlar a temperatura e o campo magnético (vide Figura 3). Quando a amostra (por exemplo, sangue ou plasma) é adicionada ao sensor ela pode se deslocar para dentro da câmara de detecção de reação 202 por intermédio de canal de enchimento 201 e pode solubilizar a tromboplastina e os
15 mediadores eletroquímicos. O medidor 300, em uma modalidade exemplar, pode variar o campo magnético, por exemplo, utilizando controles de entrada 308, 310, de modo que as partículas magnéticas se movem dentro da câmara. Isso pode criar picos na corrente eletroquímica, mas os picos podem
20 diminuir e podem em grande parte desaparecer quando os coágulos de amostra e as partículas magnéticas se tornam imobilizadas.

O medidor 300 pode calcular o tempo de coagulação com base nas mudanças em corrente e pode usar informação de
25 calibração para informar o resultado como uma Relação Normalizada Internacional (INR) 312 no, por exemplo, mas não limitado ao display exemplar 306, ou outro dispositivo de saída. O medidor, de acordo com uma modalidade exemplar, também pode realizar verificações de erro de pode armazenar
30 os resultados em, por exemplo, mas não limitado a, um

dispositivo de armazenamento. Um medidor exemplar 300, por exemplo, pode ser, mas não é limitado a regular a temperatura, o campo magnético, e/ou a voltagem, e/ou pode medir a corrente eletroquímica.

5 A Figura 2 ilustra um diagrama exemplar de uma modalidade exemplar de um sensor de uso único, de acordo com uma modalidade exemplar. Uma amostra pode entrar no canal de enchimento exemplar 201 e então pode se mover para dentro da câmara de detecção exemplar 202 por intermédio da
10 ação capilar. O medidor pode fazer contato elétrico com o medidor através de conectores 203 e 207 na extremidade, de acordo com uma modalidade exemplar. De acordo com uma modalidade exemplar, o conector de eletrodo superior 207 pode estar no lado inferior da superfície de chapa de
15 eletrodo superior 204, a superfície de chapa cobrindo a fenda no separador 205.

A Figura 3 ilustra um diagrama exemplar de um medidor exemplar 300 e tira 301, de acordo com uma modalidade exemplar. A tira 301 pode ser inserida no
20 medidor 300 antes do uso. O medidor 300, de acordo com uma modalidade exemplar, pode regular a temperatura, campo magnético e voltagem, etc., e pode medir a corrente eletroquímica resultante. Uma INR, a qual pode ser derivada da mudança em corrente, pode ser exibida. O medidor 300, em
25 uma modalidade exemplar, pode detectar picos em corrente eletroquímica e pode determinar quando os picos de corrente reduziram suficientemente as modalidades exemplares para um ponto de coágulo 406 a ser definido. Há muitas formas através quais se pode fazer isso, incluindo várias
30 modalidades exemplares discutidas abaixo.

Em uma modalidade exemplar, o medidor pode calcular um local máximo que pode cobrir pelo menos dois picos. Quando o local máximo cai abaixo de um limite predeterminado então o coágulo 406 pode ser considerado como tendo ocorrido. Esse método pode ser aperfeiçoado mediante uso, por exemplo, mas não limitado ao, 80° percentil local, ou outro limite predeterminado em vez do máximo, em uma modalidade exemplar. Esse método, de acordo com uma modalidade exemplar, pode tornar o algoritmo mais resistente aos fatores externos.

Essa abordagem foi usada na modalidade exemplar da reação de coagulação testada e ilustrada na Figura 4, onde um teste de PT exemplar, utilizando contas paramagnéticas, foi realizado e a corrente foi observada quando um eletroímã foi deslocado gradualmente. A Figura 4 ilustra um exemplo de uma reação de coagulação, de acordo com uma modalidade exemplar. Um sensor exemplar pode conter preparações a seco de tromboplastina, contas paramagnéticas, ferricianeto e ferrocianeto. Em uma modalidade exemplar plasma Citrated com INR conhecida (plasma de Calibração INR a partir da Life Therapeutics, Austrália) foi misturado com 8,5 mM de CaCl₂ então imediatamente carregado nos sensores. A partir de 6-80 segundos um eletroímã foi deslocado acima e abaixo do sensor para mover as contas paramagnéticas. As linhas finas, sombreadas claras representam as correntes brutas enquanto que as linhas mais grossas mostram o 80° percentil local em torno desses dados. Esse experimento foi conduzido com um sensor protótipo e medidor em uma caixa de luvas regulado a 37°C de acordo com uma modalidade exemplar.

Em outra modalidade exemplar, os sensores podem ser calibrados conforme ilustrado na Figura 5 mediante uso de sensores utilizando plasma de INR conhecida. A Figura 5 - ilustra uma calibração exemplar de sensores utilizando plasmas com INR conhecida de acordo com uma modalidade exemplar. Em uma modalidade exemplar, plasmas de Calibração INR (Life Therapeutics, Austrália) com valores de INR atribuídos, foram testados em triplicata com 8,5mM de CaCl₂ nos sensores. Representação gráfica de log PT versus log INR deve proporcionar uma linha reta porque, por definição, INR = (MNPT/PT) ISI. A linha reta terá uma inclinação = 1/ISI e uma interceptação-Y=10MNPT. Uma ISI próxima de 1, e não digamos 2, é altamente desejável. Esse experimento foi conduzido com um sensor protótipo e medidor em uma caixa de luvas regulada a 37°C.

Em outra modalidade exemplar, o medidor pode transformar os dados em picos mais fáceis de detectar e quando eles cessam. Por exemplo, os dados podem ser transformados com a função $i_t - i_{t-2} + i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+2} + i_t - i_{t+1}$ ou $i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+1}$. Onde i_t é a corrente medida em um determinado ponto em tempo e i_{t-1} é a corrente medida em um ponto em tempo mais cedo; i_{t-2} , dois pontos em tempo mais cedo; i_{t+1} , um ponto em tempo mais tarde e i_{t+2} , dois pontos em tempo mais tarde. Essa transformação pode otimizar os picos e corrigir para inclinação de linha base. Essa abordagem é ilustrada na Figura 6, em uma modalidade exemplar. A Figura 6 ilustra dados de teste exemplares transformados para otimizar os picos, de acordo com uma modalidade exemplar. Os dados brutos a partir de INR=1.0 plasma na Figura 4 são transformados mediante representação gráfica de $i_t - i_{t-2} + i_t -$

$i_{t-1} + i_t - i_{t+2} + i_{t-1} - i_{t+1}$. Onde ela é a corrente medida em um determinado ponto em tempo e i_{t-1} a corrente medida em um ponto em tempo mais cedo; i_{t-2} , dois pontos em tempo mais cedo; i_{t+1} um ponto em tempo mais tarde e i_{t+2} , dois pontos em tempo mais tarde. Isto é, as diferenças entre a corrente em um determinado ponto em tempo e as correntes registradas em um e dois pontos em tempo antes e após a mesma podem ser somados, em uma modalidade exemplar.

O tempo de coagulação pode ser definido como, de acordo com uma modalidade exemplar, o ponto em tempo mais recente onde os dados transformados excederam um limite definido. Nesse caso, um limite de 1,5 era apropriado. Mediante uso desse algoritmo, o medidor apenas precisa coletar os dados por 3 segundos além do tempo de coagulação, em uma modalidade exemplar. Será evidente para aqueles versados na técnica que a forma exata da transformação e o nível limite podem ser ajustados de acordo com a distância entre os eletrodos (que é relacionada à constante de tempo para o transiente), a densidade da coleta de dados, a frequência de movimento do electroímã, a concentração de mediadores eletroquímicos, etc. Além disso, o "algoritmo de identificação de pico" pode ser limitado a fases específicas do movimento do electroímã para adicionalmente discriminar picos e ruído, em uma modalidade exemplar.

O medidor, sabendo quando o campo magnético é variado, pode determinar se a corrente eletroquímica sobe acima de um nível predeterminado dentro de um tempo predeterminado, de acordo com uma modalidade exemplar. Se ocorrer tal pico, então as partículas ainda estão móveis e

amostra não gelificou.

Para remover as partículas magnéticas na tira, o medidor pode variar o campo magnético. Isso pode ser feito, de acordo com uma modalidade exemplar, de diversas formas.

5 Em uma modalidade exemplar, um ímã permanente pode ser movido de um lado da tira para o outro. Outra abordagem exemplar é a de ter um eletroímã permanente em cada lado da tira montado de tal modo que quando um eletroímã se aproxima da tira o outro se afasta. Desse modo, o campo magnético de cada eletroímã pode dominar em turno. Em algumas situações, uma resposta superior ao movimento de eletroímã pode ser vista se os ímãs estiverem deslocados entre si de tal modo que eles puxam as contas para posições laterais ligeiramente diferentes na tira. Puxar as contas 10 lateralmente ajuda a espalhar as contas sobre uma área maior, o que pode otimizar o sinal.

15

Uma abordagem ainda mais sensível, de acordo com outra modalidade exemplar, é a de utilizar ímãs permanentes opostos. Isto é, o eletroímã em um lado da tira é fixo 20 enquanto que o eletroímã no outro lado é deslocado pelo medidor, tipicamente paralelo ao plano da tira. Os dois ímãs são orientados de modo que seus polos se opõem um ao outro.

Uma alternativa para os ímãs permanentes 25 mecanicamente móveis, de acordo com uma modalidade exemplar é a de utilizar os eletroímãs. Os eletroímãs podem ser ligados ou desligados com a direção da corrente determinando a polaridade, em vez de serem fisicamente movidos. Uma opção adicional, de acordo com outra 30 modalidade, é a de utilizar um eletroímã em combinação com

um eletroímã permanente. Uma faixa de considerações tais como, por exemplo, mas não limitadas a, exigências de energia, tamanho, geração de calor, etc., pode determinar se os eletroímãs ou ímãs permanentes são mais adequados.

5 Configurações Exemplares Alternativas

De acordo com uma modalidade exemplar, os eletrodos não precisam estar aproximadamente paralelos e opostos; em vez disso os eletrodos em outra modalidade poderiam estar, por exemplo, lado a lado. Tais eletrodos coplanares tipicamente demoram mais tempo para atingir uma corrente de estado constante, a qual pode ser indistinguível a partir de zero. Isso porque as espécies electroativas acima do anódio são convertidas a partir da forma reduzida para a forma oxidada e vice-versa para o catódio. Inicialmente, a solução próxima a cada eletrodo é esgotada em uma espécie e enriquecida na outra. A solução mais afastada do eletrodo é menos afetada e a difusão causa recompletamento das espécies esgotadas no eletrodo. Contudo, eventualmente as espécies electroativas acima de cada eletrodo são efetivamente simplesmente reduzidas ou oxidadas. Há fluxo lateral normalmente insignificante da solução a partir de cima de um eletrodo para outro de modo que essa diferença de concentração permanece e não mais ocorre fluxo de corrente elétrica. O tempo decorrido para atingir esse estado pode depender, entre outras coisas, da voltagem aplicada. Se um potencial suficientemente baixo for aplicado então o ensaio poderia ser conduzido durante o tempo decorrido para se atingir a corrente de estado constante. O movimento das partículas magnéticas pode acelerar a difusão das espécies electroativas esgotadas a

partir de cima do eletrodo para a superfície do eletrodo e desse modo produzir picos transitórios em corrente elétrica. A sensação dos picos pode indicar a imobilização das partículas. Contudo, quando a corrente elétrica atinge 5 zero, o movimento das partículas magnéticas não poderia ser detectável.

Alternativamente, o movimento das partículas magnéticas pode ser usado para misturar a solução a partir de um eletrodo para o outro e pode introduzir um aumento 10 transitório em correntes. Essa abordagem poderia ainda detectar o movimento das partículas quando a corrente de estado constante tivesse sido alcançada.

O sensor de coagulação 200, de acordo com a modalidade exemplar, foi descrito como tendo duas câmaras: 15 uma câmara de enchimento 201 e uma câmara de detecção 202. A câmara de enchimento 201 pode prover uma forma conveniente de transferir a amostra para o ambiente termorregulado do medidor. Contudo, o sensor 200 pode ser composto de uma única câmara para reduzir o volume do 20 líquido de analito exigido. Isso poderia funcionar particularmente bem para os ensaios que não requerem regulação de temperatura ou onde o resultado pode ser corrigido para a temperatura medida. Alternativamente, se 25 for exigida a regulação de temperatura, a amostra poderia ser adicionada diretamente à câmara de reação única fora do medidor 300, então a tira 304 poderia ser puxada para dentro do medidor 300 onde a temperatura da reação é controlada.

No exemplo de um sensor de coagulação 200, em uma 30 modalidade exemplar, foi descrito um dispositivo para medir

o tempo de protrombina. A especificidade do ensaio é determinada pelo reagente de coagulação que é incluído na tira 304. Reagentes para outros ensaios de coagulação poderiam ser usados em vez disso. Tais reagentes poderiam 5 conter ativadores de contato, venenos de cobra, ou fosfolipídios.

A adição de fatores de coagulação normal a uma amostra deficiente nos fatores pode corrigir a deficiência e resultar em um tempo de coagulação normal. Essa técnica 10 pode ser usada para distinguir deficiências de fator a partir de outras causas de coagulação prolongada (por exemplo, inibidores, heparina). Essa técnica também tem aplicação como uma reação de controle em testes de INR porque a varfarina atua de modo a induzir a deficiência nos 15 fatores de coagulação II, VII, IX e X. Desse modo o tempo de coagulação de uma amostra de sangue a partir de uma pessoa utilizando varfarina, misturado com esses fatores, deve resultar em um tempo de coagulação normal, enquanto que o resultado na amostra, isoladamente, será mais longo 20 do que o normal. A reação de controle pode demonstrar que o tempo de coagulação do paciente é afetado apenas pela varfarina e não, digamos, pela heparina.

O sensor de coagulação pode ser modificado para detectar deficiências do fator de coagulação, ou para 25 incluir uma reação de controle para determinação de INR. Para aumentar isso, o reagente contendo os fatores de coagulação exigidos pode ser seco na tira 304 junto com o reagente de coagulação. Em alguns casos os fatores de coagulação e o reagente podem ser capazes de ser 30 misturados, mas normalmente é preferível colocar os mesmos

em superfícies diferentes dentro da célula de modo que eles se misturam apenas quando a amostra é adicionada.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, o método caracterizado por compreender:

5 monitorar uma característica elétrica do fluido em uma célula eletroquímica, o fluido compreendendo partículas que podem ser movidas sob a influência de um campo externamente aplicado;

10 observar as mudanças na característica elétrica causadas pelo movimento das partículas induzido pelo campo externo; e

inferir uma mudança no estado físico do fluido ou das partículas a partir de uma mudança na magnitude da característica elétrica observada.

15 2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o fluido compreende ainda ao menos uma espécie eletroativa solúvel que pode ser oxidada ou reduzida em um eletrodo na célula química.

20 3. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que a característica elétrica sendo medida é a corrente eletroquímica mediante amperometria.

25 4. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que as espécies eletroativas são sais de ferricianeto ou ferrocianeto.

5. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que as partículas são magnéticas e se deslocam em resposta a um campo magnético externo que muda.

30 6. Método, de acordo com a reivindicação 2,

5 caracterizado pelo fato de que o fluido é sangue integral ou plasma e a mudança no estado físico do sangue ou plasma se deve à coagulação.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6,
5 caracterizado pelo fato de que as partículas são magnéticas e se deslocam em resposta a um campo magnético externo que muda e a característica elétrica é a corrente eletroquímica, em que um algoritmo é adaptado para identificar picos na corrente eletroquímica que são causados pelo movimento das partículas magnéticas e determinam o tempo de coagulação de sangue ou plasma.
10

8. Método, de acordo com a reivindicação 7,
15 caracterizado pelo fato de que o algoritmo define o tempo de coagulação com base em quando o enésimo percentil dos dados em torno de cada ponto cai abaixo de um limite predeterminado, onde o enésimo percentil está na faixa de 50-100° percentil.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8,
20 caracterizado pelo fato de que o enésimo percentil é aproximadamente o 80° percentil.

10. Método, de acordo com a reivindicação 7,
25 caracterizado pelo fato de que o algoritmo calcula a altura dos picos na corrente e define o tempo de coagulação com base em quando a altura de pico cai abaixo de um limite predeterminado.

11. Método, de acordo com a reivindicação 7,
30 caracterizado pelo fato de que o algoritmo torna mais fácil de identificar os picos na corrente mediante cálculo de $i_t - i_{t-2} + i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+1} + i_{t+2}$ ou $i_t - i_{t-1} + i_t - i_{t+1}$, onde i_t é a corrente medida em um ponto em tempo determinado e i_{t-1} é a

corrente medida em um ponto em tempo mais cedo; i_{t-2} , dois pontos em tempo mais cedo; i_{t+1} , um ponto em tempo mais tarde e i_{t+2} , dois pontos em tempo mais tarde.

12. Método, de acordo com a reivindicação 7,
5 caracterizado pelo fato de que o algoritmo determina se um pico em corrente ocorreu dentro de um tempo predeterminado de mudança de campo magnético e define o tempo de coagulação com base em se tal pico está sob um limite predeterminado.

10 13. Método, de acordo com a reivindicação 2,
caracterizado pelo fato de que a célula eletroquímica compreende uma tira compreendendo dois eletrodos.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13,
15 caracterizado pelo fato de que os dois eletrodos são paralelos entre si e são separados em 0,05 a 0,5 mm, preferivelmente 0,075-0,15 mm, e mais preferivelmente 0,09-0,13 mm.

15. Método, de acordo com a reivindicação 13,
20 caracterizado pelo fato de que os dois ou mais eletrodos são coplanares.

16. Método, de acordo com a reivindicação 13,
25 caracterizado pelo fato de que os dois eletrodos são separados por uma camada eletricamente isolante, onde a camada tem uma cavidade cortada na mesma para receber o líquido de analito, assim como um orifício de entrada para permitir que o líquido entre na cavidade e um orifício de saída para o ar deslocado.

17. Método, de acordo com a reivindicação 13,
30 caracterizado pelo fato de que a tira contém também um ou mais fatores de coagulação os quais substituem os fatores

de coagulação deficientes na amostra.

18. Dispositivo para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo usando um medidor, o dispositivo 5 caracterizado por compreender uma tira compreendendo dois eletrodos, uma área de recebimento de fluido, e uma área de conexão de medidor, em que a tira é acoplada ao medidor por intermédio da área de conexão de medidor.

19. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 10 18, caracterizado pelo fato de que o dispositivo compreende ainda um medidor compreendendo um conector para se acoplar eletricamente aos eletrodos na área de conexão do medidor da tira, e conjunto de circuitos para monitorar uma característica elétrica do fluido em contato com os 15 eletrodos.

20. Dispositivo para eletroquimicamente monitorar a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo utilizando uma tira em contato com o fluido, a tira tendo uma pluralidade de eletrodos, o dispositivo 20 caracterizado por compreender um medidor compreendendo um conector eletricamente se acoplando aos eletrodos em uma área de conexão de medidor da tira, e conjunto de circuitos monitorando uma característica elétrica do fluido em contato com os eletrodos.

25 21. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o dispositivo compreende ainda uma tira compreendendo a pluralidade de eletrodos, uma área de recebimento de fluido e a área de conexão de medidor.

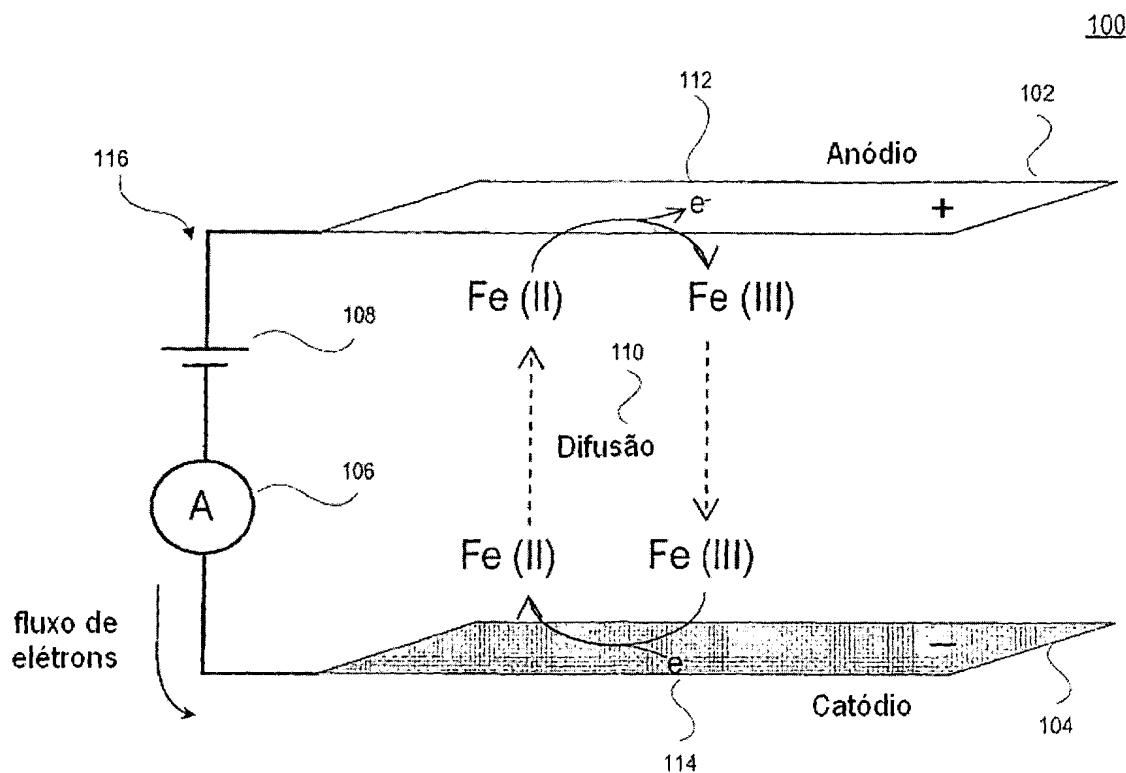


Diagrama de uma amperometria de dois eletrodos, exemplar

FIG. 1

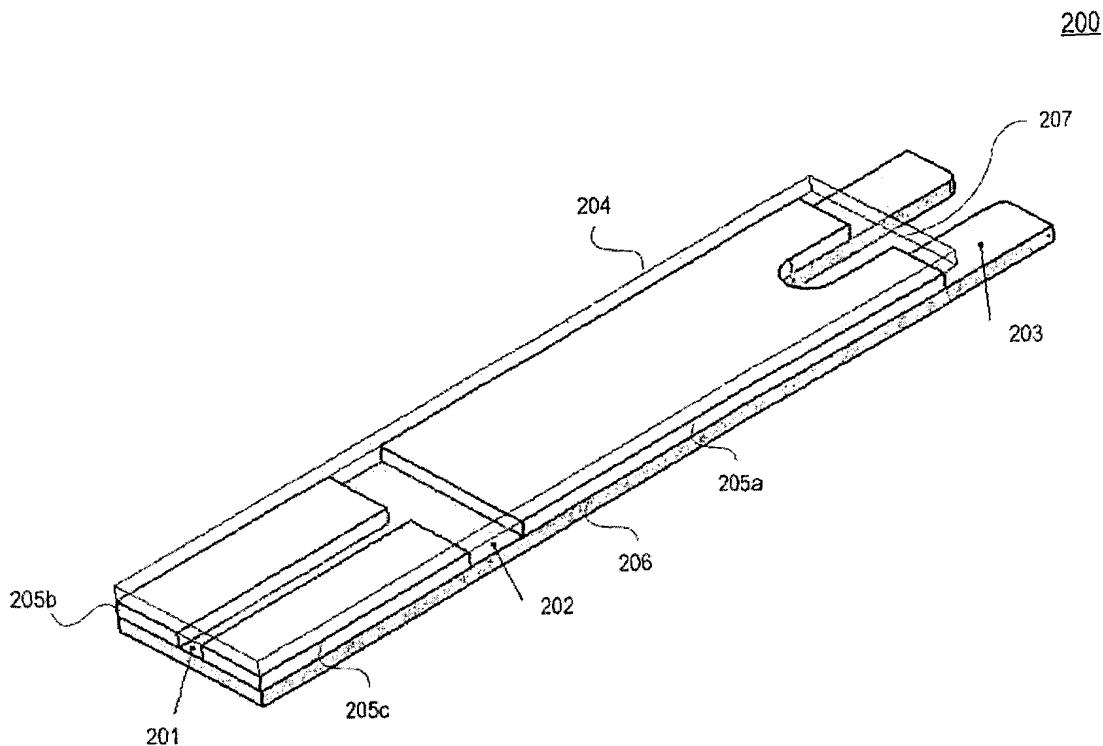


Diagrama de um sensor de uso único exemplar

FIG. 2

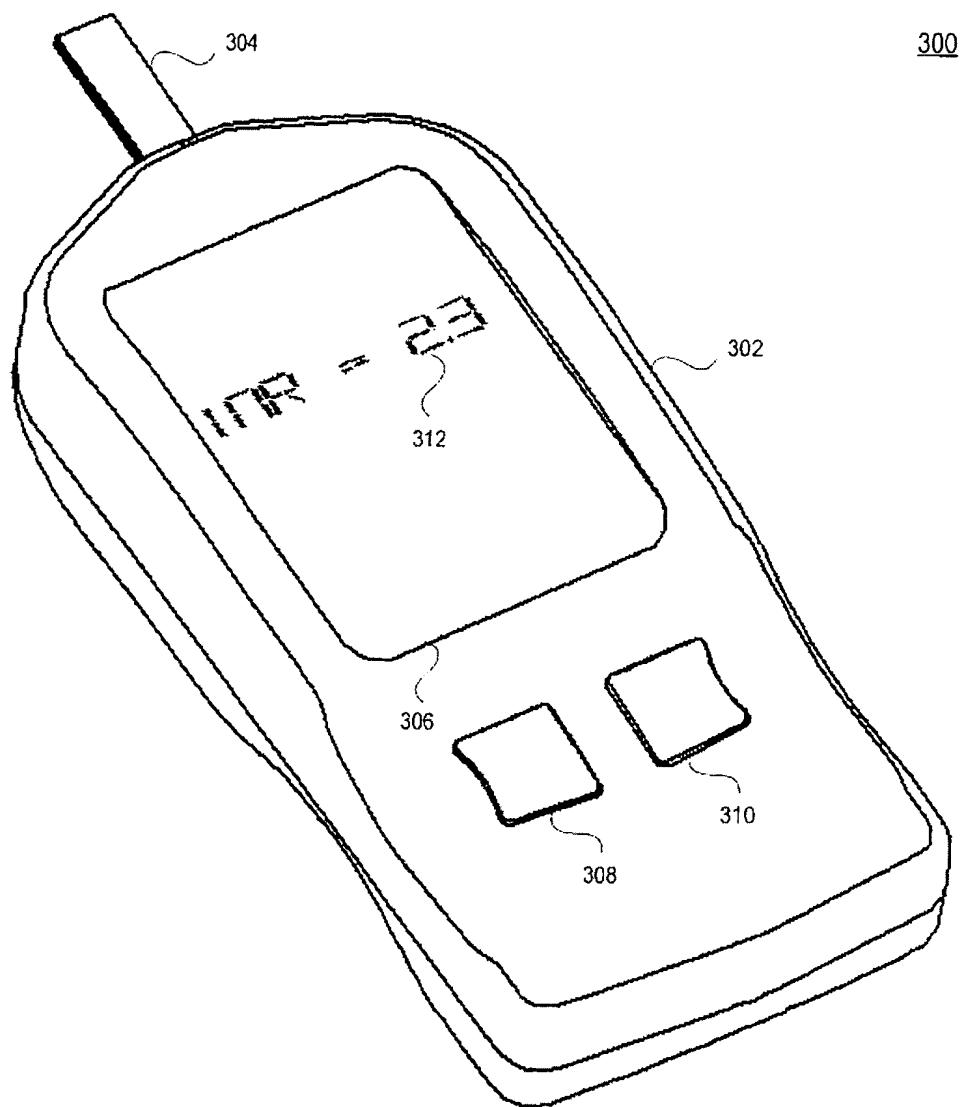


Diagrama de um medidor e tira, exemplares

FIG. 3

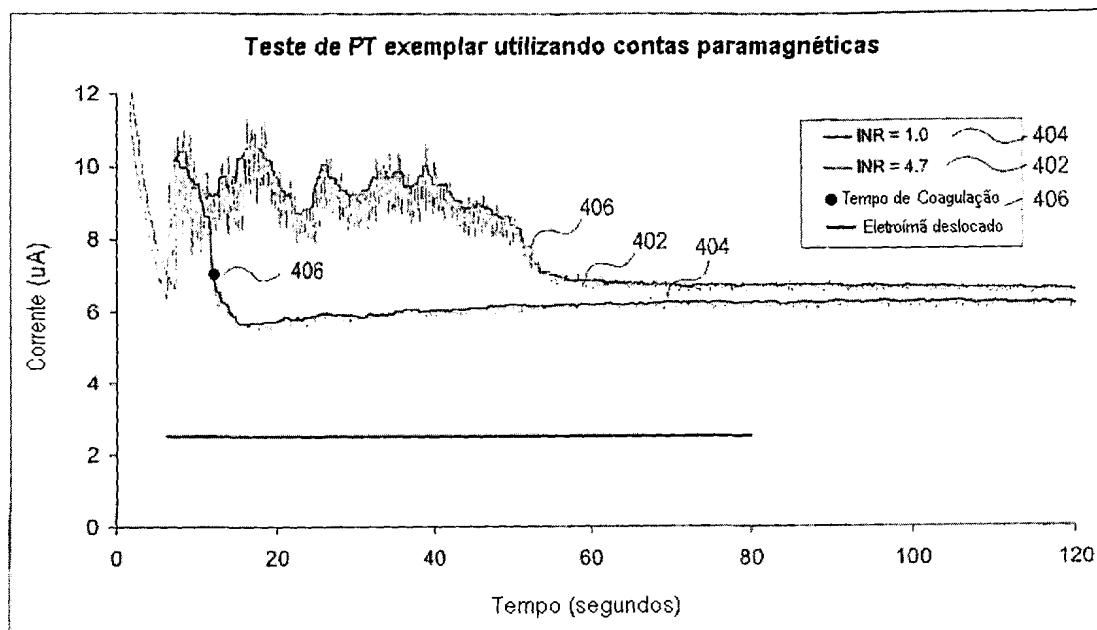
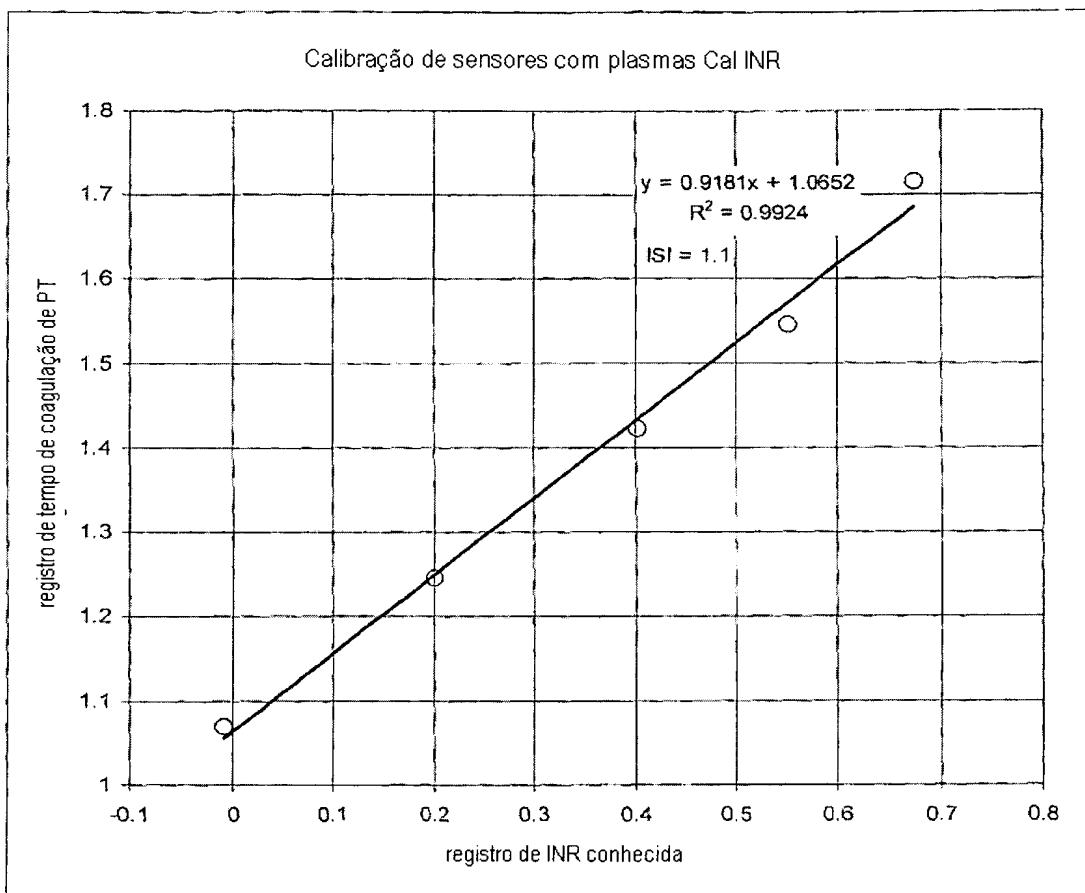
400

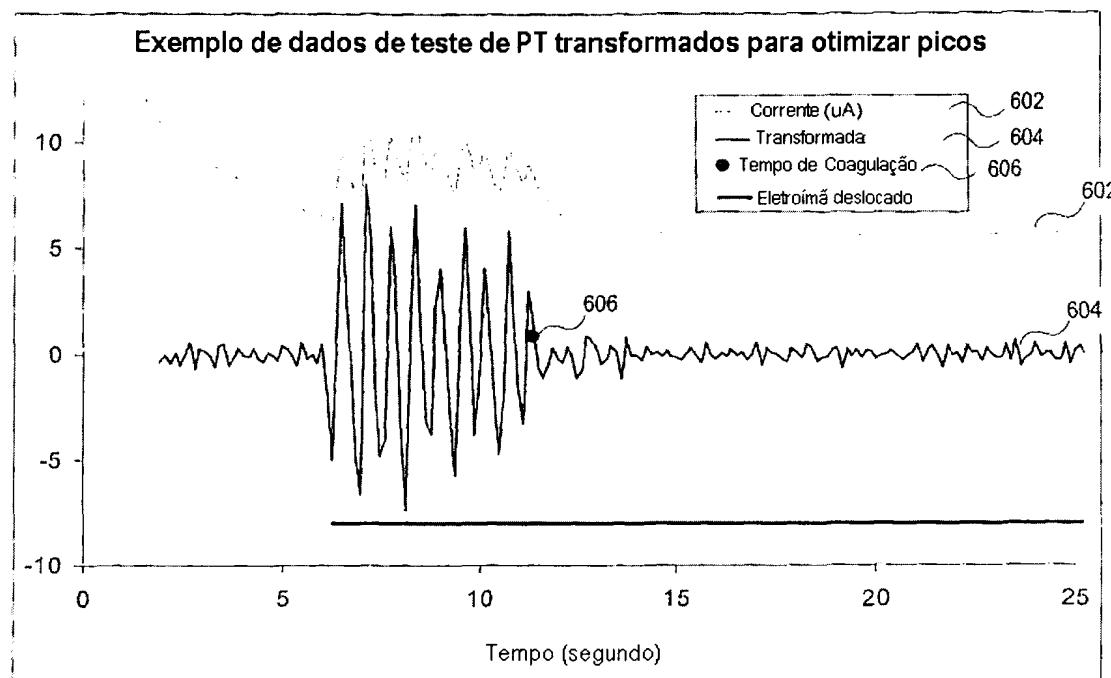
Gráfico de uma reação de coagulação exemplar

FIG. 4



Calibração exemplar de sensores utilizando plasmas com INR conhecida.

FIG. 5

600

Transformação Exemplar para Otimizar Picos

FIG. 6

RESUMO**DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA MOBILIDADE DAS PARTÍCULAS****MAGNÉTICAS**

Uma modalidade exemplar da invenção pode incluir
5 um método para monitorar eletroquimicamente a mobilidade das partículas em um fluido em resposta a um campo externo, o método pode incluir monitorar uma característica elétrica do fluido em uma célula eletroquímica, o fluido compreendendo partículas que podem ser movidas sob a
10 influência de um campo externamente aplicado; observar mudanças na característica elétrica causada pelo movimento das partículas induzido pelo campo externo; e inferir uma mudança no estado físico do fluido a partir de uma mudança na magnitude da característica elétrica observada.