(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 349 841**

(21) Número de solicitud: 200930148

(51) Int. Cl.:

A61B 5/00 (2006.01)
G01N 33/66 (2006.01)
G01N 33/72 (2006.01)
A61N 1/18 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN B1

(22) Fecha de presentación: **11.05.2009**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2011**

Fecha de la concesión: **24.10.2011**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **04.11.2011**

(45) Fecha de publicación del folleto de la patente: **04.11.2011**

(73) Titular/es: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)**
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES

(72) Inventor/es: **Mas Colomina, Roser y**
Muñoz Pascual, Francisco Javier

(74) Agente: **Pons Ariño, Ángel**

(54) Título: **Dispositivo no invasivo para la detección de metabolitos en el sudor.**

(57) Resumen:
Dispositivo no invasivo para la detección de metabolitos en el sudor.
Dispositivo (1) no invasivo para la medida de metabolitos en el sudor, que comprende un sustrato (2) adecuado para su fijación sobre la piel de un paciente, en cuya cara interna se disponen al menos los siguientes elementos: un medio de generación de sudor (3a, 3b) adecuado para provocar sudoración en una superficie de estimulación de la piel del paciente; y un chip de medida (5), conectado a la superficie de estimulación por medio de unos microcanales (4) capaces de dirigir el sudor generado desde la superficie de estimulación hasta el chip de medida (5). El chip de medida (5) comprende un microelectrodo de trabajo (5a), un microelectrodo de referencia (5b) y un microelectrodo auxiliar (5c), siendo su superficie adecuada para inmovilizar unas enzimas que generan una corriente cuando entran en contacto con el metabolito cuya concentración se desea medir.

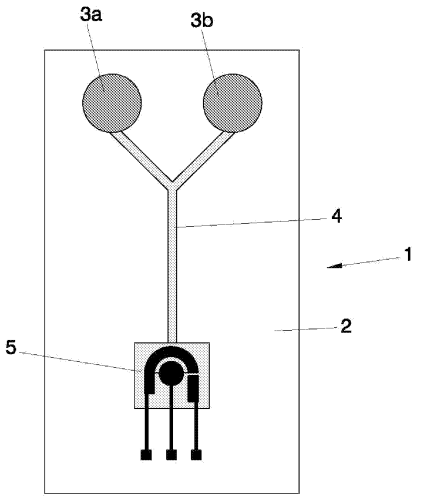


FIG. 1

ES 2 349 841 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Dispositivo no invasivo para la detección de metabolitos en el sudor.

Objeto de la invención

La presente invención está dirigida a un dispositivo que sirve para la detección de metabolitos, como por ejemplo la glucosa o la bilirrubina, en el sudor de un paciente. La detección y/o medida se realizan de modo no invasivo, y por lo tanto más cómodo para el paciente.

Antecedentes de la invención

Algunas enfermedades se pueden detectar mediante un análisis que determine la concentración de ciertos metabolitos en la sangre, por ejemplo la glucosa en el caso de enfermos de diabetes. Sin embargo, el uso de técnicas invasivas hace que muchos métodos utilizados hasta ahora sean inviables para un control periódico de la concentración de dicho metabolito. Un modo indirecto de realizar este control es a través de la medida de la concentración del metabolito en cuestión en algún fluido corporal distinto de la sangre cuya obtención no requiera técnicas invasivas, realizándose posteriormente una correlación de la concentración en dicho fluido corporal del metabolito con la concentración en sangre.

Por ejemplo, es posible medir la concentración de glucosa en pacientes diabéticos a través del sudor. En este caso, para provocar el sudor se estimulan las glándulas sudoríparas, pudiendo utilizar diferentes métodos, como por ejemplo el empleo de drogas como la pilocarpina, induciendo que emitan un sudor con las mismas cualidades que un sudor emitido fisiológicamente. Para que la pilocarpina atraviese la piel del paciente y llegue a las glándulas sudoríparas, es necesario además aplicar una pequeña corriente eléctrica en la zona. A continuación, el sudor generado se recoge con el fin de analizarlo. La recogida se debe realizar sin ninguna alteración de su calidad: ni mancha, ni evaporación, ni pérdida de líquido. Para ello, después de la estimulación, la piel se suele limpiar, secar y simplemente se recubre con un Parafilm, de manera que se obtenga un recubrimiento hermético. Después de 2 a 15 minutos de sudación, se coloca un electrodo de medida sobre el lugar que recibió la pilocarpina.

Un inconveniente de este método es que es prácticamente imposible controlar la cantidad de sudor emitida, solo la experiencia del operador permite apreciar si la sudación es suficiente o no. Para solucionar este problema, algunos sistemas proponen la recogida en una pequeña cúpula o perculada por encima, fijada sobre la piel con un adhesivo. En la solicitud de patente DE 10113143 se describe un sistema donde la generación de sudor se consigue mediante calentamiento de la zona de medida y medida subsiguiente.

La patente WO 94/00048 sugiere la medida de cloruro y sodio sobre sudor, generado mediante la etapa de electro-estimulación integrada en el mismo substrato.

Descripción de la invención

Los inconvenientes descritos arriba se solucionan mediante el dispositivo de la invención, que permite la detección de metabolitos en el sudor de un paciente de un modo sencillo, seguro y no invasivo. En el presente documento, el término "detección" pretende hacer referencia tanto a determinar si hay o no metabolito presente en la muestra, como a obtener una medida de la cantidad de metabolito.

De acuerdo con un aspecto de la invención, el dispositivo comprende un sustrato adecuado para su fijación sobre la piel de un paciente, en cuya cara interna (la cara que está en contacto con la piel del paciente) se encuentran unos elementos que provocan la sudoración del paciente y miden la concentración de un determinado sustrato. El sustrato puede estar hecho de diferentes materiales, tanto orgánicos, por ejemplo poliméricos como el SU-8, como inorgánicos, por ejemplo el vidrio. Además, en una realización preferida de la invención el sustrato es autoadhesivo, de modo que se puede fijar sobre la piel del paciente para la realización de la medida.

A su vez, sobre la cara interna del sustrato se disponen los siguientes elementos:

- *Un medio de generación de sudor*

El medio de generación de sudor puede ser de cualquier tipo siempre que consiga de una cantidad de sudor suficiente para la realización de la medida. Por ejemplo, podría tratarse simplemente de un elemento de calentamiento.

Sin embargo, en una realización preferida de la invención se utiliza pilocarpina, que se hace penetrar a través de la piel del paciente hasta las glándulas sudoríparas por medio de una corriente eléctrica generada entre un ánodo y un cátodo que se disponen sobre la cara interna del sustrato. En realizaciones preferidas de la invención, la densidad de corriente a través del ánodo y el cátodo está entre 0,2 y 0,8 mA/cm^2.

En este caso, la pilocarpina se puede aplicar de cualquier modo sobre la superficie de estimulación, que es la piel del paciente situada entre el ánodo y el cátodo, aunque preferiblemente se aplica pilocarpina catiónica sobre el cátodo. De este modo, la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo provoca que la pilocarpina catiónica migre desde el cátodo al ánodo, atravesando así la piel del paciente hasta llegar a las glándulas sudoríparas. La concentración de pilocarpina, la intensidad eléctrica y la superficie de estimulación condicionan la duración de la estimulación.

- *Un chip de medida*

El chip de medida está conectado con la superficie de estimulación por medio de unos microcanales que sirven para dirigir, por capilaridad, el sudor generado en la superficie de estimulación hasta unos microelectrodos de dicho chip de medida, preferentemente un microelectrodo de trabajo, un microelectrodo auxiliar y un microelectrodo de referencia. La superficie del chip de medida debe ser adecuada para inmovilizar proteínas que generan una corriente después de entrar en contacto con el metabolito cuya concentración se desea medir. Finalmente, la corriente medida, que será proporcional a la cantidad de metabolito, se detecta por medio de los de microelectrodos.

En un segundo aspecto de la invención, se describe un procedimiento de medida de metabolitos en el sudor de un paciente por medio de un dispositivo, comprendiendo el dispositivo un sustrato en cuya cara interna se dispone un medio de generación de sudor conectado por unos microcanales a un chip de medida que tiene unos microelectrodos, y donde el procedimiento comprende los siguientes pasos:

1) Provocar sudoración en una superficie de estimulación del paciente. Esto se puede hacer de cualquier modo conocido, aunque en realizaciones prefe-

ridas de la invención se aplica calor sobre una zona de estimulación del paciente, o bien se aplica pilocarpina junto con una corriente eléctrica por medio de un ánodo y un cátodo.

2) Transportar el sudor generado a través de los microcanales al chip de medida, sobre el cual se han inmovilizado previamente unas proteínas que provocan la aparición de una corriente eléctrica después de entrar en contacto con el metabolito que se desea medir. Las proteínas se pueden inmovilizar de cualquier modo conocido, y estarán en función del metabolito que se desee detectar. Por ejemplo, si se desea detectar la glucosa o la bilirrubina, la proteína a inmovilizar podría ser glucosa oxidasa o bilirrubina oxidasa.

3) Detectar el metabolito presente en el sudor a partir la medida de la corriente eléctrica por medio de los microelectrodos. En este contexto, el término "detectar" pretende hacer referencia tanto a determinar la presencia o no del metabolito como a medir su concentración o cualquier parámetro equivalente.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra un esquema simplificado del dispositivo de la invención.

La Fig. 2 muestra un detalle del chip de medida del dispositivo de la invención.

Realización preferente de la invención

A continuación se describe un ejemplo de realización del dispositivo (1) de la invención haciendo referencia a las figuras adjuntas donde se aprecian las diferentes partes que lo componen. Las Figs. 1 y 2 muestran el dispositivo (1) de la invención. Se observa el sustrato (2) sobre el que están situados el ánodo (3a) y el cátodo (3b), que están unidos por medio de los microcanales (4) al chip de medida (5). El chip de medida (5), que se representa con mayor detalle en la Fig. 2, comprende un microelectrodo de trabajo (5a), un microelectrodo de referencia (5b) y un microelectrodo auxiliar (5c). Además, en este ejemplo, el sustrato (2) está fabricado en cuarzo, el ánodo (3a) y el cátodo (3b) tienen un diámetro de 1 mm. Con relación a los microcanales (4), para conseguir un efecto de capilaridad adecuado deben tener entre 50 micras y 250 micras de anchura, y entre 50 micras y 200 micras de profundidad. Concretamente, en este ejemplo tienen 200 micras de profundidad y anchura.

Se describe ahora el procedimiento de uso del dispositivo (1) del ejemplo para la detección de bilirrubina en sudor. En primer lugar, se prepara el dispositivo (1) de la invención para esta aplicación en particular: se cubre el cátodo (3b) por un gel de pilocarpina en forma de sal de cloruro, y se adhieren enzimas bilirrubina oxidasa sobre la superficie del chip de medida (5) mediante inmovilización en una membrana sensible. Para la formación de esta membrana enzimática sobre el electrodo de trabajo, se inmoviliza la bilirrubina oxidasa en un conductor molecular de polipirrol mediante un proceso de electropolimerización rápido.

Una vez preparado el dispositivo (1), se aplica entre el ánodo (3a) y el cátodo (3b) una densidad de corriente de alrededor de 0,6 mA/cm^2 durante unos pocos segundos. Aproximadamente 5 minutos después aflora a la 10 superficie de la piel el sudor generado por el efecto de la pilocarpina. Los microcanales (4) dirigen el sudor hacia el chip de medida (5), donde los microelectrodos (5a, 5b, 5c) permiten medir la corriente generada debido a la metabolización de la bilirrubina por la enzima bilirrubina oxidasa.

Por último, la figura 3 muestra la respuesta del biosensor de bilirrubina que se encuentra en el chip de medida (5) al entrar en contacto con la bilirrubina presente en el sudor. Se puede observar la capacidad de detectar y cuantificar 1 nanogramo de bilirrubina.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo (1) no invasivo para la medida de metabolitos en el sudor, **caracterizado** porque comprende un sustrato (2) adecuado para su fijación sobre la piel de un paciente, en cuya cara interna se disponen al menos los siguientes elementos:

un medio de generación de sudor (3a, 3b) adecuado para provocar sudoración en una superficie de estimulación de la piel del paciente; y

un chip de medida (5), conectado a la superficie de estimulación por medio de unos microcanales (4) capaces de dirigir el sudor generado desde la superficie de estimulación hasta el chip de medida (5), que comprende unos microelectrodos (5a, 5b, 5c), y donde la superficie de dicho chip de medida (5) es adecuada para inmovilizar una proteína que genera una corriente eléctrica cuando entra en contacto con el metabolito cuya concentración se desea medir.

2. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 1, donde el chip de medida (5) comprende un microelectrodo de trabajo (5a), un microelectrodo de referencia (5b) y un microelectrodo auxiliar (5c).

3. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el medio de generación de sudor (3a 3b) comprende un ánodo (3a) y un cátodo (3b) capaces de generar una corriente eléctrica adecuada para facilitar la penetración de pilocarpina a través de la piel del paciente.

4. Dispositivo (1) de acuerdo con la reivindicación 3, donde la corriente eléctrica generada entre el ánodo (3a) y el cátodo (3b) está entre 0,2 mA/cm^2 y 0,8 mA/cm^2.

5. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-4, donde el cátodo (3b) está impregnado con pilocarpina catiónica.

6. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el sustrato (2) es autoadhesivo.

7. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde los microcanales tienen entre 50 micras y 250 micras de anchura y entre 50 micras y 200 micras de profundidad.

8. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la proteína es glucosa oxidasa.

9. Dispositivo (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la proteína es bilirrubina oxidasa.

10. Procedimiento de medida de metabolitos en el sudor de un paciente empleando un dispositivo (1) que comprende un sustrato (2) en cuya cara interna se dispone un medio (3a, 3b) de generación de sudor conectado por unos microcanales (4) a un chip de medida (5) que tiene unos microelectrodos (5a, 5b, 5c), que comprende las siguientes operaciones:

provocar sudoración en una superficie de estimulación del paciente;

transportar el sudor generado a través de los microcanales (4) al chip de medida (5), sobre el cual se han inmovilizado previamente unas proteínas que provocan la aparición de una corriente eléctrica después de entrar en contacto con el metabolito que se desea medir; y

detectar el metabolito presente en el sudor a partir la medida de la corriente eléctrica por medio de los microelectrodos (5a, 5b, 5c).

11. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, donde la operación de provocar la sudoración del paciente se realiza aplicando calor a la superficie de estimulación del paciente.

12. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, donde la operación de provocar la sudoración del paciente a su vez comprende las siguientes etapas:

- aplicar pilocarpina a la superficie de estimulación; y

- aplicar una corriente eléctrica a la superficie de estimulación por medio de un ánodo (3a) y un cátodo (3b).

13. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10-12, donde la proteína que se inmoviliza sobre el chip de medida (5) es bilirrubina oxidasa o glucosa oxidasa.

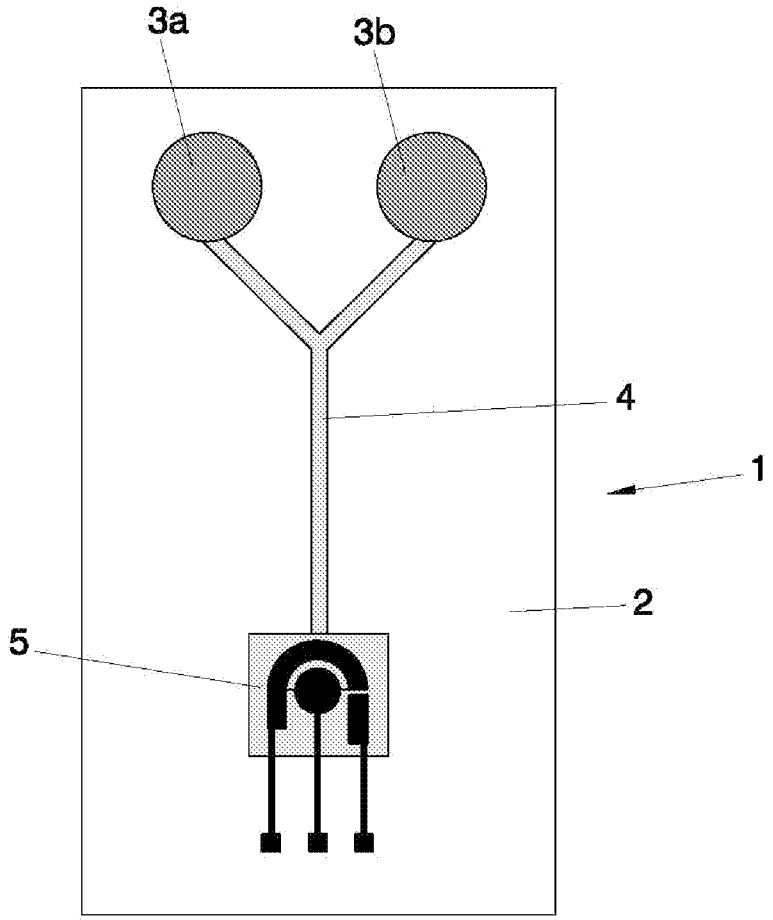


FIG. 1

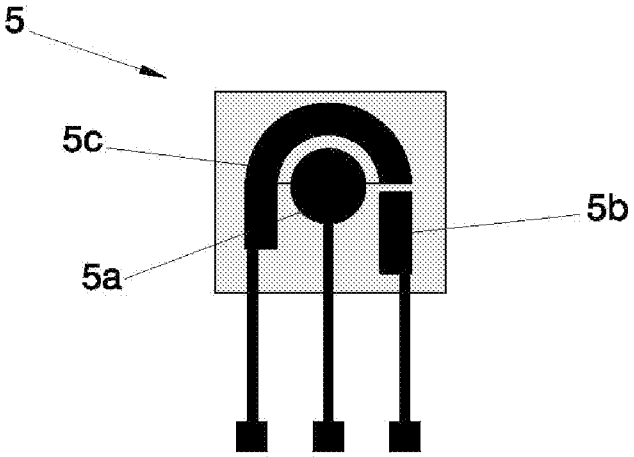


FIG. 2

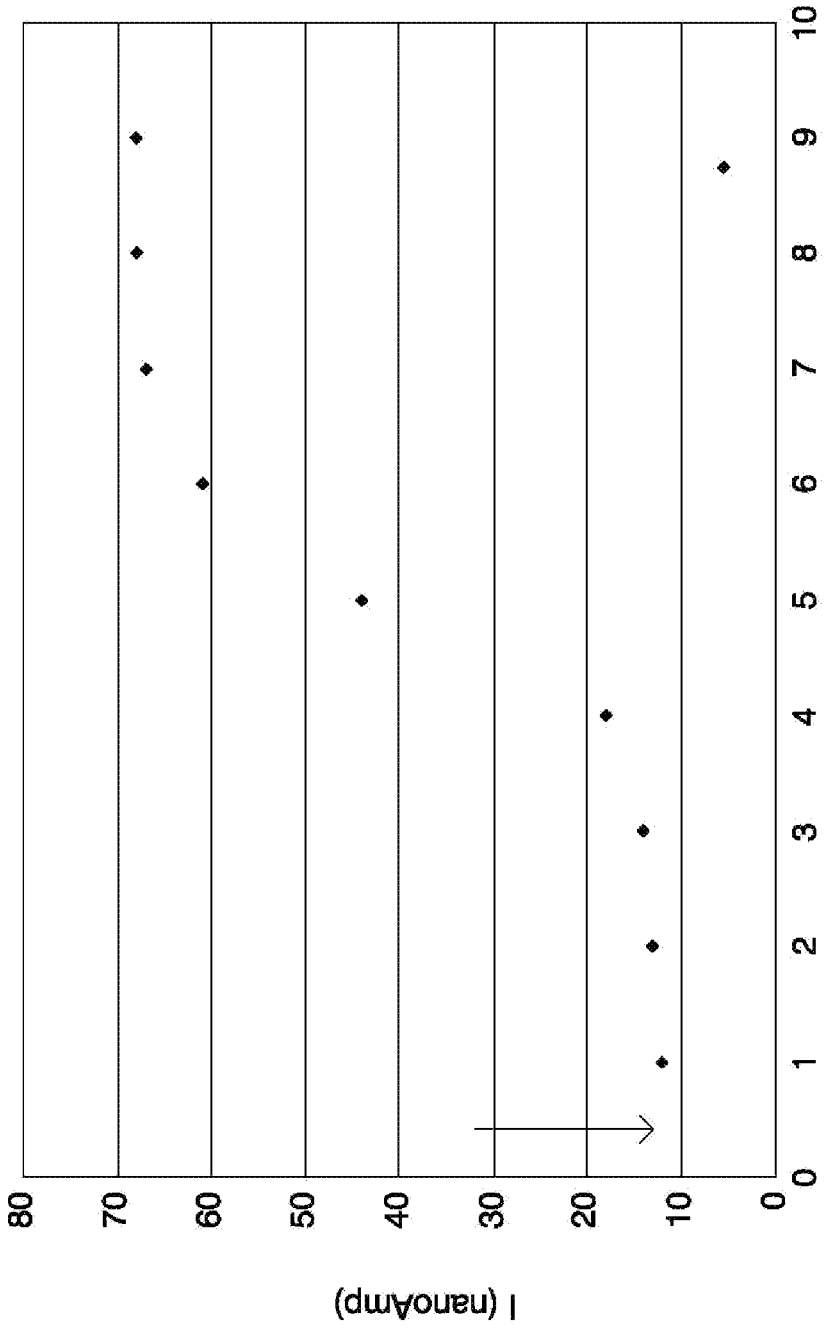


FIG. 3

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 200930148

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **11.05.2009**

(32) Fecha de prioridad: **00-00-0000**
00-00-0000
00-00-0000

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** Ver hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	US 5036861 A (SEMBROWICH WALTER L et al.) 06.08.1991, columna 2, línea 22 - columna 4, línea 57; figuras 1-8.	1-13
Y	US 2004167383 A1 (CYGNUS THERAPEUTIC SYSTEMS) 26.08.2004, párrafos [79-89]; figuras 2-3.	1-13
A	US 5140985 A (SCHROEDER JON M; LONG JOSEPH F) 25.08.1992, columna 3, línea 51 - columna 6, línea 9.	1-13
A	WO 9600110 A1 (CYGNUS THERAPEUTIC SYSTEMS) 04.01.1996, página 12, línea 18 - página 19, línea 19; figuras 1B,1C.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
26.08.2010	M. Garcia González	1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61B 5/00 (2006.01)
G01N 33/66 (2006.01)
G01N 33/72 (2006.01)
A61N 1/18 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61B, G01N, A61N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXT

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 26.08.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-13	**SÍ**
	Reivindicaciones	_____	**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	_____	**SÍ**
	Reivindicaciones	1-13	**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial.** Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 5036861 A	06.08.1991
D02	US 2004167383 A1	26.08.2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención es un dispositivo no invasivo para medir metabolitos en el sudor, así como el procedimiento de medida de metabolitos en sudor que emplea dicho dispositivo.

El documento D01 divulga un dispositivo no invasivo para medir niveles de glucosa en el sudor que comprende un sustrato (20) adhesivo para fijar en la piel, unos electrodos (26 y 28) impregnados en pilocarpina a través de los cuales se genera una corriente eléctrica que introduce la pilocarpina a través de la piel para favorecer la generación de sudor, y unos canales (16 y 18) que conectan con el sensor de medida (62), el cual produce una señal representativa de la concentración de glucosa en sudor (ver columna 2, línea 22 - columna 4, línea 52 y referencias en figuras 1,2,7 y 8).
La estimulación para favorecer la generación de sudor se puede realizar de manera alternativa aplicando calor sobre la superficie de la piel (ver columna 4, líneas 53-57).

Si bien el documento D01 no concreta la técnica empleada para la medida de la concentración de glucosa en sudor una vez que éste ha sido generado, el documento D02 divulga un dispositivo no invasivo para la medida de la concentración de glucosa u otros metabolitos a través de la piel con un chip de medida (12,14) en el que se inmoviliza una enzima, como la glucosa oxidasa en caso de que se quiera medir glucosa, que genera una señal eléctrica al reaccionar con el metabolito que se desea medir. Esta señal se mide por medio de un electrodo de trabajo (31), un electrodo de referencia (32) y un electrodo auxiliar (30) (ver párrafos 79-85 y referencias en figuras 2 y 3). Por tanto, el experto en la materia aplicaría esta técnica junto con las enseñanzas del documento D01 sin el ejercicio de actividad inventiva, obteniendo como resultado el objeto técnico de las reivindicaciones 1-8 y 10-13.

En cuanto a la reivindicación dependiente 9 referente al empleo de bilirrubina oxidasa inmovilizada en el chip de medida en lugar de glucosa oxidasa, no se le puede conceder actividad inventiva puesto que el experto en la materia aplicaría lo divulgado en los documentos D01 y D02 para la determinación de otros metabolitos como la bilirrubina en el sudor con expectativas razonables de éxito, empleando para ello la enzima correspondiente.

En consecuencia, las reivindicaciones 1-13 de la solicitud carecen de actividad inventiva a la luz de lo divulgado en los documentos D01 y D02. (Art. 8 LP)