

REIVINDICACIONES

1.-Método electroquímico enzimático para la cuantificación de analitos en muestras aisladas de fluidos biológicos que comprende las siguientes etapas:

a) introducir dicha muestra en un sistema electroquímico formado por al menos una tira biosensora A que comprende al menos:

- un electrodo de trabajo modificado con al menos una enzima y un mediador electroquímico,
- un electrodo de referencia y
- un electrodo auxiliar o contraelectrodo

y al menos una tira biosensora B que comprende al menos:

- un electrodo de trabajo modificado con la misma enzima y el mismo mediador electroquímico que la tira A y adicionalmente al menos un cofactor,
- un electrodo de referencia y
- un electrodo de auxiliar o contraelectrodo;

b) aplicar un potencial constante a las tiras biosensoras A y B durante un periodo de tiempo determinado;

c) medir la intensidad de corriente en cada una de las tiras biosensoras, en donde en la tira biosensora B la corriente es producida por la re-oxidación del cofactor en el electrodo de trabajo, facilitada por el mediador, después de haberse reducido inicialmente debido a la reacción entre la enzima y el analito, y restar la respuesta obtenida en cada uno de los electrodos de la tira A a la respuesta obtenida en cada uno de los electrodos homólogos de la tira B;

d) traducir los datos de intensidad de corriente restados obtenidos en la etapa (c) a la concentración de analito mediante una curva de calibrado obtenida a partir de muestras

sintéticas del fluido biológico de la muestra que comprenden diferentes concentraciones del analito a determinar.

2.- El método según la reivindicación 1, donde la enzima presente en el electrodo de trabajo de las tiras reactivas es una oxidorreductasa.

3.- El método según la reivindicación 2, donde la enzima es una deshidrogenasa.

4.- El método según la reivindicación 3 donde la enzima deshidrogenasa se selecciona de entre lactato deshidrogenasa, glucosa deshidrogenasa, metanol deshidrogenasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, malatodeshidrogenasa, glicerol-3-fosfatodeshidrogenasa, glicerol deshidrogenasa, alcohol deshidrogenasa, D-xilosa-1-deshidrogenasa.

5.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el mediador presente en el electrodo de trabajo de las tiras biosensoras se selecciona de entre tetrametilbenzidina (TMB), ferricianuropotásico, azul de toluidina, hidroquinona, tetratiofulvaleno (TTF), ferroceno.

6.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde el cofactor presente en el electrodo de trabajo de la tira biosensora B se selecciona de entre NAD^+ , NADP^+ , FAD, FMN.

7.- El método según la reivindicación 6 donde el cofactor no forma parte de la estructura de la enzima.

8.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde el potencial aplicado en la etapa (b) está entre -0,2 V y +0,2V vs. Ag/AgCl.

9.- El método según la reivindicación 8 donde el potencial aplicado en la etapa (b) está entre -0,05 V y +0,15 V vs. Ag/AgCl.

10.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 donde el tiempo durante el que se aplica el potencial en la etapa (b) está entre 20 y 120 s.

11.- El método según la reivindicación 10 donde el tiempo durante el que se aplica el potencial en la etapa (b) está entre 30 y 90 s.

12.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 donde la muestra fluida es una muestra biológica aislada que se selecciona de entre orina, sangre, suero, plasma, líquido pleural o saliva.