



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

(21) **PI 1010355-4 A2**

(22) Data de Depósito: 29/12/2010
(43) Data da Publicação: 18/12/2012
(RPI 2189)



(51) *Int.Cl.:*
G01N 27/30
A61B 5/00

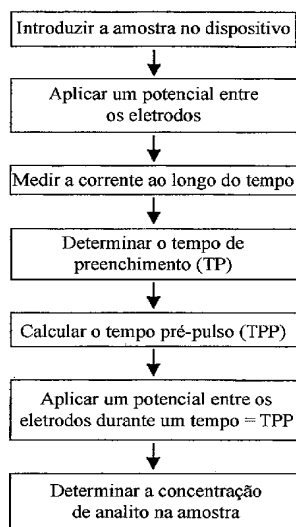
(54) Título: SISTEMAS, DISPOSITIVOS E MÉTODOS PARA OTIMIZAR A PRECISÃO DE BIOSSENSORES COM O USO DO TEMPO DE PREENCHIMENTO

(30) Prioridade Unionista: 30/12/2009 US 12/649,594, 17/12/2010 US 12/971,777, 17/12/2010 US 12/971,777

(73) Titular(es): Lifescan, INC

(72) Inventor(es): Alastair M. Hodges, Ronald C. Chatelier

(57) Resumo: SISTEMAS, DISPOSITIVOS E MÉTODOS PARA OTIMIZAR A PRECISÃO DE BIOSSENSORES COM O USO DO TEMPO DE PREENCHIMENTO. A presente invenção refere-se a métodos, que são apresentados para determinação da concentração de um analito em uma amostra, bem como os dispositivos e sistemas usados em conjunto com os mesmos. Em uma modalidade exemplificadora de um método para determinação da concentração de um analito em uma amostra, o método inclui detectar a presença de uma amostra em um sensor eletroquímico que inclui dois eletrodos. Um tempo de preenchimento da amostra é determinado com os dois eletrodos, e um fator de correção é calculado em vista pelo menos do tempo de preenchimento. O método inclui, também, reagir um analito que causa uma transformação física do analito entre os dois eletrodos. Uma concentração do analito pode, então, ser determinada em vista do fator de correção com os mesmos dois eletrodos. São apresentados, também, sistemas e dispositivos que tiram proveito do uso do tempo de preenchimento fazer determinações quanto à concentração de analito.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"SISTEMAS, DISPOSITIVOS E MÉTODOS PARA OTIMIZAR A PRECISÃO DE BIOCENSORES COM O USO DO TEMPO DE PREENCHIMENTO"**.

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

5 Este pedido reivindica a prioridade sob 35 U.S.C. §120 como um pedido de continuação-em-parte ao pedido de patente com nº serial US 12/649.594, intitulado "Systems, Devices and Methods for Improving Accuracy of Biosensors Using Fill Time" e depositado em 30 de dezembro de 2009, o qual está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente descrição refere-se à determinação da concentração de um analito em uma amostra e, mais particularmente, refere-se a obter uma determinação mais precisa da concentração, com base em um tempo de preenchimento da amostra.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A detecção de analito em fluidos fisiológicos, por exemplo sangue ou produtos derivados de sangue, vem ganhando importância crescente na sociedade atual. Os ensaios para detecção de analitos podem ser usados em uma variedade de aplicações, inclusive na realização de testes de laboratório clínico e testes domésticos, entre outros, onde os resultados desses testes desempenham um papel importante no diagnóstico e no manejo de uma variedade de problemas de saúde. Os analitos em questão incluem glicose para manejo do diabetes, colesterol, e similares. Em resposta a essa crescente importância da detecção de analitos, desenvolveu-se uma variedade de protocolos e dispositivos para detecção de analitos, tanto para uso clínico como doméstico. Alguns desses dispositivos incluem células eletroquímicas, sensores eletroquímicos, sensores de hemoglobina, sensores de antioxidante, biossensores e imunossensores.

30 Uma característica do sangue que pode afetar a detecção de analitos é o hematócrito. Os níveis de hematócrito podem ser muito diferentes entre várias pessoas. A título de exemplo não-limitador, uma pessoa

que sofra de anemia pode ter um nível de hematócrito de aproximadamente 20%, enquanto um recém-nascido pode ter um nível de hematócrito de aproximadamente 65%. Mesmo amostras tomadas do mesmo indivíduo ao longo de um período de tempo podem ter diferentes níveis de hematócrito.

5 Adicionalmente, como um alto nível de hematócrito pode, também, aumentar a viscosidade do sangue, e como a viscosidade pode, por sua vez, afetar outros parâmetros associados à detecção de analito, levar em conta o efeito do hematócrito em uma amostra pode ser importante para a obtenção de determinações acuradas quanto à concentração de analito.

10 Um modo pelo qual níveis variáveis de hematócrito em uma amostra de sangue têm sido levados em conta consiste em separar o plasma do sangue e, então, recalculer a concentração do antígeno em relação ao volume ajustado de plasma. A separação tem sido obtida, por exemplo, mediante a realização de uma etapa de centrifugação. Outras
15 maneiras pelas quais os níveis variáveis de hematócrito em uma amostra de sangue têm sido levados em conta incluem o uso de um hematócrito médio em um cálculo, ou a medição de um hematócrito em uma etapa separada, seguida do cálculo da concentração do antígeno em relação ao valor plasmático. Acredita-se, entretanto, que esses métodos sejam indesejáveis, pelo
20 menos devido ao fato de envolverem manuseio indesejado das amostras, tomarem um tempo adicional, e/ou levarem a erros substanciais nas determinações finais. Adicionalmente, as temperaturas em ambientes nos quais as amostras são analisadas também podem ter um impacto negativo sobre a precisão na determinação da concentração de analito.

25 SUMÁRIO

Os Requerentes reconheceram que seria desejável desenvolver uma forma de obter medições mais acuradas da concentração de analitos que levem em conta um amplo espectro de níveis de hematócrito e temperaturas com pouco ou nenhum dos problemas relacionados anteriormente
30 observados. Consequentemente, são apresentados de modo geral sistemas, dispositivos e métodos para determinação da concentração de um analito em uma amostra. Em uma modalidade exemplificadora de um método para

determinação da concentração de um analito em uma amostra, o método inclui detectar a presença da amostra em um sensor eletroquímico. O sensor eletroquímico pode incluir, por exemplo, dois eletrodos. Os dois eletrodos podem incluir, por exemplo, uma orientação em que estão voltados um para o outro em oposição. Em outras modalidades, os dois eletrodos podem incluir uma orientação em que estão voltados um para o outro.

O método inclui, ainda, determinar um tempo de preenchimento da amostra com os dois eletrodos, e calcular um fator de correção em vista pelo menos do tempo de preenchimento. O método inclui, também, reagir um analito para causar uma transformação física do mesmo entre os dois eletrodos, e determinar a concentração do analito em vista do fator de correção com os mesmos dois eletrodos. Por exemplo, a reação do analito pode gerar uma espécie eletroativa que pode ser medida como uma corrente pelos dois eletrodos. Em algumas modalidades, tanto a determinação do tempo de preenchimento como a determinação da concentração de analito podem ser feitas com o uso dos mesmos dois eletrodos.

Em uma modalidade exemplificadora de um método para medição da concentração corrigida de analito em uma amostra, o método inclui detectar a presença da amostra em um sensor eletroquímico. O sensor eletroquímico pode incluir, por exemplo, dois eletrodos. Os dois eletrodos podem incluir, por exemplo, uma orientação em que estão voltados um para o outro em oposição. Em outras modalidades, os dois eletrodos podem incluir uma orientação em que estão voltados um para o outro.

O método inclui, ainda, determinar um tempo de preenchimento da amostra com os dois eletrodos. O método inclui, também, reagir um analito para causar uma transformação física no mesmo. O método inclui, ainda, determinar uma primeira concentração de analito na amostra com os mesmos dois eletrodos, e calcular uma concentração de analito corrigida com base na primeira concentração de analito e no tempo de preenchimento. Em algumas modalidades, tanto a determinação do tempo de preenchimento como a determinação da concentração de analito podem ser feitas com o uso dos mesmos dois eletrodos.

Em uma modalidade, a etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir calcular um fator de correção com base no tempo de preenchimento. Nesse tipo de modalidade, a concentração de analito corrigida pode ser calculada com base na primeira concentração de analito e no fator de correção. Em uma modalidade exemplificadora, o fator de correção pode ser determinado com base em uma série de valores-limite. Por exemplo, o fator de correção pode ser de cerca de zero, quando o tempo de preenchimento for menor que um primeiro limite para tempo de preenchimento. Em outro exemplo, o fator de correção pode ser calculado em vista do tempo de preenchimento, quando este for maior que um primeiro limite para tempo de preenchimento e menor que um segundo limite para tempo de preenchimento. Em ainda outro exemplo, o fator de correção pode ser um valor constante, quando o tempo de preenchimento for maior que um segundo limite para tempo de preenchimento.

Em algumas modalidades, os detalhes da etapa de calcular a concentração de analito corrigida podem depender da primeira concentração de analito na amostra ser menor ou maior que o valor-limite. Por exemplo, a etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir uma soma do fator de correção e da primeira concentração de analito na amostra, quando a primeira concentração de analito na amostra é menor que um valor-limite. Em outro exemplo, quando a primeira concentração de analito na amostra é maior que um valor-limite, a etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir dividir o fator de correção por cem e adicionar um, para resultar em um termo intermediário, e mutiplicar o termo intermediário pela primeira concentração de analito para resultar em uma concentração de analito corrigida pelo tempo de preenchimento.

Em algumas modalidades dos métodos acima, o tempo de preenchimento da amostra pode ser determinado aplicando-se um potencial elétrico entre os dois eletrodos enquanto a amostra é introduzida, medindo-se a corrente da célula como uma função do tempo, e determinando-se um tempo de queda da corrente com base na corrente da célula como uma função do tempo. Nesse tipo de modalidade, o tempo de queda da corrente

pode corresponder ao tempo de preenchimento da amostra. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular o máximo valor negativo da alteração na corrente da célula medida ao longo do tempo. Em algumas modalidades, a etapa de determinar

5 o tempo de queda de corrente pode incluir calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente, onde a diferença é maior que um primeiro limite predeterminado. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente, onde a diferença é menor que um segundo

10 limite predeterminado. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular um coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, onde o coeficiente angular é maior que um terceiro limite predeterminado. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular um

15 coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, onde o coeficiente angular é menor que um quarto limite predeterminado. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular um ponto de inflexão na corrente medida como uma função do tempo. A medição da corrente da célula como uma função do

20 tempo pode incluir, por exemplo, realizar medições de corrente aproximadamente a cada 2 milissegundos e, então, calcular e armazenar uma corrente média com base nas medições de corrente aproximadamente a cada 10 milissegundos. Em algumas modalidades, o método pode incluir, adicionalmente, determinar um nível de hematócrito na amostra, em vista do

25 tempo de preenchimento da amostra. Como resultado, a concentração do antígeno pode ser determinada em vista do nível de hematócrito determinado.

Em algumas modalidades dos métodos acima citados, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar um potencial elétrico

30 entre os dois eletrodos, e medir uma alteração nos valores de corrente que seja maior que um quinto limite predeterminado. Em algumas modalidades, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar um potencial

elétrico entre os dois eletrodos, e medir uma alteração nos valores de corrente que seja menor que um sexto limite predeterminado. Em algumas modalidades, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos, e medir uma alteração em um potencial elétrico que seja maior que um sétimo limite predeterminado. Em algumas modalidades, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos, e medir uma alteração em um potencial elétrico que seja menor que um oitavo limite predeterminado. Em algumas modalidades, a detecção da presença da amostra pode ser realizada por um microprocessador de uma máquina medidora de analito.

A célula eletroquímica pode incluir um sensor de glicose. Em outra modalidade, a célula eletroquímica pode incluir um imunossensor. Nesse tipo de modalidade, o analito para o qual a concentração está sendo analisada pode incluir proteína C-reativa. A amostra analisada pode incluir sangue. Em uma modalidade, o sangue pode incluir sangue integral. O analito para o qual está sendo analisada a concentração pode incluir glicose.

Em uma modalidade exemplificadora de um método para medição da concentração corrigida de analito em uma amostra, o método inclui detectar a presença da amostra em um sensor eletroquímico. O sensor eletroquímico pode incluir, por exemplo, dois eletrodos. O método inclui, ainda, determinar um tempo de preenchimento da amostra com os dois eletrodos. O método inclui, também, reagir um analito que cause uma transformação física no mesmo. O método inclui, ainda, determinar uma primeira concentração de analito na amostra com os mesmos dois eletrodos, e calcular uma concentração de analito corrigida com base na primeira concentração de analito e no tempo de preenchimento. Em algumas modalidades, tanto a determinação do tempo de preenchimento como a determinação da concentração de analito podem ser feitas com o uso dos mesmos dois eletrodos.

Em uma modalidade, a etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir calcular um fator de correção com base no

tempo de preenchimento. Nesse tipo de modalidade, a concentração de analito corrigida pode ser calculada com base na primeira concentração de analito e no fator de correção. Em uma modalidade exemplificadora, o fator de correção pode ser determinado com base em uma série de valores-limite.

- 5 Por exemplo, o fator de correção pode ser de cerca de zero, quando o tempo de preenchimento for menor que um primeiro limite para tempo de preenchimento. Em outro exemplo, o fator de correção pode ser calculado em vista do tempo de preenchimento, quando este for maior que um primeiro limite para tempo de preenchimento e menor que um segundo limite para
- 10 tempo de preenchimento. Em ainda outro exemplo, o fator de correção pode ser um valor constante, quando o tempo de preenchimento for maior que um segundo limite para tempo de preenchimento.

Em algumas modalidades, os detalhes da etapa de calcular a concentração de analito corrigida podem depender da primeira concentração de analito na amostra ser menor ou maior que o valor-limite. Por exemplo, a

15 etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir uma soma do fator de correção e da primeira concentração de analito na amostra, quando a primeira concentração de analito na amostra é menor que um valor-limite. Em outro exemplo, quando a primeira concentração de analito

20 na amostra é maior que um valor-limite, a etapa de calcular a concentração de analito corrigida pode incluir dividir o fator de correção por cem e adicionar um, para resultar em um termo intermediário, e mutiplicar o termo intermediário pela primeira concentração de analito para resultar em uma concentração de analito corrigida pelo tempo de preenchimento.

25 Em uma modalidade exemplificadora de um sistema eletroquímico, o sistema inclui um sensor eletroquímico que inclui contatos elétricos configurados para encaixe a um medidor de teste. O sensor eletroquímico inclui um primeiro eletrodo e um segundo eletrodo em uma relação de espaçamento, bem como um reagente. O primeiro e o segundo eletrodos

30 podem incluir, por exemplo, uma orientação em que ficam voltados um para o outro em oposição. Em outras modalidades, o primeiro e o segundo eletrodos podem incluir uma orientação em que ficam voltados um para o

outro. O sistema inclui, também, um medidor de teste que inclui um processador configurado para receber os dados de corrente a partir da tira para testes, mediante a aplicação de tensões à tira para testes, e adicionalmente configurado para determinar uma concentração de analito corrigida com base em uma concentração de analito calculada e um tempo de preenchimento medido com os mesmos dois eletrodos. O sistema pode, também, incluir um elemento aquecedor configurado para aquecer pelo menos uma porção do sensor eletroquímico. Em algumas modalidades, o medidor de teste pode incluir um armazenamento de dados que contém um limite para concentração de analito, um primeiro limite para tempo de preenchimento e um segundo limite para tempo de preenchimento. Em algumas modalidades, pelo menos um dentre o sensor eletroquímico, o medidor de teste e o processador está configurado para medir uma temperatura da amostra.

Em uma modalidade, a célula eletroquímica pode ser um sensor de glicose. Em outra modalidade, a célula eletroquímica pode ser um imunossensor. O imunossensor pode incluir um primeiro reagente líquido, um segundo reagente líquido e contas magnéticas conjugadas a um antígeno. Em uma modalidade, o primeiro reagente líquido pode incluir um anticorpo conjugado a uma enzima em um tampão. O primeiro reagente líquido pode ser aplicado em faixas sobre o eletrodo inferior e submetido a secagem. O segundo reagente líquido pode incluir ferricianeto, um substrato para a enzima e um segundo mediador em uma solução ácida diluída. O segundo reagente líquido pode ser aplicado em faixas sobre o eletrodo inferior e submetido a secagem. As contas magnéticas, por outro lado, podem ser aplicadas em faixas sobre o eletrodo superior e submetidas a secagem.

O imunossensor pode, também, incluir uma pluralidade de câmaras, um separador, um respiro e um ou mais componentes vedantes. O separador pode estar disposto entre os eletrodos inferior e superior. A pluralidade de câmaras pode incluir uma câmara de reação, uma câmara de detecção e uma câmara de preenchimento. A câmara de reação pode ser formada no separador e pode ter dispostos na mesma o primeiro reagente e

as contas magnéticas conjugadas ao antígeno. A câmara de detecção pode também ser formada no separador e pode ter disposto na mesma o segundo reagente. A câmara de preenchimento pode ser formada pelo menos parcialmente no separador, sendo que um dentre os eletrodos inferior e superior pode estar espaçado a uma distância da câmara de detecção, e pode se sobrepor a pelo menos uma porção da câmara de reação. O respiro pode ser formado pelo menos parcialmente em cada um dentre o separador, o eletrodo inferior e o eletrodo superior, pode estar espaçado a uma distância da câmara de reação, e pode se sobrepor a pelo menos uma porção da câmara de detecção. Em uma modalidade, um ou mais componentes vedantes podem consistir em um primeiro componente vedante e um segundo componente vedante. O primeiro componente vedante pode ter um anticoagulante incorporado, pode estar acoplado a um dentre os eletrodos inferior e superior, pode estar disposto sobre o respiro, e pode ser configurado tanto para formar uma parede da câmara de preenchimento como para lacrar o respiro. O segundo componente vedante pode estar acoplado ao outro dentre os eletrodos inferior e superior, pode estar disposto sobre o respiro, e pode ser configurado para lacrar o respiro. Em uma modalidade, o primeiro componente vedante é uma fita adesiva hidrofílica. Pelo menos um dentre a unidade de controle, o imunossensor e o medidor pode incluir uma configuração para medir uma temperatura da amostra. O analito para o qual o sistema calcula a concentração pode incluir uma proteína C-reativa. A amostra introduzida na célula eletroquímica pode incluir sangue. Em uma modalidade, o sangue pode incluir sangue integral.

O sensor eletroquímico pode, também, consistir em inúmeros outros dispositivos de análise, inclusive, a título de exemplo não-limitador, células eletroquímicas, sensores de glicose, medidores de glicose, sensores de hemoglobina, sensores de antioxidante, biossensores e imunossensores. Em uma modalidade, o sensor eletroquímico é um sensor de glicose. O sensor de glicose pode incluir uma célula eletroquímica que tem um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo ou eletrodo contador/de referência. O eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo ou o eletrodo contador/de referência

podem estar espaçado um do outro em aproximadamente 500 micrômetros ou menos. Em uma modalidade, um espaçamento entre os eletrodos está na faixa de cerca de 80 micrômetros a cerca de 200 micrômetros. O espaçamento pode ser determinado de modo a obter um resultado desejado, por exemplo obtendo substancialmente uma corrente em estado estável em um tempo desejável. Em uma modalidade, um espaçamento entre os eletrodos é selecionado de modo que os produtos de reação de um contra-eletrodo cheguem a um eletrodo de trabalho.

O eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo ou eletrodo contador/de referência podem ter uma variedade de configurações. Por exemplo, os eletrodos podem estar voltados um para o outro, pode estar substancialmente opostos um ao outro, ou podem ter uma configuração lado a lado, na qual os eletrodos estão posicionados aproximadamente no mesmo plano. Os eletrodos podem ter substancialmente a mesma área correspondente. Os eletrodos podem, também, ser planos. Em uma modalidade, a célula eletroquímica inclui um eletrodo de trabalho, um contra-eletrodo e um eletrodo de referência separado. Em outra modalidade, a célula eletroquímica pode ter dois pares de eletrodo. Os pares de eletrodo podem incluir qualquer combinação de eletrodo de trabalho, contra-eletrodo, eletrodo contador/de referência e eletrodo de referência separado mas, em uma modalidade exemplificadora, cada par inclui um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo ou eletrodo contador/de referência. Em mais uma outra modalidade, a célula eletroquímica pode ter um volume efetivo da célula de cerca de 1,5 microlitros ou menos. A célula eletroquímica pode ser oca.

Um potencial pode ser aplicado aos eletrodos das células por inúmeros mecanismos diferentes inclusive, a título de exemplo não-limitador, um medidor. A magnitude do potencial pode depender de inúmeros fatores diferentes inclusive, a título de exemplo não-limitador, a reação desejada da amostra no interior da célula. Em uma modalidade, a magnitude do potencial pode ser selecionada de modo que a eletro-oxidação de uma forma reduzida ou a eletro-redução de uma forma oxidada de uma amostra seja substancialmente controlada por difusão.

As amostras podem entrar na célula por meio de ação capilar.

Uma unidade de controle pode ser usada para determinar um tempo de preenchimento da amostra entrando na célula. Em uma modalidade, a unidade de controle pode incluir um detector de passagem de corrente configurado para medir a corrente da célula como uma função do tempo, para determinar uma queda de corrente correspondente ao tempo de preenchimento da amostra. Pelo menos um dentro a unidade de controle, a célula eletroquímica e o medidor pode estar configurado para medir uma temperatura da amostra ou, alternativamente, uma temperatura do ar ambiente dentro do medidor ou adjacente ao sensor eletroquímico fixado ao medidor.

Uma modalidade exemplificadora de um método para medição de um antígeno em uma amostra de sangue pode incluir obter um imunossensor que tem dois eletrodos e um medidor conectado à célula eletroquímica, de modo que o medidor aplique um potencial entre os dois eletrodos do imunossensor. O método pode incluir, adicionalmente, introduzir no imunossensor uma amostra de sangue incluindo um antígeno, aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos, calcular um tempo de preenchimento da amostra de sangue, e determinar uma concentração do antígeno em vista do tempo de preenchimento. O imunossensor pode incluir, adicionalmente, uma câmara de reação e uma câmara de detecção formada em um separador disposto entre os dois eletrodos, uma câmara de preenchimento pelo menos parcialmente formada no separador e em um dos dois eletrodos, e um respiro pelo menos parcialmente formado no separador e nos dois eletrodos. A câmara de preenchimento pode estar espaçada a uma distância da câmara de detecção, e pode se sobrepor a pelo menos uma porção da câmara de reação. O respiro pode estar espaçado a uma distância da câmara de reação, e pode se sobrepor a pelo menos uma porção da câmara de detecção. O antígeno da amostra de sangue pode ser proteína C-reativa. O método pode incluir, adicionalmente, medir uma temperatura da amostra de sangue. Como resultado, uma concentração do antígeno pode ser calculada em vista do tempo de preenchimento.

O método para medição de uma amostra de sangue pode incluir, adicionalmente, dispor um conjugado de anticorpo-enzima em um primeiro tampão, e contas magnéticas ligadas a um antígeno em um segundo tampão na câmara de reação. Ferricianeto, glicose e um mediador em um ácido diluído podem ser dispostos na câmara de detecção. Um primeiro lacre pode ser disposto sobre um primeiro lado do respiro que forma uma parede da câmara de preenchimento, e um segundo lacre pode ser disposto sobre um segundo lado do respiro. Pelo menos uma porção da amostra de sangue que é introduzida no imunossensor se move da câmara de preenchimento para a câmara de reação quando a mesma é introduzida no imunossensor.

O método pode incluir, adicionalmente, abrir o respiro após um tempo predeterminado, mediante a perfuração de pelo menos um dos lacres. A perfuração de pelo menos um dos lacres permite que porções da amostra de sangue contendo o conjugado de anticorpo-enzima que não estão ligadas às contas magnéticas se movam para a câmara de detecção. Além disso, o método pode incluir oxidação catalisadora da glicose na câmara de detecção, o que pode resultar na formação de ferrocianeto. Uma corrente pode ser detectada eletroquimicamente a partir do ferrocianeto, e uma concentração do antígeno na amostra de sangue pode ser calculada em vista do sinal detectado.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Esta invenção será mais completamente compreendida a partir da descrição detalhada apresentada a seguir, tomada em conjunto com os desenhos em anexo, nos quais:

25 A figura 1 ilustra um fluxograma de um método exemplificador para determinação da concentração de um analito em uma amostra, de acordo com a presente invenção;

A figura 2A ilustra um desenho esquemático em elevação lateral (fora de escala) de uma modalidade exemplificadora de uma célula eletroquímica de acordo com a presente invenção;

30 A figura 2B ilustra uma vista em planta superior da célula eletroquímica da figura 2A;

A figura 3 ilustra um desenho esquemático em seção transversal (fora de escala) de uma modalidade exemplificadora de uma célula eletroquímica oca de acordo com a presente invenção;

5 A figura 4A ilustra uma vista em perspectiva de um ensaio montado de acordo com a presente invenção;

A figura 4B ilustra uma vista em perspectiva explodida de uma tira de ensaio desmontada, de acordo com a presente invenção;

A figura 4C ilustra uma vista em perspectiva expandida de uma porção proximal da tira de ensaio de acordo com a presente invenção;

10 A figura 5A ilustra uma vista em planta inferior de uma modalidade de uma tira de ensaio apresentada na presente invenção;

A figura 5B ilustra uma vista em planta lateral da tira de ensaio da figura 5A;

15 A figura 5C ilustra uma vista em planta superior da tira de ensaio da figura 5B;

A figura 5D é uma vista lateral parcial de uma porção proximal da tira de ensaio da figura 5C;

20 A figura 6 ilustra uma vista explodida de uma modalidade exemplificadora de um imunossensor de acordo com a presente invenção, sendo que o imunossensor é configurado para uso com uma unidade de controle que tem um sistema de detecção eletroquímica para calcular um tempo de preenchimento;

25 A figura 7 ilustra uma plotagem de um transitório de corrente versus tempo realizada com o uso de uma modalidade exemplificadora de uma célula eletroquímica, em conjunto com uma modalidade exemplificadora para testar uma variedade de amostras de sangue aqui fornecidas;

30 A figura 8 ilustra uma plotagem de um transitório de corrente versus tempo realizada com o uso de uma outra modalidade exemplificadora de uma célula eletroquímica, em conjunto com uma modalidade exemplificadora para testar uma variedade de amostras de sangue aqui fornecidas;

A figura 9 ilustra uma plotagem dos resultados de ensaio de uma variedade de amostras de sangue com o uso de um método com tempo de

pré-pulso variável, de acordo com uma modalidade exemplificadora, e um método com tempo fixo;

A figura 10 ilustra uma plotagem de tempo de preenchimento versus nível de hematócrito para uma variedade de amostras de sangue aqui fornecidas;

A figura 11 ilustra um formato de onda da tensão de ensaio, na qual o medidor de teste aplica uma pluralidade de tensões de teste durante intervalos de tempo prescritos;

A figura 12 ilustra uma plotagem dos resultados de teste de uma variedade de amostras de sangue, sem correção quanto ao tempo de preenchimento;

A figura 13A ilustra os mesmos dados que a figura 12, plotados contra o hematócrito das amostras;

A figura 13B ilustra uma plotagem dos dados mostrados na figura 12, corrigidos quanto ao tempo de preenchimento e plotados contra o hematócrito da amostra;

A figura 14 ilustra uma plotagem dos resultados de teste de uma variedade de amostras de sangue em um ambiente clínico;

A figura 15 ilustra uma plotagem de transitórios de corrente versus tempo obtida quando o sangue com hematócritos na faixa de 15% a 72% foi carregado em uma outra modalidade exemplificadora de um sensor eletroquímico, em conjunto com uma modalidade exemplificadora para testar uma variedade de amostras aqui fornecidas.

A figura 16 ilustra uma plotagem alternativa dos dados mostrados na figura 15.

DESCRIÇÃO DETALHADA

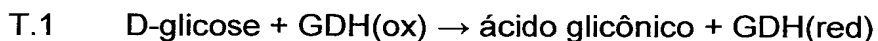
A seguinte descrição detalhada deve ser lida com referência às ilustrações, nas quais elementos iguais em diferentes desenhos são numerados de modo idêntico. Os desenhos, que não estão necessariamente em escala, representam modalidades selecionadas e não se destinam a limitar o escopo da invenção. A descrição detalhada ilustra, a título de exemplo, e não a título de limitação, os princípios da invenção.

Conforme usado na presente invenção, os termos "cerca de" ou "aproximadamente" para quaisquer valores ou faixas numéricas indicam uma tolerância dimensional adequada que permite que a parte ou coleção de componentes funcionem com seu propósito previsto conforme aqui descrito. Além disso, conforme usado na presente invenção, os termos "paciente", "hospedeiro", "usuário" e "sujeito" se referem a qualquer ser humano ou animal, e não se destinam a limitar os sistemas ou métodos ao uso humano, embora o uso da presente invenção em um paciente humano represente uma modalidade preferencial.

Determinadas modalidades exemplificadoras serão agora descritas para proporcionar o entendimento geral dos princípios do corpo, função, fabricação e uso dos dispositivos e métodos descritos na presente invenção. Um ou mais exemplos das referidas modalidades são ilustrados nos desenhos em anexo. Os versados na técnica entenderão que os dispositivos e os métodos especificamente aqui descritos e ilustrados nos desenhos anexos são modalidades exemplares não-limitadoras, e que o âmbito da presente invenção é definido somente pelas reivindicações. Os aspectos ilustrados ou descritos em conexão com uma modalidade exemplificadora podem ser combinados com os aspectos de outras modalidades. Essas modificações e variações se destinam a estar incluídas no escopo da presente invenção.

Os sistemas e métodos aqui apresentados são adequadas ao uso na determinação de uma ampla variedade de analitos em uma ampla variedade de amostras, e são particularmente adequados ao uso na determinação de analitos em sangue integral, plasma, soro, fluido intersticial ou derivados dos mesmos. Em uma modalidade exemplificadora, é apresentado um sistema para teste de glicose com base em um design de célula de camada fina com eletrodos opostos e detecção eletroquímica tripulso que é rápida (por exemplo, tempo de análise de cerca de 5 segundos ou menos), requer uma pequena amostra (por exemplo, cerca de 0,4 μ L ou menos), e pode oferecer confiabilidade e acurácia aprimoradas para medições de glicose sanguínea. Na célula de reação para teste de analitos, a glicose presente na amostra pode ser oxidada para gliconolactona com o uso da

glicose desidrogenase, e um mediador eletroquimicamente ativo pode ser usado para transportar elétrons da enzima para um eletrodo de trabalho em paládio. Mais particularmente, uma camada reagente revestindo pelo menos um dos eletrodos na célula de reação pode incluir glicose desidrogenase (GDH) com base em cofator pirroloquinolina quinona (PQQ) e ferricianeto. Em outra modalidade, a enzima GDH com base no cofator PQQ pode ser substituída pela enzima GDH com base no cofator dinucleotídeo flavina adenina (FAD). Quando o sangue ou a solução de controle é dosada para dentro da câmara de reação, a glicose é oxidada pelo GDH(ox) e, no processo, converte GDH(ox) em GDH(red), conforme mostrado na transformação química T.1, abaixo. Note-se que GDH(ox) refere-se ao estado oxidado de GDH, e GDH (red) refere-se ao estado reduzido de GDH.



Um potenciostato pode ser usado para aplicar um formato de onda de potencial tripulso ao eletrodo de trabalho e ao contra-eletrodo, resultando em transitórios de corrente de teste usados para calcular a concentração de glicose. Além disso, informações adicionais obtidas a partir dos transitórios de corrente de teste podem ser usados para distinguir entre matrizes de amostra e corrigir quanto à variabilidade em amostras de sangue devido a hematócrito, variação de temperatura e componentes eletroquimicamente ativos, bem como para identificar possíveis erros do sistema.

Os métodos da presente invenção podem ser usados, em princípio, com qualquer tipo de célula eletroquímica que tenha um primeiro e um segundo eletrodos espaçados entre si, e uma camada de reagente. Por exemplo, uma célula eletroquímica pode estar sob a forma de uma tira de teste. Em um aspecto, a tira de teste pode incluir dois eletrodos opostos, separados por um espaçador fino de modo a definir uma câmara ou zona receptora de amostras na qual está situada uma camada de reagente. Os Requerentes observam que outros tipos de tiras de teste, inclusive, por exemplo, tiras de teste com eletrodos co-planares também podem ser usadas com os métodos aqui descritos.

Os métodos para determinação da concentração de um analito em uma amostra, aqui apresentados, podem ser usados com qualquer dispositivo e/ou sistema para análise de amostras. Os dispositivos tipicamente incluem pelo menos um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo entre os quais pode ser aplicado um potencial elétrico. O dispositivo para análise de amostras pode geralmente estar associado a um componente para aplicação do potencial elétrico entre os eletrodos, como um medidor. Os Requerentes observam que vários medidores de teste podem ser usados com os sistemas e métodos aqui descritos. Entretanto, em uma modalidade, o medidor de teste inclui pelo menos um processador, o qual pode incluir uma ou mais unidades de controle configuradas para realizar cálculos capazes de calcular um fator de correção em vista de pelo menos um parâmetro medido ou calculado, bem como configuradas para classificação e/ou armazenamento de dados. O microprocessador pode estar sob a forma de um microprocessador de sinais mistos (MSP) como o Texas Instruments MSP 430. O TI-MSP 430 pode ser configurado para realizar, também, uma porção da função do potenciostato e a função de medição de corrente. Além disso, o MSP 430 pode, também, incluir memória volátil e não-volátil. Em outra modalidade, muitos dos componentes eletrônicos podem ser integrados ao microcontrolador sob a forma de um circuito integrado para aplicação específica.

O dispositivo para análise de amostras pode, também, estar associado a um ou mais componentes que são capazes de medir um tempo de preenchimento de uma amostra, quando esta é introduzida no dispositivo. Esses componentes podem, também, ser capazes de calcular uma concentração de um analito na amostra, em vista do tempo de preenchimento. Esses componentes são geralmente chamados, na presente invenção, de unidades de controle. Adicionalmente, os termos analito, antígeno e anticorpos são usados de maneira intercambiável neste documento e, portanto, o uso de um termo é igualmente aplicável a todos os três termos, exceto onde indicado em contrário ou razoavelmente conhecido pelo versado na técnica.

Em uma modalidade exemplar de um método para determinação da concentração de um analito em uma amostra, uma amostra é introduzida em uma célula eletroquímica de um dispositivo para análise de amostras que tem um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo. Um potencial elétrico pode ser aplicado entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo da célula eletroquímica, e um tempo de preenchimento da amostra, por exemplo para dentro de um espaço capilar da célula eletroquímica, pode ser determinado. Um tempo pré-pulso pode ser calculado em vista pelo menos do tempo de preenchimento da amostra, e um potencial elétrico pode ser aplicado entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo durante um período de tempo igual ao tempo pré-pulso. Pode-se, então, determinar uma concentração do analito na amostra. Mediante o cálculo do tempo de pré-pulso em vista do tempo de preenchimento, podem ser obtidos resultados mais acurados quanto à concentração de analito. Por exemplo, erros como aqueles que podem resultar dos níveis de hematócrito variáveis entre amostras podem ser levados em conta, levando assim a determinações mais acuradas quanto às concentrações dos analitos nas amostras. Os métodos também podem levar em conta os efeitos da temperatura, conforme discutido abaixo com mais detalhes. Em uma modalidade alternativa para a detectar uma concentração de um analito em uma amostra, os erros são corrigidos com base em uma velocidade de preenchimento inicial determinada, em vez de um tempo de preenchimento determinado. Um exemplo desse tipo de método é apresentado no pedido de patente com n° serial US 12/649.509, intitulado "Systems, Devices and Methods for Measuring Whole Blood Haematocrit Based on Initial Fill Velocity", de Ronald C. Chatelier, Dennis Rylatt, Linda Raineri e Alastair M. Hodges, depositado em 30 de dezembro de 2009, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

Em uma modalidade alternativa, pode ser determinada uma estimativa de um nível de hematócrito. Em algumas modalidades, a estimativa de um nível de hematócrito pode ser determinada sem referência a uma concentração de analito associada. Como resultado, podem ser feitas avaliações relacionadas a condições como anemia. Nesse tipo de sistema,

somente um nível de hematócrito é medido sem fazer outras determinações de concentração. A determinação de um nível de hematócrito com base nos ensinamentos apresentados pode permitir que as determinações sejam feitas com rapidez e acurácia, frequentemente em menos de um segundo.

5 Por exemplo, os níveis de hematócrito de uma gota de sangue podem ser determinados em menos de um segundo, mediante o mero gotejamento do sangue sobre uma tira de sensor de um dispositivo para análise de amostras. Uma vez que o sangue esteja disposto sobre a tira, uma leitura digital do nível de hematócrito pode ser fornecida quase que instantanea-
10 mente.

Um tempo de preenchimento pode ser usado em uma variedade de maneiras para otimizar a determinação de uma concentração de analito. Por exemplo, o tempo de preenchimento da amostra pode ser usado para calcular um tempo pré-pulso. Mediante o ajuste do tempo de pré-pulso em
15 vista do tempo de preenchimento, podem ser obtidos tempos de reação mais longos para amostras que levam mais tempo para preencher o sensor. por exemplo, se a amostra inclui sangue integral, então o nível de hematócrito pode ser um fator no tempo de preenchimento da amostra. O ajuste do tempo de pré-pulso em vista do tempo de preenchimento pode, assim,
20 permitir a determinação mais acurada de concentrações ao longo de uma faixa de níveis de hematócrito. Em algumas modalidades, o nível de hematócrito pode ser ligado ao tempo de preenchimento, por exemplo, uma estimativa do nível de hematócrito pode ser determinada em vista do tempo de preenchimento. Nesse caso, os níveis de hematócrito podem ser levados
25 em conta na determinação da concentração de analito, de modo a proporcionar determinações mais acuradas quanto à concentração de analito.

Em uma modalidade exemplificadora, as etapas ilustradas na figura 1 podem ser usadas para determinar a concentração de um analito em uma amostra. Conforme mostrado, uma amostra é primeiro introduzida no
30 dispositivo. Quaisquer tipos de dispositivos para análise de amostras podem ser usados em conjunto com pelo menos alguns dos sistemas e métodos apresentados na presente invenção. Esses dispositivos podem incluir, a

título de exemplo não-limitador, células eletroquímicas, sensores eletroquímicos, sensores de glicose, medidores de glicose, sensores de hemoglobina, sensores de antioxidante, biossensores e imunossensores. Uma modalidade exemplificadora de um dispositivo para análise de amostras é um

5 sensor eletroquímico. O sensor eletroquímico pode incluir pelo menos dois eletrodos. Esses pelo menos dois eletrodos podem ser configurados de qualquer maneira, por exemplo, os eletrodos podem estar sobre o mesmo plano ou sobre planos diferentes. Uma amostra pode ser introduzida na célula eletroquímica.

10 Em uma modalidade, a introdução de uma amostra pode ser detectada por uma técnica automática na qual o medidor monitora uma alteração na tensão, na corrente ou na capacitância, uma alteração que indique que a amostra foi dosada na câmara para reação de amostras. Alternativamente, a amostra fisiológica pode ser detectada por uma técnica

15 manual na qual o usuário visualmente observa o preenchimento da câmara para reação de amostras e dá início ao teste pressionando um botão. Em outra modalidade, um detector ótico no medidor pode detectar a dosagem da amostra. O tempo tomado pela amostra para preencher a câmara de reação pode ser medido de modo semelhante por qualquer número de técnicas

20 similares. Em uma modalidade, os eletrodos podem ser configurados de modo que, quando uma amostra é introduzida no sensor, o segundo eletrodo é contactado antes do primeiro eletrodo ou simultaneamente ao mesmo, enquanto a amostra preenche o sensor. Entretanto, enquanto a amostra preenche o sensor, o primeiro eletrodo é limitador quanto à corrente que

25 pode suportar, em relação à tensão aplicada ao segundo eletrodo. o primeiro eletrodo pode, portanto, limitar a corrente passando para dentro do sensor eletroquímico. Antes de, simultaneamente a, ou imediatamente após a amostra entrar em contato com o primeiro eletrodo, um potencial pode ser aplicado entre os eletrodos de modo que, quando o primeiro e o segundo

30 eletrodos são ligados pelo líquido da amostra, uma corrente flui entre os mesmos. Em uma modalidade dos métodos apresentados na presente invenção, a resposta de corrente versus tempo durante o preenchimento do

sensor pode ser usada para determinar o ponto em que o sensor está adequadamente preenchido. Por exemplo, o preenchimento adequado pode significar que suficiente líquido preencheu o sensor, de modo a cobrir completamente pelo menos o primeiro eletrodo. Em algumas modalidades, a

5 resposta de corrente versus tempo pode ser uma descontinuidade na taxa de alteração da corrente com o tempo, como uma queda aumentada na corrente ou uma taxa de aumento diminuída. Um exemplo dos métodos supracitados é apresentado no pedido de patente com nº serial US 12/885.830 de Kranendonk et al., intitulado "Apparatus and Method for

10 Improved Measurements of a Monitoring Device" e depositado em 20 de setembro de 2010, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

Em uma modalidade dos métodos apresentados na presente invenção, um potencial entre cerca de +10 mV e cerca de +30 mV pode ser

15 aplicado entre o primeiro e o segundo eletrodos de uma célula eletroquímica durante um período de tempo, por exemplo cerca de 1.000 ms, conforme uma amostra introduzida no dispositivo preenche a célula. Em uma modalidade exemplificadora, um potencial de cerca de +20 mV pode ser aplicado entre o primeiro e o segundo eletrodos, conforme uma amostra

20 introduzida no dispositivo preenche a célula. A corrente fluindo entre os eletrodos pode ser medida a intervalos predeterminados durante esse tempo. Por exemplo, a corrente pode ser medida a cada 2 milissegundos ("ms") e a corrente média pode ser armazenada a cada 10 ms. Os dados sobre a corrente podem, então, ser analisados, por exemplo por uma

25 unidade de controle. Em algumas modalidades, a unidade de controle pode incluir um microprocessador. A análise dos dados de corrente medidos ao longo de aproximadamente 1.000 ms, durante os quais a amostra preenche o dispositivo, pode incluir uma determinação do tempo mais recente em que a corrente diminuiu em uma quantidade predeterminada. Esse tempo pode

30 ser usado como o tempo de preenchimento (TP) da amostra. Por exemplo, em uma modalidade o tempo mais recente em que a corrente diminuiu em mais de 0,4 microampére ("µA") ao longo de um intervalo de 40 ms pode ser

usado para determinar o tempo em que a amostra preencheu a célula.

Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente, onde a diferença é maior ou menor que um valor-limite predeterminado. Podem ser usados vários valores-limite predeterminados. Por exemplo, quando a área do eletrodo de trabalho é de cerca de 4,2 milímetros quadrados, e estão sendo testados hematócitos com valores tão altos quanto cerca de 75%, o valor-limite predeterminado pode estar na faixa de cerca de 0,4 microampéres ao longo de um período de tempo de cerca de 40 ms. Em outra modalidade exemplificadora, quando a área do eletrodo de trabalho é de cerca de 4,2 milímetros quadrados, e estão sendo testados hematócitos com valores tão altos quanto cerca de 60%, o valor-limite predeterminado pode estar na faixa de cerca de 0,7 microampéres a cerca de 0,9 microampéres ao longo de um período de tempo de cerca de 50 ms. Em algumas modalidades, a etapa de determinar o tempo de queda de corrente pode incluir calcular um ponto de inflexão na corrente medida como uma função do tempo.

Em algumas modalidades, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos, e medir uma alteração nos valores de corrente que seja maior ou menor que um valor-limite predeterminado. Podem ser usados vários valores-limite predeterminados. Por exemplo, quando a área do eletrodo de trabalho é de cerca de 4,2 milímetros quadrados, o valor-limite predeterminado pode estar na faixa de cerca de 3 microampéres. Em outras modalidades, a detecção da presença de uma amostra pode incluir aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos, e medir uma alteração em um potencial elétrico que seja maior ou menor que um limite predeterminado. Por exemplo, o valor-limite predeterminado pode estar na faixa de cerca de 200 mV. Em outra modalidade exemplificadora, o valor-limite pode ser de cerca de 400 mV.

Depois de a amostra ter preenchido a célula, um primeiro potencial elétrico, tendo uma primeira polaridade, pode ser aplicado entre

um primeiro e um segundo eletrodos, e uma corrente resultante pode ser medida como uma função do tempo. Esse primeiro potencial elétrico pode ser chamado, por exemplo, de pré-pulso. Em algumas modalidades, o período de tempo durante o qual um pré-pulso pode ser aplicado pode ser de cerca de 5 segundos. Em outras modalidades, o tempo de preenchimento (TP) da amostra, que pode ser determinado com o uso de qualquer das técnicas discutidas acima, pode ser usado para calcular o período de tempo durante o qual um pré-pulso pode ser aplicado. Esse período de tempo pode ser chamado, por exemplo, de tempo de pré-pulso (TPP). Por exemplo, o cálculo do tempo de pré-pulso pode permitir tempos de pré-pulso mais longos para amostras que levam mais tempo para preencher o sensor. Em uma modalidade, o tempo de pré-pulso pode ser ajustado de acordo com os parâmetros exemplificadores apresentados a seguir. Por exemplo, o tempo pré-pulso pode ser calculado da seguinte forma:

$$\text{TPP (ms)} = 3000 + (\text{tempo de preenchimento} - 300) \times 9,3$$

Para os propósitos deste cálculo, para tempos de preenchimento menores que 300 ms o tempo de preenchimento pode ser ajustado para 300 ms. Esse cálculo permite que o tempo de pré-pulso (PPT) seja ajustado para permitir tempos de reação mais longos para amostras que levam mais do que um intervalo predeterminado de tempo, por exemplo cerca de 300 ms, para preencher o sensor. Com o propósito de simplificar o cálculo e estabelecer limites para o tempo total de teste, um tempo de pré-pulso máximo pode ser definido, se o tempo de preenchimento for mais longo que um período de tempo predeterminado. Por exemplo, em uma modalidade, se o tempo de preenchimento for maior que cerca de 500 ms, por exemplo cerca de 515 ms, o tempo de pré-pulso (TPP) pode ser definido como igual a 5.000 ms. Portanto, nesta modalidade exemplificadora, o TPP mínimo (para tempos de preenchimento menores que cerca de 300 ms) é de 3.000 ms, enquanto o TPP máximo (para tempos de preenchimento maiores que cerca de 500 ms, por exemplo cerca de 515 ms) é de cerca de 5.000 ms. Em outras modalidades, o cálculo do tempo de pré-pulso pode ser ajustado de modo a levar em conta outras propriedades e requisitos de uma amostra ou

analito específico. Por exemplo, as variáveis e constantes na equação mostrada acima para o cálculo do tempo de pré-pulso pode ser ajustada de modo a fornecer tempos de pré-pulso máximo e mínimo alternativos, ou combinações dos mesmos.

5 Uma vez que o tempo de pré-pulso tenha sido determinado, um potencial pode ser aplicado entre os eletrodos da célula durante um tempo igual ao tempo de pré-pulso (TPP), e uma corrente resultante medida como uma função do tempo. Pelo menos uma porção dos dados (corrente como uma função do tempo) oferece um primeiro transitório de tempo-corrente. O

10 primeiro potencial elétrico pode ser suficientemente negativo em relação ao segundo eletrodo, de modo que o segundo eletrodo funcione como o eletrodo de trabalho em que é medida uma corrente de oxidação limitadora. Depois de passado o primeiro intervalo de tempo, um segundo potencial elétrico pode ser aplicado entre o primeiro e o segundo eletrodos durante um

15 segundo intervalo de tempo. O segundo potencial elétrico causa uma corrente que é medida como uma função do tempo para produzir um segundo transitório de tempo-corrente. Em uma modalidade, o segundo potencial tem uma segunda polaridade, a qual é oposta à primeira polaridade. Por exemplo, o segundo potencial pode ser suficientemente positivo em relação

20 ao segundo eletrodo, de modo que o primeiro eletrodo funcione como o eletrodo de trabalho em que é medida uma corrente de oxidação limitadora. Em uma modalidade exemplificadora, o primeiro potencial elétrico e o segundo potencial elétrico podem situar-se na faixa de cerca de $-0,6$ V a cerca de $+0,6$ V. O intervalo de tempo dos transitórios de tempo-corrente

25 podem, em uma modalidade, estar na faixa de cerca de 1 segundo a 10 segundos e, de preferência, na faixa de cerca de 1 a 5 segundos. Em outra modalidade, uma soma do primeiro intervalo de tempo e do segundo intervalo de tempo é menor que cerca de 5 segundos. Deve-se observar que o primeiro intervalo de tempo não precisa ser igual ao segundo intervalo de

30 tempo. Em uma modalidade, o segundo potencial elétrico é aplicado imediatamente em seguida à aplicação do primeiro potencial elétrico. Em uma modalidade alternativa, um retardo ou potencial de circuito aberto é

introduzido entre o primeiro potencial elétrico e o segundo potencial elétrico. Em uma outra modalidade alternativa, um retardo é introduzido após a amostra fisiológica ser detectada na câmara para reação de amostras, mas antes da aplicação do primeiro potencial elétrico. O retardo pode estar na

5 faixa de cerca de 0,01 a cerca de 3 segundos, de preferência de cerca de 0,05 a cerca de 1 segundo e, com a máxima preferência, de cerca de 0,5 a cerca de 0,9 segundos.

Em uma modalidade exemplificadora, um primeiro potencial de teste E_1 pode ser aplicado entre os eletrodos durante um primeiro tempo

10 para potencial de teste T_1 , por exemplo, milissegundos de TPP. Por exemplo, pode ser aplicado um potencial de +300 mV. Depois de transcorrido o primeiro tempo para potencial de teste T_1 , por exemplo milissegundos de TPP, um segundo potencial de teste E_2 pode ser aplicado entre os eletrodos durante um segundo intervalo de tempo para potencial de teste

15 T_2 , por exemplo -300 mV durante 1.000 ms. Durante T_1 e T_2 , pode-se medir a corrente da célula como uma função do tempo, aqui chamada de transitório de tempo-corrente ou transitório de corrente, e apontada como $i_a(t)$, durante o primeiro intervalo de tempo para potencial de teste T_1 e como $i_b(t)$ durante o segundo intervalo de tempo para potencial de teste T_2 . Por

20 exemplo, a corrente como uma função do tempo pode ser medida a cada 10 ms, com a corrente média armazenada a cada 50 ms. Pelo menos uma porção dos dados obtidos a partir do primeiro e do segundo potenciais (corrente como uma função do tempo) pode fornecer o primeiro e o segundo transitórios de tempo-corrente. A concentração de um analito na amostra

25 pode, então, ser determinada a partir dos dados de corrente, com o uso inúmeros algoritmos.

Exemplos de algoritmos para determinação da concentração de analito podem ser encontrados pelo menos no pedido de patente com n° serial US 11/278.341 de Chatelier et al., intitulado "Methods And Apparatus

30 For Analyzing A Sample In The Presence Of Interferents" e depositado em 31 de março de 2006, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade. Em uma modalidade exemplificadora, os

dados de corrente podem ser analisados com o uso de um "algoritmo sem calibração e com correção de cantos" similar àqueles apresentados no pedido de patente supracitado. Em uma modalidade, uma concentração de analito pode ser calculada com o uso do algoritmo conforme mostrado na

5 Equação (Eq.) 1.

$$\text{Eq. 1} \quad G = \left(\frac{i_y}{i_l} \right)^p \{ ai_2 - zgr \}$$

Na Eq. 1, G é a concentração de analito, os termos i_l , i_r e i_2 são valores de corrente e os termos p , zgr e a são constantes de calibração empiricamente derivadas.

Em uma modalidade da invenção, p pode estar na faixa de cerca de 0,2 a cerca de 4 e, de preferência, de cerca de 0,1 a cerca de 1. O fator de calibração a podem ser usados para levar em conta possíveis variações nas dimensões da célula eletroquímica. As variações nas dimensões da célula eletroquímica podem causar um deslocamento proporcional na magnitude da corrente medida. Sob certas circunstâncias, os processos de fabricação podem fazer com que a área do eletrodo varie de um lote de tiras de teste para outro. Calcular um fator de calibração a para cada lote de tiras de teste ajuda a compensar pelas variações na área do eletrodo e na altura da célula. O termo a pode ser calculado durante o processo de calibração de um lote de tiras de teste.

Um fator de calibração zgr é usado para levar em conta variações no plano de fundo. A presença de uma espécie oxidável dentro da camada de reagente da célula antes da adição de uma amostra pode contribuir com um sinal de plano de fundo. Por exemplo, se a camada de reagente contivesse uma pequena quantidade de ferrocianeto (por exemplo, mediador reduzido) antes da adição da amostra à tira de teste, haveria um aumento na corrente de teste medida que não corresponderia à concentração de analito. Como isso causaria um viés constante na corrente de teste medida como um todo para um lote específico de tiras de teste, esse viés poderia ser corrigido com o uso do fator de calibração Z . Similar aos termos p e a , Z também pode ser calculado durante o processo de

calibração. Métodos exemplificadores para calibração de lotes de tiras são descritos na patente US nº 6.780.645, a qual está aqui incorporada a título de referência, em sua totalidade.

Em uma modalidade exemplificadora, p pode ser 0,51, a pode ser 0,2 e zgr pode ser 5. Embora o método apresentado na presente invenção seja descrito com o uso de fatores de calibração, p , a e zgr , o versado na técnica compreenderá que seu uso não é requerido. Por exemplo, em uma modalidade a concentração de glicose poderia ser calculada sem p , a e/ou Z (na Eq. 1 p e/ou a poderiam ser definidos como iguais a um e zgr poderia ser definido como igual a zero). Uma derivação da Eq. 1 pode ser encontrada em um pedido pendente US nº 11/240.797, depositado em 30 de setembro de 2005 e intitulado "Method and Apparatus for Rapid Electrochemical Analysis", o qual está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

O valor da corrente i_r pode ser calculado a partir do segundo transitório de corrente, e o valor da corrente i_l pode ser calculado a partir do primeiro transitório de corrente. Todos os valores de corrente (por exemplo i_r , i_l e i_2) declarados na Eq. 1 e nas equações subsequentes podem usar o valor absoluto da corrente. Os valores de corrente i_r e i_l podem ser, em algumas modalidades, uma integral de valores de corrente ao longo de um intervalo de tempo de um transitório de corrente, uma adição de valores de corrente ao longo de um intervalo de tempo de um transitório de corrente, ou uma valor de corrente médio ou único de um transitório de corrente multiplicado por um intervalo de tempo do transitório de corrente. Para a adição de valores de corrente, uma faixa de medições de corrente consecutivas pode ser somada a partir de somente dois valores de corrente ou até todos os valores de corrente. O valor de corrente i_2 pode ser calculado conforme discutido abaixo.

Por exemplo, onde o primeiro intervalo de tempo tiver 5 segundos de duração, i_l pode ser a corrente média de 1,4 a 4 segundos de um período com 5 segundos de duração, e i_r pode ser a corrente média de 4,4 a 5 segundos de um período com 5 segundos de duração, conforme mostrado

nas Equações 2a e 3a, abaixo.

$$i_r = \sum_{t=4,4}^5 i(t)$$

Eq. 2a

$$i_l = \sum_{t=1,4}^4 i(t)$$

Eq. 3a

Em outro exemplo, onde o primeiro intervalo tiver 5 segundos de duração, i_l pode ser a soma das correntes de 3,9 a 4 segundos de um período com 5 segundos de duração, e i_r pode ser a soma das correntes de 4,25 a 5 segundos de um período com 5 segundos de duração, conforme mostrado nas Equações 2b e 3b, abaixo.

$$i_r = \sum_{t=4,25}^5 i(t)$$

Eq. 2b

$$i_l = \sum_{t=3,9}^4 i(t)$$

Eq. 3b

Uma magnitude de corrente para o primeiro transitório de corrente pode ser descrita como uma função do tempo pela Eq. 4.

$$i_a(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \exp \left(\frac{-4\pi^2 n^2 D t}{L^2} \right) \right\}$$

Eq. 4

O termo i_{ss} é a corrente em estado estável em seguida à aplicação do primeiro potencial de teste E_1 , D é o coeficiente de difusão do mediador, e L é a espessura do espaçador. Deve-se observar que, na Eq. 4, t refere-se ao tempo transcorrido após o primeiro potencial de teste E_1 ter sido aplicado. Uma magnitude de corrente para o segundo transitório de corrente pode ser descrita como uma função do tempo pela Eq. 5.

$$i_b(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 4 \sum_{n=1}^{\infty} \exp \left(\frac{-4\pi^2 n^2 D t}{L^2} \right) \right\}$$

Eq. 5

Há uma diferença de um fator de dois para o termo exponencial na Eq. 5, em comparação ao termo exponencial na Eq. 4, pois o segundo transitório de corrente é gerado a partir do segundo potencial de teste E_2 , o qual tinha polaridade oposta à do primeiro potencial de teste E_1 , sendo aplicado imediatamente após o primeiro potencial de teste E_1 . Deve-se observar que, na Eq. 5, t refere-se ao tempo transcorrido após o segundo

potencial de teste E_2 ter sido aplicado.

Um pico de corrente para o primeiro intervalo de tempo para potencial de teste T_1 pode ser indicado como i_{pa} , e um pico de corrente para o segundo intervalo de tempo para potencial de teste T_2 pode ser indicado como i_{pb} . Se tanto o primeiro pico de corrente i_{pa} como o segundo pico de corrente i_{pb} forem medidos no mesmo curto período após a aplicação do primeiro potencial de teste E_1 e do segundo potencial de teste E_2 , respectivamente, por exemplo 0,1 segundo, a Eq. 4 pode ser subtraída da Eq. 5 para resultar na Eq. 6.

$$\text{Eq. 6} \quad i_{pb} - 2i_{pa} = -i_{ss}$$

Como determinou-se que i_{pa} é controlado principalmente por interferentes, i_{pb} pode ser usado juntamente com i_{pa} para determinar um fator de correção. Por exemplo, conforme mostrado abaixo i_{pb} pode ser usado com i_{pa} em uma função matemática para determinar uma corrente corrigida que é proporcional à glicose e menos sensível a interferentes.

A Eq. 7 foi derivada para calcular uma corrente i_4 que é proporcional à glicose e tem removida uma fração relativa da corrente que é atribuída a interferentes.

$$\text{Eq. 7} \quad i_2 = i_r \left\{ \frac{i_{pb} - 2i_{pa} + i_{ss}}{i_{pb} + i_{ss}} \right\}$$

O termo i_{ss} foi adicionado tanto ao numerador como ao denominador, para permitir que o numerador se aproxime de zero quando não houver glicose presente. O termo i_{ss} pode ser estimado com o uso da Equação 8A, para correntes em tempos maiores que um tempo mínimo, onde um tempo mínimo adequado pode ser estimado a partir da Equação 8B.

$$\text{Eq. 8A} \quad i(t) = i_{ss} \left\{ 1 + 4 \exp \left(\frac{-4\pi^2 Dt}{L^2} \right) \right\}$$

$$\text{Eq. 8B} \quad t_{\min} = \frac{-L^2 \ln 0,01}{12\pi^2 D}$$

em que i_{ss} é a corrente em estado estável em seguida à aplicação do segundo potencial elétrico, i é a corrente medida que é uma

função do tempo, D é o coeficiente de difusão da molécula redox-ativa, onde esse coeficiente pode ser determinado a partir da primeira lei de Fick's, isto é, $J(x,t) = -D \, dC(x,t) / dx$, L é a espessura do espaçador e t é o tempo para a aplicação do segundo potencial elétrico, onde $t=0$ para o início do segundo

5 intervalo de tempo.

Em uma modalidade exemplificadora, o valor da corrente, i_2 , pode ser calculado de acordo com a Eq. 9.

$$\text{Eq. 9} \quad i_2 = i_r \left(\frac{i(4,1) - 2i(1,1) + i_{ss}}{i(4,1) + i_{ss}} \right)$$

Portanto, a Eq. 1 pode permitir medições acuradas da concentração de analito na presença de interferentes.

10 Conforme discutido acima, uma estimativa de um nível de hematócrito pode ser determinada sem referência a uma concentração de analito associada. Por exemplo, os níveis de hematócrito de uma gota de sangue podem ser determinados a partir dos valores de corrente e uma concentração de analito. Em uma modalidade exemplificadora, uma estima-

15 tiva do hematócrito (H) pode ser derivada da Eq. 10.

$$\text{Eq. 10} \quad H = -162,5 \log(i_r) + 119,1 \log(G) + 235,4$$

Em algumas modalidades, o valor da concentração de analito (G) pode ser corrigido em vista do nível de hematócrito, por exemplo com o uso das Equações 11A e 11B.

$$20 \quad \text{Eq. 11A} \quad G' = G + \text{Corr} \text{ para } G < 100 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Eq. 11B} \quad G' = G (1 + \text{Corr}/100) \text{ para } G \geq 100 \text{ mg/dL}$$

Na Eq. 11A e na Eq. 11B, o fator de correção Corr pode ser calculado usando-se as funções de seno cuja amplitude varia com H. Por exemplo, nos valores de $H < 30\%$ as seguintes equações podem ser usadas

25 para calcular Corr .

$$\text{Eq. 12A} \quad \text{Corr} = -0,4 (30-H) \sin(\pi G/400) \text{ para } G < 400 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Eq. 12B} \quad \text{Corr} = 0 \text{ para } G \geq 400 \text{ mg/dL}$$

onde a faixa de Corr está restrita de 0 a -5.

Quando $H > 50\%$, uma "função de seno assimétrica" pode ser

30 usada onde as amplitudes dos lobos positivo e negativo forem diferentes.

Entretanto a função é contínua, de modo que não há desnível brusco na correção. Por exemplo, as Equações de 13A a 13C podem ser usadas para calcular *Corr* para $H > 50\%$.

$$\text{Eq. 13A } Corr = -0,2 (H-50) \sin(\pi G/180) \text{ para } G < 180 \text{ mg/dL}$$

$$5 \quad \text{Eq. 13B } Corr = -0,5 (H-50) \sin(\pi G/180) \text{ para } 180 \leq G \leq 270 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Eq. 13C } Corr = +0,5 (H-50) \text{ para } G > 270 \text{ mg/dL}$$

onde a faixa de *Corr* está restrita de 0 a -5 para $G < 180$, e de 0 a 5 para $G \geq 180$.

Em outra modalidade, o valor da concentração de analito (*G*)
10 pode ser corrigido em vista do tempo de preenchimento, sem derivar uma estimativa do hematócrito (*H*), por exemplo com o uso da Eq. 14A (quando $G < 100 \text{ mg/dL}$) e da Eq. 14B (quando $G \geq 100 \text{ mg/dL}$) em conjunto com as Equações 15A, 15B e 15C.

$$\text{Eq. 14A } G' = G + Corr \text{ para } G < 100 \text{ mg/dL}$$

$$15 \quad \text{Eq. 14B } G' = G (1 + Corr/100) \text{ para } G \geq 100 \text{ mg/dL}$$

O fator de correção *Corr* na Eq. 14A e na Eq. 14B pode ser calculado em vista do tempo de preenchimento (*TP*) com base em uma série de valores-limite de *TP*. Por exemplo, as equações apresentadas a seguir podem ser usadas para calcular *Corr* usando dois valores-limite de *TP*, Th_1 e
20 Th_2 .

$$\text{Eq. 15A } \text{ se } Th_1 < TP < Th_2, \text{ então } Corr = 50(TP - Th_1)$$

$$\text{Eq. 15B } \text{ se } TP < Th_1, \text{ então } Corr = 0$$

$$\text{Eq. 15C } \text{ se } TP > Th_2, \text{ então } Corr = 10$$

Em uma modalidade exemplificadora, o valor-limite Th_1 pode ser
25 de cerca de 0,2 segundos, e o valor-limite Th_2 pode ser de cerca de 0,4 segundos. Por exemplo, quando o sangue preenche o sensor em menos que cerca de 0,2 segundos, então seu comportamento de preenchimento pode ser descrito como próximo do ideal. Os tempos de preenchimento menores que cerca de 0,2 segundos geralmente ocorrem quando o
30 hematócrito é baixo o suficiente para que a viscosidade da amostra tenha um efeito mínimo sobre o comportamento de preenchimento da amostra. Acredita-se que, como consequência do hematócrito baixo, a maior parte da

glicose esteja particionada na fase de plasma, onde pode ser rapidamente oxidada. Sob essas condições, há pouca necessidade de se corrigir o resultado de glicose quanto ao efeito do tempo de preenchimento, e o fator de correção pode ser ajustado para zero. Alternativamente, quando o

5 hematócrito na amostra for alto, a viscosidade da amostra pode afetar o tempo de preenchimento da amostra. Como resultado, a amostra pode levar mais que cerca de 0,4 segundos para preencher o sensor. Acredita-se que, como consequência do hematócrito alto, a maior parte da glicose esteja particionada nos eritrócitos, de modo que uma fração mais baixa da glicose

10 é oxidada. Sob essas condições, o resultado da glicose pode ser corrigido em vista do tempo de preenchimento. Entretanto, pode ser importante não corrigir excessivamente o valor da glicose e, portanto, em uma modalidade exemplificadora o fator de correção pode ser restrito a um máximo de cerca de 10 mg/dL de glicose plasmática, ou cerca de 10% do sinal. Uma equação

15 linear empiricamente derivada pode ser usada para aumentar gradualmente o termo de correção na faixa de cerca de 0 a cerca de 10, conforme aumenta o tempo de preenchimento na faixa de cerca de 0,2 a cerca de 0,4 segundo.

Uma modalidade exemplificadora de um dispositivo que pode

20 ser usado em conjunto com pelo menos alguns dos sistemas e métodos apresentados na presente invenção é um sensor de glicose. O sensor de glicose pode incluir uma célula eletroquímica, como a célula ilustrada nas figuras 2A e 2B. A célula pode incluir uma membrana de tira fina 201 que tem as superfícies superior e inferior 202 e 203, e pode também incluir uma

25 zona de célula 204 definida entre um eletrodo de trabalho 206 disposto sobre a superfície inferior 203, e um eletrodo contador/de referência 205 disposto sobre a superfície superior 202. A espessura da membrana pode ser selecionada de modo a proporcionar um resultado desejado, como fazer com que os produtos de reação de um contra-eletrodo cheguem a um

30 eletrodo de trabalho. Por exemplo, a espessura da membrana pode ser selecionada de modo que os eletrodos fiquem separados por uma distância t , que pode ser suficientemente próxima para que os produtos da reação

eletroquímica no contra-eletrodo possam migrar para o eletrodo de trabalho durante o tempo do teste, e um perfil de difusão em estado estável possa ser substancialmente obtido. Tipicamente, t pode ser menor que aproximadamente 500 micrômetros, alternativamente na faixa de cerca de 10 micrômetros a cerca de 400 micrômetros e, mais particularmente, na faixa de cerca de 80 micrômetros a cerca de 200 micrômetros. Em uma modalidade, um espaçamento entre os eletrodos pode ser selecionado de modo que os produtos de reação de um contra-eletrodo cheguem a um eletrodo de trabalho antes do final do teste.

Os eletrodos podem, também, ter uma variedade de configurações. Por exemplo, os eletrodos podem ser planos. Adicionalmente, embora na modalidade ilustrada os eletrodos 205 e 206 estejam voltados um para o outro e sejam substancialmente opostos, em outras modalidades os eletrodos podem simplesmente estar voltados um para o outro, podem estar substancialmente opostos um ao outro, ou podem ter uma configuração lado a lado na qual os eletrodos estão posicionados aproximadamente no mesmo plano. Os exemplos de diferentes configurações de eletrodo podem ser encontrados pelo menos na patente US nº 7.431.820 de Hodges, intitulada "Electrochemical Cell" e depositada em 14 de outubro de 2003, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

Uma área para deposição de amostra ou "alvo" 207 pode ser definida sobre a superfície superior 202 da membrana 201, e pode estar espaçada a uma distância da zona de célula 204 maior que a espessura da membrana. A membrana 201 pode ter uma zona de difusão 208 que pode se estender entre a área de alvo 207 e a zona de célula 204. Um reagente adequado pode incluir um mediador redox M , uma enzima E e um tampão de pH B , cada um dos quais pode estar contido no interior da zona de célula 204 da membrana e/ou entre a zona de célula 204 e a área de alvo 207. O reagente pode, também, incluir estabilizantes e similares. Durante o uso do sensor, uma gota de sangue pode ser colocada na zona de alvo 207, e os componentes do sangue podem ser absorvidos por efeito capilar em direção à zona de célula 204.

Cada um dos eletrodos 205 e 206 pode ter uma área predefinida. Nas modalidades das figuras 2A e 2B, a zona de célula 204 pode ser definida pelas bordas 209, 210 e 211 da membrana, as quais podem corresponder às bordas dos eletrodos 205 e 206 e às bordas anteriores 212 e 213 (em relação à área de alvo 207) dos eletrodos. No presente exemplo, os eletrodos podem ter uma espessura de cerca de 60 nm (600 angstrom) e uma largura de cerca de 1 a cerca de 5 mm, embora uma variedade de outras dimensões e parâmetros possa ser usada sem se afastar do escopo da presente invenção.

Alternativamente, ambos os lados da membrana podem ser cobertos, com exceção da área de alvo 207, por camadas laminadas 214 (omitidas das vistas em planta) que podem servir para impedir a evaporação de água da amostra e para proporcionar robustez mecânica ao aparelho. Acredita-se que a evaporação de água seja indesejável, já que concentra a amostra, permite que os eletrodos ressequem, e deixa a solução esfriar, afetando o coeficiente de difusão e retardando a cinética enzimática, embora o coeficiente de difusão possa ser estimado conforme citado acima.

Em uma modalidade alternativa, ilustrada na figura 3, é apresentada uma célula eletroquímica oca para uso com os sistemas e métodos aqui apresentados. Os eletrodos 305 e 306 podem ser apoiados por paredes de polímero 330 espaçadas para definir uma célula oca. Uma abertura 331 pode ser criada em um lado da célula, de modo que uma amostra possa ser admitida na cavidade 332. Nesta modalidade não é usada uma membrana, embora em algumas modalidades uma membrana possa estar incluída. Os eletrodos podem ter uma variedade de configurações, pelo menos conforme discutido acima. A título de exemplo não-limitador, os eletrodos podem estar espaçados em menos que cerca de 500 micrômetros, de preferência na faixa de cerca de 10 ou cerca de 20 micrômetros a cerca de 400 micrômetros e, com mais preferência, na faixa de cerca de 80 micrômetros a cerca de 200 micrômetros. O volume efetivo da célula pode ser de cerca de 1,5 microlitros ou menos.

As células eletroquímicas das figuras 2A, 2B e 3 podem ser

usadas em conjunto com os medidores, as unidades de controle e outros componentes e etapas dos dispositivos, sistemas e métodos aqui apresentados. As descrições adicionais relacionadas às células eletroquímicas das figuras de 2A, 2B e 3 são encontradas na patente US nº 6.284.125 de
5 Hodges et al., intitulada "Electrochemical cell" e depositada em 17 de abril de 1998, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade. Por exemplo, as células eletroquímicas usadas em conjunto com as presentes descrições podem ter dois pares de eletrodos. Os pares de eletrodo podem incluir qualquer combinação de eletrodo de trabalho, contra-
10 eletrodo, eletrodo contador/de referência e eletrodo de referência separado.

Uma outra modalidade exemplificadora de um dispositivo que pode ser usado em conjunto com pelo menos alguns dos sistemas e métodos apresentados na presente invenção é o sensor descrito abaixo e ilustrado nas figuras de 4A a 5D. O sensor pode estar sob a forma de uma
15 tira de teste 62 a qual inclui um corpo alongado 59 que se estende ao longo de um eixo longitudinal L, de uma extremidade proximal 80 até uma extremidade distal 82, e que tem bordas laterais 56 e 58. O corpo 59 pode incluir uma câmara para reação de amostras 61 proximal que contém eletrodos 164 e 166 e um reagente 72. O corpo da tira de teste 59 pode incluir, adicional-
20 mente, contatos elétricos 63 e 67 situados em posição distal para comunicar-se eletricamente com um medidor de teste (não ilustrado).

Em um aspecto, a tira de teste 62 é formada a partir de múltiplas camadas incluindo uma primeira camada eletricamente condutiva 66, um espaçador 60 e uma segunda camada eletricamente condutiva 64. A
25 primeira camada eletricamente condutiva 66 e/ou a segunda camada eletricamente condutiva 64 podem ser formadas a partir de vários materiais condutivos que são, em uma modalidade, posicionados sobre uma folha isolante (não mostrada). A camada espaçadora 60 pode ser formada a partir de vários materiais eletricamente isolantes, e pode incluir ou ser formada por
30 um adesivo. O versado na técnica compreenderá que, embora esteja ilustrada uma tira de teste com três camadas, camadas adicionais eletricamente condutivas ou isolantes poderiam ser usadas para formar o corpo da tira de

teste 59.

Conforme ilustrado nas figuras de 4A a 4C, a câmara para reação de amostras 61 proximal pode ser definida pela primeira camada eletricamente condutiva 66, pela segunda camada eletricamente condutiva 64 e pela camada espaçadora 60. Conforme discutido com mais detalhes abaixo, a câmara de reação 61 pode, também, incluir um reagente 72 e os primeiro e segundo eletrodos 166 e 164. Por exemplo, uma área de recorte 68 no espaçador 60 pode expor uma porção da segunda camada eletricamente condutiva 64 e da primeira camada eletricamente condutiva 66, definindo assim o primeiro eletrodo 166 e o segundo eletrodo 164, respectivamente. O reagente 72 pode estar sob a forma de uma camada posicionada sobre o primeiro eletrodo 166.

Em uma modalidade, a câmara de reação 61 é adaptada para análise de amostras com pequeno volume. Por exemplo, a câmara para reação de amostras 61 pode ter um volume na faixa de cerca de 0,1 microlitro a cerca de 5 microlitros, de preferência de cerca de 0,2 a cerca de 3 microlitros e, com mais preferência, de cerca de 0,3 a cerca de 1 microlitro. Para acomodar um pequeno volume de amostra, os eletrodos estão de preferência em um espaçamento próximo. Por exemplo, onde o espaçador 60 define a distância entre o primeiro eletrodo 166 e o segundo eletrodo 164, a altura do espaçador 60 pode estar na faixa de cerca de 1 micron a cerca de 500 microns, de preferência na faixa de cerca de 10 microns a cerca de 400 microns e, com mais preferência, na faixa de cerca de 40 microns a cerca de 200 microns.

Para auxiliar adicionalmente na redução do volume da câmara de reação 61, a dimensão longitudinal e/ou lateral da área de recorte 68 e/ou do corpo 59 pode ser ajustada. Por exemplo, o corpo da tira de teste 59 pode incluir porções recortadas 51 e 52, de modo que a largura lateral da câmara de reação 61 seja menor que a largura total (largura mais larga) do corpo da tira de teste 59. A porções recortadas 51 e 52 podem, também, facilitar o transporte de uma amostra até a câmara de reação 61. Por exemplo, as porções recortadas 51 e 52 podem ter um formato correspon-

dente a uma porção do dedo de um usuário. Quando um usuário extrai uma gota de sangue com uma lanceta para dedo, as porções recortadas 51 e 52 podem ajudar o usuário a alinhar a amostra posicionada em seu dedo com uma porta receptora de amostras (por exemplo, aberturas 70) nas bordas laterais 56 e 58 do corpo 59. O versado na técnica compreenderá que, embora duas porções recortadas estejam ilustradas, o corpo da tira de teste 59 poderia incluir somente uma porção recortada, ou nenhuma porção recortada.

Conforme declarado anteriormente acima, a porção proximal do corpo da tira de teste 59 pode incluir pelo menos uma porta para aplicação de amostra, destinada à aplicação de uma amostra à câmara de reação 61. Por exemplo, a área recortada 68 pode se estender transversalmente até as bordas laterais 56 e 58 do corpo da tira de teste 59, para formar duas aberturas 70 destinadas à aplicação de fluido fisiológico à câmara para reação de amostras 61. Nos casos em que estão presentes duas aberturas 70, uma pode agir como uma porta receptora de amostras para aplicação de uma amostra de fluido, enquanto a outra pode agir como um respiro. O versado na técnica compreenderá que a amostra pode ser aplicada a uma câmara para reação de amostras 61 com o uso de estruturas alternativas, inclusive portas receptoras de amostras e/ou respiros posicionados em locais diferentes no corpo da tira de teste 59, como portas receptoras de amostras e/ou respiros posicionados na primeira e/ou na segunda camadas eletricamente condutivas 66 e 64.

Em uma modalidade, a tira de teste 62 é adaptada para trazer a amostra para dentro da câmara de reação 61 por meio de ação capilar. Por exemplo, as dimensões e as características de superfície da câmara de reação 61 e das aberturas 70 podem ser adaptadas para produzir uma força capilar quando uma amostra líquida (por exemplo, sangue integral) é colocada em contato com uma das aberturas 70. O versado na técnica compreenderá que a câmara de reação 61 pode incluir estruturas adicionais para ajudar/criar forças capilares, como contas, uma membrana porosa e/ou outras cargas.

Conforme mencionado acima, um reagente, como o reagente 72, pode estar disposto no interior da câmara de reação 61. A composição do reagente 72 pode variar dependendo do analito pretendido e da forma esperada para a amostra. Em um aspecto, o reagente 72 inclui pelo menos

5 um mediador e uma enzima, ficando depositado sobre o primeiro eletrodo 166. Vários mediadores e/ou enzimas estão dentro do espírito e do escopo da presente descrição. Por exemplo, mediadores adequados incluem ferricianeto, ferroceno, derivados de ferroceno, complexos de ósmio e bipiridila, rutênio (III) hexamina, e derivados de quinona. Exemplos de

10 enzimas adequadas incluem glicose oxidase, glicose desidrogenase (GDH) à base de cofator pirroloquinolina quinona (PQQ), GDH à base de cofator dinucleotídeo nicotinamida adenina, e GDH à base de dinucleotídeo flavina-adenina (FAD) (FAD-GDH). Uma formulação de reagente exemplificadora, que seria adequada para produzir a camada de reagente 72, é descrita no

15 pedido pendente com n° serial US 10/242.951, intitulado "Method of Manufacturing a Sterilized and Calibrated Biosensor-Based Medical Device" e publicado como pedido de patente publicado US n° 2004/0120848, o qual está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

Em posição distal à câmara de amostra 61 proximal, o corpo 59

20 pode incluir trilhos de conexão que conectam eletricamente o primeiro e o segundo eletrodos 166 e 164 aos contatos elétricos 63 e 67 distais. Em um aspecto, a primeira camada eletricamente condutiva 66 inclui um primeiro trilho de conexão 76 que conecta eletricamente o primeiro eletrodo 166 a um primeiro contato elétrico 67. De modo similar, a segunda camada

25 eletricamente condutiva 64 pode incluir um segundo trilho de conexão 78 que conecta o segundo eletrodo 164 a um segundo contato elétrico 63 (figura 5A).

A primeira e a segunda camadas eletricamente condutivas podem, também, definir o primeiro e o segundo contatos elétricos 67 e 63

30 que facilitam o contato elétrico da tira de teste 62 com um medidor de teste. Em uma modalidade, uma porção da primeira camada eletricamente condutiva 66 se estende distalmente a partir da extremidade distal da camada

espaçadora 60 e da segunda camada eletricamente condutiva 64, para definir o primeiro contato elétrico 67. O segundo contato elétrico pode ser definido por um entalhe em formato de U 65 na primeira camada eletricamente condutiva 66, que expõe uma porção da segunda camada eletricamente condutiva 64. Os Requerentes observam que a tira de teste 62 pode incluir uma variedade de configurações alternativas de contato elétrico, para conexão elétrica a um medidor de teste. Por exemplo, a patente US nº 6.379.513 apresenta estruturas para conexão de célula eletroquímica, e está aqui incorporada a título de referência, em sua totalidade.

Os sensores das figuras de 4A a 5D podem ser usados em conjunto com os medidores, as unidades de controle e outros componentes e etapas de dispositivos, sistemas e métodos aqui apresentados. Descrições adicionais relacionadas às células eletroquímicas das figuras de 4A a 5D são encontradas no pedido de patente nº serial US 11/278.341, de Chatelier et al., intitulado "Methods And Apparatus For Analyzing A Sample In The Presence Of Interferents" e depositado em 31 de março de 2006, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

Uma outra modalidade exemplificadora de um dispositivo para análise de amostras destinado ao uso em conjunto com pelo menos alguns dos métodos aqui apresentados, um imunossensor 110, é ilustrada na figura 6 e descrita no pedido de patente nº serial US 12/570.268, de Chatelier et al., intitulado "Adhesive Compositions for Use in an Immunosensor" e depositado em 30 de setembro de 2009, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade. Uma pluralidade de câmaras pode ser formada no interior do imunossensor, inclusive uma câmara de preenchimento por meio da qual uma amostra pode ser introduzida no imunossensor, uma câmara de reação por meio da qual uma amostra pode ser reagida com um ou mais materiais desejados, e uma câmara de detecção por meio da qual pode ser determinada uma concentração de um componente específico da amostra. Essas câmaras podem ser formadas em pelo menos uma porção de um eletrodo inferior, de um eletrodo superior e de um separador do imunossensor. O imunossensor

pode, também, incluir um orifício de respiro para permitir que o ar entre e saia do imunossensor conforme se deseje, bem como um primeiro e um segundo componentes vedantes para lacrar seletivamente o primeiro e o segundo lados do orifício de respiro. O primeiro componente vedante pode, também, formar uma parede da câmara de preenchimento.

Conforme ilustrado, o imunossensor 110 inclui um eletrodo inferior 112 que tem dois reagentes líquidos 130 e 132 aplicados em faixas sobre o mesmo. O eletrodo inferior 112 pode ser formado com o uso de inúmeras técnicas usadas para formar eletrodos mas, em uma modalidade, uma lâmina de tereftalato de polietileno (PET) carregado com sulfato de bário é revestida com ouro por bombardeamento de íons. Outros exemplos não-limitadores da formação de um eletrodo são apresentados na patente US nº 6.521.110 de Hodges et al., intitulada "Electrochemical Cell" e depositada em 10 de novembro de 2000, cujo conteúdo está aqui incorporado a título de referência, em sua totalidade.

De modo semelhante, os reagentes líquidos 130 e 132 podem ter inúmeras composições diferentes. Em uma modalidade, o primeiro reagente líquido 130 inclui um anticorpo conjugado com uma enzima, como GDH-PQQ em um tampão contendo sacarose, bem como um poloxâmero como os copolímeros em bloco Pluronic®, um anticoagulante como citraconato, e íons de cálcio. Em uma modalidade, o segundo reagente líquido 132 inclui uma mistura de ferricianeto, glicose e um segundo mediador, como etossulfato de fenazina em um tampão ácido, como uma solução diluída de ácido citracônico. O primeiro e o segundo reagentes líquidos 130 e 132 podem ser submetidos a secagem sobre o eletrodo inferior 112. Inúmeras técnicas podem ser usadas para secar os reagentes 130 e 132 mas, em uma modalidade, em seguida à aplicação dos reagentes 130 e 132 em faixas sobre o eletrodo inferior 112, um ou mais secadores infravermelho podem ser aplicados aos reagentes 130 e 132. Um ou mais secadores a ar podem também ser usados, por exemplo em seguida aos secadores infravermelho. As referências a um primeiro reagente e a um primeiro reagente líquido, bem como a um segundo reagente e a um

segundo reagente líquido são, na presente invenção, usadas de maneira intercambiável e não são necessariamente uma indicação de que os reagentes estão em sua forma líquida ou seca em um determinado momento para uma modalidade específica. Adicionalmente, alguns dos componentes associados ao primeiro e ao segundo reagentes líquidos podem ser usados de maneira intercambiável e/ou tanto no primeiro como no segundo reagentes líquidos, conforme se deseje. A título de exemplo não-limitador, um anticoagulante pode estar associado a um ou ambos dentre o primeiro reagente líquido 130 e o segundo reagente líquido 132.

Uma linha pode ser formada no ouro aplicado como revestimento por bombardeamento de íons, entre os reagentes 130 e 132, de modo que uma borda do reagente 132 esteja muito próxima da dita linha, ou toque a mesma. A linha pode ser aplicada usando-se ablação a laser ou com uma borda metálica afiada. Em uma modalidade exemplificadora, a linha pode ser aplicada antes dos reagentes 130 e 132 serem aplicados em faixas sobre o eletrodo. A linha pode ser projetada para isolar eletricamente a seção do eletrodo inferior 112 sob a câmara de detecção da seção que ficará sob a câmara de reação. Isso pode oferecer uma melhor definição de uma área do eletrodo de trabalho durante o teste eletroquímico.

O imunossensor 110 pode, também, incluir um eletrodo superior 114 que tem uma ou mais contas magnéticas 134 contendo antígenos ligados à superfície das mesmas. Os antígenos podem ser configurados para reagir com o anticorpo disposto sobre o eletrodo inferior 112 e a amostra no interior de uma câmara de reação 118, conforme descrito com mais detalhes abaixo. Os Requerentes observam que os componentes dispostos sobre o eletrodo inferior 112 e sobre o eletrodo superior 114 podem ser intercambiáveis. Assim, o eletrodo inferior 112 pode incluir uma ou mais contas magnéticas 134, enquanto o eletrodo superior 114 pode incluir dois reagentes líquidos 130 e 132 aplicados em faixas sobre o mesmo. Adicionalmente, embora na modalidade ilustrada o comprimento do eletrodo 112 forme o comprimento de todo o corpo do imunossensor 110, em outras modalidades o eletrodo pode ser somente uma porção de uma camada de

um imunossensor que serve como o eletrodo inferior ou superior, ou múltiplos eletrodos podem estar dispostos sobre uma só camada de um imunossensor. Adicionalmente, como a tensão aplicada ao imunossensor pode ser invertida e/ou alternada, cada um dentre os eletrodos inferior e superior pode servir como o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo ou o eletrodo contador/de referência, em diferentes estágios. Por uma questão de facilidade de descrição, no presente pedido o eletrodo inferior é considerado o eletrodo de trabalho, enquanto o eletrodo superior é o contra-eletrodo ou o eletrodo contador/de referência.

Um separador 116 disposto entre os eletrodos inferior e superior 112 e 114 pode ter uma variedade de formatos e tamanhos, mas é geralmente configurado para desejavelmente engatar-se aos eletrodos inferior e superior 112 e 114 para formar o imunossensor 110. Em uma modalidade exemplificadora, o separador 116 inclui adesivo em ambos os lados. O separador 116 pode incluir, adicionalmente, uma tira removível em cada um dos dois lados do separador 116. O separador 116 pode ser recortado de um modo que forme pelo menos duas cavidades. Uma primeira cavidade pode ser formada para servir como uma câmara de reação 118, enquanto uma segunda cavidade pode ser formada para servir como uma câmara de detecção 120. Em uma modalidade, o separador 116 pode ser cortado por contato, de modo que a câmara de reação 118 esteja alinhada aos eletrodos 112 e 114 para permitir uma reação antígeno-anticorpo na mesma, enquanto a câmara de detecção 120 está alinhada aos eletrodos 112 e 114 para permitir a determinação eletroquímica do ferrocianeto na mesma.

Em uma modalidade, o separador 116 pode ser colocado no eletrodo inferior 112 de um modo que permita que as contas magnéticas 134 do eletrodo superior 114 e o primeiro reagente 130 do eletrodo inferior 112 estejam pelo menos parcialmente dispostos na câmara de reação 118, e a combinação de ferricianeto-glicose do segundo reagente 132 do eletrodo inferior 112 esteja pelo menos parcialmente disposta na câmara de detecção 120. Pode ser vantajoso incluir um anticoagulante em cada um dentre o primeiro e o segundo reagentes líquidos 130 e 132, de modo que um

anticoagulante esteja associado a cada uma das câmaras de reação e de detecção 118 e 120. Em algumas modalidades, a combinação de um dentre os eletrodos superior e inferior 112 e 114 com o separador 116 pode ser laminada de modo a formar um bi-laminado, enquanto em outras modalidades a combinação de cada um dentre o eletrodo inferior 112, o eletrodo superior 114 e o separador 116 pode ser laminada de modo a formar um tri-laminado. Alternativamente, também podem ser acrescentadas camadas adicionais.

Uma câmara de preenchimento 122 pode ser formada mediante a perfuração de um orifício em um dentre os eletrodos inferior e superior 112 e 114 e no separador 116. Na modalidade ilustrada, a câmara de preenchimento é formada mediante a perfuração de um orifício no eletrodo inferior 112 e no separador 116, de modo que o orifício no eletrodo inferior 112 se sobreponha à câmara de reação 118. Conforme mostrado, a câmara de preenchimento 122 pode estar espaçada a uma distância da câmara de detecção 120. Esse tipo de configuração permite que uma amostra entre no imunossensor 110 através da câmara de preenchimento 122, e flua para dentro da câmara de reação 118 para ser reagida, por exemplo com o primeiro reagente líquido 130 que inclui o anticorpo conjugado a uma enzima em um tampão sobre o primeiro eletrodo 112 e as contas magnéticas 134 aplicadas em faixas sobre o eletrodo superior 114, sem entrar na câmara de detecção 120. Uma vez que a amostra tenha sido reagida, a mesma pode então fluir para dentro da câmara de detecção 120 para interação com o segundo reagente líquido 132, por exemplo a mistura de ferricianeto, glicose e o segundo mediador em um tampão ácido.

Um respiro 124 pode ser formado mediante a perfuração de um orifício através de cada um dos dois eletrodos 112 e 114 e do separador 116, de modo que o respiro 124 se estenda através da totalidade do imunossensor 110. O orifício pode ser formado de maneira adequada, como por perfuração ou punção em inúmeros locais diferentes mas, em uma modalidade exemplificadora, o mesmo pode se sobrepor a uma região da câmara de detecção 120 que está espaçada em relação à câmara de reação

118.

O respiro 124 pode ser lacrado de inúmeras maneiras diferentes. Na modalidade ilustrada, um primeiro componente vedante 140 está situado no eletrodo inferior 112 para lacrar um primeiro lado do respiro 124, e um
5 segundo componente vedante 142 está situado no eletrodo superior 114 para lacrar um segundo lado do respiro 124. Os componentes vedantes podem ser feitos de e/ou incluir qualquer número de materiais. A título de exemplo não-limitador, um ou ambos dentre os componentes vedantes podem consistir em fita adesiva hidrofílica ou fita Scotch®. Os lados adesi-
10 vos dos componentes vedantes podem estar voltados para o imunossensor 110. Conforme mostrado, não só o primeiro componente vedante 140 pode formar um lacre para o respiro 124, como pode, também, formar uma parede para a câmara de preenchimento 122, de modo que a amostra possa estar contida na mesma. As propriedades incorporadas sobre o lado adesivo do
15 primeiro componente vedante 140 podem estar associadas à câmara de preenchimento 122. Por exemplo, se o primeiro componente vedante 140 incluir propriedades que o tornam hidrofílico e/ou solúvel em água, a câmara de preenchimento poderá permanecer adequadamente molhada quando uma amostra é disposta em seu interior. Adicionalmente, os componentes
20 vedantes 140 e 142 podem ser seletivamente associados e dissociados em relação ao imunossensor 110, para proporcionar ventilação e/ou vedação ao imunossensor 110 e aos componentes dispostos em seu interior, conforme se deseje.

Em geral, podem ser usados adesivos na construção do imunossensor. Alguns exemplos não-limitadores de maneiras pelas quais os
25 adesivos podem ser incorporados a imunossensores e outros dispositivos para análise de amostras da presente descrição podem ser encontrados no pedido de patente com n° serial US 12/570.268 de Chatelier et al., intitulado "Adhesive Compositions for Use in an Immunosensor" e depositado em
30 de setembro de 2009, cujo conteúdo já estava aqui incorporado por referência, em sua totalidade.

Embora a presente descrição discuta uma variedade de diferen-

tes modalidades relacionadas a imunossensores, outras modalidades de imunossensores também podem ser usadas com os métodos da presente descrição. Alguns exemplos não-limitadores dessas modalidades incluem aqueles descritos na publicação de pedido de patente US nº 2003/0180814 de Hodges et al., intitulada "Direct Immunosensor Assay" e depositada em 5 21 de março de 2002, na publicação de pedido de patente US nº 2004/0203137 de Hodges et al., intitulada "Immunosensor" e depositada em 22 de abril de 2004, na publicação de pedido de patente US nº 2006/0134713 de Rylatt et al., intitulada "Biosensor Apparatus and Methods of Use" e depositada em 10 21 de novembro de 2005, e no pedido de patente US nº serial 12/563,091, que reivindica a prioridade a cada uma das publicações de pedido de patente US nº 2003/0180814 e US nº 2004/0203137, cada uma das quais está aqui incorporada a título de referência, em sua totalidade.

15 Em uma modalidade, o imunossensor 110 pode ser configurado para ser colocado em um medidor que está configurado para aplicar um potencial aos eletrodos 112 e 114, e para medir uma corrente que resulta da aplicação do potencial. Em uma modalidade, o imunossensor inclui uma ou mais abas 117 para engate de um medidor. Outros recursos podem, 20 também, ser usados para engatar o imunossensor 110 a um medidor. O medidor pode incluir um certo número de recursos diferentes. Por exemplo, o medidor pode incluir um magneto que é configurado para manter certos componentes do imunossensor 110 em uma câmara, enquanto outros componentes fluem para a outra. Em uma modalidade exemplificadora, o 25 magneto do medidor está situado de modo que, ao se colocar o imunossensor 110 no medidor, o magneto fique disposto abaixo da câmara de reação 118. Isto pode permitir que o magneto ajude a impedir que quaisquer contas magnéticas 134 e, mais particularmente, qualquer conjugado de anticorpo-enzima que esteja ligado às contas 134, fluam para 30 dentro da câmara de detecção 120.

Um recurso alternativo do medidor inclui um elemento aquecedor. Um elemento aquecedor pode ajudar a acelerar a velocidade de

reação, e auxiliar a amostra a fluir através do imunossensor 110 de uma forma desejada, mediante a redução da viscosidade. Um elemento aquecedor pode também permitir que uma ou mais câmaras, e/ou uma amostra disposta em seu interior, sejam aquecidas até uma temperatura predeterminada. O aquecimento até uma temperatura predeterminada pode ajudar a obter precisão, por exemplo mediante a diminuição ou remoção dos efeitos da alteração de temperatura conforme ocorrem as reações.

Adicionalmente, um instrumento perfurante pode, também, estar associado ao medidor. O instrumento perfurante pode ser configurado para perfurar pelo menos um dentre o primeiro e o segundo componentes vedantes em um momento desejado, de modo que o ar possa fluir para fora pelo orifício de respiro e o líquido possa fluir da câmara de reação para dentro da câmara de detecção.

O imunossensor 110 pode, também, ser configurado para estar associado a uma unidade de controle. A unidade de controle pode ser configurada para executar uma variedade de funções. Em uma modalidade exemplificadora, a unidade de controle é capaz de medir um tempo de preenchimento de uma amostra, quando esta é introduzida no dispositivo. Em outra modalidade, a unidade de controle pode ser configurada para determinar um valor de hematócrito de uma amostra de sangue. Em ainda outra modalidade, a unidade de controle é configurado para calcular uma concentrações de um analito na amostra, em vista do tempo de preenchimento. De fato, a unidade de controle pode incluir um certo número de recursos diferentes, dependendo pelo menos em parte da funcionalidade desejada e do método pelo qual o sistema é projetado para medir o tempo de preenchimento.

A unidade de controle pode também medir outros aspectos do sistema. A título de exemplo não-limitador, a unidade de controle pode ser configurada para medir uma temperatura de uma ou mais câmaras do imunossensor. A mesma pode, também, ser configurada para medir uma temperatura da amostra, uma cor da amostra, ou várias outras características e/ou propriedades da amostra e/ou do sistema. A título de exemplo

não-limitador adicional, a unidade de controle pode ser configurada para comunicar a um equipamento externo os resultados da determinação do tempo de preenchimento, os resultados da determinação da concentração de analito e/ou a medição de hematócrito. Isso pode ser realizado de inúmeras maneiras. Em uma modalidade, a unidade de controle pode estar conectada a um microprocessador e/ou a um dispositivo de exibição. Em outra modalidade, a unidade de controle pode ser configurada para transmissão sem fio dos dados da unidade de controle para um microprocessador e/ou um dispositivo de exibição.

Outros componentes do sistema podem, também, ser configurados para fazer essas medições. Por exemplo, o imunossensor ou o medidor podem ser configurados para medir a temperatura de uma ou mais câmaras do imunossensor, medir ou inferir a temperatura de uma amostra, ou medir, determinar ou inferir uma variedade de outras características e/ou propriedades da amostra e/ou do sistema. Além disso, os Requerentes observam que esses recursos de uma unidade de controle podem ser intercambiados e seletivamente combinados em uma só unidade de controle. Por exemplo, uma unidade de controle pode tanto determinar um tempo de preenchimento, como medir a temperatura de uma câmara. Em outras modalidades, múltiplas unidades de controle podem ser usadas em conjunto para executar várias funções, com base pelo menos em parte nas configurações das várias unidades de controle e nas funções desejadas a serem realizadas.

Exemplo 1

O uso de um sistema eletroquímico para medir o tempo de preenchimento é demonstrado pelo exemplo apresentado a seguir. No exemplo a seguir, o sistema incluía um sensor com dois eletrodos opostos, com reagentes destinados a reagir com a amostra secos sobre um eletrodo. Uma pluralidade de amostras foi fornecida para análise, de modo a testar o desempenho dos sistemas, dispositivos e métodos aqui apresentados. As amostras consistiam em amostras de sangue contendo três níveis diferentes de hematócrito, os quais eram conhecidos, de modo que os resultados dos

testes pudessem ser comparados aos resultados reais para determinar a acurácia dos sistemas, dispositivos e métodos. Os quatro níveis de hematócrito eram de aproximadamente 20%, 60% e 75%. Testar os três níveis de hematócrito permitiu que a acurácia dos sistemas, dispositivos e métodos apresentados fosse confirmada para um amplo espectro de níveis de concentração.

Neste exemplo, o eletrodo coberto com o reagente seco é o segundo eletrodo. O primeiro e o segundo eletrodos cobrem toda a área da câmara a ser preenchida com a amostra líquida. As amostras foram introduzidas no sensor. Embora a introdução de amostras no sensor pudesse ter sido realizada em uma variedade de maneiras, neste exemplo cada amostra foi individualmente admitida por meio de ação capilar para dentro da câmara de preenchimento. Assim que o sangue começou a entrar na câmara de detecção, um potencial de 300 mV foi aplicado aos eletrodos por meio do medidor, durante aproximadamente quatro segundos. Alternativamente, a tensão poderia ter sido aplicada antes ou durante a entrada do sangue na câmara de detecção. Uma plotagem do transitório de corrente versus tempo resultante deste exemplo é ilustrada na figura 7. Conforme mostrado na figura 7, a linha mostrando o transitório tempo-corrente obtido para sangue com 75% de hematócrito é relativamente plano de cerca de 0,1 a cerca de 0,5 segundos, já que o processo de preenchimento aumenta a área do primeiro eletrodo (o que tenderia a aumentar a corrente) e, ao mesmo tempo, ocorre depleção eletroquímica da espécie eletroativa no primeiro eletrodo (o que tenderia a diminuir a corrente). Esses dois processos são aproximadamente igualados enquanto o sensor está sendo preenchido com sangue. Uma vez completo o preenchimento (em aproximadamente 0,5 s), o primeiro processo se encerra e o segundo processo domina, de modo que a corrente cai abruptamente. O tempo mais recente em que a corrente diminui abruptamente é tomado como o tempo de preenchimento. Os resultados para sangue com 20% e 60% de hematócrito mostraram resultados similares, com uma queda de corrente em aproximadamente 0,3 s para sangue com 60% de hematócrito e em aproxima-

mente 0,1 s para sangue com 20% de hematócrito. Os resultados deste experimento demonstraram a exequibilidade do uso de uma medição de corrente para determinar a porcentagem de hematócrito no sangue.

Exemplo 2

5 Foi construído um segundo tipo de sensor, que incluía dois eletrodos opostos com reagentes destinados a reagir com a amostra secos sobre um eletrodo. Neste exemplo, porém, o eletrodo com o reagente seco era o primeiro eletrodo, o qual estava configurado de modo a não cobrir toda a área da câmara preenchida com líquido, enquanto o segundo eletrodo
10 estava configurado de modo a cobrir uma área mais ampla da câmara preenchida com líquido, sendo colocado em contato com o líquido antes do primeiro eletrodo ser colocado em contato com o líquido. Quando esse sensor foi usado para testar uma pluralidade de amostras de sangue ajustadas para vários hematócritos, foi obtido o padrão de correntes mostrado na
15 figura 8. Neste Exemplo, os quatro níveis de hematócrito eram de aproximadamente 30%, 44% e 62%. Conforme mostrado na figura 8, a parte inicial de cada traço corresponde ao período durante o qual o processo de preenchimento aumenta a área do eletrodo de trabalho e, portanto, aumenta a corrente. Quando o processo de preenchimento está completo, a depleção
20 eletroquímica da espécie eletroativa tende a diminuir a corrente no tempo indicado pelas setas na figura. Novamente, o tempo mais recente em que a corrente diminui abruptamente é tomado como o tempo de preenchimento. A configuração diferente dos sensores leva a uma dependência diferente do tempo de preenchimento quanto ao hematócrito.

25 Exemplo 3

O uso de tempos de pré-pulso variáveis em um sistema eletroquímico é demonstrado pelo exemplo apresentado a seguir. Foi construído um medidor de potenciostato que era capaz de usar as informações sobre tempo de preenchimento para variar o tempo de pré-pulso com o uso dos
30 métodos discutidos acima. Um teste inicial dos novos medidores foi realizado com o uso de sangue capilar heparinizado. Foram testados os níveis naturais de hematócrito e glicose e, então, plasma e sangue a 77%

foram testados nos níveis de glicose naturais ou adicionados. As tiras foram testadas nos medidores originais (tempo fixo) e nos medidores que incorporaram o algoritmo de tempo de pré-pulso variável apresentado acima. Os dados foram analisados com o uso do algoritmo discutido acima.

5 A figura 9 mostra que o sangue com 77% de hematócrito resultou em viéses negativos (de -19 a -28%), quando testado com os medidores originais (tempo fixo), mas que todos os pontos estavam dentro de 15% da medição de glicose de referência quando testados com os medidores com tempo de pré-pulso variável. Um exemplo de um instrumento
10 comercialmente disponível configurado para realizar uma medição de glicose de referência é o analisador de glicose da Yellow Springs Instruments (YSI). As estatísticas gerais para os dois tipos de medidores são sumarizadas na Tabela 1, abaixo.

Tabela 1

Parâmetro	Medidores de tempo fixo	Medidores de tempo variável
CV médio (%)	3,6	3,0
viés médio	-9,4	-4,4
Viés de DP global	12,0	5,9
% de viéses dentro de 15%	62	100

15 Conforme mostrado na Tabela 1, os medidores de tempo variável apresentaram melhor desempenho que os medidores de tempo fixo em termos de acurácia e precisão.

Exemplo 4

20 O uso de um sistema eletroquímico para determinar o hematócrito com base no tempo de preenchimento é demonstrado pelo exemplo apresentado a seguir. Neste exemplo, o sistema incluía um dispositivo para análise de amostras, em particular o imunossensor 110 da figura 6, um medidor configurado para aplicar um potencial, e uma unidade de controle configurada para determinar a velocidade de preenchimento inicial. Em
25 particular, um potencial foi aplicado aos eletrodos do imunossensor 110, um nível de hematócrito foi determinado e, então, o potencial foi revertido. A concentração do analito foi subsequentemente determinada em vista do

nível de hematócrito determinado. O nível de hematócrito foi determinado em vista de um tempo de preenchimento da amostra.

Uma pluralidade de amostras foi fornecida para análise, de modo a testar o desempenho dos sistemas, dispositivos e métodos aqui apresentados. As amostras eram amostras de sangue que continham proteínas C-reativas e, portanto, a concentração do analito sendo determinado era a concentração das proteínas C-reativas. As amostras continham quatro níveis diferentes de hematócrito, os quais eram conhecidos, de modo que os resultados dos testes pudessem ser comparados aos resultados reais, para determinar a acurácia dos sistemas, dispositivos e métodos. Os quatro níveis de hematócrito eram de aproximadamente 15%, 49%, 60% e 72%. Testar os quatro níveis de hematócrito permitiu que a acurácia dos sistemas, dispositivos e métodos apresentados fosse confirmada para um amplo espectro de níveis de concentração.

Neste exemplo, um imunossensor foi preaquecido até aproximadamente 37°C antes da introdução de uma amostra. O medidor associado ao imunossensor foi configurado para realizar o preaquecimento, embora outras alternativas pudessem ter sido usadas. As amostras foram, então, introduzidas no imunossensor. Embora a introdução de amostras no imunossensor pudesse ter sido realizada em uma variedade de maneiras, no exemplo cada amostra foi individualmente admitida por meio de ação capilar para dentro da câmara de preenchimento.

Passados aproximadamente dois minutos, o respiro do imunossensor foi acessado mediante a perfuração do primeiro componente vedante. Foi usado um instrumento perfurante do medidor para realizar a ação de perfuração que, por sua vez, permitiu que o sangue fluísse da câmara de reação do imunossensor para dentro da câmara de detecção do imunossensor. Enquanto o sangue entrava na câmara de detecção, um potencial de 300 mV foi aplicado aos eletrodos por meio do medidor. Como nos exemplos discutidos acima, o transitório de corrente versus tempo foi usado para determinar o tempo de preenchimento da amostra de acordo com os métodos discutidos acima. Uma plotagem de tempo de preenchi-

mento versus porcentagem de hematócrito resultante deste exemplo é ilustrada na figura 10. Em algumas modalidades, a estimativa do hematócrito de acordo com os métodos apresentados na presente invenção pode ser usada para expressar a concentração de antígeno com respeito ao plasma, em vez do sangue integral, já que este é mais aceitável em patologia.

Conforme discutido acima, em algumas modalidades pode ser desejável medir somente um nível de hematócrito. Assim, o primeiro cálculo com base na corrente inicial pode ser a única etapa necessária para fazer esse cálculo. A real determinação do nível de hematócrito pode ser determinada tão rapidamente quanto a corrente inicial possa ser calculada. Portanto, a título de exemplo não-limitador, se a corrente inicial for calculada com base em uma média ao longo dos primeiros 50 milissegundos, o nível de hematócrito pode ser determinado em seguida aos primeiros 50 milissegundos. Assim, as medições do nível de hematócrito de uma amostra de sangue podem ser realizadas em menos de um segundo.

Exemplo 5

Um algoritmo exemplificador para correção de uma medição de analito com base no tempo de preenchimento de uma amostra, sem derivação e correção adicionais para hematócrito, é demonstrado pelo exemplo apresentado a seguir. Neste exemplo, foi testado um sensor que continha a enzima FAD-GDH, em vez de GDH-PQQ. Uma amostra de sangue contendo glicose foi aplicada ao sensor, e foi aplicado o formato de onda de potencial mostrado na figura 11. Um tempo de preenchimento da amostra foi determinado durante a aplicação do primeiro potencial ao sensor (E1, que neste exemplo era de cerca de +20 mV) durante cerca de 1 segundo. Neste exemplo, o tempo de preenchimento foi determinado como sendo o período de tempo desde a primeira detecção da amostra no sensor até o tempo em que foi medido o valor máximo da taxa de alteração do transitório de corrente durante a aplicação do primeiro potencial, isto é, o valor máximo de $i(t) - i(t + dt)$. O valor máximo de $i(t) - i(t + dt)$, isto é, a queda mais abrupta na corrente, corresponde ao tempo em que um volume suficiente da amostra preencheu o sensor para que seja conduzida a

medição de analito. O tempo de preenchimento não foi avaliado durante os primeiros aproximadamente 0,15 segundos seguintes à detecção da amostra, já que o sinal inicial é uma combinação da rápida diminuição de corrente, devida ao consumo da espécie antioxidante junto ao ânodo, e do aumento de corrente mais lento que acompanha o preenchimento do sensor. Quando essas duas velocidades são igualadas, é obtida uma corrente em estado pseudo-estável, e há pouca alteração na corrente enquanto o restante do sensor é preenchido com sangue. Por essa razão, o tempo de preenchimento mais precoce mostrado na figura 11 é de cerca de 0,15 segundo.

Em seguida à aplicação do primeiro potencial (E1, durante cerca de 1 segundo), um segundo potencial de teste E2 de +300 mV foi aplicado durante cerca de 3 segundos, após os quais foi aplicado um terceiro potencial de teste E3 de -300 mV. Os valores de i_f e i_r foram calculados com o uso das Equações 2b e 3b. Um valor de i_f foi calculado como a soma de correntes de 3,9 a 4 segundos do período com duração de 5 segundos, enquanto um valor de i_r foi calculado como a soma de correntes de 4,25 a 5 segundos do período com duração de 5 segundos. Uma primeira concentração de glicose na amostra foi, então, calculada com o uso da Equação 1, acima. Neste exemplo, os valores de p , a e zgr eram 0,5796, 0,02722 e 1,8, respectivamente.

A primeira concentração de glicose foi, então, corrigida em vista do tempo de preenchimento da amostra de acordo com as Equações 14A, 14B, 15A, 15B e 15C, acima, para as quais os dois valores-limite de TP, Th_1 e Th_2 , eram de 0,2 segundo e 0,4 segundo, respectivamente. Conforme será discutido nos Exemplos a seguir, os Requerentes descobriram que os resultados das medições de glicose corrigidos em vista do tempo de preenchimento de acordo com as Equações 14A, 14B, 15A, 15B e 15C otimizaram a acurácia, resultando em um menor viés a partir dos dados de referência.

Exemplo 6

A dependência do viés quanto aos valores de referência de

concentração no tempo de preenchimento das amostras é demonstrado neste exemplo. As amostras com uma faixa de hematócrito de cerca de 0 a cerca de 70% foram testadas com o uso de sensores FAD-GDH de acordo com os algoritmos discutidos acima, mas não foram corrigidas quanto ao tempo de preenchimento. A figura 12 mostra que o viés das amostras quanto a valores de referência da concentração de analito dependia do tempo de preenchimento da amostra. Por exemplo, conforme mostrado na figura 12, o viés das amostras era cada vez mais negativo conforme aumentava o tempo de preenchimento. Em outras palavras, a acurácia de valores não-corrigidos da concentração de analito diminuiu para amostras com tempos de preenchimento mais longos. Portanto, há uma distinta dependência do viés quanto ao tempo de preenchimento das amostras.

Exemplo 7

O aprimoramento resultante da correção da concentração de analito em vista do tempo de preenchimento é demonstrada neste exemplo. A figura 13A mostra o mesmo conjunto de dados conforme mostrado na figura 12, plotados contra a faixa de hematócritos das amostras. A figura 13B mostra o aprimoramento obtido quando os dados são corrigidos em vista do tempo de preenchimento de acordo com as Equações 14A, 14B, 15A, 15B e 15C, acima. Conforme ilustrado nas figuras 13A e 13B, o viés de desvio padrão global diminuiu de 6,2 para 5,7 após os dados serem corrigidos quanto ao tempo de preenchimento. Portanto, a correção quanto ao tempo de preenchimento de acordo com os algoritmos acima oferece acurácia aprimorada.

Exemplo 8

Uma maior acurácia com o uso da correção por tempo de preenchimento em um ambiente clínico é demonstrada por este exemplo. A figura 14 ilustra uma plotagem dos dados de viés versus tempo de preenchimento para amostras obtidas junto a 311 doadores testados com o uso de sensores FAD-GDH em um ambiente clínico, de acordo com os algoritmos discutidos acima, no Exemplo 5. Para este conjunto de dados, a correção por tempo de preenchimento resultou em uma diminuição no viés

de desvio padrão global de 5,75 para 5,58. O aprimoramento nestes dados clínicos foi apenas modesto, pois a maioria das amostras preencheu o sensor em cerca de 0,2 segundo ou menos, e não foram corrigidas pelo algoritmo de tempo de preenchimento.

5 Exemplo 9

Os dados nos exemplos anteriores foram obtidos a uma densidade de dados de 50 ms (isto é, um valor de corrente foi armazenado a cada 50 ms). Uma melhor resolução quanto a tempos de preenchimento pode ser obtida com armazenamento de dados mais rápido, por exemplo, a
10 uma densidade de dados de 10 ms, conforme mostrado na figura 15. A figura 15 ilustra os transitórios de corrente obtidos quando sangue com hematócritos na faixa de cerca de 15% a cerca de 72% foi carregado nos sensores. A figura 16 ilustra os dados de tempo de preenchimento calculados a partir dos dados da figura 15. A figura 16 mostra os valores em bruto
15 de tempo de preenchimento como losangos abertos, a média de 5 réplicas como quadrados preenchidos, e ± 1 DP como barras verticais. Conforme mostrado na figura 16, os tempos de preenchimento situavam-se na faixa de cerca de 0,06 segundo a cerca de 0,32 segundo, com amostras com teor de hematócrito mais alto apresentando preenchimento mais lento. Quando os
20 dados apresentados neste exemplo foram testados quanto à concentração de glicose, o viés de desvio padrão global diminuiu de 5,08 para 4,71 após os valores de glicose serem corrigidos quanto ao tempo de preenchimento com o uso dos algoritmos discutidos acima no Exemplo 5.

Os Requerentes observam que esses nove exemplos são
25 meramente nove dentre muitos exemplos de como os ensinamentos aqui contidos podem ser realizados e usados. Adicionalmente, embora os métodos, sistemas e dispositivos aqui apresentados sejam usados principalmente em conjunto com a determinação da concentração de um analito em uma amostra de sangue, e estejam principalmente focalizados em levar em conta
30 os erros que podem resultar dos tempos de preenchimento e dos níveis de hematócrito variáveis em amostras de sangue, os Requerentes observam que as descrições contidas na presente invenção podem, também, ser

usadas para uma variedade de outras amostras contendo analitos, e podem testar uma variedade de antígenos e/ou anticorpos contidos em uma amostra.

Os Requerentes observam que, embora os vários métodos, sistemas e dispositivos dependam de uma equação específica, as equações fornecidas são geralmente baseadas nos exemplos aos quais as mesmas foram aplicadas. O versado na técnica, em vista da presente descrição, será capaz de ajustar as equações apresentadas para outras situações, sem se afastar do escopo da invenção.

Além disso, os métodos discutidos na presente invenção, como aqueles relacionados a determinar uma concentração e usar os sistemas e dispositivos, tampouco estão limitados pelas etapas específicas ou pela ordem das etapas, exceto onde indicado. O versado na técnica reconhecerá várias ordens nas quais os métodos podem ser realizados e, adicionalmente, reconhecerá que as etapas podem ser modificadas ou adicionadas sem se afastar do escopo da invenção.

Alguns exemplos não-limitadores de alguns dos outros tipos de dispositivos com os quais podem ser usados os métodos aqui apresentados são discutidos com mais detalhes na patente US n° 5.942.102 de Hodges et al., intitulada "Electrochemical Method" e depositada em 7 de maio de 1997, patente US n° 6.174.420 de Hodges et al., intitulada "Electrochemical Cell" e depositada em 18 de maio de 1999, patente US n° 6.379.513 de Chambers et al., intitulada "Sensor Connection Means" e depositada em 20 de setembro de 1999, patente US n° 6.475.360 de Hodges et al., intitulada "Heated Electrochemical Cell" e depositada em 11 de setembro de 2000, patente US n° 6.632.349 de Hodges et al, intitulada "Hemoglobin Sensor" e depositada em 14 de julho de 2000, patente US n° 6.638.415 de Hodges et al., intitulada "Antioxidant Sensor" e depositada em 14 de julho de 2000, patente US n° 6.946.067 de Hodges et al., intitulada "Method of Forming an Electrical Connection Between an Electrochemical Cell and a Meter" e depositada em 9 de dezembro de 2002, patente US n° 7.043.821 de Hodges, intitulada "Method of Preventing Short Sampling of a Capillary or

Wicking Fill Device" e depositada em 3 de abril de 2003, e patente US nº 7.431.820 de Hodges et al., intitulada "Electrochemical Cell" e depositada em 1 de outubro de 2002, cada uma das quais está aqui incorporada a título de referência, em sua totalidade.

5 Adicionalmente, embora as descrições na presente invenção sejam discutidas para uso com um dispositivo que tem uma configuração específica, podem ser usadas inúmeras configurações. Por exemplo, algumas configurações que podem ser usadas com as presentes descrições incluem sensores que têm dois eletrodos voltados um para o outro, sensores
10 que têm dois eletrodos no mesmo plano, e sensores que têm três eletrodos, dois dos quais são opostos e dois dos quais estão no mesmo plano. Essas diferentes configurações podem ocorrer em qualquer quantidade de dispositivos, inclusive imunossensores e outros dispositivos supracitados.

 Vários aspectos dos dispositivos, sistemas e métodos podem ser
15 adaptados e alterados conforme se deseje, para várias determinações, sem se afastar do escopo da presente invenção. Adicionalmente, o versado na técnica observará características e vantagens adicionais da invenção com base nas modalidades acima descritas. Em consequência, a invenção não deve ser limitada pelo que foi particularmente mostrado e descrito, exceto
20 conforme indicado pelas reivindicações anexas. Todas as publicações e referências aqui citadas são aqui expressamente incorporadas, através de referência, em sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para determinação da concentração de um analito em uma amostra de sangue integral, sendo que o dito método compreende:

5 introduzir uma amostra que inclui um analito em uma célula eletroquímica de um dispositivo para análise de amostras, sendo que a célula eletroquímica tem um eletrodo de trabalho e um contra-eletrodo;

 determinar um tempo de preenchimento da amostra;

 calcular um tempo pré-pulso em vista pelo menos do tempo de preenchimento;

10 aplicar um potencial elétrico entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo durante um período de tempo igual ao tempo de pré-pulso; e determinar uma concentração do analito.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, em que a determinação de um tempo de preenchimento da amostra compreende:

15 aplicar um potencial elétrico entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo enquanto a amostra é introduzida;

 medir a corrente da célula como uma função do tempo; e

20 determinar um tempo de queda de corrente com base na corrente da célula como uma função do tempo, sendo que o tempo de queda de corrente corresponde ao tempo de preenchimento da amostra.

3. Método, de acordo com a reivindicação 2, em que a determinação de um tempo de queda de corrente é obtida mediante o cálculo do máximo valor negativo da alteração na corrente da célula medida ao longo do tempo.

25 4. Método, de acordo com a reivindicação 2, em que a medição da corrente da célula como uma função do tempo compreende:

 realizar medições de corrente aproximadamente a cada 2 milissegundos; e

30 calcular e armazenar uma corrente média com base nas medições de corrente, aproximadamente a cada 10 milissegundos.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, em que compreende, adicionalmente:

determinar um nível de hematócrito na amostra em vista do tempo de preenchimento da amostra.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, em que a determinação de uma concentração do analito compreende calcular a concentração do analito em vista do nível de hematócrito determinado.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1, em que o dispositivo para análise de amostras compreende um sensor de glicose.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, em que o dispositivo para análise de amostras compreende um imunossensor.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, em que a amostra compreende sangue.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, em que o sangue compreende sangue integral.

11. Sistema eletroquímico, compreendendo:
uma célula eletroquímica que tem um eletrodo inferior e um eletrodo superior;

um medidor conectado à célula eletroquímica, de modo que o medidor aplique um potencial entre o eletrodo inferior e o eletrodo superior da célula eletroquímica; e

uma unidade de controle conectada ao medidor, de modo que a unidade de controle determine um tempo de preenchimento de uma amostra introduzida na célula eletroquímica, e use o tempo de preenchimento para calcular uma concentração de um analito na amostra.

12. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 11, em que adicionalmente compreende um elemento aquecedor configurado para aquecer pelo menos uma porção da célula eletroquímica.

13. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 11, em que a célula eletroquímica compreende um imunossensor.

14. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 13, em que o imunossensor compreende, adicionalmente:

um primeiro reagente líquido que compreende um anticorpo conjugado a uma enzima em um tampão, sendo que o primeiro reagente

líquido é aplicado em faixas sobre o eletrodo inferior e submetido a secagem;

um segundo reagente líquido que compreende ferricianeto, um substrato para a enzima, e um mediador eletroquímico em uma solução ácida diluída, sendo o segundo reagente líquido aplicado em faixas sobre o eletrodo inferior e submetido a secagem;

contas magnéticas conjugadas a um antígeno, sendo as contas magnéticas aplicadas em faixas sobre o eletrodo superior e submetidas a secagem sobre o mesmo;

um separador disposto entre os eletrodos inferior e superior;

uma câmara de reação formada no separador e tendo o primeiro reagente e as contas magnéticas conjugadas ao antígeno e dispostos dentro da mesma;

uma câmara de detecção formada no separador e tendo o segundo reagente disposto dentro da mesma;

uma câmara de preenchimento formada pelo menos parcialmente no separador e um dentre os eletrodos inferior e superior, espaçado a uma distância da câmara de detecção, e sobrepondo-se a pelo menos uma porção da câmara de reação;

um respiro formado pelo menos parcialmente em cada um dentre o separador, o eletrodo inferior e o eletrodo superior, espaçado a uma distância da câmara de reação, e sobrepondo-se a pelo menos uma porção da câmara de detecção;

um primeiro componente vedante que tem um anticoagulante incorporado, acoplado a um dentre os eletrodos inferior e superior, disposto sobre o respiro e configurado para formar uma parede da câmara de preenchimento e lacrar o respiro; e

um segundo componente vedante acoplado ao outro dentre os eletrodos inferior e superior, disposto sobre o respiro e configurado para lacrar o respiro.

15. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 14, em que o primeiro componente vedante compreende uma fita adesiva hidro-

filica.

16. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 14, em que pelo menos um dentre o imunossensor, o medidor e a unidade de controle inclui uma configuração para medir uma temperatura da amostra.

5 17. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 14, em que o analito compreende proteína C-reativa.

18. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 11, em que a amostra compreende sangue.

10 19. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 18, em que o sangue compreende sangue integral.

20. Método para medição de uma amostra de sangue, sendo que o dito método compreende:

obter:

um imunossensor que tem dois eletrodos; e

15 um medidor conectado ao imunossensor, de modo que o medidor aplique um potencial entre os dois eletrodos do imunossensor;

introduzir no imunossensor uma amostra de sangue que inclui um antígeno;

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos;

20 calcular um tempo de preenchimento da amostra de sangue; e determinar uma concentração do antígeno em vista do tempo de preenchimento.

21. Método, de acordo com a reivindicação 20, em que o imunossensor compreende adicionalmente:

25 uma câmara de reação e uma câmara de detecção formada em um separador disposto entre os dois eletrodos;

uma câmara de preenchimento pelo menos parcialmente formada no separador e um dos dois eletrodos, espaçada a uma distância da câmara de detecção, e sobrepondo-se a pelo menos uma porção da câmara
30 de reação;

um respiro pelo menos parcialmente formado no separador e nos dois eletrodos, espaçado a uma distância da câmara de reação, e

- sobrepondo-se a pelo menos uma porção da câmara de detecção;
sendo que o método adicionalmente compreende:
obter:
- um conjugado de anticorpo-enzima em um primeiro tampão, e
 - 5 contas magnéticas ligadas a um antígeno em um segundo tampão na câmara de reação;
 ferricianeto, glicose e um mediador em um ácido diluído na câmara de detecção;
 - 10 um primeiro lacre sobre um primeiro lado do respiro, que forma uma parede da câmara de preenchimento; e
 um segundo lacre sobre um segundo lado do respiro,
 sendo que pelo menos uma porção da amostra de sangue se move da câmara de preenchimento para a câmara de reação quando a amostra de sangue é introduzida no imunossensor;
 - 15 abrir o respiro após um tempo predeterminado, mediante a perfuração de pelo menos um dentre o primeiro e o segundo lacres, permitindo assim que porções da amostra de sangue contendo o conjugado de anticorpo-enzima que não está ligado às contas magnéticas se movam para a câmara de detecção;
 - 20 catalisar a oxidação da glicose na câmara de detecção, o que resulta na formação de ferrocianeto;
 detectar eletroquimicamente uma corrente a partir do ferrocianeto; e
 determinar uma concentração do antígeno na amostra de
 - 25 sangue, em vista do sinal detectado.
22. Método, de acordo com a reivindicação 20, em que o cálculo de um tempo de preenchimento compreende adicionalmente:
- detectar a presença da amostra em um sensor eletroquímico, em que compreende dois eletrodos;
 - 30 determinar um tempo de preenchimento da amostra com os dois eletrodos;
 - calcular um fator de correção em vista pelo menos do tempo de

preenchimento;

reagir um analito para causar uma transformação física do analito entre os dois eletrodos; e

5 determinar a concentração do analito em vista do fator de correção com os mesmos dois eletrodos.

23. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a determinação do tempo de preenchimento da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos enquanto a amostra é introduzida;

10 medir uma atuais como uma função do tempo; e

determinar um tempo de queda de corrente com base na corrente como uma função do tempo, sendo que o tempo de queda de corrente corresponde ao tempo de preenchimento da amostra.

24. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular o máximo valor negativo da alteração na corrente medida ao longo do tempo.

25. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente nos quais a diferença é maior que um primeiro limite predeterminado.

26. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente nos quais a diferença é menor que um segundo limite predeterminado.

25 27. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, sendo que o coeficiente angular é maior que um terceiro limite predeterminado.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, sendo que o coeficiente angular é menor que um quarto limite predeterminado.

30

29. Método, de acordo com a reivindicação 27, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um ponto de inflexão na corrente medida como uma função do tempo.

5 30. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos; e
medir uma alteração nos valores de corrente que é maior que um quinto limite predeterminado.

10 31. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos; e
medir uma alteração nos valores de corrente que é menor que um sexto limite predeterminado.

15 32. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos; e
medir uma alteração em um potencial elétrico que é maior que um sétimo limite predeterminado.

20 33. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos; e
medir uma alteração em um potencial elétrico que é menor que um oitavo limite predeterminado.

34. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a detecção da presença da amostra é realizada por um microprocessador de uma máquina medidora de analito.

30 35. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a reação do analito gera uma espécie eletroativa que é medida como uma corrente pelos dois eletrodos.

36. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que os dois

eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro em oposição.

37. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que os dois eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro.

38. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que o sensor eletroquímico compreende um sensor de glicose

39. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que o sensor eletroquímico compreende um imunossensor.

40. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a amostra compreende sangue.

41. Método, de acordo com a reivindicação 26, em que a amostra compreende sangue integral.

42. Método para medição de uma concentração de analito corrigida, sendo que o dito método compreende:

detectar a presença da amostra em um sensor eletroquímico, em que compreende dois eletrodos;

determinar um tempo de preenchimento da amostra com os dois eletrodos;

reagir um analito para causar uma transformação física do mesmo;

determinar uma primeira concentração de analito na amostra com os mesmos dois eletrodos; e

calcular uma concentração de analito corrigida com base na primeira concentração de analito e no tempo de preenchimento.

43. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a etapa de calcular a concentração de analito corrigida compreende:

calcular um fator de correção com base no tempo de preenchimento, sendo que a concentração de analito corrigida é calculada com base na primeira concentração de analito e no fator de correção.

44. Método, de acordo com a reivindicação 47, em que o fator de correção compreende cerca de zero quando o tempo de preenchimento é

menor que um primeiro limite para tempo de preenchimento.

45. Método, de acordo com a reivindicação 47, em que o fator de correção é calculado em vista do tempo de preenchimento quando o tempo de preenchimento é maior que um primeiro limite para tempo de preenchimento e menor que um segundo limite para tempo de preenchimento.

46. Método, de acordo com a reivindicação 47, em que o fator de correção compreende um valor constante quando o tempo de preenchimento é maior que um segundo limite para tempo de preenchimento.

47. Método, de acordo com a reivindicação 47, em que a etapa de calcular a concentração de analito corrigida compreende calcular uma soma do fator de correção e a primeira concentração de analito na amostra quando a primeira concentração de analito na amostra é menor que um valor-limite.

48. Método, de acordo com a reivindicação 47, em que a etapa de calcular a concentração de analito corrigida quando a primeira concentração de analito na amostra é maior que um valor-limite compreende:

dividir o fator de correção por cem e adicionar um, para obter um termo intermediário; e

mutiplicar o termo intermediário pela primeira concentração de analito, para obter uma concentração de analito corrigida pelo tempo de preenchimento.

49. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a determinação do tempo de preenchimento da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos enquanto a amostra é introduzida;

medir uma atuais como uma função do tempo; e

determinar um tempo de queda de corrente com base na corrente como uma função do tempo, sendo que o tempo de queda de corrente corresponde ao tempo de preenchimento da amostra.

50. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular o máximo valor negativo da alteração na corrente medida ao longo do tempo.

51. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente nos quais a diferença é maior que um primeiro limite predeterminado.

5 52. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular uma diferença entre pelo menos dois valores de corrente nos quais a diferença é menor que um segundo limite predeterminado.

10 53. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, sendo que o coeficiente angular é maior que um terceiro limite predeterminado.

15 54. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um coeficiente angular na corrente medida como uma função do tempo, sendo que o coeficiente angular é menor que um quarto limite predeterminado.

55. Método, de acordo com a reivindicação 53, em que a determinação do tempo de queda de corrente compreende calcular um ponto de inflexão na corrente medida como uma função do tempo.

20 56. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos; e

medir uma alteração nos valores de corrente que é maior que um quinto limite predeterminado.

25 57. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar um potencial elétrico entre os dois eletrodos; e

medir uma alteração nos valores de corrente que é menor que um sexto limite predeterminado.

30 58. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois

eletrodos; e

medir uma alteração em um potencial elétrico que é maior que um sétimo limite predeterminado.

5 59. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a detecção da presença da amostra compreende:

aplicar uma corrente genericamente constante entre os dois eletrodos; e

medir uma alteração em um potencial elétrico que é menor que um oitavo limite predeterminado.

10 60. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a detecção da presença da amostra é realizada por um microprocessador de uma máquina medidora de analito.

15 61. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que a reação do analito gera uma espécie eletroativa que é medida como uma corrente pelos dois eletrodos.

62. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que os dois eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro em oposição.

20 63. Método, de acordo com a reivindicação 46, em que os dois eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro.

64. Sistema eletroquímico, em que compreende:

25 (a) um sensor eletroquímico que inclui contatos elétricos configurados para encaixe a um medidor de teste, sendo que o sensor eletroquímico compreende:

(i) um primeiro eletrodo e um segundo eletrodo em uma relação de espaçamento, e

(ii) um reagente; e

30 (b) o medidor de teste que inclui um processador configurado para receber os dados de corrente a partir da tira para testes, mediante a aplicação de tensões à tira para testes, e adicionalmente configurado para determinar uma concen-

tração de analito corrigida com base em uma concentração de analito calculada e um tempo de preenchimento medido com os mesmos dois eletrodos.

5 65. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o medidor de teste inclui um armazenamento de dados que contém um limite para concentração de analito, um primeiro limite para tempo de preenchimento e um segundo limite para tempo de preenchimento.

10 66. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que adicionalmente compreende um elemento aquecedor configurado para aquecer pelo menos uma porção do sensor eletroquímico.

67. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o sensor eletroquímico compreende um sensor de glicose.

68. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o sensor eletroquímico compreende um imunossensor.

15 69. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que pelo menos um dentre o sensor eletroquímico, o medidor de teste e o processador está configurado para medir uma temperatura da amostra.

70. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o analito compreende proteína C-reativa.

20 71. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o analito compreende glicose.

72. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que a amostra compreende sangue.

25 73. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que a amostra compreende sangue integral.

74. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o primeiro e o segundo eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro em oposição.

30 75. Sistema eletroquímico, de acordo com a reivindicação 68, em que o primeiro e o segundo eletrodos compreendem uma orientação em que ficam voltados um para o outro.

FIG. 1

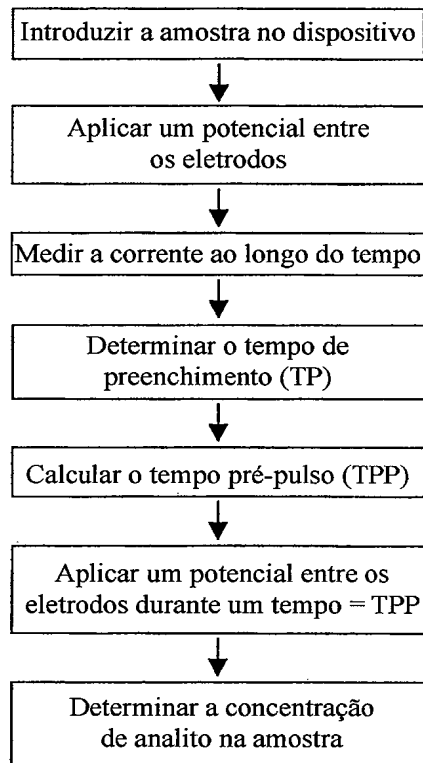


FIG. 2A

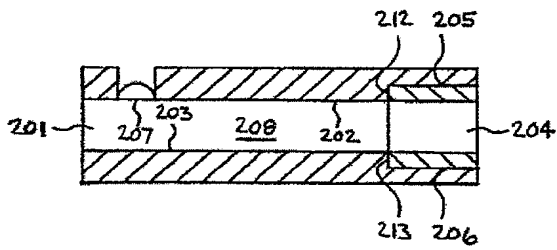


FIG. 2B

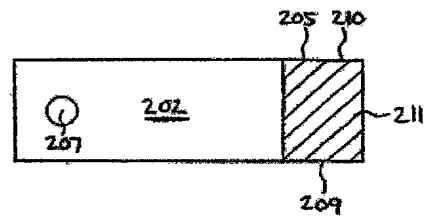
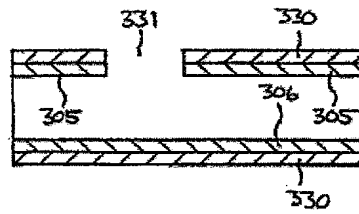
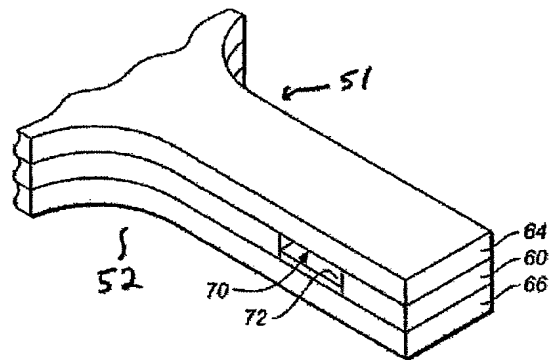
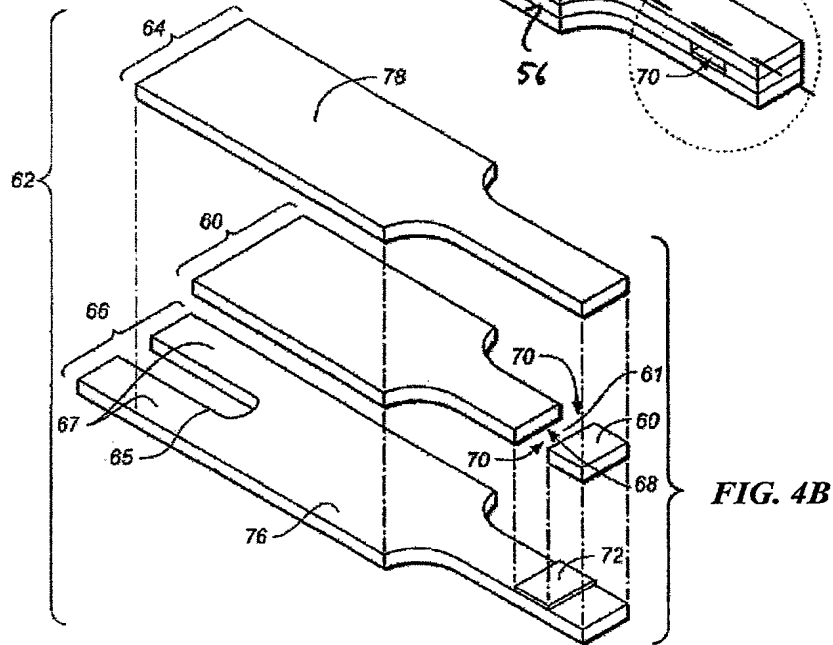
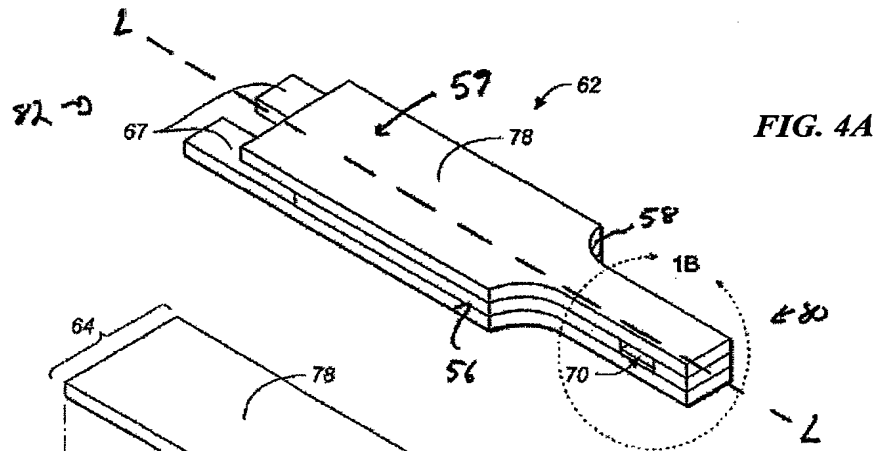


FIG. 3





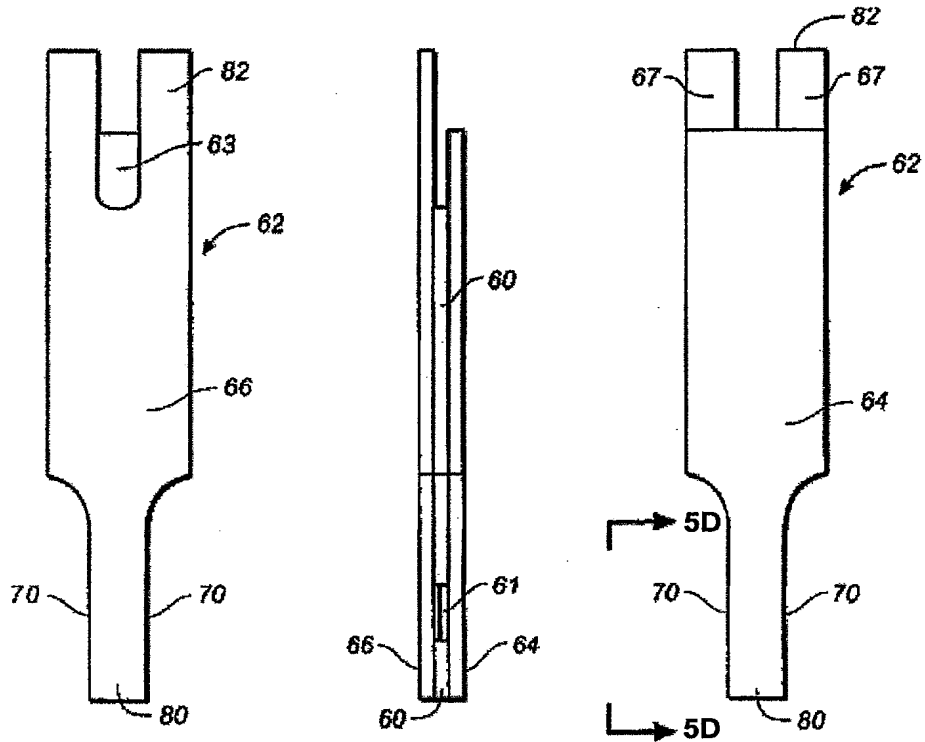


FIG. 5A

FIG. 5B

FIG. 5C

FIG. 5D

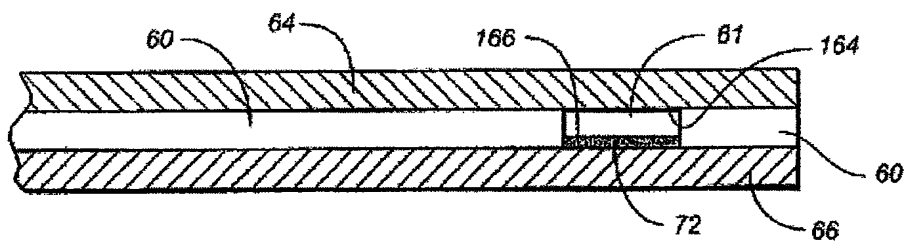


FIG. 6

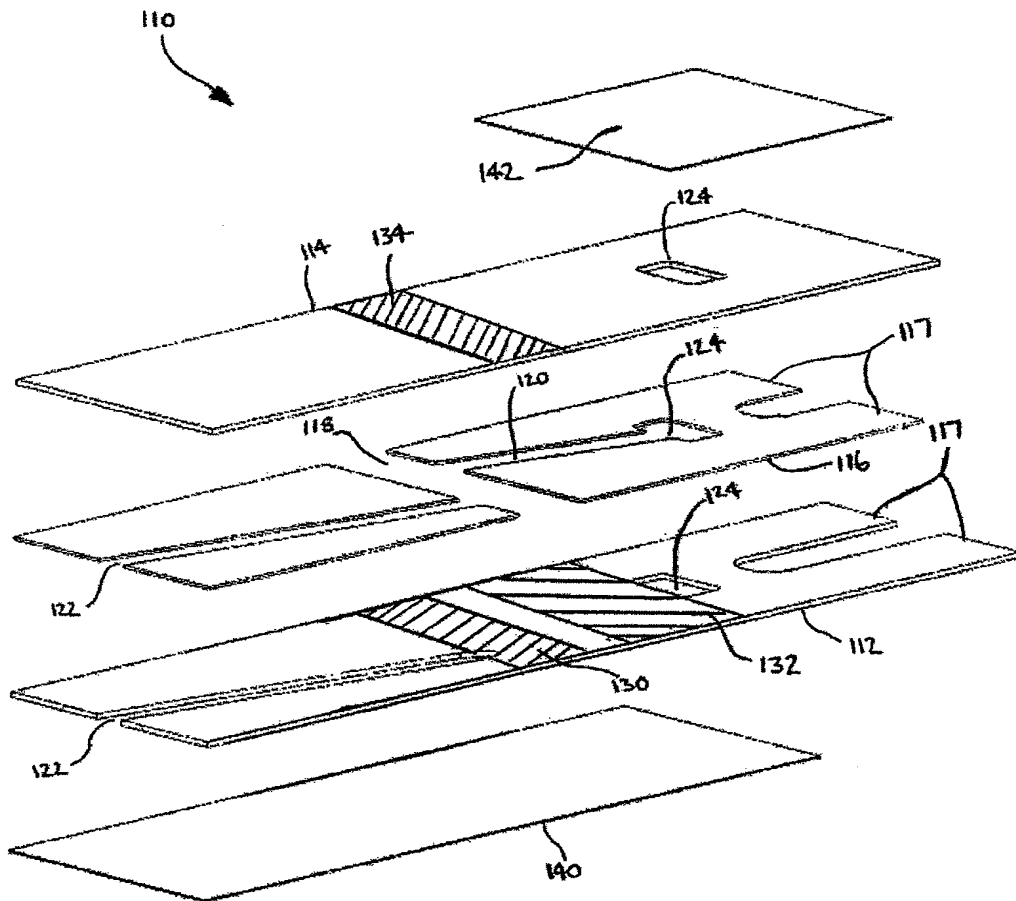


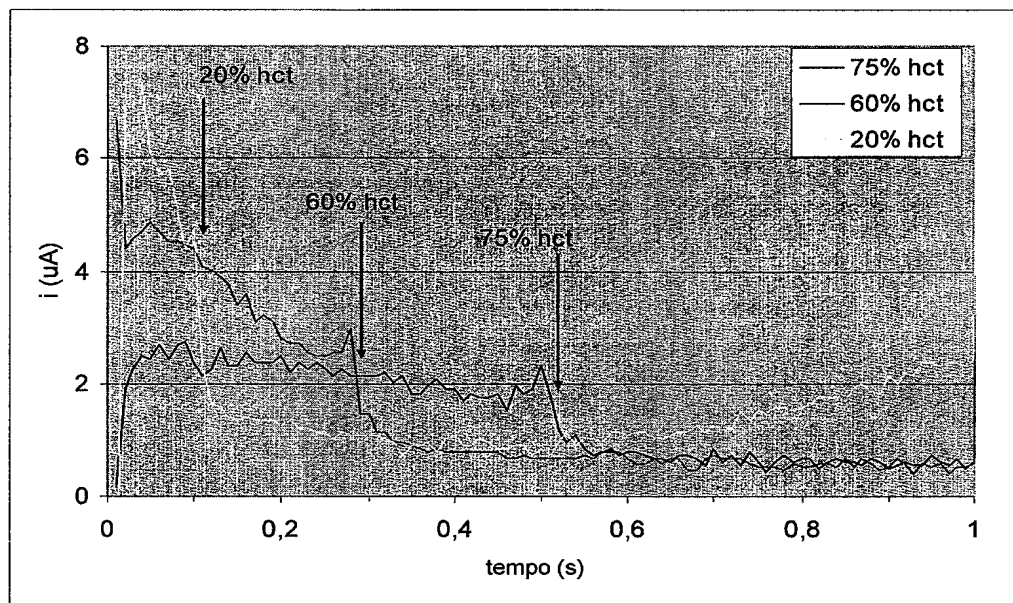
FIG. 7

FIG. 8

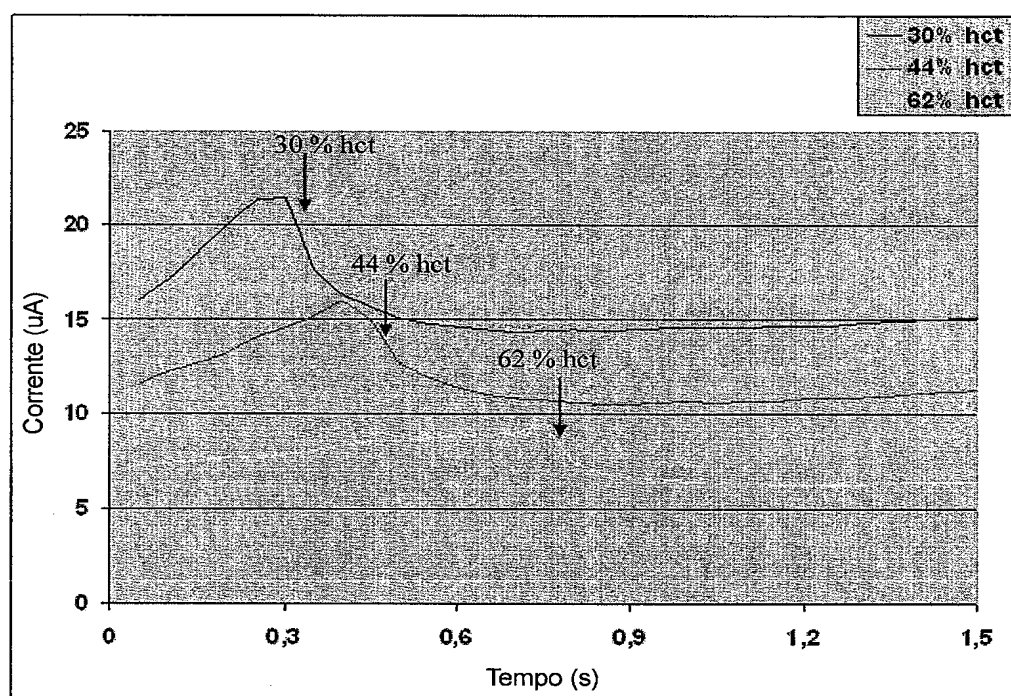


FIG. 9

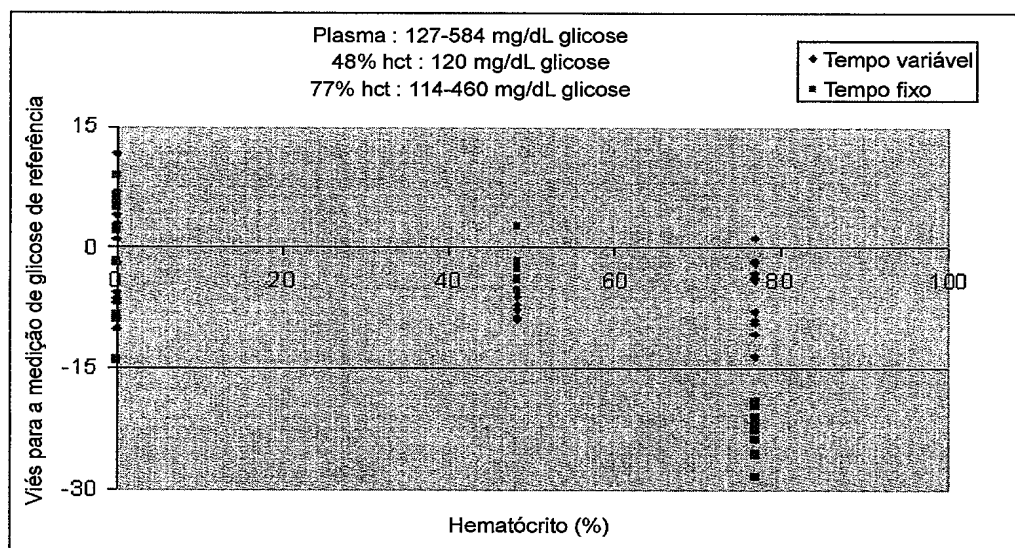


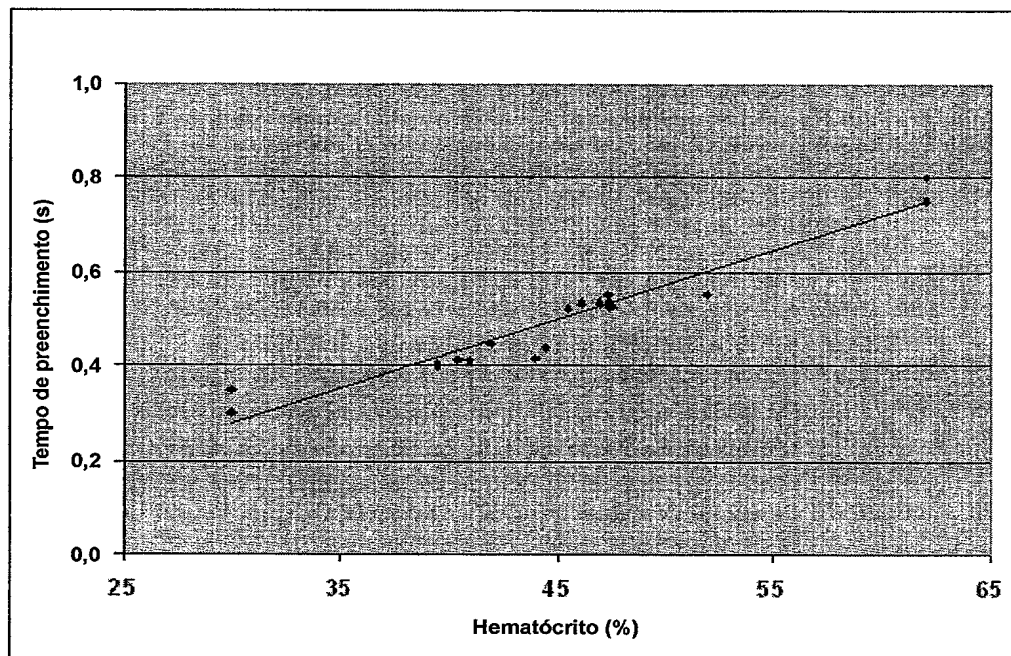
FIG. 10

FIG. 11

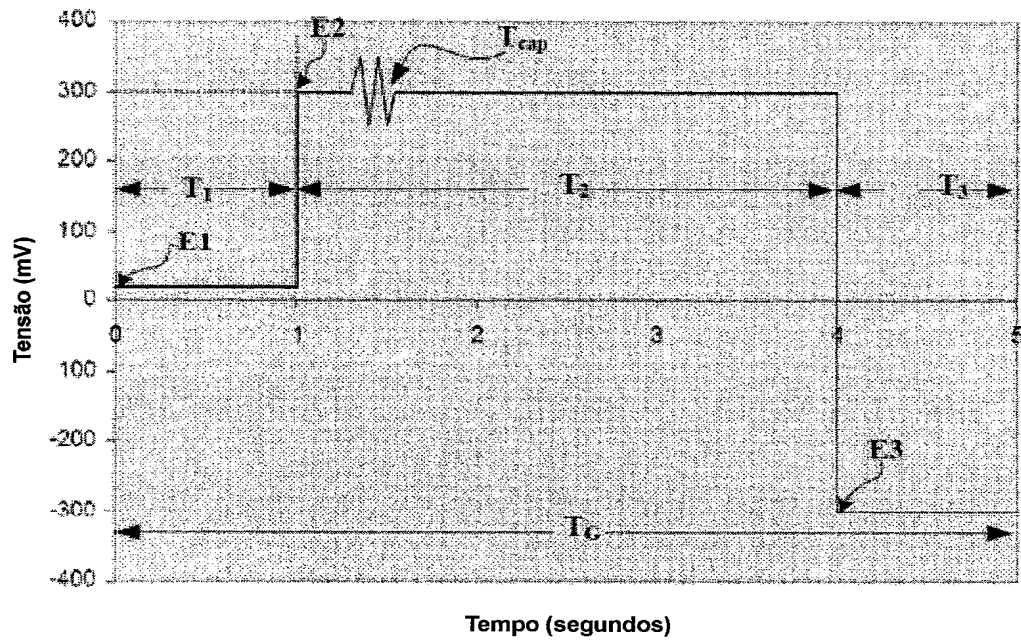


FIG. 12

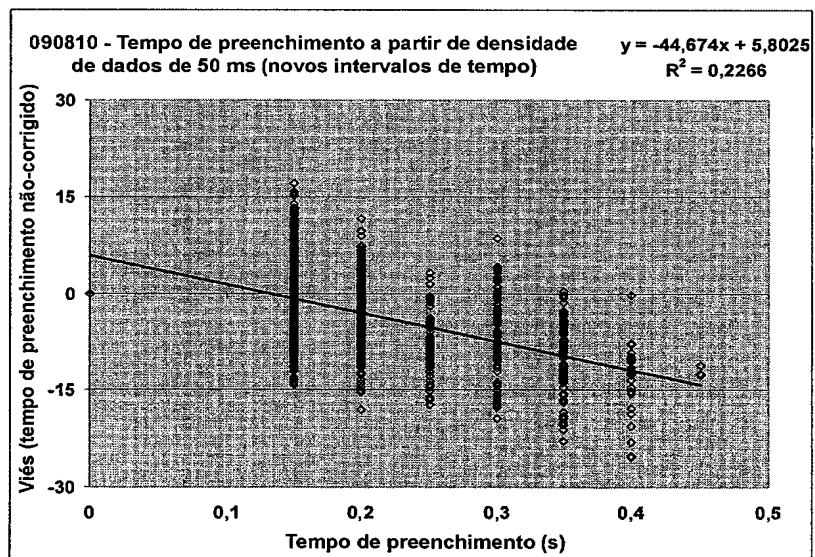


FIG. 13A

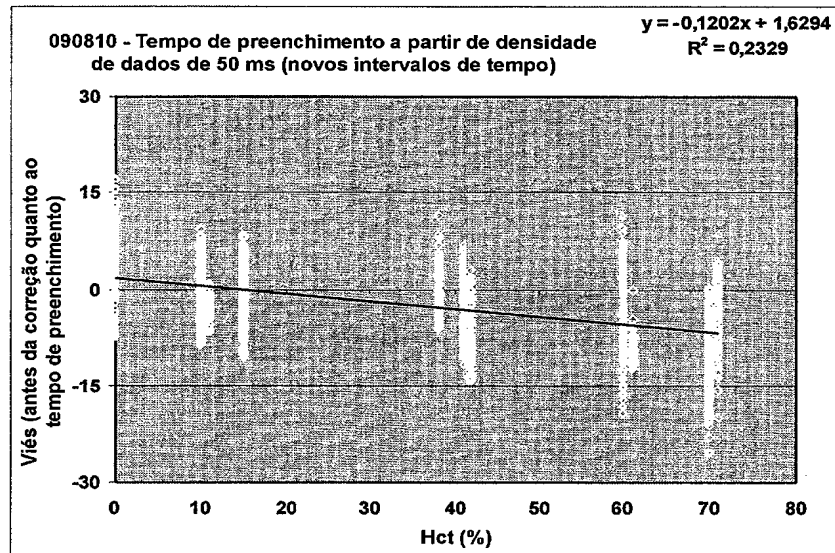


FIG. 13B

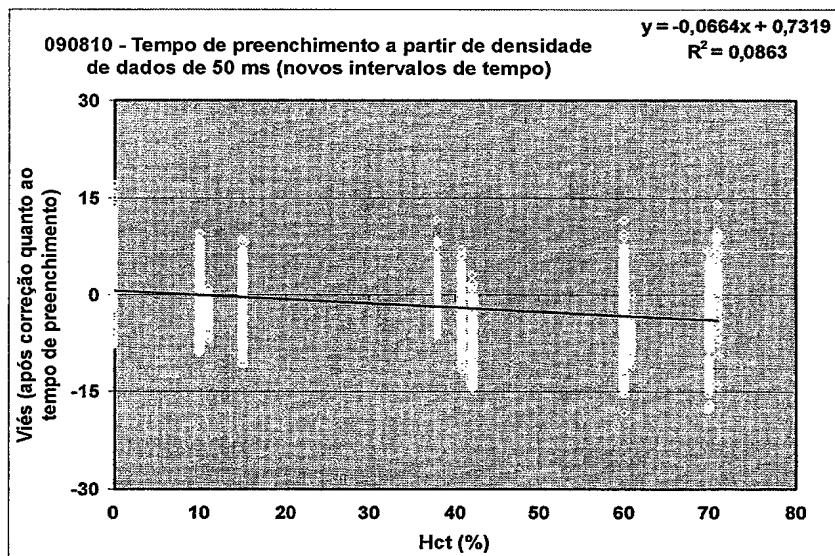


FIG. 14

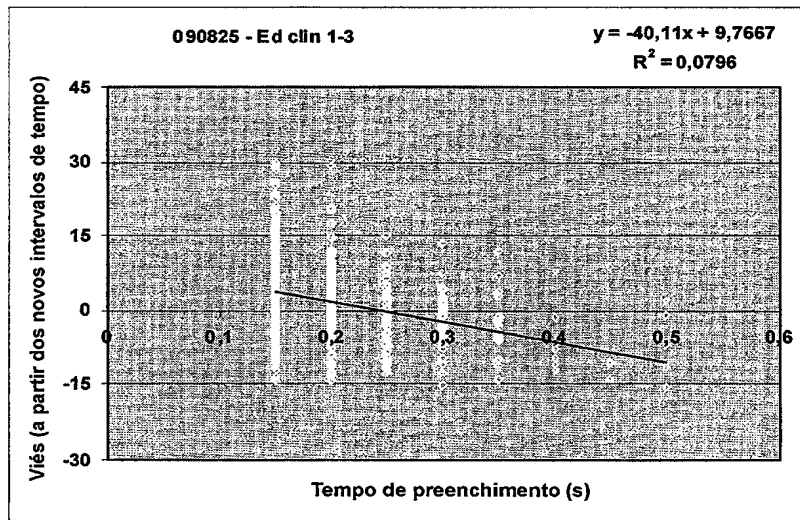


FIG. 15

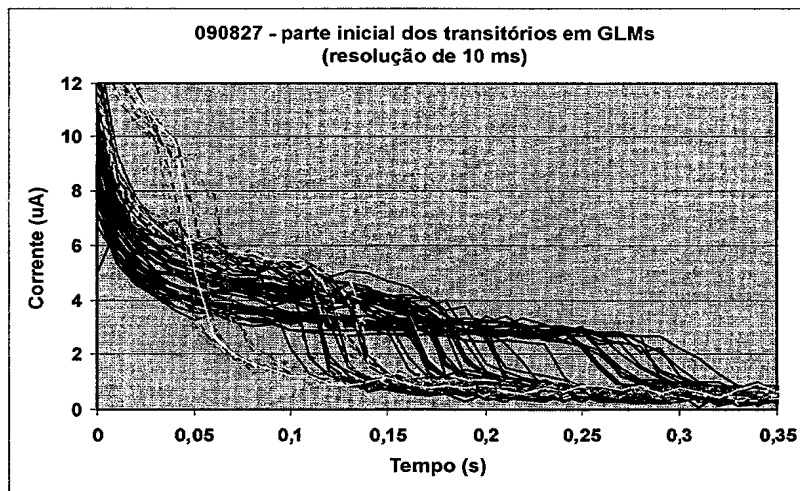
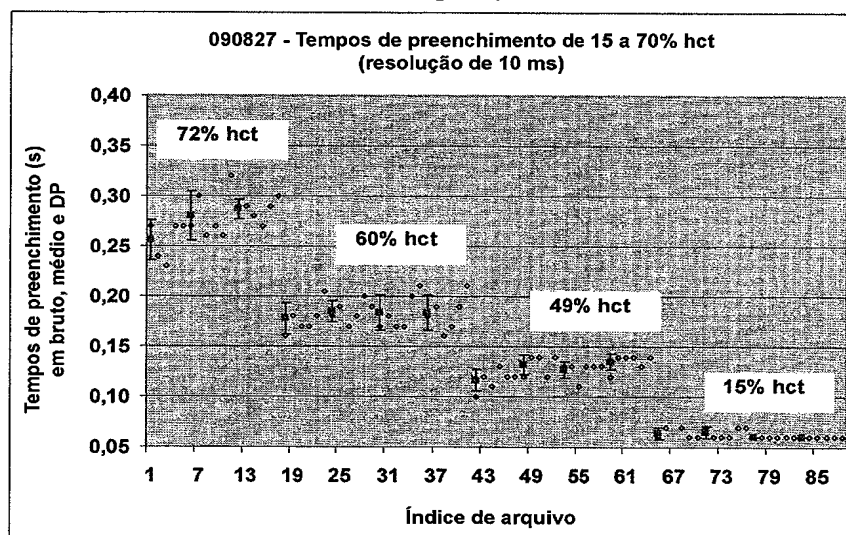


FIG. 16



RESUMO

Patente de Invenção: **"SISTEMAS, DISPOSITIVOS E MÉTODOS PARA OTIMIZAR A PRECISÃO DE BIOSSENSORES COM O USO DO TEMPO DE PREENCHIMENTO"**.

5 A presente invenção refere-se a métodos, que são apresentados para determinação da concentração de um analito em uma amostra, bem como os dispositivos e sistemas usados em conjunto com os mesmos. Em uma modalidade exemplificadora de um método para determinação da concentração de um analito em uma amostra, o método inclui detectar a
10 presença de uma amostra em um sensor eletroquímico que inclui dois eletrodos. Um tempo de preenchimento da amostra é determinado com os dois eletrodos, e um fator de correção é calculado em vista pelo menos do tempo de preenchimento. O método inclui, também, reagir um analito que
15 causa uma transformação física do analito entre os dois eletrodos. Uma concentração do analito pode, então, ser determinada em vista do fator de correção com os mesmos dois eletrodos. São apresentados, também, sistemas e dispositivos que tiram proveito do uso do tempo de preenchimento fazer determinações quanto à concentração de analito.