

REIVINDICACIONES

1. Un biosensor caracterizado porque comprende:
- 5 un primer (101, 201) y segundo recipiente (102, 202);
una abertura de intercambio de fluido colocada entre el
primer (101, 201) y el segundo recipiente (102, 202);
un conducto (402) en comunicación fluida con dicho primer
recipiente (101, 201), dicho conducto (402) configurado para
10 recibir un fluido de un punto externo al biosensor; y
una membrana (105, 205) colocada en la abertura de
intercambio de fluido;
donde la membrana (105, 205) comprende un ionómero, y
donde el primer recipiente (101, 201) o el segundo recipiente
15 (102, 202) comprende, individualmente o en combinación: un
hipoalito, un amortiguador alcalino, y uno o una pluralidad
de: reactivo fenólico o compuesto relacionado con indofenol.
2. El biosensor de la reivindicación 1, caracterizado
20 porque el primer (101, 201) o el segundo recipiente (102,
202) individualmente comprende hipoalito, un amortiguador
alcalino, un catalizador, y uno o una pluralidad de reactivo
fenólico o compuesto relacionado con indofenol.

3. El biosensor de la reivindicación 1, caracterizado porque comprende además un primer electrodo, dicho electrodo en comunicación fluida con dicho segundo recipiente (102, 202), dicho electrodo está conectado operativamente por un cable con un amperímetro, voltímetro, espectrofotómetro, o combinación de estos.
4. El biosensor de la reivindicación 3, caracterizado porque dicho electrodo está conectado operativamente por un cable con un espectrofotómetro.
5. El biosensor de la reivindicación 3, caracterizado porque el electrodo comprende además un hidrogel y una enzima metabólica o fragmento funcional de esta.
6. El biosensor de la reivindicación 3, caracterizado porque dicho electrodo comprende una o una combinación de enzimas metabólicas elegidas de: fenilalanina deshidrogenasa, fenilalanina amoníaco-liasa, histidina amoníaco-liasa, tirosina amoníaco-liasa, glutamato deshidrogenasa, glutamato amoníaco-liasa, treonina deshidrogenasa, treonina amoníaco-liasa, serina deshidrogenasa, serina amoníaco-liasa, leucina deshidrogenasa, aspartato deshidrogenasa, aspartato amoníaco-liasa, valina deshidrogenasa, glicina deshidrogenasa, alanina

deshidrogenasa, prolina deshidrogenasa, lisina deshidrogenasa, o fragmentos funcionales de estas.

7. El biosensor de la reivindicación 3, caracterizado porque comprende un primer y un segundo electrodo, donde dicho primer electrodo está unido a un hidrogel, dicho hidrogel comprende una enzima metabólica o fragmento funcional de esta, donde dichos primer y segundo electrodos están conectados operativamente con dicho voltímetro y/o amperímetro para aplicar un voltaje entre estos.

8. El biosensor cualquiera de las reivindicaciones 1-7, caracterizado porque no comprende uno o más de los siguientes: (i) uricasa o un fragmento funcional de esta; (ii) un hidrogel que comprende dextrano o un derivado de este; (iii) una célula bacteriana; (iv) un dipolo electrónico configurado para electroforesis; y (v) 3, 4-DHB.

9. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, caracterizado porque no comprende un vaporizador, cromatografía de gases, o un elemento de calor configurado para convertir amoníaco líquido en un estado gaseoso.

10. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, caracterizado porque dicho primer conducto (402) está configurado para sostener un volumen de muestra de 1.5 μ l a 120 μ l.

5

11. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, caracterizado porque no depende funcionalmente de la exposición a un estímulo externo al biosensor.

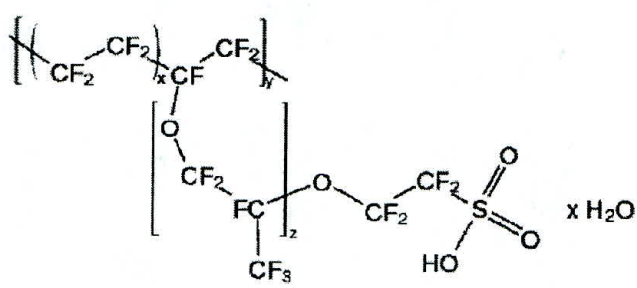
10 12. El biosensor de la reivindicación 4, caracterizado porque comprende además un circuito eléctrico que comprende una pantalla digital (774), el espectrofotómetro, y un procesador conectado operativamente por uno o una pluralidad de cables configurados para recibir información digital del
15 espectrofotómetro y para enviar información digital a la pantalla digital (774).

13. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, caracterizado porque comprende además una tira de prueba
20 (701) que comprende el primer conducto (402) configurado para recibir un volumen de fluido corporal.

14. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el amortiguador alcalino comprende desde 0,095 M a 5,005 M de acetato de sodio o cloruro de sodio.

- 5 15. El biosensor de la reivindicación 1, caracterizado porque dicha enzima es una enzima o un fragmento funcional de esta que posee 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% de identidad de secuencia con fenilalanina deshidrogenasa, fenilalanina amoníaco-liasa, histidina
- 10 amoníaco-liasa, tirosina amoníaco-liasa, glutamato deshidrogenasa, glutamato amoníaco-liasa, treonina deshidrogenasa, treonina amoníaco-liasa, serina deshidrogenasa, serina amoníaco-liasa, leucina deshidrogenasa, aspartato deshidrogenasa, aspartato amoníaco-
- 15 liasa, valina deshidrogenasa, glicina deshidrogenasa, alanina deshidrogenasa, prolina deshidrogenasa, lisina deshidrogenasa; donde el hidrogel comprende trehalosa, donde la concentración de alginato del hidrogel es de 0,5 % a 3,5% en peso a volumen del volumen total unido al electrodo; y
- 20 donde el selectrodo comprende un cable que comprende plata y cloruro de plata en conexión operativa con el voltímetro y/o amperímetro.

16. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, caracterizado porque la membrana (105, 205) comprende un polímero de bloque con la fórmula



5 , donde x, y, y z se seleccionan independientemente como cualquier entero positivo entre 1 y 240.

17. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, caracterizado porque el electrodo no está cubierto por una
10 membrana que comprende celulosa o un derivado de esta.

18. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-17, caracterizado porque el hipoalito se selecciona de:
hipoclorito o lejía.

15

19. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, caracterizado porque dicho reactivo de indofenol o compuesto relacionado con indofenol se selecciona de: fenol, 2-fenilfenol, o naftol.

20

20. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, caracterizado porque la concentración del amortiguador alcalino está entre 0,5 M a 1,5 M de cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de zinc, acetato de sodio, acetato de calcio, o acetato de zinc.
21. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, caracterizado porque la membrana (105, 205) comprende Nafion.
22. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, caracterizado porque la membrana (105, 205) comprende Nafion que se pretrató con una solución ácida y/o una solución de peróxido de hidrógeno.
23. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, caracterizado porque además comprende una memoria de almacenamiento informática, en comunicación operativa con un procesador (773) y un o una combinación de: un diodo (771), voltímetro o amperímetro.
24. El biosensor de la reivindicación 23, caracterizado porque comprende además una muestra que comprende sangre entera.

25. El biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, caracterizado porque comprende además una pantalla digital (774) en conexión operativa con el electrodo por un cable capaz de transportar una señal eléctrica que
- 5 corresponde a una medición de longitud de onda, corriente, y/o diferencial de voltaje del diodo (771), espectrofotómetro, voltímetro y/o amperímetro a la pantalla digital (774), donde la pantalla digital (774) está configurada para mostrar el valor de concentración de
- 10 amoníaco, ion amonio y/o un aminoácido en una muestra cuando dicho electrodo está en contacto con la muestra durante un período de tiempo suficiente para que dicho catalizador catalice la reacción de indofenol.
- 15 26. Un kit que comprende un biosensor y un o una pluralidad de contenedores, caracterizado porque el biosensor comprende: un primer (101, 201) y un segundo recipiente (102, 202); una abertura de intercambio de fluido colocada entre el primer (101, 201) y el segundo recipiente (102, 202);
- 20 un conducto en comunicación fluida con dicho primer recipiente (101, 201), dicho conducto (402) configurado para recibir un fluido de un punto externo al biosensor; y una membrana (105, 205) colocada en la abertura de intercambio de fluido;

donde la membrana (105, 205) comprende un ionómero, y
donde el o la pluralidad de contenedores comprenden,
individualmente o en combinación: un hipoalito, un
amortiguador alcalino, y un reactivo fenólico o compuesto
5 relacionado con indofenol.

27. El kit de la reivindicación 26, caracterizado porque el
amortiguador alcalino está en una concentración de entre 0,5
y 1,5 M de cloruro de sodio o acetato de sodio.

10

28. El kit de la reivindicación 26, caracterizado porque el
biosensor comprende además: (i) uno o una pluralidad de
electrodos, donde el o la pluralidad de electrodos comprenden
un hidrogel que comprende alginato; (ii) una muestra de
15 control o referencia de fluido corporal; (iii) un conjunto de
datos que comprende valores umbral, y (iv) un conjunto de
instrucciones, dicho conjunto de instrucciones o el conjunto
de datos opcionalmente accesibles de forma remota a través de
un medio electrónico.

20

29. Un kit caracterizado porque comprende un cartucho que
comprende una pluralidad de conductos (10, 11, 12, 13, 14) en
comunicación fluida con un primer (101, 201) y un segundo
recipiente (102, 202), donde dichos conductos están

posicionados en una parte de almacenamiento (1, 2, 3, 4, 5), una parte de mezcla (20) y una parte de lectura del cartucho(25); en donde la parte de mezcla (20) comprende el primer (101, 201) y segundo recipiente (102, 202); una
5 abertura de intercambio de fluido colocada entre dicho primer y segundo recipiente; y una membrana (105, 205) colocada en la abertura de intercambio de fluido; en donde la parte de almacenamiento (1, 2, 3, 4, 5) comprende un conducto (10, 11, 12, 13, 14) en comunicación fluida con dicho primer
10 recipiente (101, 201), dicho conducto configurado para recibir un fluido de un punto externo al soporte sólido (6); y
donde la membrana (105, 205) comprende un ionómero, y
donde la parte de almacenamiento (1, 2, 3, 4, 5) o la parte
15 de mezcla (20) comprenden, individualmente o en combinación: un hipoalito, un amortiguador alcalino, y un reactivo de indofenol o compuesto relacionado con indofenol.

30. El kit de la reivindicación 29, caracterizado porque
20 comprende además un primer y un segundo electrodo, donde el primer electrodo comprende un hidrogel, dicho hidrogel comprende un mediador de electrón, un agente de reducción, y al menos una enzima metabólica o fragmento funcional de esta;

y donde el segundo electrodo es un electrodo de control o referencia.

31. El kit de la reivindicación 29, caracterizado porque la
5 parte de mezcla (20) comprende además un primer y segundo electrodo.

32. Un método para determinar o identificar una
concentración de amoníaco o de ion amonio en una muestra,
10 caracterizado porque comprende: poner en contacto una muestra con el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25; o cualquier tira de prueba descrita en la presente; y determinar una cantidad de amoníaco o ion amonio en la muestra.

15

33. El método de la reivindicación 32, caracterizado porque la muestra es sangre entera.

34. Un método para cuantificar una concentración de amoníaco
20 o ion amonio en una muestra caracterizado porque comprende poner en contacto una muestra de fluido corporal con el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-25; o cualquier tira de prueba descrita en la presente.

35. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32-34, caracterizado porque comprende además comparar un valor de concentración obtenido por los pasos de cuantificación o identificación con una concentración de amoníaco asociada con
5 hiperamonemia.

36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32-35, caracterizado porque el paso de poner en contacto comprende exponer la muestra al biosensor de cualquiera de las
10 reivindicaciones 1-25, o cualquier tira de muestra descrita en la presente durante un período de tiempo suficiente para permitir la modificación del reactivo de indofenol o compuesto relacionado con indofenol para modificarse en un indofenol o producto de reacción de indofenol.

15

37. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32-36, caracterizado porque no comprende exponer la muestra de fluido corporal a un reactivo o estímulo externo antes de poner en contacto la muestra con dichos electrodos.

20

38. El método de cualquiera de las reivindicaciones 33-36, caracterizado porque la muestra de fluido corporal es sangre entera de un sujeto.

39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32-36, caracterizado porque la muestra de fluido corporal no contiene orina.

5 40. El método de la reivindicación 39, caracterizado porque la enfermedad metabólica es hiperamonemia.

41. El biosensor de la reivindicación 1, caracterizado porque es una tira de prueba plástica o cartucho plástico que
10 además comprende un primer y un segundo electrodo; en donde dicha tira de prueba plástica o cartucho plástico se adapta para un dispositivo portátil que comprende un diodo (771); espectrofotómetro, voltímetro y/o amperímetro; y una pantalla digital (7774) de modo que, cuando la tira de prueba plástica
15 o cartucho plástico se coloca dentro del dispositivo, el primer y segundo electrodo se conectan operativamente con un circuito eléctrico cerrado que comprende el espectrofotómetro, voltímetro y/o amperímetro y la pantalla digital (774), y, al entrar en contacto con una muestra,
20 hipoalito, amortiguador alcalino, y un reactivo de indofenol o compuesto relacionado con indofenol cataliza una reacción de indofenol que resulta en una corriente en el primer electrodo que corresponde a un valor de concentración de

amoníaco en la muestra, dicho valor de concentración se puede leer en la pantalla (774).

42. Un método para fabricar el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-25 o 41; caracterizado porque comprende añadir la membrana (105, 205) entre el primer (101, 201) y/o el segundo recipiente (102, 202).

43. Un método para diagnosticar una enfermedad metabólica en un sujeto caracterizado porque comprende:

(a) poner en contacto una muestra de fluido corporal con el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-25; o la tira de prueba o cartucho plástico de la reivindicación 41;

(b) cuantificar uno o más valores de concentración de amoníaco en la muestra;

(c) comparar dicho uno o más valores de concentración de amoníaco en la muestra con un valor umbral de concentración de amoníaco identificado dentro de un intervalo sano; y

(d) identificar el sujeto con una enfermedad metabólica si dichos uno o más valores de concentración de amoníaco en la muestra exceden o están por debajo del valor umbral.

44. Un método para determinar la capacidad de respuesta de un paciente a una terapia, caracterizado porque comprende:

(a) poner en contacto una muestra de fluido corporal con el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-25; o la tira de prueba o cartucho plástico de la reivindicación 41;

(b) cuantificar uno o más valores de concentración de ion de amoníaco o amonio;

(c) comparar el uno o más valores de concentración con el uno o más valores umbral asociados con una enfermedad metabólica.

10 45. Un método para detectar la presencia, ausencia o cantidad de aminoácidos en una muestra, caracterizado porque comprende:

(a) poner en contacto una muestra de fluido corporal con el biosensor de cualquiera de las reivindicaciones 1-25 o 41;

15 (b) cuantificar uno o más valores de concentración de amoníaco o ion amonio;

(c) correlacionar el uno o más valores de concentración de amoníaco o ion de amonio con una o más cantidades de un aminoácido.

20

46. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 32 a 34, caracterizado porque además comprende comparar un valor de concentración obtenido mediante los pasos de cuantificación o identificación a una

concentración de amoníaco asociada con Argininemia (ARG, deficiencia de arginasa), Argininosuccinato acidemia (ASA, argininosuccinasa), Citrulinemia tipo I (CIT-I, argininosuccinato sintetasa), Citrulinemia tipo II (CIT-II, deficiencia de citrina) , Defectos de biosíntesis de cofactor de biopterina (BIOPT-BS), Defectos de la regeneración de cofactor de biopterina (BIOPT-RG), Homocistinuria (HCY, cistationina beta sintasa), Hiperfenilalaninemia (H-PHE) Hipermetioninemia (MET), Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MSUD, cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada), Fenilcetonuria (PKU, fenilalanina hidroxilasa), Tirosinemia tipo I (TYR-I, fumarilacetoacetato hidrolasa), Tirosinemia tipo II (TYR-II, tirosina aminotransferasa), y Tirosinemia tipo III (TYR-III, hidroxifenilpiruvato dioxigenasa) donde las frases entre paréntesis luego de cada estado de enfermedad representan una abreviatura acompañada por la enzima que es generalmente defectuosa en el sujeto que padece la enfermedad.