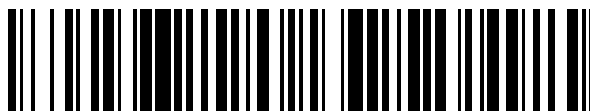


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 714**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/00 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.08.2015 PCT/EP2015/069393**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016 WO16030346**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.08.2015 E 15760115 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 3186385**

54 Título: **Tira reactiva de dos electrodos que compensan la interferencia**

30 Prioridad:

25.08.2014 EP 14182141

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.04.2020

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**MARQUANT, MICHAEL y
REINHARDT, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 756 714 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tira reactiva de dos electrodos que compensan la interferencia

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de detección de al menos un analito en una muestra de análisis, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de a) poner en contacto dicha muestra de análisis (i) con una matriz química activa que cambia al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, poniéndose en contacto dicha matriz química activa con un primer electrodo; y (ii) con una matriz química inactiva, poniéndose en contacto dicha matriz química inactiva con un segundo electrodo, b) cerrar un circuito eléctrico que incluye dicho primer electrodo, dicho segundo electrodo, y dichas matriz química activa y matriz química inactiva, seguido de la determinación de un primer valor de dicha al menos una propiedad electroquímica, c) invertir la polaridad eléctrica del circuito eléctrico de b), seguido de la determinación de un segundo valor de dicha al menos una propiedad electroquímica, y d) detectar dicho al menos un analito en base a dicho primer valor y a dicho segundo valor. Además, la presente invención se refiere a un dispositivo de prueba y a un sistema de prueba adaptados para hacer uso del procedimiento de la presente invención. La presente invención se refiere además a un elemento sensor para determinar al menos un analito, que comprende un par de electrodos y al menos una matriz química activa y una inactiva, cambiando dicha matriz química activa al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, (i) en el que dicho par de electrodos consiste en dos electrodos aislados eléctricamente de otros electrodos, (ii) en el que dicha matriz química activa comprende dicha actividad enzimática y en el que dicha matriz química inactiva no comprende dicha actividad enzimática, y (iii) en el que un primer electrodo de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química activa y en el que un segundo electrodo de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química inactiva.

25 En el campo del diagnóstico médico, en muchos casos, se tienen que detectar uno o más analitos en muestras de análisis de un líquido corporal, tal como sangre, líquido intersticial, orina, saliva u otros tipos de líquidos corporales. Los ejemplos de analitos que se van a detectar son glucosa, triglicéridos, lactato, colesterol u otros tipos de analitos típicamente presentes en estos líquidos corporales. De acuerdo con la concentración y/o la presencia del analito, se puede elegir un tratamiento apropiado, si es necesario.

30 En general, los dispositivos y procedimientos conocidos por el experto en la técnica hacen uso de elementos sensores (por ejemplo, tiras reactivas) que comprenden uno o más electrólitos de prueba que, en presencia del analito que se va a detectar, pueden realizar una o más reacciones de detección detectables, tales como reacciones de detección óptica o electroquímicamente detectables. Con respecto a estos electrólitos de prueba y los procedimientos relacionados con los mismos, se puede hacer referencia, por ejemplo, a J. Hoenes *et al.* (The Technology Behind Glucose Meters: Test Strips, Diabetes Technology & Therapeutics, volumen 10, Suplemento 1, 2008, S-10 a S-26, al documento US 2009/0246808 A1, y a Habermüller *et al.* ((2000), Fresenius J Anal Chem 366 :560). Para la detección electroquímica de glucosa, se proporciona una revisión, por ejemplo, en Heller y Feldman (2008), Chem. Rev. 108: 2482. Las configuraciones de medición que usan un electrodo de trabajo y un contraelectrodo y, opcionalmente, un electrodo de referencia, se divulgaron, por ejemplo, en el documento WO 2007/071562 A1.

45 Un ejemplo común para un biosensor de glucosa amperométrico comprende una enzima glucosa deshidrogenasa con el cofactor unido PQQ o FAD y un mediador como aceptor de electrones y lanzadera de electrones en combinación con electrodos de metal noble o grafito. El mediador se elige a menudo para tener un bajo potencial de oxidación, de modo que la polarización del electrodo resultante sea lo suficientemente baja como para no oxidar otros componentes activos de oxidorreducción existentes en una muestra de análisis de sangre, como el ácido ascórbico o el ácido úrico. La desventaja de esos mediadores es que, debido a las propiedades descritas, se pueden reducir fácilmente por agentes reductores, como el ácido ascórbico, contenidos en la muestra de análisis de sangre. En las muestras de análisis de sangre de pacientes hospitalizados, para los cuales se usan típicamente sistemas de glucemia profesionales basados en tiras reactivas desechables, la concentración de ácido ascórbico puede ser relativamente alta y alcanzar niveles comparables a las concentraciones de glucemia habituales. Como consecuencia, el resultado es una lectura sesgada positivamente alta.

55 En el caso de sistemas enzimáticos con solo cofactores temporalmente unidos, el cofactor en sí mismo puede actuar como lanzadera de electrones y, en principio, no se requiere un mediador de oxidorreducción adicional. Un ejemplo aquí es una enzima glucosa deshidrogenasa con NAD como cofactor. Por la reacción enzimática, el NAD se reduce a NADH. A continuación, el NADH se difunde al electrodo y se oxida al catión radical. También aquí se puede medir la corriente resultante como una medida para la concentración de glucosa. La desventaja es que la reacción en el electrodo de NADH requiere un alto potencial de oxidación, lo que también da lugar a la oxidación de sustancias interferentes en la muestra de análisis de sangre, como el ácido ascórbico o el ácido úrico. Esto también provoca una lectura sesgada positiva alta.

65 Para superar los problemas descritos anteriormente, a partir del documento WO2005/045416 se conoce un sistema que tiene dos electrodos de trabajo y un electrodo de referencia. El primer electrodo de trabajo se cubre con un

reactivo que contiene el sistema enzimático y el mediador como ingredientes activos. El segundo electrodo de trabajo se cubre con el mismo reactivo, salvo por el sistema enzimático. Ambas capas de reactivo en los electrodos se humedecen con la misma muestra de análisis de sangre que llena una cámara de medición capilar sobre los electrodos. En una primera fase, se aplica un voltaje entre el electrodo de referencia como contraelectrodo y el segundo electrodo de trabajo, que se cubre con el reactivo sin enzima. A continuación, se mide la corriente de respuesta. Después de esto, se aplica el voltaje al electrodo de referencia como contraelectrodo y el primer electrodo de trabajo, que tiene el reactivo con el sistema enzimático. A continuación, también se mide la corriente. Si un agente reductor o componente electroactivo estuviera presente en la muestra de análisis de sangre, esto reduciría el mediador o se oxidaría directamente en el electrodo de trabajo. En ambos casos, el resultado es una corriente de fondo interferente en ambos electrodos de trabajo. La reacción con la glucosa, por otra parte, solo se produce en el electrodo cubierto con el reactivo que contiene la enzima. Para obtener el resultado final, ahora se calcula la diferencia de las corrientes medidas en ambos electrodos de trabajo. Según ese cálculo, los efectos interferentes de los electrodos se extinguen entre sí y, por lo tanto, solo queda la respuesta de la reacción de glucosa. La limitación de este procedimiento es que ambos electrodos de trabajo añaden ruido individual a los resultados calculados. Normalmente, el error resultante es una suma geométrica de los errores individuales. Por lo tanto, la precisión de la prueba alcanzable es limitada. Otra desventaja de esta solución es que una tira reactiva con más de dos electrodos incrementa la complejidad y el coste del procedimiento de producción. En un enfoque similar, el documento EP 2 767 826 A1 propuso un sensor de glucosa continuo que comprende dos electrodos de trabajo y un electrodo de referencia, en el que el primer electrodo de trabajo se cubre con una porción enzimática activa de una membrana del sensor, mientras que el segundo electrodo de trabajo se cubre con una porción enzimática inactiva o no enzimática de la membrana del sensor.

Problema que se va a resolver

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar medios y procedimientos para satisfacer las necesidades mencionadas anteriormente, evitando al menos en parte las desventajas de la técnica anterior.

Sumario de la invención

Este problema se resuelve mediante el procedimiento y el dispositivo de prueba y el sistema de prueba de acuerdo con las reivindicaciones. Los modos de realización, que se podrían realizar de forma aislada o en cualquier combinación arbitraria, se enumeran en las reivindicaciones dependientes.

En consecuencia, la presente divulgación se refiere a un elemento sensor para determinar al menos un analito, que comprende un par de electrodos y al menos una matriz química activa y una inactiva, cambiando dicha matriz química activa al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en la presencia de dicho analito,

(i) en el que dicho par de electrodos consiste en dos electrodos aislados eléctricamente de otros electrodos,

(ii) en el que dicha matriz química activa comprende dicha actividad enzimática y en el que dicha matriz química inactiva no comprende dicha actividad enzimática, y

(iii) en el que un primer electrodo de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química activa y en el que un segundo electrodo de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química inactiva.

Como se usa en lo siguiente, los términos "tener", "comprender" o "incluir" o cualquier variación gramatical arbitraria de los mismos se usan de forma no exclusiva. Por tanto, estos términos se pueden referir tanto a una situación en la que, además del rasgo característico introducido por estos términos, no están presentes otros rasgos característicos en la entidad descrita en este contexto como a una situación en la que estén presentes uno o más de otros rasgos característicos. Como ejemplo, todas las expresiones "A tiene a B", "A comprende a B" y "A incluye a B" se pueden referir a una situación en la que, además de B, no está presente ningún otro elemento en A (es decir, una situación en la que A consiste única y exclusivamente en B) y a una situación en la que, además de B, uno o más de otros elementos están presentes en la entidad A, tal como el elemento C, los elementos C y D o incluso otros elementos.

Además, como se usa en lo siguiente, los términos "preferentemente", "más preferentemente", "lo más preferentemente", "en particular", "más en particular", "específicamente", "más específicamente" o términos similares se usan junto con rasgos característicos opcionales, sin restringir posibilidades alternativas. Por tanto, los rasgos característicos introducidos por estos términos son rasgos característicos opcionales y no pretenden restringir el alcance de las reivindicaciones de ninguna manera. La invención, como reconocerá el experto en la técnica, se puede realizar usando rasgos característicos alternativos. De forma similar, los rasgos característicos introducidos por "en un modo de realización de la invención" o expresiones similares pretenden ser rasgos característicos opcionales, sin ninguna restricción con respecto a modos de realización de la invención alternativos, sin ninguna restricción con respecto al alcance de la invención y sin ninguna restricción con respecto a la posibilidad de combinar los rasgos característicos introducidos de dicha manera con otros rasgos característicos opcionales o no opcionales de la invención.

El término "elemento sensor", como se usa en el presente documento, se refiere a un elemento que comprende al menos los componentes como se describe en el presente documento. Se entiende por el experto en la técnica que el elemento sensor puede comprender otros componentes, por ejemplo, sin limitación, un elemento portador (o "sustrato") que mantiene unidos otros componentes del elemento sensor; contactos del electrodo que conectan el elemento sensor a un dispositivo de medición; una o más lancetas para crear una incisión en el cuerpo de un sujeto, uno o más elementos capilares para guiar una muestra de análisis de líquido al electrodo, y similares.

El elemento sensor de la presente divulgación comprende al menos dos matrices químicas como se describe a continuación en el presente documento: una matriz química activa que comprende una actividad enzimática activa en presencia de un analito, y una matriz química inactiva que no comprende dicha actividad enzimática, como se especifica en detalle a continuación.

En una divulgación, el elemento sensor comprende además un sustrato. Como se usa en el presente documento, el término "sustrato" se refiere a un elemento portador que, básicamente, puede tener una conformación arbitraria, tal como una conformación de tira. En un modo de realización, el sustrato es un sustrato flexible. En una divulgación, el sustrato comprende una configuración de capa que tiene una, dos o más capas, en una divulgación, una configuración de capa flexible. El sustrato, en general, se puede hacer de cualquier material de sustrato arbitrario, tal como un material plástico y/o un material laminado y/o un material de papel y/o un material cerámico. Se pueden usar otros materiales de forma alternativa o adicionalmente, tales como metales o configuraciones de película delgada.

El término "determinación", como se usa en el presente documento, se refiere a medir la cantidad de analito en una muestra de análisis, en un modo de realización, de forma semicuantitativa o, en otro modo de realización, de forma cuantitativa. En un modo de realización, la determinación comprende estimar la cantidad de electrones liberados o consumidos en una matriz química tras poner en contacto una muestra de análisis con dicha matriz química. Los procedimientos de estimación de la cantidad de electrones liberados o consumidos en una matriz química son conocidos a partir de la técnica anterior. En un modo de realización, la cantidad de electrones liberados o consumidos se estima por medio de un sensor electroquímico.

El término "analito", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto químico presente en un líquido. En un modo de realización, el líquido es una muestra de análisis como se especifica en otra parte en el presente documento. En un modo de realización, el analito es una molécula orgánica, en otro modo de realización, una molécula orgánica que puede experimentar una reacción de oxidorreducción en presencia del electrólito de prueba de acuerdo con la presente invención. En un modo de realización, el analito es una molécula del metabolismo de un sujeto, es decir, una molécula producida y/o consumida en al menos una reacción química que tiene lugar en al menos un tejido de dicho sujeto. También en un modo de realización, el analito es un compuesto químico de bajo peso molecular, en otro modo de realización, un compuesto químico con una masa molecular de menos de 5000 u (1000 Da; $1,66 \times 10^{-24}$ kg), en otro modo de realización, menos de 1000 u, en otro modo de realización, menos de 500 u. Es decir, en un modo de realización, el analito no es una macromolécula biológica. En otro modo de realización, el analito se selecciona de la lista que consiste en malato, etanol, ácido ascórbico, colesterol, glicerol, urea, 3-hidroxiacetato, lactato, piruvato, cetonas, creatinina y similares; todavía en otro modo de realización, el analito es glucosa. En otro modo de realización, el analito es glucemia. En un modo de realización, el analito es glucemia y la concentración real que se va a determinar es de al menos 10 mg/dl, de al menos 50 mg/dl, de al menos 60 mg/dl, de al menos 70 mg/dl, de al menos 80 mg/dl, de al menos 90 mg/dl, o de al menos 100 mg/dl. En un modo de realización, el analito es glucosa y la concentración que se va a determinar está en el intervalo de 0 mg/dl a 800 mg/dl, o, en otro modo de realización, de 10 mg/dl a 600 mg/dl, o, en otro modo de realización, de 50 mg/dl a 300 mg/dl.

El término "electrodo" se entiende por el experto en la técnica y se refiere a una entidad conductora del elemento sensor que se adapta para ponerse en contacto con una matriz química de la presente invención. En un modo de realización, el electrodo se dispone de modo que el electrodo se pone en contacto con al menos una matriz química; en otro modo de realización, el electrodo se pone en contacto con exactamente una matriz química. En un modo de realización, el electrodo se adapta para ponerse en contacto con un líquido que comprende el analito, en un modo de realización, una muestra de análisis de líquido corporal como se describe en otra parte en el presente documento. El electrodo puede ser o puede comprender uno o más campos de electrodo que están o se ponen en contacto total o parcialmente con la matriz química y/o el líquido que comprende el analito. Se puede poner en contacto uno o más de los campos de electrodo por medio de uno o más cables de contacto apropiados, también denominados rutas de conductividad. El electrodo, en un modo de realización, tiene exactamente un área de superficie continua, que se puede adaptar para ponerse en contacto con una matriz química y/o un líquido corporal. Cada electrodo se puede poner en contacto eléctricamente mediante al menos un cable de contacto. En caso de que se proporcione más de un electrodo del mismo tipo, los electrodos se pueden poner en contacto mediante uno o más cables de contacto. Por tanto, dos o más electrodos del mismo tipo se podrían poner en contacto eléctricamente mediante un mismo cable de contacto. De forma alternativa, se pueden proporcionar cables de contacto separados para poner en contacto los electrodos, tales como al menos un cable de contacto separado por electrodo. En un modo de realización, se incorpora un electrodo de modo que puede tener lugar una reacción

electroquímica en el electrodo. En otro modo de realización, se incorpora un electrodo de modo que puede tener lugar una reacción de oxidación y/o una reacción de reducción en el electrodo.

5 En un modo de realización, al menos uno, en otro modo de realización, ambos de los electrodos de un par de electrodos de acuerdo con la presente invención comprenden una configuración de múltiples capas, que tiene al menos una almohadilla conductora y, opcionalmente, al menos una capa adicional que cubre parcialmente o, en un modo de realización, completamente la almohadilla conductora. La al menos una capa adicional opcional puede comprender al menos un material de electrodo como se explica con más detalle a continuación. La al menos una almohadilla conductora, en un modo de realización, comprende uno o más de los siguientes metales: oro, níquel, 10 cobre o platino, o alótropos de carbono conductor como grafito o carbono vítreo. Sin embargo, se pueden usar otros tipos de metal o materiales conductores además o de forma alternativa. Además, se puede usar una configuración de múltiples capas, tal como para mejorar la adhesión de la almohadilla conductora al sustrato.

15 La almohadilla conductora de cada electrodo se puede conectar a uno o más cables eléctricos y/o vías eléctricas y/o a una o más líneas de suministro eléctrico o líneas conductoras. De este modo, la almohadilla conductora se puede conectar a al menos una almohadilla de contacto del elemento sensor adaptada para conectar el elemento sensor a al menos un dispositivo de medición, tal como un dispositivo de medición de mano que interactúa con el elemento sensor.

20 Como se usa en el presente documento, el término "par de electrodos" se refiere a dos electrodos adaptados para formar parte de un circuito eléctrico después de la aplicación de una muestra de análisis al elemento sensor, estando dichos dos electrodos aislados eléctricamente de cualquier electrodo adicional potencialmente presente en el elemento sensor. El término "aislado eléctricamente", como se usa en el presente documento, se refiere a la separación de dicho par de electrodos de cualquier electrodo adicional potencialmente presente en dicho elemento 25 sensor de modo que (i) la resistencia entre el primer electrodo del par de electrodos y cualquier electrodo adicional y (ii) la resistencia entre el segundo electrodo del par de electrodos y cualquier electrodo adicional, son ambas al menos de 25 k Ω , en un modo de realización, al menos de 50 k Ω , en otro modo de realización, al menos de 100 k Ω o, en otro modo de realización, al menos de 1 M Ω después de la aplicación de una muestra de análisis al elemento sensor. En un modo de realización, dicha muestra de análisis es sangre humana. En un modo de realización, el elemento sensor comprende exactamente un par de electrodos como se especifica en el presente documento. Como se detalla en otra parte en el presente documento, un primer electrodo de un par de electrodos (denominado "electrodo de análisis" en el presente documento) se pone en contacto con una matriz química activa, y un segundo electrodo de dicho par de electrodos (denominado "electrodo de control" en el presente documento) se pone en 30 contacto con una matriz química inactiva.

35 En un modo de realización, los electrodos de un par de electrodos de la presente invención consisten en el mismo material o materiales. También en un modo de realización, los electrodos de un par de electrodos tienen la misma área de superficie activa. En otro modo de realización, los electrodos de un par de electrodos se cubren con matrices químicas de esencialmente el mismo grosor de capa, "esencialmente el mismo grosor de capa" significa una diferencia de como máximo un 20 %, en otro modo de realización, como máximo un 10 % entre la matriz química activa y la inactiva. En otro modo de realización, los electrodos de un par de electrodos se cubren con matrices químicas del mismo grosor de capa.

45 En un modo de realización, al menos un par de electrodos en el elemento sensor de la presente invención se dispone en una configuración frente a frente. En consecuencia, el primer electrodo y el segundo electrodo, en un modo de realización, se disponen en lados opuestos de un elemento capilar que se adapta para recibir la muestra del líquido corporal y/o transportar la muestra del líquido corporal mediante fuerzas capilares. El primer y el segundo electrodo se disponen, en un modo de realización, como electrodos opuestos, de modo que una superficie del primer electrodo mira a una superficie del segundo electrodo. En otro modo de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo se alinean en paralelo. Además, el primer y el segundo electrodo pueden tener las mismas 50 dimensiones y pueden tener una conformación no estructurada. El primer electrodo se puede extender a lo largo de toda la longitud del capilar. El segundo electrodo se puede extender a lo largo de toda la longitud del capilar. Como se usa en el presente documento, el término "longitud del capilar" se refiere a una extensión máxima del capilar en una dimensión dentro del elemento sensor. En un modo de realización, el capilar se extiende perpendicular a la dirección del elemento sensor alargado de modo que en este caso la longitud del capilar se refiere a una extensión máxima del capilar perpendicular a la dirección del elemento sensor alargado. En un modo de realización alternativo, el capilar se puede extender a lo largo de la dirección del elemento de prueba alargado de modo que en este caso la longitud del capilar se refiere a una extensión máxima del capilar a lo largo de la dirección del elemento sensor alargado. El primer electrodo y el segundo electrodo de un elemento sensor frente a frente se disponen de 55 modo que durante un llenado del capilar, el primer electrodo y el segundo electrodo se humedecen simultáneamente. Un incremento de un área de superficie humedecida dA1 del primer electrodo por incremento dV de un volumen lleno del capilar en todo momento puede ser igual a un incremento de un área de superficie humedecida dA2 del segundo electrodo. Como se usa en el presente documento, el término "llenado del capilar" se refiere a un procedimiento de recepción de la muestra del líquido corporal. En un modo de realización, el primer electrodo y el segundo electrodo y el capilar entre el primer electrodo y el segundo electrodo del elemento sensor frente a frente forman una celda electroquímica. La celda electroquímica se puede extender a lo largo de toda la 65

longitud del capilar.

Como es conocido por el experto en la técnica, el término electrodo de trabajo se refiere a un electrodo que se adapta para realizar al menos una reacción de detección electroquímica para detectar el al menos un analito en un líquido corporal. Como es conocido además por el experto en la técnica, el término contraelectrodo se refiere a un electrodo adaptado para realizar al menos una contrarreacción electroquímica adaptada para equilibrar un flujo de corriente requerido por la reacción de detección en el electrodo de trabajo. El término electrodo de referencia se refiere a un electrodo adaptado para proporcionar un potencial de electrodo ampliamente constante como potencial de referencia, tal como proporcionando un sistema de oxidorreducción que tiene un potencial de electrodo constante. De acuerdo con la presente invención, durante las mediciones de la señal generada por el analito y por las reacciones de fondo, el electrodo de análisis es el electrodo de trabajo y el electrodo de control es el contraelectrodo. En consecuencia, durante las mediciones de la señal generada solo por las reacciones de fondo, el electrodo de control es el electrodo de trabajo y el electrodo de análisis es el contraelectrodo. Por tanto, en un modo de realización, el elemento sensor no comprende un electrodo de referencia.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un vertebrado. En un modo de realización, el sujeto es un mamífero, en otro modo de realización, un ratón, rata, gato, perro, hámster, conejillo de indias, ovejas, cabras, cerdos, vacas o caballos. Todavía en otro modo de realización, el sujeto es un primate. En otro modo de realización, el sujeto es un ser humano. En un modo de realización, el sujeto es aquejado o se sospecha que es aquejado por una enfermedad o afección asociada con una desviación de la normalidad medible de al menos un analito.

El término "muestra de análisis" se entiende por el experto en la técnica y se refiere a cualquier subporción de tamaño adecuado de un homogeneizado tisular, líquido tisular (líquido intersticial) o líquido corporal de un sujeto. Como se usa en el presente documento, el término "líquido corporal" se refiere a todos los líquidos corporales de un sujeto que se sabe que comprenden o se sospecha que comprenden el analito de la presente invención, incluyendo sangre, plasma, suero, líquido lagrimal, orina, linfa, líquido cefalorraquídeo, bilis, heces, sudor, líquido intersticial y saliva. En un modo de realización, el líquido corporal es sangre, plasma o suero. Las muestras de análisis de líquidos corporales se pueden obtener mediante técnicas bien conocidas que incluyen, por ejemplo, punción venosa o arterial, punción epidérmica y similares.

El término "matriz química", como se usa en el presente documento, se refiere a una matriz de compuestos que comprende al menos un componente que cambia al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de un analito. Diversas posibilidades de diseño de una matriz química son conocidas en la técnica. A este respecto, se puede hacer referencia a los documentos de la técnica anterior mencionados anteriormente. Específicamente, se puede hacer referencia a J. Hoenes *et al.*: The Technology Behind Glucose Meters: Test Strips, Diabetes Technology & Therapeutics, volumen 10, Suplemento 1, 2008, S-10 a S-26. Sin embargo, otros tipos de matrices químicas son posibles.

En un modo de realización, la matriz química de la presente invención se adapta para cambiar al menos una propiedad electroquímica en presencia de un analito. Como se usa en el presente documento, el término "propiedad electroquímica" se refiere a cualquier propiedad del electrólito de prueba que cambia en presencia del analito y que se puede transferir en una señal eléctrica de cualquier tipo. En un modo de realización, el cambio de la propiedad electroquímica y/o la señal generable a partir de la misma es proporcional a la concentración del analito en la muestra de análisis. En un modo de realización, la propiedad electroquímica es un estado de oxidorreducción de al menos uno de los componentes de la matriz química, en un modo de realización, de un reactivo indicador como se describe en el presente documento. En consecuencia, en un modo de realización, la reacción de detección es una reacción de oxidorreducción. En otro modo de realización, la reacción de detección produce equivalentes de oxidorreducción y/o electrones como intermediarios y/o productos. En otro modo de realización, la propiedad electroquímica es la concentración de un reactivo indicador reducido o uno oxidado como se describe en el presente documento, es decir, en un modo de realización, la propiedad medible es el estado de oxidorreducción de dicho reactivo indicador comprendido en el electrólito de prueba. Los procedimientos de conversión de la propiedad electroquímica como se define anteriormente en una señal física que se puede leer como un valor de medición son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en los documentos EP 0 821 234, EP 0 974 303 y US 2005/0023152. En un modo de realización, las propiedades electroquímicas incluyen respuestas amperométricas o coulombimétricas indicativas de la concentración del analito. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 5.108.564, 4.919.770 y 6.054.039.

El término "equivalentes de oxidorreducción", como se usa en el presente documento, se refiere al concepto comúnmente usado en química de oxidorreducción bien conocido por el experto en la técnica. En un modo de realización, el término se refiere a electrones que se transfieren desde un sustrato de la oxidoreductasa al cofactor de oxidorreducción, y/o desde dicho cofactor de oxidorreducción a un mediador de oxidorreducción, y/o desde dicho mediador de oxidorreducción a un compuesto indicador y/o a un electrodo.

En un modo de realización, la matriz química es una matriz química electroquímica que se pone en contacto con al menos un electrodo. Los electrodos adecuados, configuraciones de electrodos, otros compuestos adecuados de

matrices químicas de prueba electroquímicas y modos de funcionamiento de los mismos son conocidos por el experto en la técnica y se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2007/071562 A1, US 2009/0198117 A1, WO 2007/071562 A1, WO 2014/001382 A1, y las referencias citadas en los mismos. Se concibe por la presente invención que la matriz química de prueba electroquímica incluya uno o más agentes para reaccionar con el analito para producir una señal electroquímica que represente la presencia del analito en el líquido de muestra de análisis. Se entiende por el experto en la técnica que la matriz química de acuerdo con la presente invención puede tener más de una capa o, en un modo de realización, una capa. Las configuraciones de capa apropiadas son bien conocidas en la técnica.

En un modo de realización, la matriz química comprende adicionalmente un cofactor de oxidorreducción y/o un reactivo indicador que puede provocar un cambio en al menos una propiedad electroquímica en presencia de equivalentes de oxidorreducción.

El término "cofactor de oxidorreducción", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula que puede servir como un aceptor para los equivalentes de oxidorreducción transferidos enzimáticamente y, en particular, hidruro (H⁻). En un modo de realización, el cofactor de oxidorreducción es pirroloquinolina quinona (PQQ, n.º de CAS: 72909-34-3), dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD, n.º de CAS: 53-84-9) o dinucleótido de flavina y adenina (FAD, n.º de CAS: 146-14-5). Se entenderá que el cofactor de oxidorreducción que se va a incluir en la matriz química de prueba de la presente invención depende de las propiedades de la deshidrogenasa que se va a concebir. Por ejemplo, la PQQ se combina en una composición de acuerdo con la presente invención con una deshidrogenasa dependiente de PQQ, el NAD se combina en una composición de acuerdo con la presente invención con una deshidrogenasa dependiente de NAD y el FAD se combina en una composición de acuerdo con la presente invención con una deshidrogenasa dependiente de FAD. Un cofactor de oxidorreducción de acuerdo con la presente invención también puede, en un modo de realización, ser un derivado de la PQQ, el NAD o el FAD. Los derivados típicos del NAD son los divulgados en el documento WO 2007/012494. En otro modo de realización, el cofactor de oxidorreducción de acuerdo con la presente invención es carbaNAD como se divulga en el documento WO 2007/012494.

Como se usa en el presente documento, el término "reactivo indicador que puede provocar un cambio en al menos una propiedad electroquímica en presencia de equivalentes de oxidorreducción" se refiere a una molécula que, en presencia de equivalentes de oxidorreducción, puede experimentar un cambio en al menos una propiedad medible, en un modo de realización, un cambio que se puede medir como propiedad electroquímica de la matriz química.

Un reactivo indicador como se menciona anteriormente, en un modo de realización, puede transferir directa o indirectamente, es decir, por medio de otro mediador, equivalentes de oxidorreducción del cofactor de oxidorreducción a un electrodo. En el último caso, los equivalentes de oxidorreducción se transfieren desde el reactivo indicador a un mediador intermediario que posteriormente transfiere los equivalentes de oxidorreducción a un electrodo. Se entenderá que se puede usar más de un mediador. Por ejemplo, el agente puede transferir los equivalentes de oxidorreducción a un primer mediador que posteriormente transfiere los equivalentes de oxidorreducción a un segundo mediador y dicho segundo mediador a continuación transfiere los equivalentes de oxidorreducción a un electrodo. Se entenderá que en una cascada de mediadores de este tipo se podrían usar más de dos mediadores. En otro modo de realización, un reactivo indicador puede transferir directamente equivalentes de oxidorreducción desde el cofactor de oxidorreducción a un electrodo. Los mediadores que se pueden aplicar en el contexto de la presente invención son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, ferricianuro de potasio, derivados de quinona, azul de Nilo (n.º de CAS: 3625-57-8), azul de Meldola (n.º de CAS: 7057-57-0), complejos de osmio como se divulga en el documento EP 1 457 572 B1, complejos de metales de transición tales como cloruro de rutenio hexamina o derivados de nitroso-anilina.

En un modo de realización de la matriz química de la presente invención, dicha matriz química comprende además al menos un estabilizador, detergente, agente de hinchamiento, agente formador de película, agente oxidante y/o partícula sólida. Los estabilizadores, detergentes, agentes de hinchamiento, agentes formadores de película, agentes oxidantes y/o partículas sólidas adecuados que se van a usar en la composición de la invención son conocidos por los expertos en la técnica. En un modo de realización, el dicho al menos un detergente se selecciona del grupo que consiste en: N-metil-N-oleoiltaurato de sodio, N-octanoil-N-metil-glucamida, Mega 8 (N-metil-N-octanoilglucamida), dioctilsulfosuccinato de sodio (DONS), Rhodapex® (en un modo de realización, CO-433 o CO-436). En un modo de realización, dicho al menos un agente de hinchamiento se selecciona del grupo que consiste en: copolímero de éter metilvinílico y anhídrido de ácido maleico, goma xantana y copolímero de éter metilvinílico y ácido maleico. En un modo de realización, dicho al menos un agente formador de película se selecciona del grupo que consiste en: dispersiones de polivinilpropionato, ésteres de polivinilo, acetatos de polivinilo, ésteres poliacrílicos, ácido polimetacrílico, polivinilamidas, poliamidas, poliestireno y polimerizados mixtos también son adecuados tales como butadieno, estireno o éster de ácido maleico. En un modo de realización, dicha al menos una partícula sólida se selecciona del grupo que consiste en: partículas de sílice, en particular, dióxido de silicio, silicatos de sodio o silicatos de aluminio, tierra de infusorios, óxidos metálicos, en particular, óxido de titanio y/u óxido de aluminio, materiales de óxido sintéticos, en particular, nanopartículas de materiales de óxido tales como nanopartículas de dióxido de silicio, óxido de aluminio u óxido de titanio, caolín, vidrio en polvo, sílice amorfa, sulfato de calcio y sulfato de bario.

Se puede proporcionar una matriz química de acuerdo con la presente invención, en un modo de realización, disolviendo los componentes de la matriz química en primer lugar en un disolvente o mezcla de disolventes. En otro modo de realización, dicho disolvente o mezcla de disolventes se elimina posteriormente mediante un tratamiento adecuado de modo que la composición restante esté esencialmente libre del dicho disolvente o mezcla de disolventes. Los tratamientos adecuados que se van a concebir, en un modo de realización, por la presente invención incluyen tratamiento térmico, técnicas de evaporación, liofilización y similares. En un modo de realización, el tratamiento concebido es tratamiento térmico y, en particular, tratamiento térmico en las siguientes condiciones: tratamiento térmico a aproximadamente 60 °C o más durante aproximadamente de 20 a 45 minutos o a aproximadamente 95 °C durante aproximadamente de 1 a 2 minutos con circulación de calor; grosor de la matriz química de 20 a 200 micrómetros o menos; a una presión de 1 bar o 0,1 bar. Además, se entenderá que para mantener la matriz química en condiciones secas, el almacenamiento se lleva a cabo, en un modo de realización, en presencia de un agente de secado, es decir, un desecante. Los agentes de secado adecuados, en un modo de realización, engloban gel de sílice, zeolitas, carbonato de calcio o sulfato de magnesio.

Como se usa en el presente documento, el término "matriz química activa" se refiere a una matriz química de la presente invención que comprende los componentes como se especifica en el presente documento, que incluye una actividad enzimática activa en presencia de un analito. En consecuencia, el término "matriz química inactiva" se refiere a una matriz química de la presente invención que no comprende dicha actividad enzimática activa en presencia de dicho analito. La matriz química inactiva de la presente invención comprende al menos el reactivo indicador como se menciona en el presente documento, en un modo de realización, a la misma concentración que está presente en la matriz química activa, y tiene una viscosidad similar, en un modo de realización, la misma viscosidad, que la matriz química activa. En otro modo de realización, la matriz química inactiva comprende el mismo cofactor de oxidorreducción que la matriz química activa, en un modo de realización, a la misma concentración que está presente en la matriz química activa. Todavía en otro modo de realización, la matriz química inactiva comprende el mismo formador de película que la matriz química activa, en un modo de realización, a la misma concentración que está presente en la matriz activa. Se entiende por el experto en la técnica que para que la compensación de la interferencia sea lo más completa posible, la matriz química activa y la inactiva típicamente son lo más similar posible, aparte de la presencia o ausencia de la actividad enzimática de la presente invención. La matriz química inactiva de la presente invención puede tener características de difusión similares, o incluso las mismas características de difusión, que la matriz química activa. En consecuencia, en un modo de realización, la composición de la matriz química activa difiere de la composición de la matriz química inactiva solo por la presencia de dicha actividad enzimática en la matriz química activa. También en un modo de realización, la matriz química activa comprende un polipéptido que tiene dicha actividad enzimática y la matriz química inactiva comprende un polipéptido que no tiene dicha actividad enzimática. En otro modo de realización, el polipéptido que no tiene dicha actividad enzimática es una forma inactivada de dicho polipéptido que tiene dicha actividad enzimática. En otro modo de realización, el polipéptido que no tiene dicha actividad enzimática es un polipéptido que es catalíticamente inactivo, por ejemplo, seroalbúmina bovina.

En un modo de realización, la matriz química activa y la matriz química inactiva se disponen en el elemento sensor de modo que un circuito eléctrico que engloba el primer y segundo electrodo y dicha matriz química activa e inactiva se puede cerrar después de la aplicación de la muestra de análisis. En un modo de realización, las matrices químicas activa e inactiva se disponen adyacentes entre sí. En otro modo de realización, las matrices químicas activa e inactiva se disponen adyacentes entre sí de modo que ambas muestras químicas se humedezcan simultáneamente con la muestra de análisis. En otro modo de realización, la matriz química activa y la matriz química inactiva se disponen en una disposición frente a frente como se describe en otra parte en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "actividad enzimática" se refiere a la actividad de una molécula biológica, en un modo de realización, de una macromolécula biológica, en otro modo de realización, de un polipéptido, de catálisis de una reacción química. En un modo de realización, la actividad enzimática es una actividad oxidoreductasa, en otro modo de realización, una actividad deshidrogenasa. El término "actividad deshidrogenasa", como se usa en el presente documento, se refiere a una actividad enzimática que cataliza la oxidación o reducción de un sustrato mediante la transferencia de hidruros (H^-) en un mecanismo de una etapa o H^+ / e^- en un mecanismo de dos etapas como equivalentes de oxidorreducción a o desde un cofactor de oxidorreducción como se menciona en el presente documento en otra parte. En un modo de realización, una actividad deshidrogenasa cataliza la oxidación de un sustrato mediante la transferencia de hidruros (H^-) como equivalentes de oxidorreducción a una molécula aceptora, en un modo de realización, a un cofactor de oxidorreducción como se menciona en el presente documento en otra parte. Las actividades deshidrogenasa típicas son aquellas que dependen de un cofactor de oxidorreducción (o a veces denominado coenzima) tal como pirroloquinolina quinona (PQQ), dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) o un derivado de los mismos, o un cofactor flavina, tal como dinucleótido de flavina y adenina (FAD) o mononucleótido de flavina (FMN). Las actividades deshidrogenasa típicas son, en particular, aquellas de las enzimas lactato deshidrogenasa (número EC 1.1.1.27 o 1.1.1.28), glucosa deshidrogenasa (véase a continuación), alcohol deshidrogenasa (número EC número EC 1.1.1.1 o 1.1.1.2), L-aminoácido deshidrogenasa (número EC 1.4.1.5), glicerina deshidrogenasa (número EC 1.1.1.6), malato deshidrogenasa (número EC 1.1.1.37), 3-hidroxitirato deshidrogenasa (número EC 1.1.1.30),

sorbitol deshidrogenasa (número EC 1.1.1.14), o colesterol deshidrogenasa.

En otro modo de realización, la actividad deshidrogenasa es la actividad de una glucosa deshidrogenasa. En otro modo de realización, dicha glucosa deshidrogenasa se selecciona del grupo que consiste en: glucosa deshidrogenasa (número EC 1.1.1.47), quinoproteína glucosa deshidrogenasa (número EC 1.1.5.2), en particular, glucosa deshidrogenasa dependiente de pirroloquinolina quinona (PQQ) (número EC 1.1.5.2), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (número EC 1.1.1.49), glucosa deshidrogenasa dependiente de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) (número EC 1.1.1.119) y glucosa deshidrogenasa dependiente de dinucleótido de flavina y adenina (FAD) (número EC 1.1.99.10) o mutantes enzimáticamente activos de los mismos.

De forma ventajosa, se encontró en el trabajo subyacente a la presente invención que usando un elemento sensor que tiene una configuración de dos electrodos, uno de los cuales se pone en contacto con una matriz química que comprende una enzima activa en presencia de un analito, y el segundo de los cuales se pone en contacto con una matriz química que no comprende dicha enzima, y midiendo un parámetro eléctrico una vez en una polaridad dada, seguido de la medición en la polaridad invertida, la interferencia, es decir, la señal que no resulta de la actividad enzimática en el analito, se puede compensar fácilmente. La reducción del número de electrodos reduce el error de medición global y también reduce la complejidad de fabricación y, por lo tanto, los costes de fabricación.

Las definiciones realizadas anteriormente se aplican *mutatis mutandis* a lo siguiente. Las definiciones y explicaciones adicionales realizadas además a continuación también se aplican a todos los modos de realización descritos en la presente memoria descriptiva *mutatis mutandis*.

La presente invención también se refiere a un procedimiento de detección de al menos un analito en una muestra de análisis, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de

a) poner en contacto dicha muestra de análisis (i) con una matriz química activa que cambia al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, poniendo en contacto dicha matriz química activa con un primer electrodo; y (ii) con una matriz química inactiva, poniendo en contacto dicha matriz química inactiva con un segundo electrodo,

b) cerrar un circuito eléctrico que incluye dicho primer y segundo electrodo y dicha matriz química activa e inactiva, seguido de determinar un primer valor de dicha al menos una propiedad electroquímica,

c) invertir la polaridad eléctrica del circuito eléctrico de b), seguido de determinar un segundo valor de dicha al menos una propiedad electroquímica, y

d) detectar dicho al menos un analito en base a dicho primer valor y a dicho segundo valor.

El procedimiento de la presente invención, en un modo de realización, es un procedimiento *in vitro*. Además, puede comprender etapas además de las mencionadas de forma explícita anteriormente. Por ejemplo, otras etapas se pueden referir, por ejemplo, a obtener una muestra de análisis para la etapa a), o a repetir las etapas b) y/o la etapa c). Además, una o más de dichas etapas se pueden realizar por un equipo automatizado.

El término "poner en contacto" se entiende por experto en la técnica y se refiere a poner dos elementos en contacto físico, permitiendo que dichos elementos o componentes de los mismos interactúen.

El procedimiento de la presente invención requiere al menos una medición de un valor de al menos una propiedad electroquímica en una polaridad dada, y al menos una medición de un valor de dicha al menos una propiedad electroquímica en la polaridad inversa. Se entiende por el experto en la técnica que dichas mediciones se pueden repetir para incrementar la exactitud del resultado. Además, se pueden incluir etapas adicionales, por ejemplo, en un modo de realización, una o más pausas de medición y/o sin voltaje entre las mediciones en la primera y la segunda polaridad. En un modo de realización, dicha pausa se establece para que dure al menos 0,5 s, en otro modo de realización, durante al menos 1 s, todavía en otro modo de realización, durante al menos 2 s, o, en otro modo de realización, durante al menos 3 s. En un modo de realización, el intervalo de tiempo para dichas pausas de medición y/o sin voltaje es de 0,1 s a 10 s, en otro modo de realización, de 1 s a 8 s o, en otro modo de realización, de 2 a 5 s. Se entiende por el experto en la técnica que, en caso de que se aplique más de un ciclo de medición, se pueden incluir también pausas de medición y/o sin voltaje entre dichos ciclos de medición.

De forma ventajosa, se encontró en el trabajo subyacente a la presente invención, que un modo de realización que incluye una etapa de provisión de una pausa sin voltaje entre las mediciones en la primera y la segunda polaridad permite que los productos de reacción, en particular los productos de oxidorreducción, en un modo de realización, el/los indicador(es) de oxidorreducción, se difundan lejos de los electrodos. Por tanto, la inclusión de dicha pausa reduce la corriente provocada por la reacción inversa de los productos de oxidorreducción formados en los electrodos, que de otro modo se podría superponer a la corriente inducida por compuestos interferentes potencialmente presentes.

De acuerdo con la presente invención, cualquier procedimiento matemático y/o metrológico adecuado para compensar la interferencia usando dicho primer y segundo valor es utilizable para detectar un analito de interés; por ejemplo, se puede establecer un conjunto de curvas de calibración para pares específicos de primer y segundo valores; o se pueden configurar los circuitos de detección de modo que la señal generada por las reacciones químicas de fondo se compense por el dispositivo de medición. En consecuencia, no siempre se requerirá que el valor detectado a partir de las reacciones químicas de fondo se presente realmente a un usuario o a una unidad de evaluación. En un modo de realización, la detección del analito comprende calcular una diferencia entre el primer valor y el segundo valor determinados de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. Además en un modo de realización, la detección del analito comprende comparar los valores medidos con los datos de calibración, habiéndose obtenido dichos datos de calibración en un modo de realización, determinando los datos de entrenamiento en condiciones perturbadas, es decir, en un modo de realización, en presencia de compuestos interferentes. En otro modo de realización, la detección del analito comprende calcular una diferencia ponderada entre los valores medidos aplicando la primera y la segunda polaridad, en la que los factores de ponderación se obtienen determinando los datos de calibración en condiciones perturbadas, es decir, en un modo de realización, en presencia de compuestos interferentes.

En un modo de realización, la detección de un analito con el procedimiento de acuerdo con la presente invención comprende aplicar un voltaje, en otro modo de realización, un voltaje de CC. En otro modo de realización, la detección de un analito con el procedimiento de acuerdo con la presente invención comprende medir la corriente resultante de dicha aplicación de voltaje. El voltaje aplicado en la segunda polaridad, en un modo de realización, corresponde al voltaje aplicado en la primera polaridad $\pm 40\%$, en otro modo de realización, $\pm 20\%$, o, todavía en otro modo de realización, $\pm 10\%$. En otro modo de realización, el voltaje aplicado tiene el mismo valor numérico en ambas polaridades.

Se entiende por el experto en la técnica que el procedimiento de la presente invención se puede poner en práctica usando cualquier dispositivo que comprenda los rasgos característicos especificados. En consecuencia, el procedimiento de la presente invención se puede realizar también, por ejemplo, en un modo de realización, usando una tira reactiva convencional que tiene más de dos electrodos, de los cuales al menos uno se pone en contacto con una matriz química que comprende una actividad enzimática activa en presencia de un analito, y de los cuales al menos uno se pone en contacto con una matriz química que no comprende una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito. En otro modo de realización, el procedimiento de la presente invención se pone en práctica usando un elemento sensor de la presente divulgación.

Además, la presente invención se refiere a un dispositivo de prueba para detectar al menos un analito en una muestra de análisis, que comprende

i) un receptáculo para un elemento sensor, comprendiendo dicho elemento sensor al menos dos electrodos y una matriz química activa y una inactiva, cambiando dicha matriz química activa al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, poniéndose en contacto un primer electrodo con dicha matriz química activa; y poniéndose en contacto un segundo electrodo con dicha matriz química inactiva, y

ii) medios para determinar la propiedad electroquímica de al menos un reactivo indicador comprendido en dicho elemento sensor de acuerdo con el procedimiento de la presente invención.

El término "dispositivo de prueba", como se usa en el presente documento, se refiere a un dispositivo de prueba en principio conocido en la técnica, sin embargo, adaptado para medir el cambio inducido por el analito de la propiedad electroquímica como se especifica en el presente documento anteriormente de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. En consecuencia, el dispositivo de prueba de la presente invención comprende al menos un receptáculo para un elemento sensor y al menos un medio para determinar una propiedad electroquímica que cambia una matriz química en presencia de un analito, en el que dicho elemento sensor comprende (i) al menos dos electrodos y (ii) una matriz química activa y una inactiva, cambiando dicha matriz química activa al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito; y en el que en dicho elemento sensor un primer electrodo se pone en contacto con dicha matriz química activa; y un segundo electrodo se pone en contacto con dicha matriz química inactiva. En un modo de realización, el dispositivo de prueba de la presente invención comprende al menos un receptáculo para un elemento sensor de la presente divulgación. En un modo de realización, el dispositivo de prueba comprende además una unidad de fuente de alimentación, en un modo de realización, una fuente de voltaje, por ejemplo, en un modo de realización, una batería y/o un acumulador, y/o un amperímetro. En un modo de realización, el dispositivo de prueba es un dispositivo de prueba de diagnóstico. En un modo de realización, el dispositivo de prueba comprende además al menos un sensor para determinar un parámetro ambiental. En otro modo de realización, el dispositivo de prueba comprende además al menos un sensor de temperatura para determinar una temperatura ambiente. También en un modo de realización, el dispositivo de prueba es un dispositivo de prueba de mano.

El término "receptáculo" es conocido por experto en la técnica y se refiere a un elemento del dispositivo de prueba conformado para recibir al menos un elemento sensor, en un modo de realización, un elemento sensor de acuerdo

con la presente divulgación, que proporciona uno o más conectores y/o contactos según corresponda para detectar un analito en un líquido corporal y, en un modo de realización, adaptado para localizar el elemento de prueba en al menos una posición de aplicación en la que una muestra de análisis del líquido corporal es aplicable al elemento de prueba. El modo de realización específico del receptáculo del elemento de prueba dependerá del tipo de elemento de prueba y del electrolito de prueba usado en el mismo. Por tanto, como ejemplo, el receptáculo del elemento de prueba puede ser o puede comprender uno o más de: una ranura para insertar total o parcialmente el al menos un elemento de prueba, en un modo de realización, un elemento de prueba conformado como una tira; un espacio abierto dentro de una carcasa para recibir total o parcialmente el al menos un elemento de prueba; un cargador para recibir uno o más elementos de prueba; una guía para sostener y/o mover uno o más de los elementos de prueba.

Se entiende por el experto en la técnica que el dispositivo de prueba de la presente invención se puede adaptar para usarse junto con cualquier elemento sensor que comprenda los rasgos característicos especificados. En consecuencia, el dispositivo de prueba de la presente invención se puede, por ejemplo, adaptar también para usarse junto con una tira reactiva convencional que tiene más de dos electrodos, de los cuales al menos un primer electrodo se pone en contacto con una matriz química activa, y de los cuales al menos un segundo electrodo se pone en contacto con una matriz química inactiva. En otro modo de realización, el dispositivo de prueba de la presente invención se adapta para usarse junto con un elemento sensor de la presente invención.

Además, la presente invención se refiere a un sistema de prueba que comprende

i) un elemento sensor que comprende al menos dos electrodos y una matriz química activa y una inactiva, cambiando dicha matriz química activa al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de un analito, poniéndose en contacto un primer electrodo con dicha matriz química activa; y poniéndose en contacto un segundo electrodo con dicha matriz química inactiva, y

ii) un dispositivo que comprende un receptáculo para el elemento sensor de a) y medios para determinar la propiedad electroquímica de al menos un reactivo indicador comprendido en dicho elemento sensor de acuerdo con el procedimiento de la presente invención.

Además, la presente invención se refiere al uso de acuerdo con la reivindicación 15.

La divulgación divulga y propone además un programa informático que incluye instrucciones ejecutables por ordenador para realizar el procedimiento de acuerdo con la presente invención en uno o más de los modos de realización incluidos en el presente documento cuando el programa se ejecuta en un ordenador o red informática. Específicamente, el programa informático se puede almacenar en una unidad de almacenamiento de datos legible por ordenador. Por tanto, específicamente, una, más de una o incluso todas las etapas de procedimiento de a) a d) como se indica anteriormente se pueden realizar usando un ordenador o una red informática, en un modo de realización, usando un programa informático.

La divulgación divulga y propone además un producto de programa informático que tiene medios de código de programa, para realizar el procedimiento de acuerdo con la presente invención en uno o más de los modos de realización incluidos en el presente documento cuando el programa se ejecuta en un ordenador o red informática. Específicamente, los medios de código de programa se pueden almacenar en una unidad de almacenamiento de datos legible por ordenador.

Además, la divulgación divulga y propone una unidad de almacenamiento de datos que tiene una estructura de datos almacenada en la misma, que, después de cargarla en un ordenador o una red informática, tal como en una memoria de trabajo o memoria principal del ordenador o red informática, puede ejecutar el procedimiento de acuerdo con uno o más de los modos de realización divulgados en el presente documento.

La divulgación propone y divulga además un producto de programa informático con medios de código de programa almacenados en una unidad de almacenamiento legible por máquina, para realizar el procedimiento de acuerdo con uno o más de los modos de realización divulgados en el presente documento, cuando el programa se ejecuta en un ordenador o una red informática. Como se usa en el presente documento, un producto de programa informático se refiere al programa como un producto comercializable. El producto en general puede existir en un formato arbitrario, tal como en un formato impreso, o en una unidad de almacenamiento de datos legible por ordenador. Específicamente, el producto de programa informático se puede distribuir sobre una red de datos.

Finalmente, la divulgación propone y divulga una señal de datos modulada que contiene instrucciones legibles por un sistema informático o red informática, para realizar el procedimiento de acuerdo con uno o más de los modos de realización divulgados en el presente documento.

En un modo de realización, en referencia a los aspectos implementados por ordenador de la presente divulgación, una o más de las etapas de procedimiento o incluso todas las etapas de procedimiento del procedimiento de acuerdo con uno o más de los modos de realización divulgados en el presente documento se pueden realizar usando un ordenador o una red informática. Por tanto, en general, cualquiera de las etapas de procedimiento,

incluyendo la provisión y/o la manipulación de datos, se puede realizar usando un ordenador o una red informática. En general, estas etapas de procedimiento pueden incluir cualquiera de las etapas de procedimiento típicamente, salvo por las etapas de procedimiento que requieran trabajo manual, tales como proporcionar las muestras de análisis y/o determinados aspectos de realización de las mediciones reales.

- 5 Específicamente, la presente especificación divulga además:
- 10 - Un ordenador o una red informática que comprende al menos un procesador, en el que el procesador se adapta para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción,
 - 15 - una estructura de datos que se puede cargar en el ordenador que se adapta para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción mientras se está ejecutando la estructura de datos en un ordenador,
 - 20 - un programa informático, en el que el programa informático se adapta para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción mientras se está ejecutando el programa en un ordenador,
 - 25 - un programa informático que comprende medios de programa para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción mientras se está ejecutando el programa informático en un ordenador o en una red informática,
 - 30 - un programa informático que comprende medios de programa de acuerdo con el modo de realización precedente, en el que los medios de programa se almacenan en un medio de almacenamiento legible para un ordenador,
 - 35 - un medio de almacenamiento, en el que una estructura de datos se almacena en el medio de almacenamiento y en el que la estructura de datos se adapta para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción después de haberse cargado en un almacenamiento principal y/o de trabajo de un ordenador o de una red informática, y
 - un producto de programa informático que tiene medios de código de programa, en el que los medios de código de programa se pueden almacenar o se almacenan en un medio de almacenamiento, para realizar el procedimiento de acuerdo con uno de los modos de realización descritos en esta descripción, si los medios de código de programa se ejecutan en un ordenador o en una red informática.

Breve descripción de las figuras

Otros rasgos característicos y modos de realización opcionales de la invención se divulgarán con más detalle en la posterior descripción de los modos de realización. En los mismos, los rasgos característicos opcionales respectivos, por ejemplo, los descritos en las reivindicaciones dependientes, se pueden obtener de forma aislada así como en cualquier combinación factible arbitraria, como se dará cuenta el experto en la técnica. El alcance de la invención no está restringido por los modos de realización descritos en los ejemplos. Los modos de realización se representan esquemáticamente en las figuras. En las mismas, los números de referencia idénticos en estas figuras se refieren a elementos idénticos o funcionalmente comparables.

En las figuras:

- Figura 1 muestra una vista esquemática de una divulgación ejemplar de un elemento sensor de acuerdo con la presente invención; A: vista superior, B: vista en sección transversal a lo largo del eje A-A';
- Figura 2 muestra una vista superior esquemática de otra divulgación ejemplar de un elemento sensor de acuerdo con la presente invención;
- Figura 3 muestra una vista en sección transversal esquemática de una configuración de electrodos frente a frente conectados a un potencióstato.
- Figura 4 muestra una vista en sección transversal esquemática de un modo de realización ejemplar de un sistema de prueba y un dispositivo de prueba de la presente invención.
- Figura 5 muestra una representación esquemática del principio subyacente de la medición que compensa la interferencia de la presente invención; EM: reactivo indicador (electromediador), IF: compuesto interferente (activo de oxidorreducción); la contribución del compuesto interferente es la misma en ambas polaridades, mientras que la glucosa solo contribuye a la corriente medida si se aplica un voltaje positivo.
- Figura 6 muestra un gráfico que representa la corriente medida después de aplicar el voltaje indicado entre los dos electrodos en un elemento de prueba de acuerdo con la presente invención, eje x: tiempo (t) en s, eje y: corriente (A) medida en μA o voltaje (U) aplicado en mV. Línea punteada: voltaje aplicado; línea continua: corriente medida usando una solución con 120 mg/dl de glucosa como muestra, línea discontinua: corriente medida usando una solución con 30 mg/dl de glucosa + 30 mg/dl de ácido ascórbico como muestra.
- Figura 7 muestra un gráfico que representa la corriente medida después de aplicar el voltaje indicado entre los dos electrodos en un elemento de prueba de acuerdo con la presente invención, eje x: voltaje (U) aplicado en mV, eje y: corriente (I) medida en μA , tiempo de muestreo $t = 5$ s; las muestras fueron: triángulos: glucosa (600 mg/dl); rombos: ácido ascórbico (100 mg/dl). Se midieron dos tiras reactivas para cada muestra.
- Figura 8 muestra un gráfico que representa la corriente medida después de aplicar y mantener el voltaje indicado entre los dos electrodos en un elemento de prueba de acuerdo con la presente invención, eje x: tiempo (t) aplicado en ms, eje y: corriente (I) medida en μA ; rombos: corriente medida usando una solución con 120 mg/dl de glucosa como muestra, triángulos: corriente medida usando una solución con 30 mg/dl de glucosa + 30 mg/dl de ácido ascórbico como muestra.

Descripción detallada de los modos de realización

En la figura 1, se representa una vista esquemática de una divulgación ejemplar de un elemento sensor 110. En esta divulgación ejemplar, el elemento sensor 110 se diseña como una tira reactiva. Sin embargo, adicionalmente o de forma alternativa, se pueden usar otros tipos de elementos sensores 110, tales como cintas reactivas y/o discos reactivos.

El elemento sensor 110, como se explica anteriormente, comprende al menos un primer electrodo 112 que se pone en contacto con una matriz química activa 116; y al menos un segundo electrodo 114 que se pone en contacto con una matriz química inactiva 118. El primer electrodo 112 y el segundo electrodo 114 están localizados en un sustrato 124 como una capa de soporte. Se entiende por el experto en la técnica que el elemento sensor 110 también se puede realizar en una forma cerrada, en el que el elemento sensor comprende un elemento capilar que guía la muestra de análisis 126 a la matriz química activa 116 y a la matriz química inactiva 118. La matriz química activa 116 y la matriz química inactiva 118 pueden estar en contacto directo entre sí (como se muestra en la figura 1 y 2) o, en modos de realización alternativos de la invención, separados entre sí. El primer electrodo 112 comprende en un extremo que no está cubierto por la matriz química activa 116 un elemento de contacto del primer electrodo 120. El

segundo electrodo 114 comprende en un extremo que no está cubierto por la matriz química inactiva 118 un elemento de contacto del segundo electrodo 122. Estos elementos de contacto 120, 122 se pueden usar para conectar de forma conductora el elemento sensor 110 a una unidad de medición para determinar el analito.

- 5 El elemento sensor ejemplar 110 representado en la figura 2 comprende los mismos elementos que el elemento sensor ejemplar representado en la figura 1. Sin embargo, la disposición espacial de los elementos es diferente.

10 En la figura 3, se representa una vista en sección transversal esquemática de otra divulgación ejemplar de un elemento sensor 110. En esta divulgación ejemplar, el elemento sensor 110 se diseña en una configuración frente a frente. El elemento sensor frente a frente 110 comprende los mismos elementos que el elemento sensor de las figs. 1 o 2, sin embargo, el primer electrodo 112 que se pone en contacto con la matriz química activa 116 y el segundo electrodo 114 que se pone en contacto con la matriz química inactiva 118 se disponen en una orientación opuesta. El primer electrodo 112 y el segundo electrodo 114 se localizan ambos en sustratos 124 como sus respectivas capas de soporte. La muestra se puede localizar dentro de la cámara de muestra 154 entre el primer electrodo 112 y el segundo electrodo 114 y está en contacto con ambos electrodos 112, 114. La cámara de muestra puede comprender dimensiones capilares que permitan que la muestra fluya y llene la cámara de muestra por acciones capilares. Se usa un potencióstato 152 para aplicar voltajes de polaridad y magnitud definidas al primer electrodo 112 y al segundo electrodo 114.

20 En la figura 4, se representa una vista en sección transversal de una divulgación de un dispositivo de prueba 132 y un sistema de prueba 130. El dispositivo de prueba 132, en un modo de realización, se realiza como un dispositivo de mano. El dispositivo de prueba 132, en un modo de realización, comprende una carcasa 150, que puede tener un volumen de menos de 1000 cm³, en un modo de realización, de menos de 500 cm³, para que se transporte por una persona. El dispositivo de prueba 132 comprende un receptáculo 146 para recibir un elemento sensor 110, que, además del dispositivo de prueba 132, forma un componente del sistema de prueba 130. El receptáculo 146 se adapta para localizar el elemento sensor 110 en al menos una posición de aplicación en la que una muestra de análisis 126 de un líquido corporal es aplicable al elemento sensor 110.

30 El dispositivo de prueba 132 comprende además una unidad de medición 148 que mide el cambio en una propiedad electroquímica de la matriz química activa 116 y la matriz química inactiva 118 comprendidas en el elemento sensor 110. Para este fin, la unidad de medición se conecta de forma conductora al primer electrodo 112 por medio del elemento de contacto del primer electrodo 120 y el elemento de contacto que se pone en contacto con el elemento de contacto del primer electrodo 138, y al segundo electrodo 114 por medio del elemento de contacto del segundo electrodo 122 y el elemento de contacto que se pone en contacto con el elemento de contacto del segundo electrodo 140.

40 El dispositivo de prueba 132 comprende además al menos una unidad de evaluación 144 que se adapta para determinar la concentración del analito usando los valores medidos por la unidad de medición 148. La unidad de evaluación 144, en un modo de realización, puede ser o puede comprender al menos un dispositivo de procesamiento de datos, tal como al menos un ordenador y/o al menos un circuito integrado específico de la aplicación. Como ejemplo, la unidad de evaluación 144 puede comprender un microordenador. Además, la unidad de evaluación 144 puede comprender uno o más de otros elementos, tales como al menos un dispositivo de almacenamiento de datos y/u otros componentes.

45 La unidad de evaluación 144 se conecta unidireccional o bidireccionalmente a la unidad de medición 148, tal como para recibir valores de medición desde la unidad de medición 148. Además, la unidad de evaluación 144 se puede adaptar para controlar la funcionalidad global del dispositivo de prueba 132, tal como para controlar el procedimiento de medición realizado por la unidad de medición 148.

50 El dispositivo de prueba 132 puede comprender además una o más interfaces hombre-máquina, tales como al menos una pantalla 136 y/o al menos un elemento de control 134, tal como al menos un botón pulsador. Los elementos 134, 136 también se pueden conectar a la unidad de evaluación 144.

55 El dispositivo de prueba 132 puede comprender además al menos una interfaz electrónica 142, para el intercambio unidireccional y/o bidireccional de datos y/o comandos con uno o más dispositivos externos, tales como una interfaz inalámbrica y/o con cable.

60 La figura 5 muestra una representación esquemática del principio subyacente de la medición que compensa la interferencia de la presente invención. El primer electrodo 112 se pone en contacto con la matriz química activa 116, y el segundo electrodo 114 se pone en contacto con la matriz química inactiva 118. En la matriz química activa 116, la glucosa se oxida por la enzima glucosa deshidrogenasa (GDH) para producir dinucleótido de flavina y adenina (FAD) reducido; en la matriz química inactiva 118, en ausencia de GDH, la glucosa no se oxida y no se produce FAD reducido. Por tanto, en la polaridad de la fig. 5a), la glucosa y un compuesto interferente (IF) contribuyen a la reducción del reactivo indicador (electromediador, EM) y, por tanto, a la corriente medida. Por el contrario, en la polaridad de la fig. 5b), solo el IF puede contribuir a la corriente. Por tanto, la contribución del compuesto interferente es la misma en ambas polaridades (+ 500 mV y - 500 mV)), mientras que la glucosa solo contribuye a la corriente

medida si se aplica un voltaje positivo.

Los gráficos en las figs. 6-8 muestran los resultados de una medición dinámica en tiras reactivas frente a frente que implementan la compensación de interferente de la presente invención. La configuración de prueba usó tiras reactivas de electrodo frente a frente desechables correspondientes, en principio, a la configuración representada esquemáticamente en la fig. 3: usando una lámina de poliéster como sustrato (soporte) 124, se depositaron 50 nm de oro pulverizado como primer y segundo electrodo 112, 114 y se aplicaron aproximadamente 5 μm de matriz química 116, 118 (grosor medido después del secado). Las matrices químicas comprendían espesantes convencionales, formadores de película, compuestos tampón, detergentes y estabilizantes y similares conocidos en la técnica; el mediador de oxidorreducción usado fue una nitrosoanilina. La enzima usada en la matriz química activa 116 fue una glucosa deshidrogenasa (GDH) que usa FAD como cofactor; en la matriz química inactiva 118, se reemplazó la GDH por albúmina. Las dimensiones de la cámara de muestra fueron 0,2 mm x 2 mm x 10 mm; en consecuencia, la distancia entre el primer electrodo 112 y el segundo electrodo 114 fue de 0,2 mm.

15 Ejemplo 1

En el ejemplo de la fig. 6, se aplica una señal de voltaje triangular a los electrodos. Se comparan los resultados de las pruebas con una solución de glucosa y una solución que contiene glucosa y el compuesto interferente ácido ascórbico. Cuando el electrodo enzimático, es decir, el electrodo que se pone en contacto con la matriz química activa, se polariza positivamente, la respuesta de la glucosa y la sustancia interferente no se puede diferenciar. En la polaridad inversa, por otra parte, se puede separar claramente. Al analizar la respuesta de corriente de ambas polaridades en combinación con una calibración adecuada que incluye la sustancia de prueba (por ejemplo, glucosa) y la sustancia interferente (por ejemplo, ácido ascórbico), se puede calcular una señal en gran medida independiente de la sustancia interferente.

25 Ejemplo 2

La fig. 7 muestra el resultado de un experimento de corriente-voltaje estático en electrodos de compensación de interferente frente a frente. Aquí, para diferentes voltajes en el intervalo de -600 a + 600 mV se realizó una medición amperométrica cada 50 mV en una nueva tira reactiva desechable cada vez. El reactivo indicador usado fue un indicador de oxidorreducción de nitrosoanilina y la enzima fue una glucosa deshidrogenasa. Cuando una muestra que contiene glucosa entra en contacto con el reactivo que contiene enzima, la nitrosoanilina se reduce a una fenilendiamina, que a continuación se puede oxidar en el electrodo polarizado positivo. En el segundo electrodo, que no contiene la enzima, la nitrosoanilina se reduce directamente en el electrodo polarizado negativo. Entonces, para esta dirección de la polarización de los electrodos, ambos electrodos admiten una transferencia de electrones y se puede medir una corriente resultante. Cuando la polarización es inversa, solo el electrón cargado negativamente puede admitir una transferencia de electrones al reducir la nitrosoanilina. En el electrodo sin enzimas polarizado, ahora positivo, no hay fenilendiamina presente y, por lo tanto, no se admite la transferencia de electrones. Como resultado, no se puede medir la corriente.

Si en lugar de la muestra que contiene glucosa, el experimento se repite con ácido ascórbico, se recibe una respuesta de corriente para ambas direcciones de la polarización. La nitrosoanilina se reduce por el ácido ascórbico independientemente de si la enzima glucosa-deshidrogenasa está presente o no. Se puede usar el mismo procedimiento de compensación de interferente, si una sustancia interferente interactúa directamente con el electrodo y no indirectamente con el mediador de oxidorreducción. Si para ambas direcciones de polarización se mide la respuesta de corriente de la reacción en el electrodo de la sustancia interferente, esto se puede usar para corregir la prueba analítica real (por ejemplo, una medición de concentración de glucosa) en combinación con un algoritmo y calibración adecuados.

50 Ejemplo 3:

La fig. 8 muestra un ejemplo de una secuencia de prueba que implementa las fases de prueba de polaridad inversa.

En una primera parte de la secuencia de prueba (1000 ms - 4000 ms en la fig. 8) la polaridad polariza positivamente el electrodo que contiene la enzima. El voltaje aplicado es de +500 mV. Si una muestra que contiene glucosa se dosifica a la tira reactiva, se puede medir una respuesta de corriente amperométrica. En el electrodo positivo, la fenilendiamina producida por la reacción enzimática suministra electrones al electrodo. En el electrodo polarizado negativamente, la nitrosoanilina se reduce y captura los electrones del electrodo. En una segunda fase de medición (4000 ms - 7000 ms en la fig. 8) se aplica un voltaje cero a los electrodos. Sin la polarización no se produce ninguna reacción en los electrodos para el sistema de electrodos usado. En consecuencia, los productos de reacción de oxidorreducción tienen tiempo para volver a difundirse desde la zona de reacción del electrodo, de modo que cuando los electrodos se polarizan a la polaridad inversa, se minimiza la respuesta de corriente resultante de los productos de reacción generados en la primera etapa. Como tercera etapa amperométrica (7000 ms - 10000 ms en la fig. 8), se aplica la polaridad inversa (-500 mV en referencia al electrodo de trabajo aquí definido como el electrodo que contiene la enzima). En el ejemplo, una solución que contiene glucosa (120 mg/dl) se compara con el resultado recibido con una muestra que contiene glucosa y ácido ascórbico (30 mg/dl y 30 mg/dl). Se puede

ES 2 756 714 T3

observar que en la polarización positiva (1000 ms - 4000 ms en la fig. 8) no se pueden diferenciar claramente las dos muestras, mientras que con la polaridad inversa (7000 ms - 10000 ms en la fig. 8) se puede encontrar una clara diferencia.

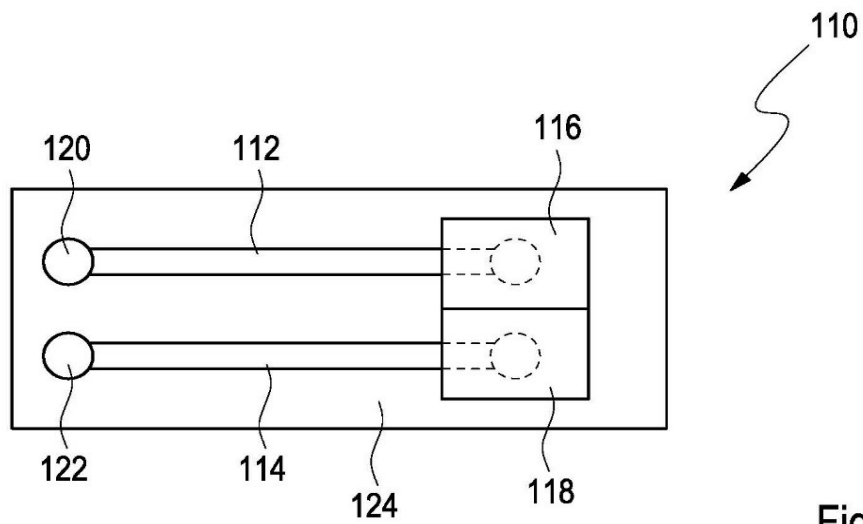
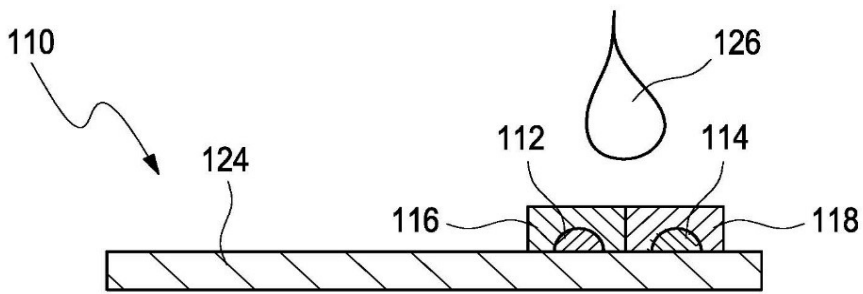
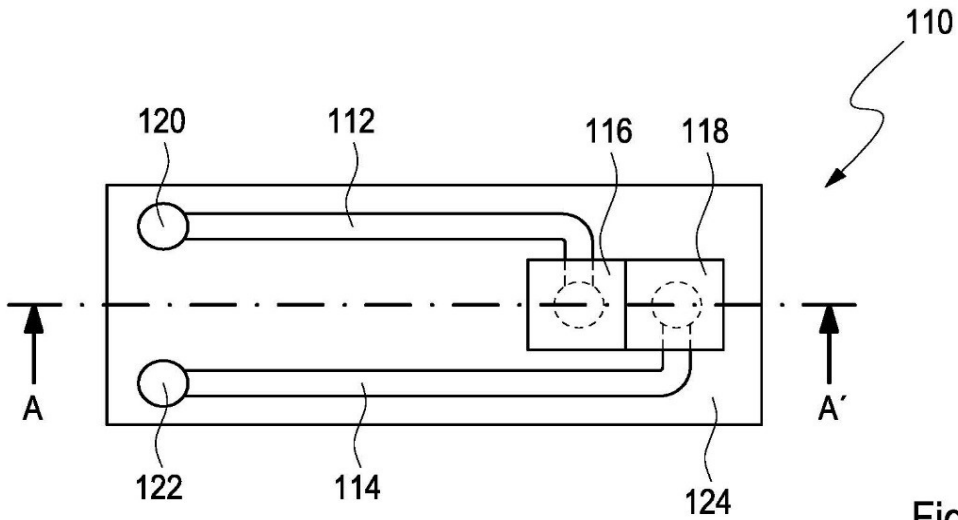
Lista de números de referencia

	110	elemento sensor
5	112	primer electrodo
	114	segundo electrodo
	116	matriz química activa
10	118	matriz química inactiva
	120	elemento de contacto del primer electrodo
15	122	elemento de contacto del segundo electrodo
	124	sustrato (soporte)
	126	muestra de análisis
20	130	sistema de prueba
	132	dispositivo de prueba
25	134	elemento de control
	136	pantalla
	138	elemento de contacto que se pone en contacto con el elemento de contacto del primer electrodo
30	140	elemento de contacto que se pone en contacto con el elemento de contacto del segundo electrodo
	142	interfase
35	144	unidad de evaluación
	146	receptáculo
	148	unidad de medición
40	150	carcasa
	152	potenciostato
45	154	cámara de muestra

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de detección de al menos un analito en una muestra de análisis (126), comprendiendo dicho procedimiento las etapas de
 - a) poner en contacto dicha muestra de análisis (126) (i) con una matriz química activa (116) que cambia al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, comprendiendo dicha matriz química activa (116) dicha actividad enzimática, poniéndose en contacto dicha matriz química activa (116) con un primer electrodo (112); y (ii) con una matriz química inactiva (118), no comprendiendo dicha matriz química inactiva (118) dicha actividad enzimática, poniéndose en contacto dicha matriz química inactiva con un segundo electrodo (114),
 - b) cerrar un circuito eléctrico que incluye dicho primer electrodo (112), dicho segundo electrodo (114) y dicha matriz química activa (116) e inactiva (118), seguido de determinar un primer valor de dicha al menos una propiedad electroquímica,
 - c) invertir la polaridad eléctrica del circuito eléctrico de b), seguido de determinar un segundo valor de dicha al menos una propiedad electroquímica, y
 - d) detectar dicho al menos un analito en base a dicho primer valor y a dicho segundo valor.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que detectar dicho al menos un analito comprende calcular una diferencia entre dicho primer valor determinado en la etapa b) y dicho segundo valor determinado en la etapa c).
3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que la etapa b) comprende aplicar un voltaje a dicho circuito eléctrico.
4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que la etapa c) comprende aplicar un voltaje invertido con relación al voltaje de la etapa b) a dicho circuito eléctrico.
5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el voltaje aplicado en la etapa c) corresponde al voltaje aplicado en b) \pm 40 %.
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, puesto en práctica usando un elemento sensor (110) para determinar al menos un analito, que comprende un par de electrodos (112, 114) y al menos dicha matriz química activa y dicha matriz química inactiva (116, 118) en el que dicho par de electrodos (112, 114) consiste en dos electrodos aislados eléctricamente de otros electrodos de modo que dicho par de electrodos (112, 114) se separa de cualquier electrodo adicional potencialmente presente en dicho elemento sensor (110) de modo que (i) la resistencia entre el primer electrodo (112) del par de electrodos y cualquier electrodo adicional y (ii) la resistencia entre el segundo electrodo (114) del par de electrodos y cualquier electrodo adicional, son ambas al menos de 25 k Ω después de la aplicación de dicha muestra de análisis al elemento sensor.
7. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que la composición de dicha matriz química activa (116) difiere de la composición de dicha matriz química inactiva (118) solo por la presencia de dicha actividad enzimática, en un modo de realización en el que dicha matriz química activa (116) comprende un polipéptido que tiene dicha actividad enzimática y en el que dicha matriz química inactiva (118) comprende un polipéptido que no tiene dicha actividad enzimática.
8. El procedimiento de la reivindicación 6 o 7, en el que dicho elemento sensor (110) no comprende un electrodo de referencia.
9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho analito es glucosa.
10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicho analito está comprendido en una muestra de análisis (126), en un modo de realización, una muestra de análisis de sangre.
11. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en el que dicho elemento sensor (110) comprende además uno o más elementos capilares para guiar una muestra de análisis de líquido al/a los electrodo(s), preferentemente en el que el primer electrodo y el segundo electrodo se disponen en lados opuestos de dicho elemento capilar.
12. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en el que dicho elemento sensor (110) comprende un elemento portador que tiene una conformación de tira.

13. Un dispositivo de prueba (132) para detectar al menos un analito en una muestra de análisis (126), que comprende
- 5 i) un receptáculo (146) para un elemento sensor (110) que comprende al menos dos electrodos (112, 114) y al menos una matriz química activa (116) y una matriz química inactiva (118), cambiando dicha matriz química activa (116) al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, poniéndose en contacto un primer electrodo (112) con dicha matriz química activa (116) que comprende dicha actividad enzimática; y poniéndose en contacto un segundo electrodo (114) con dicha matriz química inactiva (118) que no comprende dicha actividad enzimática, y
- 10 ii) medios para determinar la propiedad electroquímica de dicho al menos un reactivo indicador comprendido en dicho elemento sensor (110) de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
- 15 14. Un sistema de prueba (130) que comprende
- i) un elemento sensor (110) que comprende al menos dos electrodos (112, 114) y al menos una matriz química activa (116) y una matriz química inactiva (118), cambiando dicha matriz química activa (116) al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito, poniéndose en contacto un primer electrodo (112) con dicha matriz química activa (116) que comprende dicha actividad enzimática; y poniéndose en contacto un segundo electrodo (114) con dicha matriz química inactiva (118) que no comprende dicha actividad enzimática, y
- 20 ii) un dispositivo de prueba (132) que comprende un receptáculo (146) para el elemento sensor (110) de a) y medios para determinar la propiedad electroquímica de dichas matrices químicas (116, 118) comprendidas en dicho elemento sensor (110) de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
- 25 15. Uso de un elemento sensor (110) que comprende un par de electrodos (112, 114) y al menos una matriz química activa y una inactiva (116, 118), cambiando dicha matriz química activa (116) al menos una propiedad electroquímica dependiente de una actividad enzimática activa en presencia de dicho analito,
- 30 i) en el que dicho par de electrodos (112, 114) consiste en dos electrodos (112, 114) aislados eléctricamente de otros electrodos de modo que dicho par de electrodos (112, 114) está separado de cualquier electrodo adicional potencialmente presente en dicho elemento sensor (110) de modo que (i) la resistencia entre el primer electrodo (112) del par de electrodos y cualquier electrodo adicional y (ii) la resistencia entre el segundo electrodo (114) del par de electrodos y cualquier electrodo adicional, son ambas al menos de 25 kΩ después de la aplicación de dicha muestra de análisis al elemento sensor
- 35 ii) en el que dicha matriz química activa (116) comprende dicha actividad enzimática y en el que dicha matriz química inactiva (118) no comprende dicha actividad enzimática, y
- 40 iii) en el que un primer electrodo (112) de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química activa (116) y en el que un segundo electrodo (114) de dicho par de electrodos se pone en contacto con dicha matriz química inactiva (118) para detectar al menos un analito de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
- 45



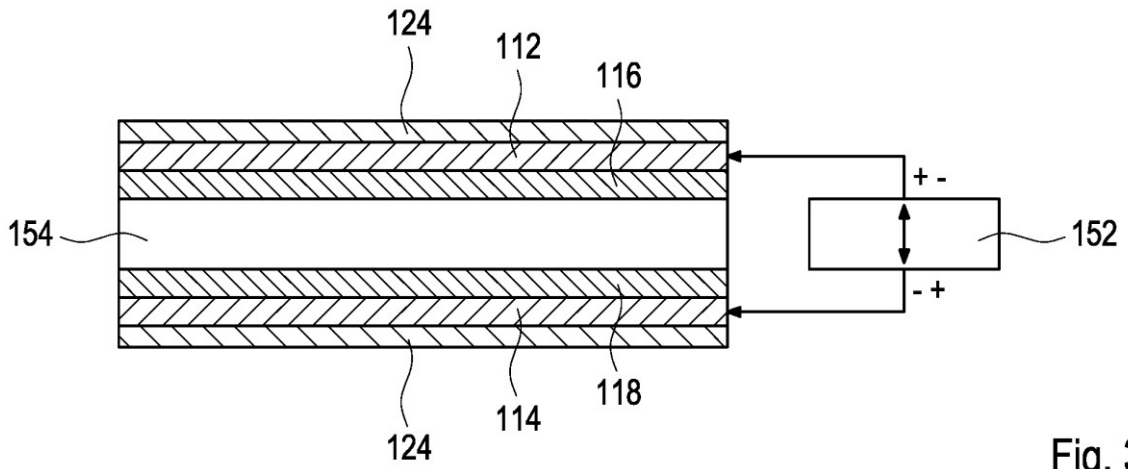


Fig. 3

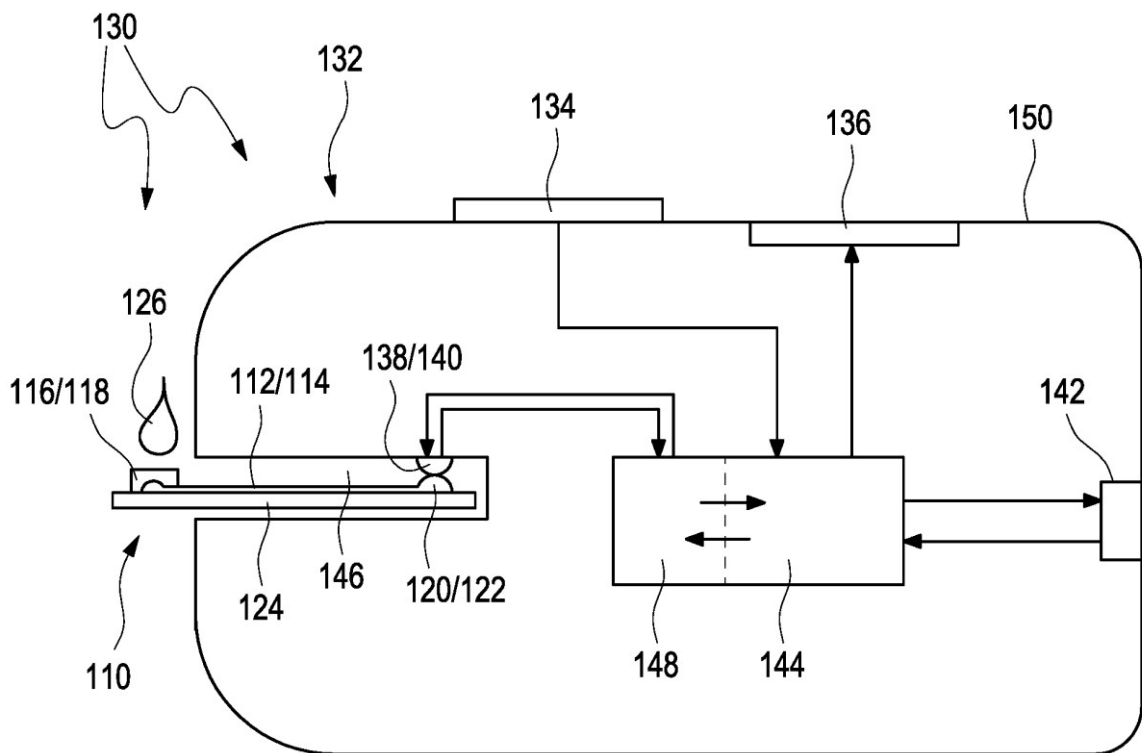


Fig. 4

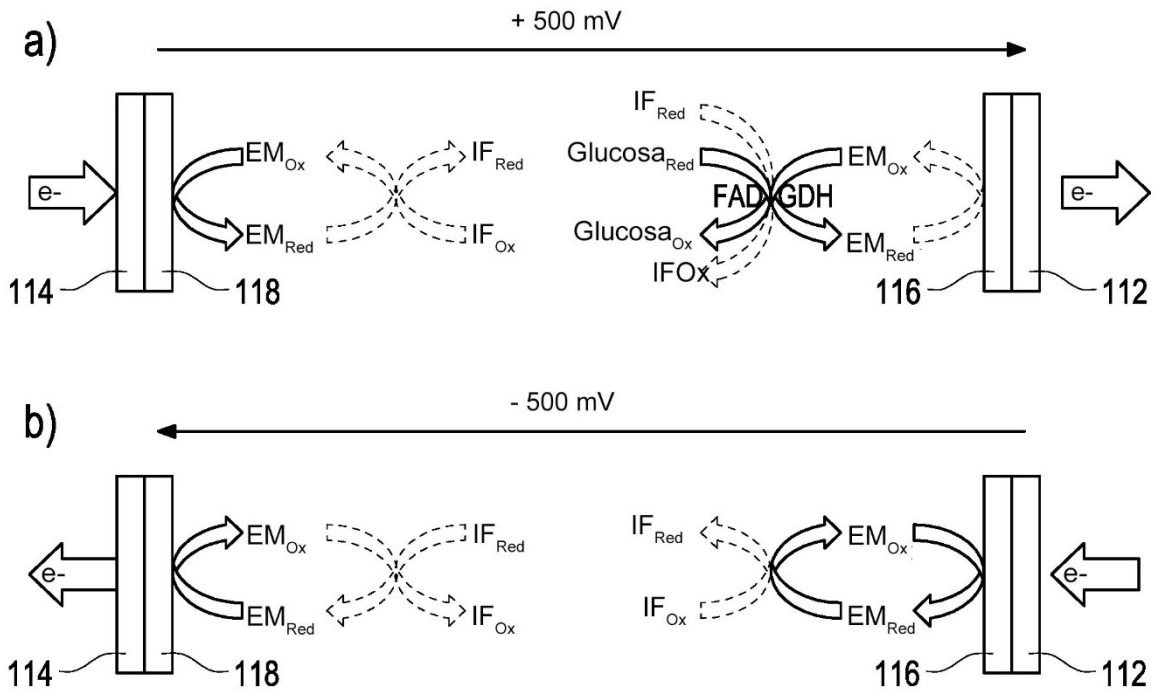


Fig. 5

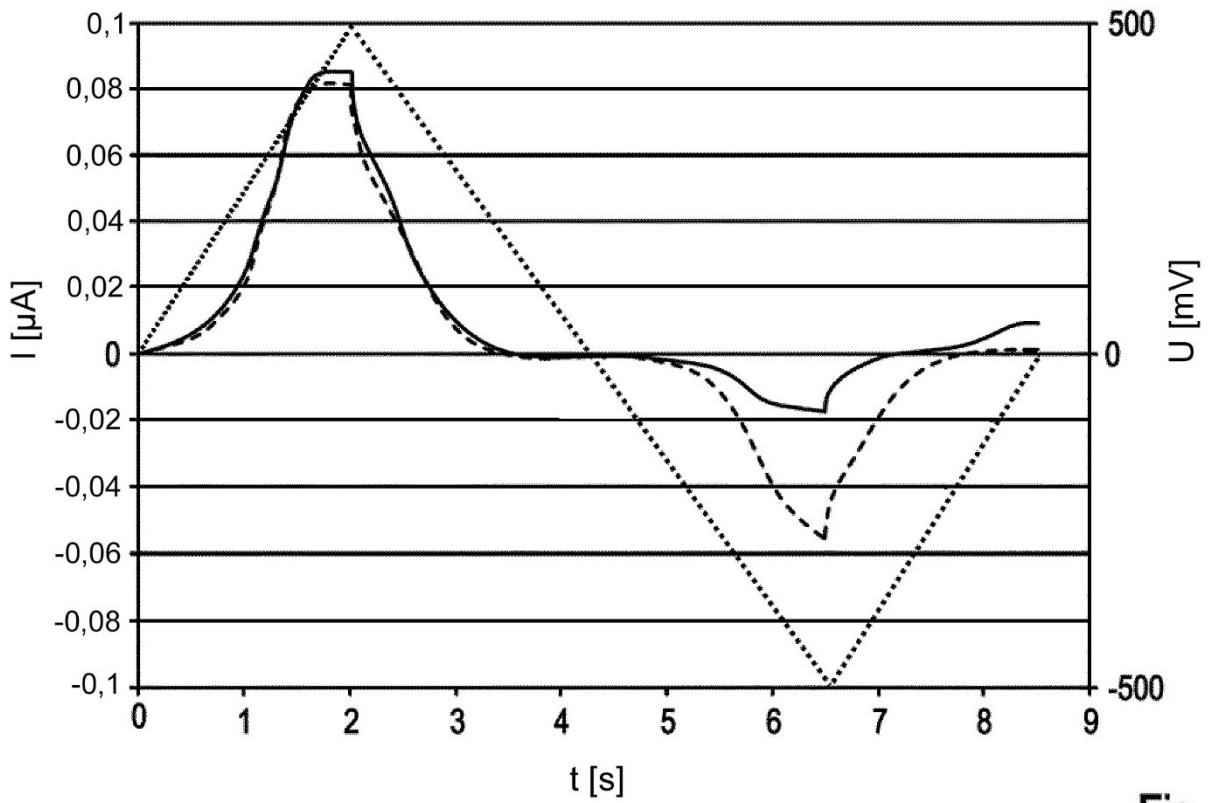


Fig. 6

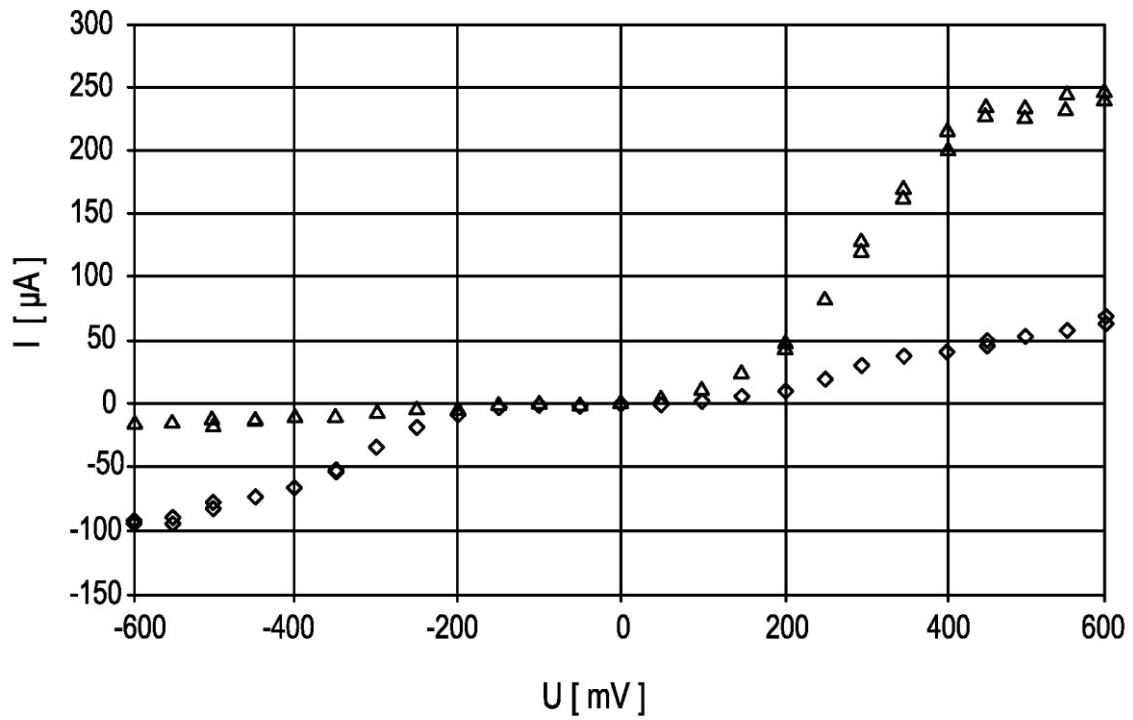


Fig. 7

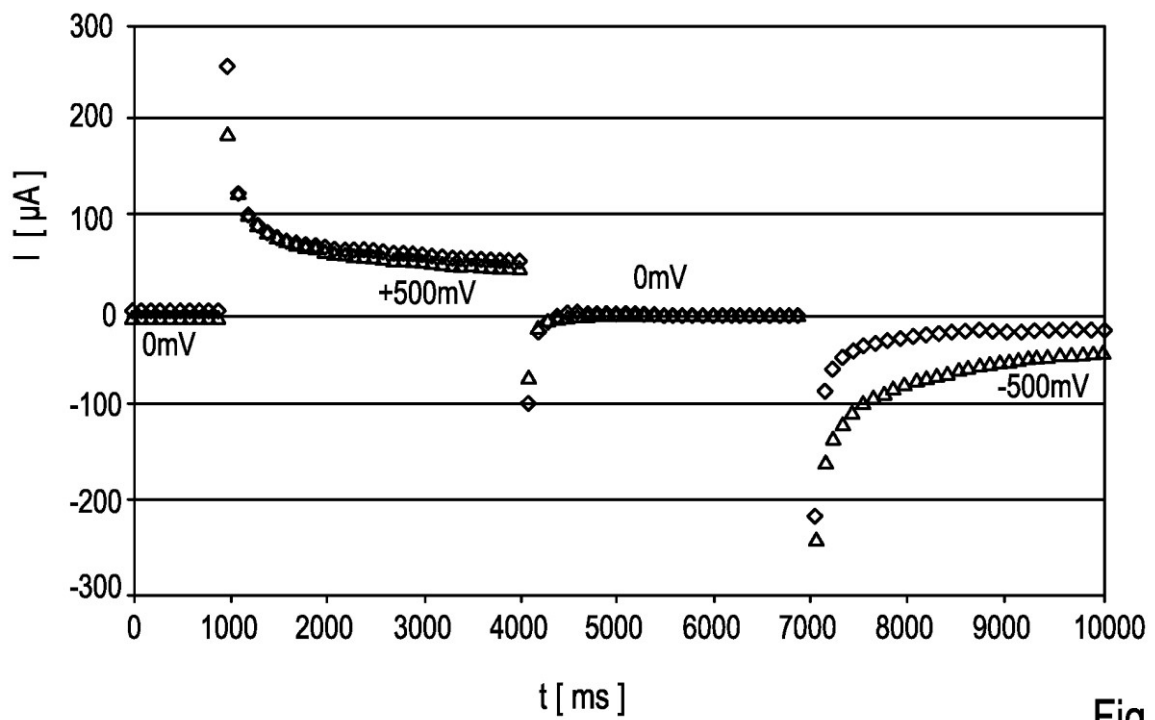


Fig. 8