

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 999 412**

51 Int. Cl.:

A61B 5/18 (2006.01)
B60K 28/06 (2006.01)
B60W 40/08 (2012.01)
C12Q 1/00 (2006.01)
G01N 33/98 (2006.01)
A61B 5/1486 (2006.01)
A61B 5/145 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.01.2020** **PCT/US2020/015400**
87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2020** **WO20159981**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2020** **E 20707982 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2024** **EP 3917393**

54 Título: **Sensores de analito y procedimientos de detección para la doble detección de glucosa y etanol**

30 Prioridad:

28.01.2019 US 201962797566 P
09.08.2019 US 201962884841 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.02.2025

73 Titular/es:

ABBOTT DIABETES CARE INC. (100.00%)
1360 South Loop Road
Alameda, CA 94502, US

72 Inventor/es:

OUYANG, TIANMEI;
FELDMAN, BENJAMIN J.;
CHO, HYUN;
TRAN, LAM N.;
OJA, STEPHEN;
SLOAN, MARK K.;
KUMAR, ASHWIN;
KIAIE, NAMVAR y
LOVE, MICHAEL R.

74 Agente/Representante:

PONTI & PARTNERS, S.L.P.

ES 2 999 412 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

Sensores de analito y procedimientos de detección para la doble detección de glucosa y etanol

5 ANTECEDENTES

[0001] La detección de diversos analitos en una persona puede ser a veces vital para monitorizar el estado de su salud y bienestar. La desviación de los niveles normales de analito puede ser a menudo indicativa de una afección fisiológica subyacente, tal como una afección o enfermedad metabólica, o la exposición a condiciones ambientales particulares. Si bien un único analito puede estar desregulado de forma singular para una afección fisiológica dada, a veces ocurre que más de un analito está desregulado simultáneamente, ya sea debido a la misma afección fisiológica o como resultado de una afección fisiológica comórbida (que existe simultáneamente) relacionada o no relacionada.

[0002] La monitorización de analitos en una persona puede tener lugar de forma periódica o continua durante un período de tiempo. La monitorización periódica de analitos puede tener lugar extrayendo una muestra de fluido corporal, tal como sangre, en uno o más intervalos de tiempo y analizándola *ex vivo*. La monitorización continua de analitos puede realizarse utilizando uno o más sensores que permanecen al menos parcialmente implantados dentro de un tejido de un individuo, tal como por vía dérmica, subcutánea o intravenosa, de modo que los análisis puedan realizarse *in vivo*. Los sensores implantados pueden recopilar datos de analitos a cualquier ritmo determinado, dependiendo de las necesidades de salud particulares de una persona y/o de los niveles de analito medidos previamente, por ejemplo.

[0003] Los sensores de analito *in vivo* se configuran típicamente para analizar un único analito con el fin de proporcionar análisis específicos, empleando a menudo una enzima para proporcionar la especificidad analítica para el analito dado. Sin embargo, la interacción fisiológica entre varias combinaciones de analitos puede hacer que los análisis de múltiples analitos también sean deseables en ciertos casos. En la actualidad, el análisis *in vivo* de múltiples analitos puede requerir el uso de un número correspondiente de sensores de analito configurados para analizar cada analito. Este enfoque puede resultar inconveniente debido al requisito de que una persona use múltiples sensores de analito. Además, múltiples sensores de analito pueden representar una carga de costes inaceptable para una persona o un proveedor de seguros. También existe una mayor posibilidad de que uno de los sensores de analito independientes falle durante dichos protocolos de detección.

[0004] El documento US 2012/0132525 A1 describe polímeros para su uso como mediadores redox en biosensores electroquímicos. Los complejos de metales de transición unidos a cadenas principales poliméricas se pueden utilizar como mediadores redox en sensores electroquímicos basados en enzimas. En tales casos, los complejos de metales de transición aceptan electrones de enzimas o transfieren electrones a las mismas a una velocidad elevada y también intercambian electrones rápidamente con el sensor. Los complejos de metales de transición incluyen al menos un ligando de biimidazol sustituido o no sustituido y pueden incluir además un segundo ligando de biimidazol sustituido o no sustituido o un ligando de bipyridina o piridilimidazol sustituido o no sustituido.

[0005] El documento US 2013/0131478 A1 describe sistemas y procedimientos de uso que implican sensores que tienen una relación señal-ruido que no se ve afectada sustancialmente por el ruido no constante para la medición continua de analitos en un huésped. En algunas realizaciones, un sistema de medición continua de analitos está configurado para ser implantado de forma total, transcutánea, intravascular o extracorpórea.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0006] Las siguientes figuras se incluyen para ilustrar ciertos aspectos de la presente divulgación y no deben considerarse como realizaciones exclusivas.

La Figura 1 muestra un diagrama de un sistema de detección ilustrativo que puede incorporar un sensor de analito de la presente divulgación.

La Figura 2A muestra un diagrama de una configuración ilustrativa de sensor de analito de dos electrodos que tiene un único electrodo de trabajo, que es compatible para su uso en una o más realizaciones de la divulgación en el presente documento.

Las Figuras 2B y 2C muestran diagramas de configuraciones ilustrativas de sensores de analito de tres electrodos que tienen un único electrodo de trabajo, que son compatibles para su uso en una o más realizaciones de la divulgación en el presente documento.

La Figura 3 muestra un diagrama de una configuración ilustrativa de sensor de analito que tiene dos electrodos de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo, que es compatible para su uso en una o más realizaciones de la divulgación en el presente documento.

La Figura 4 muestra una vista en perspectiva de una configuración ilustrativa de sensor en la que múltiples electrodos son sustancialmente cilíndricos y están dispuestos concéntricamente entre sí alrededor de un sustrato central, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

La Figura 5A muestra un sistema de reacción enzimática concertada asociada con la detección de etanol utilizando alcohol oxidasa y xantina oxidasa ubicadas directamente sobre un electrodo de trabajo, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

La Figura 5B muestra un sistema de reacción enzimática concertada asociada con la detección de etanol utilizando glucosa oxidasa, catalasa y xantina oxidasa, en el que la glucosa oxidasa está alejada de un electrodo de trabajo y la xantina oxidasa está ubicada directamente sobre el electrodo de trabajo, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

Las Figuras 6A y 6B muestran vistas en perspectiva de sensores de analito que presentan electrodos cilíndricos que están dispuestos concéntricamente entre sí y configuraciones de membrana para detectar glucosa y etanol, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

La Figura 7 muestra una configuración ilustrativa de electrodo de trabajo y membrana para detectar glucosa y etanol, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

La Figura 8 muestra un esquema ilustrativo de una parte de un sensor de analito que tiene dos electrodos de trabajo y que presenta una membrana de doble capa que recubre uno de los dos electrodos de trabajo, que es compatible para su uso en algunas realizaciones de la divulgación en el presente documento.

La Figura 9A muestra dos réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene glucosa oxidasa y xantina oxidasa dispuestas en capas en áreas activas separadas y espaciadas por una membrana tras la exposición a diferentes concentraciones de etanol, en la que la catalasa está presente en el área activa que contiene glucosa oxidasa. La Figura 9B muestra datos de respuesta comparativos entre un electrodo que contiene glucosa oxidasa y xantina oxidasa dispuestas en capas en áreas activas separadas y espaciadas por una membrana tras la exposición a diferentes concentraciones de etanol, en las que la catalasa está presente en las áreas activas por separado.

La Figura 10 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente promedio frente a la concentración de etanol para los electrodos de la Figura 9.

La Figura 11 es un diagrama esquemático de un sistema de control de vehículo y monitorización de analitos de ejemplo, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación.

DESCRIPCION DETALLADA

[0007] La presente divulgación describe en general sensores de analitos y procedimientos que emplean múltiples enzimas para la detección de al menos dos analitos diferentes y, más particularmente, sensores de analitos y procedimientos que emplean múltiples enzimas para la detección de al menos glucosa y etanol.

[0008] Tal como se ha comentado anteriormente, los sensores de analito se utilizan habitualmente para detectar un único analito, empleando normalmente una enzima que tiene una especificidad particular para un sustrato particular. Sin embargo, el control de múltiples analitos puede complicarse por la necesidad de emplear un número correspondiente de sensores de analito para facilitar la detección por separado de cada analito. Este enfoque puede ser problemático o indeseable, especialmente cuando se controlan múltiples analitos *in vivo*, debido a cuestiones como, por ejemplo, el coste de múltiples sensores de analito, la comodidad del usuario al llevar puestos múltiples sensores de analito, una mayor probabilidad estadística de fallo de uno o más sensores de analito individuales, y similares.

[0009] Los sensores de analitos sensibles a la glucosa representan un campo bien estudiado y aún en evolución para ayudar a las personas diabéticas a controlar mejor su salud. A pesar de la prevalencia de afecciones comórbidas en las personas diabéticas, las químicas de sensores adecuadas para detectar otros analitos que comúnmente se desregulan en combinación con la glucosa se han quedado rezagadas en su desarrollo.

[0010] La presente divulgación proporciona sensores de analitos que son sensibles a al menos dos analitos de interés utilizando un único sensor de analitos basado en enzimas. Más particularmente, la presente divulgación proporciona sensores de analitos que son sensibles tanto a la glucosa como al etanol, dos analitos que desempeñan papeles importantes en el tratamiento de la diabetes. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "etanol" se refiere al compuesto químico C_2H_6O , y es un ingrediente de las bebidas alcohólicas; los términos "alcohol" y "etanol" se utilizan indistintamente en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario. Dichos sensores duales de glucosa y etanol pueden llevarse sobre el cuerpo para proporcionar un acceso continuo o casi continuo simultáneo a los niveles de glucosa y etanol *in vivo*.

[0011] La homeostasis de la glucosa, el equilibrio de insulina y glucagón para mantener la glucosa en sangre, es fundamental para el funcionamiento del sistema nervioso central y de varios sistemas celulares que dependen de dicha homeostasis para un metabolismo adecuado. Las fluctuaciones en la homeostasis de la glucosa (es decir, hiperglucemia, un exceso de glucosa en sangre e hipoglucemia, una deficiencia de glucosa en sangre) pueden interferir con el funcionamiento de los órganos y las células, al menos interfiriendo específicamente con la producción, regulación y acción de la insulina y la glucosa. Por ejemplo, el alcohol puede inhibir la producción de glucosa en el hígado, y por lo tanto su liberación desde el mismo, aumentando el riesgo de hipoglucemia moderada o grave. El alcohol también puede reducir la eficacia de la insulina, aumentando así el riesgo de hiperglucemia moderada o grave. Por lo tanto, la relación entre el alcohol y la glucosa puede no correlacionarse directamente entre sí, es individualista en muchos aspectos (por ejemplo, predisposiciones genéticas) y depende al menos del tiempo de exposición y la concentración. Además, el alcohol puede perjudicar la capacidad de una persona para reconocer o apreciar los síntomas asociados con la hiperglucemia y la hipoglucemia, agravando así el riesgo para la salud de la persona.

[0012] El conocimiento de las alteraciones inducidas por el alcohol en el control glucémico de una persona diabética,

cuyos niveles de glucosa están desregulados de forma natural o carecen de homeostasis sin intervención, puede ser de gran beneficio. Aunque la monitorización de los niveles de etanol solo de acuerdo con la presente divulgación puede ser ventajosa, la presente divulgación permite además la monitorización simultánea o dual de los niveles de etanol y glucosa, niveles de glucosa que son controlados típicamente por personas diabéticas. Al hacerlo, una persona puede monitorizar y correlacionar sus niveles específicos de etanol y glucosa para personalizar las decisiones de tratamiento, decisiones de estilo de vida y similares. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona sensores de analitos que son sensibles tanto a la glucosa como al etanol, lo que puede conducir a mejores resultados de salud, particularmente para personas diabéticas. En algunas realizaciones, los sensores duales sensibles a la glucosa y al etanol de la presente divulgación pueden detectar adicionalmente uno o más analitos adicionales (por ejemplo, lactato, oxígeno, pH, A1c, cetonas, niveles de fármaco y similares).

[0013] Las realizaciones de la presente divulgación incluyen sensores de analito individuales que comprenden al menos un área activa sensible al etanol, opcionalmente en combinación con un área activa sensible a la glucosa. Aunque esta divulgación analiza sensores duales de analito de glucosa y etanol, se debe entender que un sensor de analito que comprende solo una o más áreas activas sensibles al etanol (y no en combinación con ninguna área activa sensible a la glucosa) también está dentro del alcance de la presente divulgación.

[0014] Las realizaciones descritas en el presente documento comprenden áreas activas sensibles a la glucosa y al etanol que están presentes dentro de la cola de un único sensor de analito, lo que permite controlar ambos analitos simultáneamente *in vivo*. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "cola", con referencia a un sensor, significa una parte del sensor que comprende una o más áreas activas sensibles a los analitos y que está implantada o de otro modo en contacto con un tejido de una persona, tal como por vía dérmica, subcutánea o intravenosa. La cola puede tener cualquier forma o tamaño y puede estar asociada con otros componentes implantados en el tejido (por ejemplo, sensores de analito totalmente implantables). Son posibles varias disposiciones físicas del área activa sensible a la glucosa y del área activa sensible al etanol dentro de los sensores de analito que se analizan a continuación, así como los desafíos particulares asociados con un sensor dual de glucosa y etanol. Las implementaciones particulares de la presente divulgación incluyen arquitecturas de sensores en las que el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol pueden interrogarse por separado y simultáneamente para determinar la concentración de cada analito.

[0015] Las realizaciones del presente documento utilizan un sistema enzimático que incluye químicas de detección que comprenden al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de al menos glucosa y etanol. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "de manera conjunta" y sus variantes gramaticales se refieren a un sistema de reacción enzimática, en el que el producto de al menos una primera reacción enzimática se convierte en el sustrato para al menos una segunda reacción enzimática, donde la reacción enzimática final sirve como base para medir la concentración de un sustrato (analito). Aunque se define en términos de dos reacciones enzimáticas acopladas, se debe entender que en algunos casos también pueden acoplarse más de dos reacciones enzimáticas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el producto de una primera reacción enzimática puede convertirse en el sustrato de una segunda reacción enzimática, el producto de la segunda reacción enzimática puede convertirse en el sustrato de una tercera reacción enzimática, y la tercera reacción enzimática sirve como base para medir la concentración del sustrato (analito) reaccionado durante la primera o segunda reacción enzimática.

[0016] Puede ser deseable utilizar dos o más enzimas que actúen de manera conjunta entre sí para detectar un analito de interés dado cuando una sola enzima no puede facilitar la detección. Las situaciones en las que una sola enzima puede ser ineficaz para promover la detección del analito incluyen, por ejemplo, aquellas en las que una enzima es inhibida por uno o más productos de la reacción enzimática, no puede pasar cíclicamente de un estado oxidado a un estado reducido cuando se dispone dentro de un sensor de analito y/o se desconoce su capacidad para promover una ruta de reacción necesaria para facilitar la detección.

[0017] La combinación de un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible al etanol en un único sensor de analito puede plantear varios obstáculos. En particular, los sensores de analito sensibles a la glucosa emplean habitualmente mediadores de oxidación-reducción, que pueden no intercambiar libremente electrones con las enzimas necesarias para la detección de etanol. Los sensores de analito sensibles a la glucosa pueden emplear además una única membrana de polímero limitante del transporte de masa para ayudar a evitar la sobrecarga del sensor (saturación) y facilitar la medición precisa de la glucosa. La capa limitante del transporte de masa que es apropiada para la glucosa puede no ser apropiada para el alcohol, debido a sus difusividades y concentraciones considerablemente diferentes. Otros obstáculos incluyen diferencias en la sensibilidad del analito y la posible incompatibilidad de una o más de las enzimas con un conjunto dado de condiciones de análisis.

[0018] La presente divulgación proporciona además composiciones de membrana, configuraciones de deposición y procedimientos de deposición para facilitar la detección simultánea de glucosa y etanol. Específicamente, en algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona ciertas configuraciones de membrana de doble capa que facilitan una detección mejorada de etanol sin obstaculizar la detección de glucosa. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "membrana de doble capa" se refiere a una membrana que tiene dos capas de deposición que recubren al menos un electrodo de trabajo y un área activa, que pueden ser iguales o diferentes en composición. Es decir, una membrana de doble capa puede ser homogénea (de la misma química) en composición o heterogénea (de

diferentes químicas) en composición y se describe con referencia a componentes de sensor de analito en los que recubre. Tal como se utiliza en el presente documento, una "membrana de una sola capa" se refiere a una membrana que tiene una capa de deposición que recubre al menos un electrodo de trabajo y un área activa y es de composición homogénea. En algunas realizaciones, las configuraciones de los sensores duales de glucosa y etanol descritas en el presente documento permiten que una membrana homogénea de una sola capa se disponga (cubra) sobre al menos un área activa sensible a la glucosa y al menos un área activa sensible al etanol. En otras realizaciones, las configuraciones de los sensores duales de glucosa y etanol descritas en el presente documento permiten que una membrana homogénea de una sola capa se disponga sobre al menos un área activa sensible a la glucosa y que una membrana homogénea o heterogénea de doble capa se disponga sobre al menos un área activa sensible al etanol.

[0019] Antes de describir los sensores de analito específicos de la presente divulgación con más detalle, se proporciona una breve descripción general de las configuraciones de sensores de analito *in vivo* adecuadas y los sistemas de sensores para que las realizaciones de la presente divulgación se puedan entender mejor. Se debe entender que cualquiera de los sistemas de sensores y configuraciones de sensores de analito descritas a continuación pueden presentar múltiples enzimas, de acuerdo con las diversas realizaciones de la presente divulgación, y no se limitan a las configuraciones específicas descritas en este documento.

[0020] La Figura 1 muestra un diagrama de un sistema de detección ilustrativo que puede incorporar un sensor de analito de la presente divulgación, tal como un sensor de analito que comprende un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible al etanol. Tal como se muestra, el sistema de detección 100 incluye un dispositivo de control de sensor 102 y un dispositivo lector 120 configurados para comunicarse entre sí a través de una ruta o enlace de comunicación local, que puede ser cableado o inalámbrico, unidireccional o bidireccional, y encriptado o no encriptado. El dispositivo lector 120 puede constituir un medio de salida para visualizar diversa información, tal como concentraciones de analito, tendencias de analito, alertas y/o notificaciones determinadas por el sensor 104 o un procesador asociado con el mismo, así como permitir una o más entradas de usuario, de acuerdo con algunas realizaciones. El dispositivo lector 120 puede ser un teléfono inteligente multipropósito o un instrumento lector electrónico dedicado, por ejemplo. Aunque sólo se muestra un dispositivo lector 120, pueden estar presentes varios dispositivos lectores 120 en determinados casos y en comunicación con el dispositivo de control de sensor 102 (por ejemplo, para permitir que varios usuarios accedan a los niveles de analito). El dispositivo lector 120 también puede estar en comunicación con el terminal remoto 170 y/o el sistema informático de confianza 180 a través de las rutas/enlaces de comunicación 141 y/o 142, respectivamente, que también pueden ser cableados o inalámbricos, unidireccionales o bidireccionales y encriptados o no encriptados. El dispositivo lector 120 puede también o alternativamente estar en comunicación con la red 150 (por ejemplo, una red de telefonía móvil, Internet o un servidor en la nube) a través de la ruta/enlace de comunicación 151. La red 150 puede estar además acoplada comunicativamente al terminal remoto 170 a través de la ruta/enlace de comunicación 152 y/o al sistema informático de confianza 180 a través de la ruta/enlace de comunicación 153. Alternativamente, el sensor 104 puede comunicarse directamente con el terminal remoto 170 y/o los sistemas informáticos de confianza 180 con o sin la presencia de un dispositivo lector 120 intermedio. Por ejemplo, el sensor 104 puede comunicarse con el terminal remoto 170 y/o el sistema informático de confianza 180 a través de un enlace de comunicación directo a la red 150, según algunas realizaciones, tal como se describe en la Publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2011/0213225.

[0021] Se puede utilizar cualquier protocolo de comunicación electrónica adecuado para cada una de las rutas o enlaces de comunicación, tales como por ejemplo, comunicación de campo cercano (NFC), identificación por radiofrecuencia (RFID), protocolos BLUETOOTH® o BLUETOOTH® de baja energía, WiFi o similares. El dispositivo lector 120, y/o el terminal remoto 170, y/o el sistema informático de confianza 180, y/o uno o más dispositivos lectores adicionales, como se describió anteriormente, pueden ser accesibles, de acuerdo con algunas realizaciones, por personas distintas de un usuario principal que tengan interés en los niveles de analito del usuario. El dispositivo lector 120 puede comprender un visualizador 122 y un componente de entrada opcional 121. El visualizador 122 puede comprender una interfaz de pantalla táctil, de acuerdo con algunas realizaciones para generar información relacionada con el dispositivo de control de sensor 102 y la entrada del usuario, por ejemplo.

[0022] El dispositivo de control de sensor 102 incluye una carcasa de sensor 103, que puede alojar circuitos y una fuente de alimentación para hacer funcionar el sensor 104. Opcionalmente, se puede omitir la fuente de alimentación y/o los circuitos activos, y el dispositivo de control de sensor 102 puede autoalimentarse de otro modo. Un procesador (no mostrado) se puede acoplar comunicativamente al sensor 104, estando el procesador ubicado físicamente dentro de la carcasa de sensor 103 y/o del dispositivo lector 120. El sensor 104 sobresale de la parte inferior de la carcasa de sensor 103 y se extiende a través de una capa adhesiva 105, que está adaptada para adherir la carcasa de sensor 103 a una superficie de tejido, tal como la piel, según algunas realizaciones.

[0023] El sensor 104 está adaptado para insertarse al menos parcialmente en un tejido de interés, tal como dentro de la capa dérmica o subcutánea de la piel. El sensor 104 puede comprender una cola de sensor de longitud suficiente para su inserción a una profundidad deseada en un tejido determinado. La cola de sensor puede comprender al menos un electrodo de trabajo y una o más áreas activas (regiones/puntos de detección o capas de detección, que pueden tener cualquier forma o tamaño) ubicadas sobre dicho al menos un electrodo de trabajo y que son activas para detectar uno o más analitos de interés, tales como glucosa y/o etanol. En algunas realizaciones, las áreas activas tienen la forma de uno o más puntos discretos (por ejemplo, de uno a aproximadamente 10 puntos, o más), que pueden variar

en tamaño desde aproximadamente 0,01 mm² a aproximadamente 1 mm², abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, aunque en el presente documento también se contemplan puntos de área activa individuales más grandes o más pequeños.

[0024] Una o más de las áreas activas pueden comprender múltiples enzimas recubiertas con una o más membranas, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente divulgación. Las áreas activas pueden incluir un material polimérico al que al menos algunas de las enzimas están unidas químicamente (por ejemplo, unidas covalentemente, unidas iónicamente y similares) o de otro modo inmovilizadas (por ejemplo, no unidas en una matriz), de acuerdo con algunas realizaciones. En algunas realizaciones, cada área activa puede comprender además un agente de transferencia de electrones para facilitar la detección del analito de interés.

[0025] En diversas realizaciones de la presente divulgación, el o los analitos de interés (por ejemplo, glucosa y etanol) pueden ser monitorizados en cualquier fluido biológico de interés, tal como fluido dérmico, fluido intersticial, plasma, sangre, linfa, fluido sinovial, fluido cefalorraquídeo, saliva, lavado broncoalveolar, fluido amniótico y similares. En realizaciones particulares, los sensores de analitos de la presente divulgación pueden ser adaptados para analizar fluido dérmico o fluido intersticial para determinar concentraciones de glucosa y/o etanol *in vivo*.

[0026] Con referencia continua a la Figura 1, el sensor 104 puede enviar automáticamente datos al dispositivo lector 120. Por ejemplo, los datos de concentración de analito (por ejemplo, concentraciones de glucosa y/o etanol) pueden comunicarse de forma automática y periódica, tal como a una determinada frecuencia a medida que se obtienen los datos o después de que haya transcurrido un determinado período de tiempo, almacenándose los datos en una memoria hasta su transmisión (por ejemplo, cada varios segundos, cada minuto, cinco minutos u otro período de tiempo predeterminado). En otras realizaciones, el sensor 104 puede comunicarse con el dispositivo lector 120 de una manera no automática y no de acuerdo con un programa establecido. Por ejemplo, los datos pueden comunicarse desde el sensor 104 utilizando tecnología RFID cuando la electrónica del sensor se pone en el rango de comunicación del dispositivo lector 120. Hasta que se comuniquen al dispositivo lector 120, los datos pueden permanecer almacenados en una memoria del sensor 104. Por lo tanto, un paciente no tiene que mantenerse cerca del dispositivo lector 120 en todo momento, y en su lugar puede cargar los datos en un momento conveniente. En otras realizaciones, se puede implementar una combinación de transferencia de datos automática y no automática. Por ejemplo, la transferencia de datos puede continuar de forma automática hasta que el dispositivo lector 120 ya no se encuentre dentro del rango de comunicación del sensor 104. Si bien la transferencia de datos automática y no automática desde el sensor 104 se ha descrito con referencia al dispositivo lector 120, dichos mecanismos de transferencia son igualmente aplicables al terminal remoto 170 y/o al sistema informático de confianza 180.

[0027] Un introductor puede estar presente de forma transitoria para promover la introducción del sensor 104 en un tejido. En realizaciones ilustrativas, el introductor puede comprender una aguja o un elemento punzante similar. Debe reconocerse que otros tipos de introductores, tales como vainas o cuchillas, pueden estar presentes en realizaciones alternativas. Más específicamente, la aguja u otro introductor puede residir de forma transitoria en la proximidad de o simultáneamente con (por ejemplo, rodeando externamente) el sensor 104 antes de la inserción en el tejido y, a continuación, extraerse después. Mientras está presente, la aguja u otro introductor puede facilitar la inserción del sensor 104 en un tejido abriendo una vía de acceso para que el sensor 104 la siga. Por ejemplo, la aguja u otro introductor pueden facilitar la penetración de la epidermis como una vía de acceso a la dermis para permitir que tenga lugar la implantación del sensor 104, de acuerdo con una o más realizaciones. Después de abrir la vía de acceso, la aguja u otro introductor pueden extraerse de modo que no represente un peligro de objetos punzantes. En realizaciones ilustrativas, los introductores adecuados incluyen agujas adecuadas que pueden ser macizas o huecas, biseladas o no biseladas, y/o circulares o no circulares en sección transversal. En realizaciones más particulares, las agujas adecuadas pueden ser comparables en diámetro de sección transversal y/o diseño de punta a una aguja de acupuntura, que puede tener un diámetro de sección transversal de aproximadamente 150 a aproximadamente 300 micrómetros (por ejemplo, 250 micrómetros). Sin embargo, debe reconocerse que las agujas adecuadas pueden tener un diámetro de sección transversal mayor o menor si es necesario para aplicaciones particulares.

[0028] En algunas realizaciones, una punta de un introductor (cuando está presente) puede estar en ángulo sobre el extremo del sensor 104, de modo que el introductor penetre primero en un tejido y abra una vía de acceso para el sensor 104. En otras realizaciones ilustrativas, el sensor 104 puede residir dentro de un lumen o ranura del introductor, con el introductor abriendo de manera similar una vía de acceso para el sensor 104. En cualquier caso, el introductor se retira posteriormente después de facilitar la inserción del sensor.

[0029] Los sensores de analito divulgados en el presente documento pueden presentar áreas activas de diferentes tipos (es decir, un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible al etanol) sobre un único electrodo de trabajo (por ejemplo, en un mismo lado o en lados opuestos de un único electrodo de trabajo) o sobre dos o más electrodos de trabajo separados. Las configuraciones de sensor de un único electrodo de trabajo pueden emplear motivos de detección de dos o tres electrodos, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente divulgación y tal como se describe más adelante en el presente documento. Las configuraciones de sensor que presentan un único electrodo de trabajo se describen a continuación en referencia a las Figuras 2A-2C. Cada una de estas configuraciones de sensor puede incorporar adecuadamente un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible al etanol según diversas realizaciones de la presente divulgación. Las configuraciones de sensor que presentan múltiples

electrodos de trabajo se describen a continuación en referencia a las Figuras 3 y 4A-4D. Cuando hay múltiples electrodos de trabajo, una o más áreas activas sensibles a la glucosa pueden estar dispuestas sobre un primer electrodo de trabajo y una o más áreas activas sensibles al etanol pueden estar dispuestas sobre un segundo electrodo de trabajo. Las configuraciones de sensor que emplean múltiples electrodos de trabajo pueden ser particularmente ventajosas para incorporar tanto un área activa sensible a la glucosa como un área activa sensible al etanol de acuerdo con la divulgación en este documento, ya que las membranas limitantes del transporte de masa que tienen diferentes composiciones y/o diferentes valores de permeabilidad pueden depositarse más fácilmente durante la fabricación cuando las áreas activas están separadas y/o espaciadas de esta manera. En las Figuras 4A-4C se muestran configuraciones de sensor particulares que presentan múltiples electrodos de trabajo dispuestos de una manera que facilita la deposición de membranas limitantes del transporte de masa que tienen diferentes composiciones, particularmente mediante recubrimiento por inmersión, sobre cada electrodo de trabajo. Las técnicas adecuadas para depositar las membranas limitantes de transporte de masa descritas en este documento incluyen, por ejemplo, recubrimiento por pulverización, pintura, impresión por inyección de tinta, estarcido, recubrimiento con rodillo, recubrimiento por inmersión o similares, y cualquier combinación de los mismos.

[0030] Cuando hay un único electrodo de trabajo presente en un sensor de analito, las configuraciones de sensor de tres electrodos pueden comprender un electrodo de trabajo, un contraelectrodo y un electrodo de referencia. Las configuraciones de sensor de dos electrodos relacionadas pueden comprender un electrodo de trabajo y un segundo electrodo, que puede funcionar tanto como un contraelectrodo como un electrodo de referencia (es decir, un contraelectrodo/electrodo de referencia). En las configuraciones de dos electrodos y de tres electrodos, tanto el área activa sensible a la glucosa como el área activa sensible al etanol pueden estar en contacto con (por ejemplo, dispuestas sobre) el único electrodo de trabajo. En algunas realizaciones, los diversos electrodos pueden estar al menos parcialmente apilados (en capas) uno sobre el otro y/o espaciados lateralmente entre sí sobre la cola del sensor. Las configuraciones de sensor adecuadas pueden tener una forma sustancialmente plana o sustancialmente cilíndrica, estando el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol espaciadas sobre el electrodo de trabajo. En todas las configuraciones de sensores aquí descritas, los diversos electrodos pueden estar aislados eléctricamente entre sí mediante uno o más materiales dieléctricos o aislantes similares.

[0031] Los sensores de analito que presentan múltiples electrodos de trabajo pueden ser adecuados adicionalmente para su uso en las realizaciones descritas en el presente documento. Dichos sensores de analito comprenden al menos dos electrodos de trabajo y al menos un electrodo adicional, que puede funcionar como un contraelectrodo/electrodo de referencia para cada uno de los electrodos de trabajo. En otras realizaciones, un primer electrodo adicional puede funcionar como un contraelectrodo para cada uno de los múltiples electrodos de trabajo y un segundo electrodo adicional puede funcionar como un electrodo de referencia para cada uno de los múltiples electrodos de trabajo.

[0032] Los diversos sensores de analito descritos en este documento pueden funcionar para analizar un analito (por ejemplo, al menos glucosa y etanol) mediante cualquiera de las técnicas de detección electroquímica coulométrica, amperométrica, voltamperométrica o potenciométrica.

[0033] La Figura 2A muestra un diagrama en sección transversal de una configuración ilustrativa de sensor de analito de dos electrodos que tiene un único electrodo de trabajo. Tal como se muestra, el sensor de analito 200 comprende el sustrato 212 dispuesto entre el electrodo de trabajo 214 y el contraelectrodo/electrodo de referencia 216. Alternativamente, el electrodo de trabajo 214 y el contraelectrodo/electrodo de referencia 216 pueden estar ubicados sobre el mismo lado del sustrato 212 con un material dieléctrico interpuesto entre ellos (configuración no mostrada). Las áreas activas 218a y 218b (es decir, un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible al etanol) están espaciadas lateralmente una de otra sobre la superficie del electrodo de trabajo 214. En las diversas configuraciones de sensor que se muestran en este documento, las áreas activas 218a y 218b pueden comprender múltiples puntos o un único punto configurados para la detección de cada analito. Además, en algunas realizaciones, las áreas activas 218a y 218b pueden estar dispuestas en lados opuestos del electrodo único (no mostrado).

[0034] Haciendo referencia todavía a la Figura 2A, la membrana 220 recubre al menos las áreas activas 218a y 218b y opcionalmente puede recubrir parte o la totalidad del electrodo de trabajo 214 y/o el contraelectrodo/electrodo de referencia 216, la totalidad del sensor de analito 200, o al menos la totalidad de la parte de cola del sensor de analito 200 que comprende las áreas activas 218a y 218b. Una o ambas caras del sensor de analito 200 pueden estar recubiertas con la membrana 220. La membrana 220 puede comprender uno o más materiales de membrana poliméricos (polímeros de membrana) que tienen capacidades adecuadas para limitar el flujo de analito a las áreas activas 218a y 218b. Aunque no es evidente en la Figura 2A, la composición de la membrana 220 puede variar en las áreas activas 218a y 218b para regular de manera diferencial el flujo de analito en cada ubicación, tal como se describe más adelante en el presente documento y/o para separar uno o más componentes de un sistema de reacción enzimática concertado (por ejemplo, si ciertos reactivos o productos del sistema son inhibidores de la detección de analito). Por ejemplo, la membrana 220 puede rociarse y/o imprimirse sobre las áreas activas 218a y 218b, de modo que la composición y/o la estratificación de la membrana 220 difiera en cada ubicación.

[0035] En algunas realizaciones, la membrana 220 puede depositarse mediante un recubrimiento por inmersión comenzando desde el extremo A del sensor de analito 200. Específicamente, el extremo A del sensor de analito 200

puede sumergirse en una primera formulación de recubrimiento para recubrir el área activa 218a. Después de curar parcialmente la primera formulación de recubrimiento sobre el área activa 218a, el extremo A del sensor de analito 200 puede sumergirse en una segunda formulación de recubrimiento para recubrir ambas áreas activas 218a y 218b con la segunda formulación de recubrimiento. Por tanto, la membrana 220 puede ser de doble capa en el área activa 218a y homogénea en el área activa 218b. En otras realizaciones, el extremo A del sensor de analito 200 puede sumergirse en una primera formulación de recubrimiento para recubrir ambas áreas activas 218a y 218b, y después del curado parcial, el extremo A puede sumergirse en una segunda formulación de recubrimiento para recubrir solo una de las áreas activas 218a o 218b. La primera y la segunda formulación de recubrimiento pueden ser idénticas o diferentes en composición.

[0036] Las Figuras 2B y 2C muestran diagramas en sección transversal de configuraciones ilustrativas de sensores de tres electrodos que tienen un único electrodo de trabajo, que son compatibles para su uso en algunas realizaciones de la presente divulgación. Las configuraciones de sensores de tres electrodos que presentan un único electrodo de trabajo pueden ser similares, además, a las que se muestran para el sensor de analito 200 en la Figura 2A, excepto por la inclusión del electrodo adicional 217 en los sensores de analito 201 y 202 (Figuras 2B y 2C). Con el electrodo adicional 217, el electrodo 216 puede funcionar como un contraelectrodo o un electrodo de referencia, y el electrodo adicional 217 puede cumplir la otra función del electrodo que no se tiene en cuenta de otro modo. El electrodo de trabajo 214 continúa cumpliendo su función original en cualquier caso. El electrodo adicional 217 puede estar dispuesto sobre el electrodo de trabajo 214 o el electrodo 216, con una capa separadora de material dieléctrico entre cada uno. Por ejemplo, tal como se muestra en la Figura 2B, los electrodos 214, 216 y 217 están ubicados sobre la misma cara del sustrato 212 y están aislados eléctricamente entre sí por capas dieléctricas 219a, 219b y 219c. Alternativamente, al menos uno de los electrodos 214, 216 y 217 puede estar ubicado sobre caras opuestas del sustrato 212, tal como se muestra en la Figura 2C. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el electrodo 214 (electrodo de trabajo) y el electrodo 216 (contraelectrodo) pueden estar ubicados sobre caras opuestas del sustrato 212, con el electrodo 217 (electrodo de referencia) ubicado sobre uno de los electrodos 214 o 216 y espaciado de ellos con un material dieléctrico. La capa de material de referencia 230 (por ejemplo, Ag/AgCl) puede estar presente sobre el electrodo 217, sin que la ubicación de la capa de material de referencia 230 se limite a la que se muestra en las Figuras 2B y 2C. Al igual que con el sensor de analito 200 que se muestra en la Figura 2A, las áreas activas 218a y 218b en los sensores de analito 201 y 202 están dispuestas espaciadas lateralmente una de otra sobre el electrodo de trabajo 214 en las configuraciones de sensor de las Figuras 2B y 2C, pero de otro modo pueden estar separadas en cualquier otra configuración (por ejemplo, en lados opuestos del electrodo de trabajo).

[0037] Como el sensor de analito 200 (Figura 2A), la membrana 220 también puede recubrir las áreas activas 218a y 218b, así como otros componentes del sensor, en los sensores de analito 201 y 202. El electrodo adicional 217 puede estar recubierto con la membrana 220 en algunas realizaciones. Aunque las Figuras 2B y 2C han representado todos los electrodos 214, 216 y 217 como recubiertos con la membrana 220, se debe reconocer que solo el electrodo de trabajo 214 o solo una parte del electrodo de trabajo 214 que comprende las áreas activas 218a y 218b puede estar recubierto en algunas realizaciones. Además, el grosor de la membrana 220 en cada uno de los electrodos 214, 216 y 217 puede ser el mismo o diferente, y puede estar en capas sobre cada uno de los electrodos 214, 216 y 217 de manera idéntica o diferente, tal como se describió anteriormente. Como en las configuraciones de sensor de dos electrodos (Figura 2A), una o ambas caras de los sensores de analito 201 y 202 pueden estar recubiertas con la membrana 220 en las configuraciones de sensor de las Figuras 2B y 2C, la totalidad de los sensores de analito 201 y 202 pueden estar recubiertos, o solo las áreas activas 218a y 218b pueden estar recubiertas. Además, la membrana 220 puede variar en su composición en las áreas activas 218a y 218b para controlar el flujo hacia las áreas activas y/o para aislar varios componentes de un sistema de reacción enzimática concertado, tal como por ejemplo mediante el recubrimiento por inmersión de la membrana 220 desde el extremo A para depositar una doble capa sobre una de las áreas activas 218a y 218b y una capa homogénea sobre la otra área activa. En consecuencia, las configuraciones de sensor de tres electrodos que se muestran en las Figuras 2B y 2C deben entenderse como no limitativas de las realizaciones divulgadas en este documento, permaneciendo las configuraciones alternativas de electrodos y/o capas dentro del alcance de la presente divulgación.

[0038] Las Figuras 3, 4 6A, 6B, y 8 representan configuraciones de sensores que presentan múltiples electrodos de trabajo. Aunque la siguiente descripción está dirigida principalmente a configuraciones de sensores de analito que presentan dos electrodos de trabajo, se debe tener en cuenta que se pueden incorporar con éxito más de dos electrodos de trabajo mediante una extensión de la divulgación del presente documento. Los electrodos de trabajo adicionales pueden permitir que se proporcionen áreas activas adicionales y capacidades de detección correspondientes a sensores de analito que presentan dichas características, tal como por ejemplo para proporcionar capacidades de detección adicionales distintas de la detección de glucosa y etanol.

[0039] La Figura 3 muestra un diagrama en sección transversal de una configuración ilustrativa de sensor que tiene dos electrodos de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo, que es compatible para su uso en una o más realizaciones de la divulgación del presente documento. Tal como se muestra en la Figura 3, el sensor de analito 300 incluye electrodos de trabajo 304 y 306 dispuestos sobre caras opuestas del sustrato 302. El área activa 310a está dispuesta sobre la superficie del electrodo de trabajo 304, y el área activa 310b está dispuesta sobre la superficie del electrodo de trabajo 306. Cada una de las áreas activas 310a y 310b puede ser un área activa sensible a la glucosa o un área activa sensible al etanol, permitiendo así la doble detección de dichos analitos, de acuerdo con diversas

realizaciones de la presente divulgación. El contraelectrodo 320 está aislado eléctricamente del electrodo de trabajo 304 por la capa dieléctrica 322, y el electrodo de referencia 321 está aislado eléctricamente del electrodo de trabajo 306 por la capa dieléctrica 323. Las capas dieléctricas externas 330 y 332 están ubicadas sobre el electrodo de referencia 321 y el contraelectrodo 320, respectivamente. La membrana 340 puede recubrir al menos las áreas activas 310a y 310b, según diversas realizaciones, con otros componentes del sensor de analito 300 o la totalidad del sensor de analito 300 opcionalmente recubierto también con la membrana 340. Nuevamente, la membrana 340 puede variar en cuanto a su composición o estar dispuesta en una o más capas en las áreas activas 310a y 310b, tal como se describió anteriormente. Por ejemplo, se pueden rociar y/o imprimir diferentes formulaciones de membrana o capas de una o más formulaciones sobre las caras opuestas del sensor de analito 300. Las técnicas de recubrimiento por inmersión también pueden ser apropiadas, particularmente para depositar una membrana de doble capa sobre al menos una de las áreas activas 310a y 310b.

[0040] Por ejemplo, el área activa 310a o 310b puede ser un área activa sensible a la glucosa, y la otra un área activa sensible al etanol. Como ejemplo, cuando el área activa 310a es un área activa sensible a la glucosa, la membrana 340a puede recubrir 310a y ser una membrana limitante del transporte compatible con la detección de glucosa. En dicho ejemplo, el área activa 310b es un área activa sensible al etanol, y la membrana 340b puede recubrir 310a y ser una membrana limitante del transporte compatible con la detección de etanol (véase la Figura 5A). Es decir, la membrana 340 puede estar compuesta por dos composiciones de membrana independientes 340a, 340b que recubren las áreas activas 340a, 310b que están configuradas para la detección de glucosa y etanol, respectivamente. En algunas realizaciones, las composiciones de membrana 340a, 340b pueden ser de la misma composición o de composiciones diferentes, siempre que sean compatibles con el analito que se va a detectar mediante sus respectivas áreas activas sensibles al analito. Se cree que cuando las membranas 340a, 340b son de la misma composición, es probable que tengan diferentes grosores para permitir la detección del analito deseado. En realizaciones preferidas, las membranas 340a, 340b pueden ser de composiciones diferentes para facilitar mejor la detección personalizada, por separado, de glucosa y etanol, respectivamente.

[0041] Configuraciones de sensores alternativas que tienen múltiples electrodos de trabajo y que difieren de la que se muestra en la Figura 3 puede presentar un contraelectrodo/electrodo de referencia en lugar de los electrodos de referencia y contraelectrodos separados 320 y 321, y/o presentar disposiciones de capas y/o membranas que varíen de las expresamente representadas. Por ejemplo, la posición del contraelectrodo 320 y del electrodo de referencia 321 puede ser inversa a la representada en la Figura 3. Además, los electrodos de trabajo 304 y 306 no necesitan necesariamente residir sobre caras opuestas del sustrato 302 de la manera que se muestra en la Figura 3.

[0042] Aunque las configuraciones de sensor adecuadas pueden presentar electrodos que son sustancialmente planos en su carácter, se debe entender que las configuraciones de sensor que presentan electrodos no planos pueden ser ventajosas y particularmente adecuadas para su uso en la presente divulgación. En particular, los electrodos sustancialmente cilíndricos que están dispuestos concéntricamente entre sí pueden facilitar la deposición de una membrana limitante del transporte de masa, tal como se describe en este documento. La Figura 4 muestra vistas en perspectiva de sensores de analito que presentan electrodos sustancialmente cilíndricos que están dispuestos concéntricamente entre sí. Aunque la Figura 4 representa configuraciones de sensores que presentan dos electrodos de trabajo, se debe entender que son posibles configuraciones de sensores similares que tienen un electrodo de trabajo o más de dos electrodos de trabajo mediante la extensión de la divulgación en el presente documento.

[0043] La figura 4 muestra una vista en perspectiva de una configuración ilustrativa de sensor en la que múltiples electrodos son sustancialmente cilíndricos y están dispuestos concéntricamente entre sí alrededor de un sustrato central. Tal como se muestra, el sensor de analito 401 incluye un sustrato central 402 alrededor del cual todos los electrodos y capas dieléctricas están dispuestos concéntricamente entre sí. En particular, el electrodo de trabajo 410 está dispuesto sobre la superficie del sustrato central 402, y la capa dieléctrica 412 está dispuesta sobre una parte del electrodo de trabajo 410 distal a la punta del sensor 404. El electrodo de trabajo 420 está dispuesto sobre la capa dieléctrica 412, y la capa dieléctrica 422 está dispuesta sobre una parte del electrodo de trabajo 420 distal a la punta del sensor 404. El contraelectrodo 430 está dispuesto sobre la capa dieléctrica 422, y la capa dieléctrica 432 está dispuesta sobre una parte del contraelectrodo 430 distal a la punta del sensor 404. El electrodo de referencia 440 está dispuesto sobre la capa dieléctrica 432, y la capa dieléctrica 442 está dispuesta sobre una parte del electrodo de referencia 440 distal a la punta del sensor 404. Por tanto, las superficies expuestas del electrodo de trabajo 410, el electrodo de trabajo 420, el contraelectrodo 430 y el electrodo de referencia 440 están espaciadas entre sí a lo largo del eje longitudinal B del sensor de analito 400. Se debe tener en cuenta que el orden del electrodo de trabajo 410, el electrodo de trabajo 420, el contraelectrodo 430 y el electrodo de referencia 440 no es limitante. Además, el contraelectrodo 430 y el electrodo de referencia 440 pueden combinarse en un solo electrodo en algunas realizaciones.

[0044] Haciendo referencia todavía a la Figura 4, las áreas activas 414a y 414b están dispuestas sobre las superficies expuestas de los electrodos de trabajo 410 y 420, respectivamente, lo que permite que se produzca el contacto con un fluido para que se produzca la detección de glucosa y/o etanol, opcionalmente en combinación adicional con otros analitos. Aunque las áreas activas 414a y 414b se han representado como tres puntos circulares discretos en la Figura 4 (así como en las Figuras 6A y 6B), debe tenerse en cuenta que pueden estar presentes menos o más de tres puntos en configuraciones de sensor alternativas, y la forma de los puntos puede no ser circular (por ejemplo, ovalada, cuadrada, poligonal y similares) en configuraciones de sensor alternativas.

[0045] Las Figuras 3, 6A, 6B y 7 muestran varias configuraciones de membrana de un sensor de analito para detectar simultáneamente glucosa y etanol, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación. Dichas realizaciones pueden utilizar una membrana de doble capa, por ejemplo, para facilitar la separación de varios componentes de detección que forman parte de un sistema de reacción enzimática concertada que, de otro modo, inhibirían la detección de analito si coexistieran. Por ejemplo, como se indicó anteriormente, el producto de la oxidación del etanol es fuertemente inhibidor de una enzima necesaria para su detección, de modo que una membrana de una sola capa puede resultar ineficaz para permitir la detección de etanol. La separación de dichos componentes utilizando una membrana de doble capa es necesaria para permitir una detección precisa de etanol cuando se selecciona dicho sistema de reacción enzimática concertada para su uso en la detección de etanol. Antes de analizar varias configuraciones de membrana adecuadas para su uso con las realizaciones de sensor de analito descritas en el presente documento, se analizarán primero los sistemas de reacción enzimática concertada para su uso en un sensor dual de glucosa y etanol.

[0046] En algunas realizaciones, un sensor de analito que contiene sistemas de reacción enzimática concertados para la detección de etanol puede utilizar una primera enzima de alcohol oxidasa (AOX) y una segunda enzima de xantina oxidasa (XOX). La cooperatividad entre alcohol oxidasa y xantina oxidasa para detectar etanol (y otros alcoholes no etanólicos con ambas enzimas dispuestas sobre un electrodo de trabajo) se explica con más detalle a continuación. En ciertas realizaciones de la presente divulgación, la xantina oxidasa está unida covalentemente a un polímero en el área activa, y la alcohol oxidasa no está unida covalentemente al polímero. En otras realizaciones, tanto la xantina oxidasa como un agente de transferencia de electrones pueden estar unidos covalentemente al polímero, y la alcohol oxidasa no está unida covalentemente al polímero. La catalasa puede estar presente como estabilizador con este par de enzimas.

[0047] La alcohol oxidasa interactúa con el etanol para formar acetaldehído y peróxido de hidrógeno. Otros alcoholes reaccionan para formar aldehídos con un recuento de carbonos correspondientemente mayor o menor. Ventajosamente, la alcohol oxidasa solo cataliza la conversión directa de etanol en acetaldehído (en lugar de realizar la reacción de manera reversible, tal como es el caso de la alcohol deshidrogenasa), lo que puede ser favorable para el uso de esta enzima en un sensor de analito. Además, la alcohol oxidasa contiene un cofactor de flavina fuertemente unido, de modo que los cofactores exógenos no necesariamente necesitan combinarse con la alcohol oxidasa para hacer que la enzima sea activa para promover la oxidación del alcohol.

[0048] En principio, la alcohol oxidasa sola podría emplearse para la detección de etanol en un sensor de analito mediante el análisis de los productos de acetaldehído o peróxido de hidrógeno producidos en la reacción enzimática. Sin embargo, existen dos problemas potenciales con este enfoque. En primer lugar, tanto el acetaldehído como el peróxido de hidrógeno son inhibidores de la alcohol oxidasa. Por lo tanto, si estos compuestos no se eliminan del entorno del sensor, la alcohol oxidasa se vuelve inactiva para promover la oxidación del etanol, dejando así al sensor de analito no funcional o subóptimo para el análisis del etanol. Además, si el acetaldehído y el peróxido de hidrógeno quedan secuestrados o sufren la desactivación con otros agentes, ya no hay una especie disponible para la detección electroquímica. En segundo lugar, la alcohol oxidasa no intercambia libremente electrones con mediadores de oxidación-reducción, distintos del oxígeno molecular. Por tanto, los agentes de transferencia de electrones asociados con un polímero en el área activa de un sensor de analito, tal como el osmio y otros complejos de metales de transición analizados en este documento, pueden ser ineficaces para ciclar la alcohol oxidasa desde un estado reducido inactivo a un estado oxidado que es reactivo con el etanol. Por lo tanto, aunque la alcohol oxidasa puede estar opcionalmente unida covalentemente al polímero, no hay beneficios particulares para el proceso de transferencia de electrones al hacerlo. Es decir, la unión covalente de la alcohol oxidasa al polímero no ayuda a promover la transferencia de electrones con el agente de transferencia de electrones.

[0049] Un sistema enzimático concertado que comprende alcohol oxidasa y xantina oxidasa dispuestas directamente sobre un electrodo de trabajo, particularmente juntas en un área activa dada, puede superar al menos algunos de los desafíos anteriores asociados con la detección de etanol utilizando un sensor de analito que emplea alcohol oxidasa. El acetaldehído y otros aldehídos pueden servir como sustrato para la xantina oxidasa, y el acetaldehído se convierte enzimáticamente en ácido acético. Por lo tanto, la xantina oxidasa puede eliminar el acetaldehído del entorno del sensor, impidiendo así la inactivación basada en acetaldehído de la alcohol oxidasa. La catalasa puede estar presente en el área activa para eliminar el peróxido de hidrógeno (por ejemplo, como un complejo de catalasa-peróxido de hidrógeno), impidiendo así la inactivación de la alcohol oxidasa con esta especie. Además, a diferencia de la alcohol oxidasa, la xantina oxidasa puede intercambiar electrones con osmio y otros complejos de metales de transición asociados con un polímero en el área activa del sensor de analito. Por tanto, la xantina oxidasa puede alternar entre sus formas oxidada y reducida, lo que permite que el sensor de analito mantenga un estado de detección activo. Por lo tanto, la detección de etanol en los sensores de analito anteriores se basa en la reacción enzimática de la xantina oxidasa con acetaldehído, el producto de la reacción enzimática del etanol, en lugar del etanol en sí. Además, al configurar las enzimas en el sensor de analito de la manera anterior, la alcohol oxidasa puede experimentar una reoxidación con oxígeno molecular para mantener su actividad.

[0050] La Figura 5A muestra el sistema de reacción enzimática concertada asociado con la detección de etanol utilizando alcohol oxidasa y xantina oxidasa dispuestas directamente sobre un electrodo de trabajo, de acuerdo con

diversas realizaciones de la presente divulgación. La xantina oxidasa está unida covalentemente a un polímero en el área activa del sensor de analito, y la alcohol oxidasa está asociada de manera no covalente con el polímero en el área activa. Además de la xantina oxidasa, un complejo de osmio u otro complejo de metal de transición capaz de intercambiar electrones con esta enzima también está unido covalentemente al polímero. Tal como se muestra en la

[0051] Haciendo referencia todavía a la Figura 5A, el acetaldehído formado enzimáticamente a partir del etanol experimenta a continuación una reacción posterior con la forma oxidada de la xantina oxidasa en presencia del cofactor de flavina que está presente de forma nativa con la enzima. El ácido acético se forma en este proceso y la xantina oxidasa se transforma en un estado reducido. La xantina oxidasa reducida puede reaccionar a continuación con el agente de transferencia de electrones de metal de transición asociado con el polímero para transferir electrones al electrodo de trabajo, produciendo así una corriente y regenerando la forma oxidada de la xantina oxidasa. Aunque no se muestra en la Figura 5A, el peróxido de hidrógeno puede eliminarse por separado del entorno del sensor mediante la catalasa presente en el área activa.

[0052] Como se puede apreciar a partir de la Figura 5A, la cantidad de acetaldehído formado enzimáticamente es proporcional a la cantidad de etanol presente originalmente. Por tanto, la corriente producida en el electrodo de trabajo durante la oxidación del acetaldehído por la xantina oxidasa puede ser proporcional a la cantidad de acetaldehído presente y, por extensión, a la cantidad de etanol. La correlación de la corriente del electrodo de trabajo con la concentración de etanol puede realizarse consultando una tabla de consulta de corrientes a concentraciones de etanol conocidas o utilizando una curva de calibración.

[0053] En consecuencia, en algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona áreas activas sensibles al etanol (por ejemplo, para su uso en los sensores duales de analito de glucosa y etanol descritos en el presente documento) basándose en una reacción enzimática concertada de la alcohol oxidasa y la xantina oxidasa. Más específicamente, la presente divulgación proporciona sensores de analito que comprenden una cola de sensor que incluye al menos un electrodo de trabajo, y al menos un área activa sensible al etanol dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo, en los que dicha al menos un área activa comprende alcohol oxidasa, xantina oxidasa, catalasa, un polímero y un agente de transferencia de electrones. El agente de transferencia de electrones y la xantina oxidasa pueden estar unidos covalentemente al polímero, y la alcohol oxidasa no está unida covalentemente al polímero, de acuerdo con realizaciones particulares. La alcohol oxidasa y la xantina oxidasa son capaces de actuar de manera conjunta para generar una señal en el electrodo de trabajo que es proporcional a una concentración de alcohol. Más específicamente, la alcohol oxidasa y la xantina oxidasa están dispuestas ambas directamente sobre el electrodo de trabajo para lograr lo anterior.

[0054] Aunque múltiples enzimas de un sistema de reacción enzimática concertada ubicadas en una única área activa de un sensor de analito pueden interactuar de manera conjunta entre sí para determinar una concentración de analito, la separación de componentes (por ejemplo, reactivos y/o productos) de dichos sistemas de reacción enzimática concertada utilizando áreas activas separadas puede a veces facilitar una detección de analito mejorada y/o más estabilizada. En algunas realizaciones, las configuraciones de sensor de analito pueden contener múltiples enzimas distribuidas en áreas activas separadas, donde una de las áreas activas puede estar aislada del electrodo de trabajo de modo que la transferencia de electrones al electrodo de trabajo tenga lugar desde solo una de las áreas activas. Por ejemplo, el área activa aislada del electrodo de trabajo puede promover una reacción enzimática de un analito de interés para producir un producto de reacción (sustrato) que es en sí mismo reactivo con la enzima en el área activa en contacto directo con el electrodo de trabajo; una señal asociada con la reacción enzimática que tiene lugar en el área activa en contacto directo con el electrodo de trabajo proporciona entonces una base para detectar el analito. La correlación de la señal con la concentración del analito se puede lograr de cualquiera de las diversas maneras que se describen en el presente documento.

[0055] Más específicamente, la Figura 5B muestra un sistema de reacción enzimática concertada asociado con la detección de etanol utilizando glucosa oxidasa (GOX) y xantina oxidasa, mediada además por catalasa, cuando solo la xantina oxidasa o la xantina oxidasa y catalasa se disponen sobre la superficie de un electrodo de trabajo, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente divulgación. La catalasa también puede servir como estabilizador para este par de enzimas. Es decir, los componentes del sistema de reacción enzimática concertada para detectar etanol pueden estar ubicados en polímeros de área activa separados para superar ciertos problemas asociados con la mezcla de los componentes del sistema de reacción enzimática concertada. Por ejemplo, la glucosa oxidasa debe estar separada de un electrodo de trabajo para evitar que la glucosa oxidasa reaccione para generar corriente, tal como por reacción con un agente de transferencia de electrones (por ejemplo, osmio u otro metal de transición) ubicado en un área activa en contacto directo con un electrodo de trabajo. Si la glucosa oxidasa no está separada del electrodo de trabajo, pueden resultar mediciones de etanol inexactas o aberrantes, ya que la oxidación de la glucosa proporciona una contribución de señal. En consecuencia, para facilitar la detección de etanol, así como para superar los problemas asociados con la detección de etanol utilizando alcohol oxidasa y xantina oxidasa, tal como se analizó anteriormente, la presente divulgación proporciona un sensor de etanol que comprende dos áreas activas y una

configuración de membrana de doble capa, de modo que las dos áreas activas están separadas.

[0056] El sistema de reacción enzimática concertada que se muestra en la Figura 5B depende de que la glucosa y el etanol estén presentes simultáneamente en un fluido durante el análisis. Debido a que la glucosa es un nutriente biológico omnipresente, con frecuencia se la encuentra presente simultáneamente con otros analitos, incluido el etanol, al analizar un fluido biológico.

[0057] Con referencia continua a la Figura 5B, la glucosa oxidasa está presente en un área activa (por ejemplo, área activa 702a o 702b de la Figura 7) y convierte la glucosa exógena en D-gluconolactona-1,5-diona y peróxido de hidrógeno. A diferencia de las áreas activas sensibles al etanol que presentan una detección que se basa en una reacción enzimática concertada entre la alcohol oxidasa y el óxido de xantina (Figura 5A), la catalasa desempeña un papel más activo en el sistema de reacción enzimática concertada representado en la Figura 5B. A saber, la catalasa reacciona con el peróxido de hidrógeno para formar un complejo de catalasa-peróxido de hidrógeno (la misma función de depuración de peróxido exhibida por la catalasa en la reacción enzimática concertada de la alcohol oxidasa y la xantina oxidasa) en un área activa aislada, y el complejo reacciona posteriormente con etanol para formar acetaldehído en la misma área activa aislada. El acetaldehído formado en el área activa al reaccionar el etanol con el complejo de catalasa-peróxido de hidrógeno permea a través de una membrana hacia una segunda área activa, separando la membrana las áreas activas (por ejemplo, las áreas activas 702a y 702b de la Figura 7). La membrana puede comprender polivinilpiridina reticulada, que es permeable al acetaldehído, por ejemplo. El acetaldehído reacciona entonces con la xantina oxidasa en una segunda área activa (por ejemplo, las áreas activas 702a o 702b de Figura 7) para formar ácido acético de una manera similar a la descrita anteriormente para la Figura 5A. Un agente de transferencia de electrones inmovilizado o unido químicamente (por ejemplo, un complejo de osmio u otro complejo de metal de transición) puede estar presente preferiblemente dentro del área activa con la xantina oxidasa para intercambiar electrones para facilitar la formación de ácido acético, que se correlaciona con los niveles de etanol. La catalasa también puede estar presente opcionalmente dentro de cualquiera de las áreas activas para actuar como estabilizador. Además, adicionalmente a la membrana representada en la Figura 5B, una segunda membrana puede recubrir las dos áreas activas formando una estructura de membrana de doble capa, donde la segunda membrana es permeable tanto a la glucosa como al etanol.

[0058] Alternativamente, la catalasa puede estar presente en un área activa que comprende xantina oxidasa, en cuyo caso el peróxido de hidrógeno formado en el área activa que comprende glucosa oxidasa puede difundirse a través de una membrana hacia el área activa que comprende xantina oxidasa (y catalasa), formar el complejo catalasa-peróxido de hidrógeno y oxidar etanol a acetaldehído en el mismo.

[0059] Tal como se utiliza en el presente documento, y con el propósito de la descripción, el término "área activa sensible al etanol" abarca todas y cada una de las áreas activas separadas que se utilizan de manera conjunta para detectar etanol, tal como se describe en el presente documento, a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, el término "área activa sensible al etanol" incluye tanto una primera como una segunda área activa, tales como las descritas con referencia a la Figura 5B.

[0060] Según algunas realizaciones, la catalasa en dicha al menos un área activa sensible al etanol de los sensores de analito descritos en el presente documento no está unida covalentemente al polímero. La catalasa puede estar presente en una cantidad que oscila de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 50 % en peso del polímero del área activa, más particularmente de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % en peso del polímero del área activa, o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 5 % en peso del polímero del área activa.

[0061] Las áreas activas sensibles a la glucosa en los sensores de analito descritos en el presente documento pueden comprender una enzima sensible a la glucosa, tal como la glucosa oxidasa o la glucosa deshidrogenasa, y un polímero. La glucosa oxidasa puede estar unida covalentemente a un polímero dentro del área activa sensible a la glucosa, de acuerdo con diversas realizaciones. Los polímeros adecuados para su inclusión en las áreas activas se describen a continuación. Además, un agente de transferencia de electrones inmovilizado o unido químicamente (por ejemplo, un complejo de osmio u otro complejo de metal de transición) puede estar presente preferiblemente dentro del área activa sensible a la glucosa para intercambiar electrones con la enzima sensible a la glucosa para facilitar la formación de gluconolactona para determinar los niveles de glucosa.

[0062] La enzima sensible a la glucosa puede estar presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % en peso del polímero en el área activa sensible a la glucosa, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 45 %, o de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 15 % a aproximadamente 35 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 % en peso del polímero en el área activa sensible a la glucosa. El agente de transferencia de electrones opcional puede estar presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 % en peso del polímero en el área activa sensible a la glucosa, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, tal como de aproximadamente 15 % a aproximadamente 45 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 35 % en peso del polímero en el área activa sensible a la glucosa. Estos intervalos son igualmente aplicables a todas las realizaciones relacionadas con las áreas activas sensibles a la glucosa descritas en este documento, sin limitación.

[0063] Tal como se ha descrito anteriormente, los sensores de analito que comprenden una o más áreas activas sensibles a la glucosa y una o más áreas activas sensibles al etanol pueden estar dispuestos sobre un único electrodo de trabajo o sobre dos o más electrodos de trabajo separados. Además, pueden ser posibles varias configuraciones de membrana, en particular cuando un sistema de reacción enzimática concertada seleccionado requiere la separación de varios componentes mediante el uso de una membrana de doble capa, tal como se ha descrito anteriormente (véase la Figura 5B).

[0064] Las Figuras 6A y 6B muestran vistas en perspectiva de la configuración ilustrativa del sensor de la Figura 4 (y se utilizan caracteres de referencia similares) que comprenden áreas activas sobre electrodos de trabajo separados y configuraciones de membrana adecuadas para uno o más de los sensores duales de glucosa y etanol descritos en este documento. La Figura 7 muestra una vista en sección transversal de una configuración ilustrativa de sensor que comprende áreas activas sobre un único electrodo de trabajo y una configuración de membrana adecuada para uno o más de los sensores duales de glucosa y etanol descritos en este documento.

[0065] Haciendo referencia primero a la Figura 6A, el sensor 401 comprende un electrodo de trabajo 410, un área activa 414a y una capa dieléctrica 412 que están recubiertos cada uno con una membrana de doble capa 450. El sensor 401 comprende además un electrodo de trabajo 420, un área activa 414b, un área activa 414c y el resto de la cola del sensor (es decir, el contraelectrodo 430, el electrodo de referencia 440 y las capas dieléctricas 422, 432 y 442) que están recubiertos cada uno con una membrana de una sola capa 451. La membrana de doble capa 450 comprende una capa de membrana 444 recubierta con una capa de membrana 446; la membrana de una sola capa 451 comprende la capa de membrana 446. La membrana de doble capa 450 y la capa de membrana de una sola capa 451 pueden ser de la misma composición o de diferente composición, tal como se analiza con mayor detalle en este documento, y son de doble capa o de una sola capa con referencia a al menos un electrodo de trabajo y el número asociado de áreas activas requeridas para detectar un analito de interés.

[0066] La configuración del sensor de la Figura 6A puede presentar un área activa 414b que es sensible a la glucosa, y una primera y una segunda áreas activas 414a y 414c que colectivamente son sensibles a etanol, tal como se describe en el presente documento. El área activa 414b sensible a la glucosa puede comprender al menos una enzima sensible a la glucosa, un polímero y un agente de transferencia de electrones opcional. Normalmente, el área sensible a la glucosa incluye el agente de transferencia de electrones.

[0067] La primera área activa 414a puede estar dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo 410 y comprender al menos xantina oxidasa, un primer polímero y un agente de transferencia de electrones opcional; la segunda área activa 414c puede comprender glucosa oxidasa, catalasa y un segundo polímero.

[0068] Se debe entender que, aunque las Figuras 6A y 6B se describen en las que la primera área activa 414a comprende la química de la xantina oxidasa de la Figura 5B y la segunda área activa 414b comprende la química de la glucosa oxidasa de la Figura 5B, también se puede emplear lo inverso, tal como se describió anteriormente. Es decir, la ubicación específica de las dos áreas activas en relación con la membrana (y la inclusión de catalasa) no es limitante y las Figuras 6A y 6B son meramente ilustrativas de dos configuraciones.

[0069] La xantina oxidasa puede estar presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % en peso del primer polímero en la primera área activa 414a, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 45 %, o de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 15 % a aproximadamente 35 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 % en peso del primer polímero en la primera área activa 414a. El agente de transferencia de electrones opcional puede estar presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 % en peso del primer polímero en la primera área activa 414a, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, tal como de aproximadamente 15 % a aproximadamente 45 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 25 % a aproximadamente 35 % en peso del primer polímero en la primera área activa 414a. La glucosa oxidasa puede estar presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 % en peso del segundo polímero en la segunda área activa 414c, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos, tal como de aproximadamente 5 % a aproximadamente 45 %, o de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 %, o de aproximadamente 15 % a aproximadamente 35 %, o de aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 % en peso del segundo polímero en la segunda área activa 414c. La catalasa puede estar presente en la segunda área activa 414c en una cantidad descrita anteriormente en el presente documento. Se debe entender que si bien estos intervalos se describen con referencia a la Figura 6A, son igualmente aplicables a todas las realizaciones relacionadas a las primera y segunda áreas activas sensibles al etanol (primera y segunda parte del área activa sensible al etanol) descritas en este documento, sin limitación.

[0070] Normalmente, la primera área activa 414a incluye el agente de transferencia de electrones, y opcionalmente también puede comprender catalasa (por ejemplo, en una cantidad dentro del intervalo divulgado en el presente documento). El primer y segundo polímero pueden ser de la misma composición o de diferente composición, y se describen con mayor detalle en el presente documento. La segunda área activa 414c puede estar dispuesta sobre una superficie de la membrana 444, unida a la membrana 446 (por ejemplo, unida químicamente, tal como unida

covalentemente), o de otro modo inmovilizada dentro de la membrana 446 (por ejemplo, no unida en la matriz de la membrana 446). En realizaciones preferidas, la segunda área activa 414c se deposita (por ejemplo, se une químicamente, tal como se une covalentemente) sobre una superficie de la membrana 444, o la segunda área activa 414c se dispone fuera de la membrana 444 y se moviliza dentro de la membrana 446, siempre que la segunda área activa 414c esté en relativa proximidad a la primera área activa 414a para facilitar la detección de etanol. El número, tamaño y forma de cada una de las áreas activas 414a, 414b y 414c no se limita al número representado en cualquiera de las figuras de la presente divulgación, y puede ser un área activa única o múltiples áreas activas de varios tamaños y formas, siempre que sean funcionales para detectar su analito particular de interés. Además, en algunas realizaciones, la xantina oxidasa y el agente de transferencia de electrones están unidos covalentemente al primer polímero de la primera área activa 414a, y la glucosa oxidasa está unida covalentemente al segundo polímero de la segunda área activa 414c.

[0071] Aun en referencia a la Figura 6A, aunque la membrana de doble capa 450 y la membrana de una sola capa 451 recubren colectivamente todos los componentes de la cola del sensor, se debe entender que se pueden emplear otras configuraciones de membrana. Por ejemplo, una membrana de doble capa puede recubrir solamente el electrodo de trabajo 410, el área activa 414a y el área activa 414c; y una membrana de una sola capa separada puede recubrir solamente el electrodo de trabajo 420 y el área activa 414b. El recubrimiento de membrana de los componentes restantes de un sensor de analito descrito en este documento (por ejemplo, contraelectrodo(s), electrodo(s) de referencia, capa(s) dieléctrica(s)) es opcional, pero se puede recubrir para facilitar o simplificar la fabricación del sensor de analito (por ejemplo, simplificar el recubrimiento por inmersión de la membrana sobre la cola del sensor). Además, se debe entender además que las posiciones de los diversos electrodos de trabajo, contraelectrodos y de referencia no están limitadas a las que se muestran en la Figura 6A. De manera similar, el número de dichos electrodos no está limitado al que se muestra en la Figura 6A (por ejemplo, en lugar de contraelectrodos y electrodos de referencia separados, se puede utilizar un único contraelectrodo/electrodo de referencia).

[0072] La Figura 6B ilustra una configuración alternativa representativa del sensor en comparación con la Figura 6A, en la que el sensor 402 contiene un contraelectrodo 430 y un electrodo de referencia 440 que están ubicados más proximales a la punta del sensor 404 y electrodos de trabajo 410 y 420 que están ubicados más distales a la punta del sensor 404. Las configuraciones de sensor en las que los electrodos de trabajo 410 y 420 están ubicados más distales a la punta del sensor 404 pueden ser ventajosas al proporcionar un área de superficie más grande para la deposición de áreas activas 414a y 414b (cinco puntos de detección discretos que se muestran ilustrativamente en la Figura 5B, pero se puede incluir más o menos), facilitando así una mayor intensidad de señal en algunos casos. Las ubicaciones de la membrana de doble capa definida por la membrana 450 y la membrana de una sola capa definida por la membrana 451 se han ajustado de manera similar para acomodar el cambio en la ubicación de los electrodos de trabajo 410 y 420, y la ubicación de la segunda área activa 414c que forma el sistema de reacción enzimática concertada con el área activa 414a para detectar etanol.

[0073] Aunque las Figuras 5A y 5B han representado configuraciones de sensor que están soportadas cada una sobre el sustrato central 402, se debe entender que configuraciones de sensor alternativas pueden estar soportadas en cambio por electrodos y carecer del sustrato central 402. En una realización representativa, el electrodo concéntrico más interno se puede utilizar para soportar los otros electrodos y capas dieléctricas. Por ejemplo, el sensor 402 puede excluir el sustrato 402 y el contraelectrodo concéntrico más interno 430 se puede emplear para disponer el electrodo de referencia 440, los electrodos de trabajo 410 y 420, y las capas dieléctricas 432, 442, 412 y 422 secuencialmente sobre el mismo. En vista de la divulgación en el presente documento, se debe entender nuevamente que se pueden emplear otras configuraciones de electrodos y capas dieléctricas en configuraciones de sensor que carecen del sustrato central 402, y se pueden emplear en diferentes configuraciones posicionales.

[0074] Haciendo referencia ahora a la Figura 7, se ilustra una vista en sección transversal de una parte de una configuración ilustrativa de sensor que comprende áreas activas sobre un único electrodo de trabajo y una configuración de membrana adecuada para uno o más de los sensores duales de glucosa y etanol descritos en este documento. Tal como se muestra, el electrodo de trabajo 700 comprende un área activa sensible a la glucosa 706 y una primera área activa sensible al etanol 702a dispuesta sobre la misma. El área activa sensible a la glucosa 706 puede comprender una enzima sensible a la glucosa y un primer polímero, la enzima sensible a la glucosa puede estar unida químicamente (por ejemplo, covalentemente) al primer polímero. Normalmente, un agente de transferencia de electrones también está presente en el área activa 706, que también puede estar unido químicamente (por ejemplo, covalentemente) al primer polímero.

[0075] Con referencia continua a la Figura 7, la primera área activa sensible al etanol 702a dispuesta sobre el electrodo de trabajo 700 puede comprender xantina oxidasa y un segundo polímero, la xantina oxidasa puede estar unida químicamente (por ejemplo, covalentemente) al segundo polímero. Normalmente, un agente de transferencia de electrones también está presente en el área activa 702a, que también puede estar unido químicamente (por ejemplo, covalentemente) al segundo polímero. Una primera membrana 704 recubre el área activa 702a para aislar 702a de la segunda área activa sensible al etanol 702b para impedir el intercambio de electrones entre ellas, tal como se describió anteriormente. Tal como se muestra, la primera membrana 704 también puede recubrir una superficie del electrodo de trabajo 700, tal como se muestra, así como otras partes de un sensor de analito en el que está presente el electrodo de trabajo 700. Alternativamente, la membrana 704 puede recubrir solo el área activa 702a. La primera membrana

704 puede ser al menos permeable al acetaldehído.

[0076] La segunda área activa 702b está dispuesta sobre la membrana 704 (aunque en algunas realizaciones puede estar unida a la membrana 708, movilizada o inmovilizada de otro modo en la membrana 708), y puede estar unida químicamente (por ejemplo, covalentemente) a la misma. La segunda área activa 702b funciona de manera conjunta con el área activa 702a, tal como se describió anteriormente, para detectar los niveles de etanol *in vivo*, y puede comprender glucosa oxidasa, catalasa y un tercer polímero. La glucosa oxidasa puede estar unida químicamente (por ejemplo, covalentemente) al tercer polímero y la catalasa puede estar unida químicamente o no al tercer polímero. La primera membrana 704 aísla además la glucosa oxidasa, particularmente cuando está unida químicamente al tercer polímero, del contacto con el electrodo de trabajo 700, impidiendo de este modo que genere corriente, tal como por interacción con el agente de transferencia de electrones ubicado dentro del área activa 702a.

[0077] Tal como se muestra, el área activa sensible a la glucosa 706 y la segunda área activa sensible al etanol 702b están recubiertas colectivamente con una segunda membrana 708. Por consiguiente, una membrana de doble capa que comprende las membranas 704 y 708 recubre la primera área activa sensible al etanol 702a, y una membrana de una sola capa que comprende la membrana 708 recubre tanto el área activa sensible a la glucosa 706 como la segunda área activa sensible al etanol 702b. La membrana 708 puede recubrir adicionalmente una superficie del electrodo de trabajo 700, tal como se muestra, así como otras partes de un sensor de analito en el que está presente el electrodo de trabajo 700. Alternativamente, la membrana 708 puede recubrir únicamente las áreas activas 706 y 702b. La segunda membrana 708 es al menos permeable tanto a la glucosa como al etanol. Alternativamente, la membrana 708 puede no ser continua (es decir, no ser contigua), sino recubrir por separado las áreas activas 706 y 702b.

[0078] Los primero, segundo y tercer polímeros de las áreas activas 706, 702a, 702b pueden ser iguales o diferentes; de manera similar, las primera y segunda membranas 704, 708 pueden ser iguales o diferentes.

[0079] La figura 8 muestra un esquema ilustrativo adicional de una parte de un sensor de analito que tiene dos electrodos de trabajo y que presenta una membrana de doble capa que recubre uno de los dos electrodos de trabajo, que es compatible para su uso en la formación de los sensores de analito de acuerdo con una o más realizaciones descritas en este documento. Tal como se muestra en la Figura 8, el sensor de analito presenta una cola de sensor 800 que tiene electrodos de trabajo 814a y 814b dispuestos sobre caras opuestas del sustrato 812. El área activa sensible a la glucosa 816 está dispuesta sobre una cara del electrodo de trabajo 814a, y una primera área activa sensible al etanol (primera parte del área activa sensible al etanol total) 818a está dispuesta sobre una cara del electrodo de trabajo 814b. El área activa sensible a la glucosa 816 corresponde al área sensible a la glucosa 706 de la Figura 7. La primera área activa sensible al etanol 818a corresponde a la primera área activa de etanol 702a de la Figura 7. A pesar de que la Figura 8 ha mostrado que las áreas activas 816 y 818a están dispuestas generalmente en direcciones opuestas entre sí con respecto al sustrato 812, debe tenerse en cuenta que las áreas activas 816 y 818a pueden estar espaciadas lateralmente (desplazadas) una de la otra sobre caras opuestas del sustrato 812. Las configuraciones espaciadas lateralmente para las áreas activas 818 y 818a pueden ser particularmente ventajosas para recubrir cada una de las áreas activas con membranas limitantes de transporte de masa, tal como se analiza a continuación.

[0080] Tal como se muestra además en la Figura 8, el área activa 816 está recubierta con una membrana de una sola capa 820. La membrana 820 es una membrana homogénea que comprende un único polímero de membrana. El área activa 818a está recubierta con una membrana de doble capa 821, que comprende una capa de membrana 821a en contacto directo con el área activa 818a y una capa de membrana 821b que recubre la capa de membrana 821a. En esta realización, las capas de membrana 821a y 821b comprenden diferentes polímeros de membrana. En ciertas realizaciones específicas, la capa de membrana 820 y la capa de membrana 821b pueden comprender el mismo polímero de membrana. Una segunda área activa sensible al etanol dispuesta sobre la capa de membrana 821a (segunda parte del área activa sensible al etanol total) 818b está dispuesta sobre la membrana 821a. La segunda área activa sensible al etanol 818b corresponde a la primera área activa sensible al etanol 702b de la Figura 7. Las primera y segunda áreas activas sensibles al etanol 818a, 818b funcionan de manera conjunta para detectar etanol, tal como se describe en este documento.

[0081] En la configuración del sensor de analito representada, la membrana 820 exhibe permeabilidad para la glucosa, mientras que la membrana 821a exhibe permeabilidad para el acetaldehído. Debido a que la segunda área activa sensible al etanol 818b y el área activa sensible a la glucosa 816 dependen ambas de la glucosa, las membranas 821b y 820 pueden constituir el mismo polímero. Además, el área activa 818a puede estar ubicada más distalmente en relación con la punta de una cola del sensor de modo que pueda ser recubierta por inmersión con la membrana 818a sin entrar en contacto con el área activa 816. A continuación, el área activa 818b puede depositarse y toda la parte externa de la membrana 821a, el área activa 818b y el área activa 816 pueden ser recubiertas por inmersión para depositar la membrana 820. Dicha configuración puede facilitar la fabricación del sensor de analito.

[0082] En algunas realizaciones, y tal como se describe con más detalle a continuación, la membrana 821a comprende un homopolímero o copolímero de polivinilpiridina y la membrana 821b, 820 comprende un polivinilpiridina-co-estireno.

[0083] Según diversas realizaciones de la presente divulgación, un agente de transferencia de electrones puede estar

presente en el área activa sensible a la glucosa y en el área activa sensible al etanol de los sensores de analito descritos en el presente documento. Cuando se utilizan áreas activas separadas para la detección de etanol, el agente de transferencia de electrones puede estar presente en el área activa dispuesta sobre el electrodo de trabajo (y que comprende además xantina oxidasa y un polímero). Los agentes de transferencia de electrones adecuados pueden facilitar el transporte de electrones a un electrodo de trabajo adyacente después de que el analito (glucosa o etanol), o un producto del mismo (acetaldehído) experimente una reacción de oxidación-reducción, generando así una corriente que es indicativa de la presencia de ese analito en particular. La cantidad de corriente generada es proporcional a la cantidad de analito que está presente. Dependiendo de la configuración del sensor utilizada, los agentes de transferencia de electrones en el área activa sensible a la glucosa y en el área activa sensible al etanol pueden ser iguales o diferentes. Los agentes de transferencia de electrones pueden ser diferentes, por ejemplo, de modo que cada agente de transferencia de electrones exhiba diferentes potenciales de oxidación-reducción.

[0084] Los agentes de transferencia de electrones adecuados pueden incluir iones, complejos o moléculas electrorreducibles y electrooxidables (por ejemplo, quinonas) que tienen potenciales de oxidación-reducción que están unos pocos cientos de milivoltios por encima o por debajo del potencial de oxidación-reducción del electrodo de calomelanos estándar (SCE). De acuerdo con algunas realizaciones, los agentes de transferencia de electrones adecuados pueden incluir complejos de osmio de bajo potencial, tales como los descritos en las Patentes de EE.UU. 6.134.461 y 6.605.200. Ejemplos adicionales incluyen los descritos en las Patentes de EE.UU. 6.736.957, 7.501.053 y 7.754.093. Otros agentes de transferencia de electrones adecuados pueden comprender compuestos metálicos o complejos de rutenio, osmio, hierro (por ejemplo, polivinilferroceno o hexacianoferrato) o cobalto, incluidos compuestos de metaloceno de los mismos, por ejemplo. Los ligandos adecuados para los complejos metálicos también pueden incluir, por ejemplo, ligandos bidentados o de mayor denticidad, tales como, por ejemplo, bipyridina, biimidazol, fenantrolina o piridil(imidazol). Otros ligandos bidentados adecuados pueden incluir, por ejemplo, aminoácidos, ácido oxálico, acetilacetona, diaminoalcanos u o-diaminoarenos. Cualquier combinación de ligandos monodentados, bidentados, tridentados, tetradentados o de mayor denticidad puede estar presente en un complejo metálico para lograr una esfera de coordinación completa. En algunas realizaciones, el agente de transferencia de electrones seleccionado para su uso en las áreas activas sensibles a la glucosa y sensibles al etanol descritas en el presente documento es un complejo de osmio.

[0085] Las áreas activas adecuadas para detectar glucosa y etanol también pueden comprender un polímero al que el agente de transferencia de electrones puede estar unido covalentemente. Cualquiera de los agentes de transferencia de electrones descritos en este documento puede comprender una funcionalidad adecuada para promover la unión covalente con el polímero dentro de las áreas activas. Los ejemplos adecuados de agentes de transferencia de electrones y agentes de transferencia de electrones unidos a polímeros pueden incluir los descritos en las Patentes de EE.UU. 8.444.834, 8.268.143 y 6.605.201. Los ejemplos de polímeros adecuados para su inclusión en las áreas activas pueden incluir, pero sin limitarse a los mismos, polivinilpiridinas (por ejemplo, poli(4-vinilpiridina)), polivinilimidazoles (por ejemplo, poli(1-vinilimidazol)) o cualquier copolímero de los mismos. Los copolímeros ilustrativos que pueden ser adecuados para su inclusión en las áreas activas incluyen aquellos que contienen unidades monoméricas, tales como estireno, acrilamida, metacrilamida o acrilonitrilo, por ejemplo. El polímero dentro de cada área puede ser el mismo o diferente.

[0086] La forma de unión covalente entre el agente de transferencia de electrones y el polímero en cada área activa no se considera particularmente limitante. La unión covalente puede tener lugar mediante la polimerización de una unidad monomérica que contiene un agente de transferencia de electrones unido covalentemente, o el agente de transferencia de electrones puede reaccionar con el polímero por separado después de que el polímero ya se haya sintetizado. De acuerdo con algunas realizaciones, un espaciador bifuncional puede unir covalentemente el agente de transferencia de electrones al polímero dentro de un área activa, con un primer grupo funcional que es reactivo con el polímero (por ejemplo, un grupo funcional capaz de cuaternizar un átomo de nitrógeno de piridina o un átomo de nitrógeno de imidazol) y un segundo grupo funcional que es reactivo con el agente de transferencia de electrones (por ejemplo, un grupo funcional que es reactivo con un ligando que coordina un ion metálico).

[0087] De manera similar, de acuerdo con algunas u otras diversas realizaciones de la presente divulgación, la enzima dentro de una o más de las áreas activas puede estar unida covalentemente al polímero. Cuando múltiples enzimas están presentes en una única área activa, todas las múltiples enzimas pueden estar unidas covalentemente al polímero en algunas realizaciones, y en otras realizaciones, solo una parte de las múltiples enzimas puede estar unida covalentemente al polímero. Por ejemplo, una o más enzimas que comprenden un sistema de reacción enzimática concertada pueden estar unidas covalentemente al polímero y al menos una enzima puede estar asociada de manera no covalente con el polímero, de modo que la enzima unida de manera no covalente esté físicamente atrapada dentro del polímero (por ejemplo, en algunas realizaciones, la glucosa oxidasa está unida covalentemente y la catalasa está unida de manera no covalente en un área activa sensible al etanol). Según ciertas realizaciones, la unión covalente de la(s) enzima(s) al polímero en un área activa puede tener lugar a través de un agente de reticulación introducido con un agente de reticulación adecuado. Los agentes de reticulación adecuados para la reacción con grupos amino libres en la enzima (por ejemplo, con la amina de la cadena lateral libre en la lisina) pueden incluir agentes de reticulación, tales como, por ejemplo, polietilenglicol diglicidiléter (PEGDGE) u otros poliepóxidos, cloruro cianúrico, N-hidroxisuccinimida, imidoésteres, epiclohidrina o variantes derivatizadas de los mismos. Los agentes de reticulación adecuados para la reacción con grupos de ácido carboxílico libres en la enzima pueden incluir, por ejemplo,

carbodiimidas. La reticulación de la enzima al polímero es generalmente intermolecular, pero puede ser intramolecular en algunas realizaciones. Dichos agentes de reticulación pueden usarse adicionalmente para reticular los polímeros de membrana descritos en este documento.

[0088] El agente de transferencia de electrones y/o la(s) enzima(s) pueden estar asociados con el polímero en el área activa a través de otros medios además de la unión covalente. En algunas realizaciones, el agente de transferencia de electrones y/o la(s) enzima(s) pueden estar asociados iónicamente o coordinativamente con el polímero. Por ejemplo, un polímero cargado puede estar asociado iónicamente con un agente de transferencia de electrones o enzima(s) con carga opuesta. En aun otras realizaciones, el agente de transferencia de electrones y/o la(s) enzima(s) pueden estar físicamente atrapados o inmovilizados dentro del polímero sin estar unidos a él.

[0089] En realizaciones particulares de la presente divulgación, la membrana limitante del transporte de masa que recubre cada área activa puede comprender al menos un homopolímero o copolímero de polivinilpiridina reticulada. La composición de la membrana limitante del transporte de masa puede ser la misma o diferente cuando la membrana limitante del transporte de masa recubre cada área activa. En realizaciones particulares, la membrana limitante del transporte de masa que recubre el área activa sensible a la glucosa puede ser una membrana de una sola capa (y que contiene un único polímero de membrana). En realizaciones particulares, la membrana limitante del transporte de masa que recubre una primera parte del área activa sensible al etanol puede ser una capa doble (cada capa contiene el mismo polímero de membrana o uno diferente) y la membrana limitante del transporte de masa que recubre una segunda parte del área activa sensible al etanol puede ser una membrana de una sola capa, tal como se describe en el presente documento. En realizaciones más específicas de la presente divulgación, el área activa sensible a la glucosa puede estar recubierta con una membrana que comprende un copolímero de polivinilpiridina-co-estireno, y el área activa sensible al etanol puede estar recubierta con una membrana de doble capa que comprende polivinilpiridina y polivinilpiridina-co-estireno, en donde la membrana de polivinilpiridina recubre el área activa sensible al etanol dispuesta sobre el electrodo de trabajo (por ejemplo, la membrana 704 de la Figura 7). Uno o ambos del polímero de membrana de polivinilpiridina y el polímero de membrana de polivinilpiridina-co-estireno pueden estar reticulados. Además, el polímero de membrana de polivinilpiridina-co-estireno puede estar funcionalizado, en donde una parte de los átomos de nitrógeno de piridina están funcionalizados con una cola de poli(etilenglicol) no reticulada y una parte de los átomos de nitrógeno de piridina están funcionalizados con un grupo de ácido alquilsulfónico. En algunos casos, la membrana limitante del transporte de masa puede reducir el flujo de un analito a una superficie de un electrodo (por ejemplo, el electrodo de trabajo) en un factor de aproximadamente 10 a aproximadamente 1000, abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos.

[0090] A la luz de lo anterior, en el presente documento se describen diversas realizaciones de un sensor de etanol independiente. Además, en el presente documento se describen sensores duales sensibles a la glucosa y sensibles al etanol. Dichos sensores duales sensibles a la glucosa y sensibles al etanol permiten la detección simultánea, pero separada, de cada analito. Es decir, el área activa sensible a la glucosa y el área o áreas activas sensibles al etanol están dispuestas en un único sensor de analito de modo que se puedan interrogar por separado para facilitar la detección de cada analito. Es decir, el área activa sensible a la glucosa y el área o áreas activas sensibles al etanol producen cada una señales independientes representativas de los niveles de analito (concentración). Por ejemplo, en algunas realizaciones, las señales asociadas con la reacción enzimática que ocurre dentro de cada una del área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol se pueden medir por separado interrogando cada área activa y/o electrodo de trabajo al mismo tiempo o en diferentes momentos. La señal asociada con cada área activa puede entonces correlacionarse con la concentración de glucosa y etanol, respectivamente.

[0091] En algunas realizaciones en las que el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol están dispuestas sobre un único electrodo de trabajo, el potencial de oxidación-reducción asociado con el área activa sensible a la glucosa puede estar separado del potencial de oxidación-reducción del área activa sensible al etanol en al menos aproximadamente 100 mV, o en al menos aproximadamente 150 mV, o en al menos aproximadamente 200 mV. El límite superior de la separación entre los potenciales de oxidación-reducción está dictado por la ventana electroquímica de trabajo *in vivo*. Al estar los potenciales de oxidación-reducción de las dos áreas activas suficientemente separados entre sí en magnitud, puede tener lugar una reacción electroquímica dentro de una de las dos áreas activas (es decir, dentro del área activa sensible a la glucosa o el área activa sensible al etanol) sin inducir sustancialmente una reacción electroquímica dentro de la otra área activa. Por lo tanto, una señal de una de las áreas activas sensibles a la glucosa o del área activa sensible al etanol puede producirse independientemente en o por encima de su potencial de oxidación-reducción correspondiente (el potencial de oxidación-reducción más bajo) pero por debajo del potencial de oxidación-reducción de la otra de las áreas activas sensibles a la glucosa y del área activa sensible al etanol (el potencial de oxidación-reducción más alto). En cambio, en o por encima del potencial de oxidación-reducción (el potencial de oxidación-reducción más alto) de la otra área activa que no se había interrogado previamente, pueden producirse reacciones electroquímicas tanto dentro del área activa sensible a la glucosa como del área activa sensible al etanol. Por tanto, la señal resultante en o por encima del potencial de oxidación-reducción más alto puede incluir una contribución de señal tanto del área activa sensible a la glucosa como del área activa sensible al etanol, y la señal observada es una señal compuesta. La contribución de la señal de un área activa (ya sea el área activa sensible a la glucosa o el área activa sensible al etanol) en o por encima de su potencial de oxidación-reducción se puede determinar restando de la señal compuesta la señal obtenida únicamente del área activa sensible a la glucosa o del área activa sensible al etanol en o por encima de su potencial de oxidación-reducción.

correspondiente.

[0092] En realizaciones más específicas, el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol pueden contener diferentes agentes de transferencia de electrones cuando las áreas activas están ubicadas sobre el mismo electrodo de trabajo para proporcionar potenciales de oxidación-reducción que estén suficientemente separados en magnitud entre sí. Más específicamente, el área activa sensible a la glucosa puede comprender un primer agente de transferencia de electrones y el área activa sensible al etanol puede comprender un segundo agente de transferencia de electrones, siendo diferentes el primer y el segundo agente de transferencia de electrones. El centro metálico y/o los ligandos presentes en un agente de transferencia de electrones dado pueden variarse para proporcionar una separación suficiente de los potenciales de oxidación-reducción dentro de las dos áreas activas, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente divulgación.

[0093] Idealmente, las áreas activas sensibles a la glucosa y las áreas activas sensibles al etanol ubicadas sobre un único electrodo de trabajo pueden configurarse para alcanzar una corriente de estado estacionario rápidamente al operar el sensor de analito a un potencial dado. La consecución rápida de una corriente de estado estacionario puede promoverse eligiendo un agente de transferencia de electrones para cada área activa que cambie su estado de oxidación rápidamente al exponerse a un potencial igual o superior a su potencial de oxidación-reducción. Hacer que las áreas activas sean lo más delgadas posible también puede facilitar la consecución rápida de una corriente de estado estacionario. Por ejemplo, los grosores adecuados para el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol pueden variar de aproximadamente 0,1 micrómetros (μm) a aproximadamente 10 μm , abarcando cualquier valor y subconjunto entre ellos. En algunas u otras realizaciones, la combinación de un material conductor, tal como, por ejemplo, nanotubos de carbono, grafeno o nanopartículas metálicas dentro de una o más de las áreas activas puede promover la consecución rápida de una corriente de estado estacionario. Las cantidades adecuadas de partículas conductoras pueden oscilar de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 50 % en peso del área activa, o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 50 % en peso, o de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % en peso, o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % en peso, abarcando cualquier valor y subconjunto entre estos. También se pueden emplear estabilizadores para promover la estabilidad de la respuesta, tal como la catalasa, como se describió anteriormente.

[0094] También se debe entender que la sensibilidad (corriente de salida) de los sensores de analito hacia cada analito se puede variar modificando la cobertura (área o tamaño) de las áreas activas, la relación superficial de las áreas activas entre sí, la identidad, el grosor y/o la composición de una membrana limitante de transporte de masa que recubre las áreas activas. La variación de estos parámetros se puede realizar fácilmente por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica una vez que se le concede el beneficio de la divulgación en el presente documento.

[0095] En algunas realizaciones, las señales asociadas con cada área activa pueden correlacionarse con una concentración correspondiente de glucosa o etanol consultando una tabla de consulta o una curva de calibración para cada analito. Una tabla de consulta para cada analito puede completarse analizando múltiples muestras que tienen concentraciones de analito conocidas y registrando la respuesta del sensor en cada concentración para cada analito. De manera similar, una curva de calibración para cada analito puede determinarse trazando la respuesta del sensor de analito para cada analito en función de la concentración y determinando una función de calibración adecuada sobre el intervalo de calibración (por ejemplo, mediante regresión, particularmente regresión lineal).

[0096] Un procesador puede determinar qué valor de respuesta del sensor en una tabla de consulta es el más cercano al medido para una muestra que tiene una concentración de analito desconocida y a continuación informar de la concentración de analito en consecuencia. En algunas u otras realizaciones, si el valor de respuesta del sensor para una muestra que tiene una concentración de analito desconocida está entre los valores registrados en la tabla de consulta, el procesador puede interpolar entre dos valores de la tabla de consulta para estimar la concentración de analito. La interpolación puede suponer una variación de concentración lineal entre los dos valores informados en la tabla de consulta. La interpolación se puede emplear cuando la respuesta del sensor difiere una cantidad suficiente de un valor dado en la tabla de consulta, tal como, por ejemplo, mediante una variación de aproximadamente el 10 % o más.

[0097] Asimismo, de acuerdo con algunas u otras diversas realizaciones, un procesador puede introducir el valor de respuesta del sensor para una muestra que tiene una concentración de analito desconocida en una función de calibración correspondiente. El procesador puede entonces informar de la concentración de analito en consecuencia.

[0098] En consecuencia, la presente divulgación proporciona un sensor de analito que comprende una cola de sensor y al menos un electrodo de trabajo. Un área activa sensible a la glucosa está dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo y una primera parte de un área activa sensible al etanol está dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo, estando el área activa sensible a la glucosa y la primera parte del área activa sensible al etanol espaciadas (por ejemplo, lateralmente o en lados opuestos del electrodo de trabajo). El área activa sensible a la glucosa comprende una enzima sensible a la glucosa y un agente de transferencia de electrones opcional. El área activa sensible a la glucosa comprende además un polímero. La primera parte del área activa sensible al etanol comprende xantina oxidasa, un primer polímero y un agente de transferencia de electrones opcional. La primera parte

del área activa sensible al etanol puede comprender además un estabilizador, tal como catalasa. Una primera membrana está dispuesta solamente sobre la primera parte del área activa sensible al etanol (así como opcionalmente una superficie del electrodo de trabajo adyacente a la misma), comprendiendo la primera membrana un primer polímero de membrana y siendo permeable al menos al acetaldehído. Una segunda parte del área activa sensible al etanol está dispuesta sobre la primera membrana, comprendiendo la segunda parte del área activa sensible al etanol glucosa oxidasa, catalasa y un segundo polímero. Una segunda membrana está dispuesta sobre el área activa sensible a la glucosa y la segunda parte del área activa sensible al etanol, comprendiendo la segunda membrana un segundo polímero de membrana y siendo permeable al menos a la glucosa y al etanol. La glucosa oxidasa presente en el área activa sensible a la glucosa es capaz de generar una señal en el electrodo de trabajo proporcional a una concentración de glucosa y la xantina oxidasa y la glucosa oxidasa de la primera y segunda parte del área activa sensible al etanol son capaces de interactuar de manera conjunta para generar una señal en el electrodo de trabajo proporcional a una concentración de etanol.

[0099] En algunas realizaciones, la primera y segunda membranas pueden ser una de polivinilpiridina (por ejemplo, poli(4-vinilpiridina)), un polivinilimidazol (por ejemplo, poli(1-vinilimidazol)), o cualquier copolímero de los mismos. El primer y segundo polímero de membrana pueden comprender polivinilpiridina. En algunas realizaciones, la primera membrana es polivinilpiridina y el segundo polímero de membrana es polivinilpiridina-co-estireno. En algunas realizaciones, el primer polímero de membrana es polivinilpiridina reticulada, que es fácilmente permeable al acetaldehído; y el segundo polímero de membrana es un polímero de polivinilpiridina-co-estireno reticulado, en el que una parte de los átomos de nitrógeno de piridina están funcionalizados con una cola de poli(etilenglicol) no reticulada y una parte de los átomos de nitrógeno de piridina están funcionalizados con un grupo de ácido alquilsulfónico, que es fácilmente permeable tanto a la glucosa como al etanol.

[0100] En algunas realizaciones, una o ambas del área activa sensible a la glucosa y la primera parte del área reactiva sensible al etanol comprenden el agente de transferencia de electrones. En algunas realizaciones, el agente de transferencia de electrones incluido es un complejo de metal de transición, tal como un complejo de osmio.

[0101] Diversos componentes de las áreas activas pueden estar además unidos covalentemente en las mismas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la glucosa-oxidasa está unida covalentemente a un polímero en el área activa sensible a la glucosa; la xantina oxidasa y el agente de transferencia de electrones opcional están unidos covalentemente al primer polímero en la primera parte del área activa sensible al etanol; y la glucosa oxidasa está unida covalentemente al segundo polímero en la segunda parte del área activa sensible al etanol. La catalasa en la primera o segunda parte del área activa sensible al etanol puede estar unida covalentemente o no estar unida. En algunas realizaciones, la catalasa no está unida a la primera o segunda parte del área activa sensible al etanol y, en cambio, está físicamente restringida dentro o adyacente a la primera o segunda parte por cualquiera del primer polímero, el segundo polímero, la primera membrana y/o la segunda membrana.

[0102] En algunas realizaciones, el sensor de analito puede comprender dos electrodos de trabajo, donde el área activa sensible a la glucosa está sobre un primer electrodo de trabajo y la primera y segunda parte del área sensible al etanol están sobre un segundo electrodo de trabajo, y que de otro modo tiene la composición y configuración de membrana descritas anteriormente.

[0103] La cola del sensor de analito está configurada para su inserción en un tejido, tal como por vía dérmica, subcutánea o intravenosa, de modo que los análisis se puedan realizar *in vivo*. En consecuencia, la presente divulgación proporciona un procedimiento para detectar glucosa y etanol utilizando el sensor de analito descrito anteriormente (que comprende uno o más electrodos de trabajo). En particular, el sensor de analito se expone a un fluido corporal que comprende al menos uno de glucosa y etanol. Es decir, durante la duración en la que un usuario lleva puesta una unidad corporal que comprende el sensor de analito (por ejemplo, un día o más, tal como hasta aproximadamente un mes), se espera que el fluido corporal comprenda al menos uno de glucosa y etanol. Se detectan una primera señal y una segunda señal (por ejemplo, mediante detección electroquímica) a partir del área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol del sensor de analito (que comprende la primera y la segunda parte de la misma), respectivamente. La primera señal es proporcional a una concentración de glucosa y la segunda señal es proporcional a una concentración de etanol.

[0104] En algunas realizaciones, la detección de la glucosa y el etanol a partir de los sensores de analito descritos anteriormente se basa en la variación de los potenciales de oxidación-reducción entre el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol, en particular cuando el sensor de analito comprende un único electrodo de trabajo, aunque también es aplicable a sensores de analito que comprenden más de un electrodo de trabajo. El sensor de analito está expuesto a un fluido corporal que comprende al menos uno de glucosa y etanol. Cada una del área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible al etanol (que comprende la primera y la segunda parte de la misma) tiene un potencial de oxidación-reducción que están suficientemente separados para permitir la detección independiente de una primera señal del área activa sensible a la glucosa y una segunda señal del área activa sensible al etanol. En algunas realizaciones, se detecta una primera señal en o por encima del más inferior del potencial de oxidación-reducción y del segundo potencial de oxidación-reducción, pero por debajo del mayor de un valor del primer potencial de oxidación-reducción y del segundo potencial de oxidación-reducción, de modo que la primera señal es proporcional a una concentración de glucosa o etanol en el fluido corporal. Se detecta una segunda señal en o por

encima de un valor superior del primer potencial de oxidación-reducción y del segundo potencial de oxidación-reducción, de modo que la segunda señal es una señal compuesta que comprende una contribución de señal tanto del área activa sensible a la glucosa como una contribución de señal del área activa sensible al etanol. A continuación, la primera señal se resta de la segunda señal para obtener una señal de diferencia, siendo la señal de diferencia proporcional a una concentración de glucosa y etanol.

[0105] Para facilitar una mejor comprensión de las realizaciones descritas en el presente documento, se proporcionan los siguientes ejemplos de diversas realizaciones representativas. De ninguna manera los siguientes ejemplos deben interpretarse como que limitan o definen el alcance de la invención.

[0106] Ejemplo: Detección de etanol utilizando un sensor de analitos que tiene dos enzimas diferentes que funcionan de forma conjunta sobre un único electrodo de trabajo (XOX/GOX). Se preparó una primera solución de detección por puntos con la formulación que se muestra en la Tabla 1. Todos los componentes se disolvieron en un tampón HEPES 10 mM a pH 8. La reticulación se realizó con polietilenglicol diglicidil éter.

Tabla 1

Solución de xantina oxidasa	
Componente	Concentración (mg/mL)
XOX	25
Catalasa	12
PVI (pH = 5,8)	12
Complejo de Os	8
PEGDE400	6

Se depositaron aproximadamente 15 nL de la primera solución de detección por puntos sobre un electrodo de trabajo de carbono como un único punto (punto XOX) con un área de aproximadamente 0,05 mm². Después de la deposición, el electrodo de trabajo se curó durante la noche a 25 °C.

[0107] Después del curado, se depositó una membrana de poli(4-vinilpiridina) (PVP) sobre el electrodo de trabajo y el punto de XOX de una solución de recubrimiento que contenía 100 mg/ml de PVP y 100 mg/ml de PEGDE400. La deposición de la membrana se logró mediante el recubrimiento por inmersión del electrodo tres veces en la solución de recubrimiento. Se pueden utilizar alternativamente procesos de recubrimiento por pulverización, serigrafía o similares para depositar la membrana. Después de la deposición, el electrodo se curó durante la noche a 25 °C y a continuación se curó aún más en viales desecados a 56 °C durante dos días.

[0108] Se preparó una segunda solución de detección por puntos con la formulación que se muestra en la Tabla 2. Todos los componentes se disolvieron en un tampón HEPES 10 mM a pH 8. La reticulación se realizó con polietilenglicol diglicidil éter.

Tabla 2

Solución de glucosa oxidasa	
Componente	Concentración (mg/mL)
GOX	16
Catalasa	32
PVI (pH = 5,8)	32
PEGDE400	6

Se depositaron aproximadamente 15 nL de la segunda solución de detección por puntos sobre la membrana de PVP de antes como un único punto (punto GOX) con un área de aproximadamente 0,05 mm². Después de la deposición, el curado se realizó durante la noche a 25 °C.

[0109] Después del curado, se depositó una segunda membrana sobre el punto de GOX y la membrana PVP. El polímero de membrana en este caso fue un polímero de polivinilpiridina-co-estireno reticulado, en el que una parte de los átomos de nitrógeno de piridina se funcionalizaron con una cola de poli(etilenglicol) no reticulada y una parte de los átomos de nitrógeno de piridina se funcionalizaron con un grupo de ácido alquilsulfónico. La membrana en esta ubicación se depositó a partir de una solución de recubrimiento que comprendía 35 mg/ml del polímero de polivinilpiridina-co-estireno reticulado y 100 mg/ml de PEGDE400. La deposición de la membrana se logró mediante el recubrimiento por inmersión del electrodo tres veces en la solución de recubrimiento. Se pueden utilizar alternativamente el recubrimiento por pulverización, la serigrafía o procesos similares para depositar la membrana. Después de la deposición, el electrodo se curó durante la noche a 25 °C y a continuación se curó adicionalmente en viales desecados a 56 °C durante dos días.

[0110] Los análisis de etanol se llevaron a cabo sumergiendo el electrodo en soluciones de PBS que contenían etanol, cada una de las cuales contenía concentraciones variables de etanol, así como 5 mM de glucosa (que se necesita para producir peróxido de hidrógeno). Si bien se incluyeron 5 mM de glucosa en las soluciones, se debe entender que

también se pueden utilizar otras concentraciones de glucosa para llevar a cabo el ejemplo descrito, tal como de aproximadamente 4 mM a aproximadamente 30 mM de glucosa. La Figura 9A muestra dos réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene glucosa oxidasa y xantina oxidasa dispuestas en capas en áreas activas separadas y espaciadas por una membrana tras la exposición a concentraciones variables de etanol, en las que la catalasa se encuentra en el área activa con la glucosa oxidasa. Como se muestra, la respuesta de corriente aumentó en el transcurso de varios minutos después de la exposición a una nueva concentración de etanol antes de estabilizarse posteriormente. Se observó una buena reproducibilidad entre las dos réplicas.

[0111] La Figura 9B muestra datos comparativos de respuesta entre un electrodo que contiene glucosa oxidasa y xantina oxidasa colocados en capas en áreas activas separadas y espaciados entre sí por una membrana tras la exposición a concentraciones variables de etanol, en las que la catalasa está presente en las áreas activas por separado. Tal como se muestra, la respuesta del sensor fue mayor cuando la catalasa se incluyó en el área activa que contenía xantina oxidasa. La Figura 10 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente promedio frente a la concentración de etanol.

[0112] A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades y similares en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones asociadas deben entenderse modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la siguiente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretende obtener mediante las realizaciones de la presente invención. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de los equivalentes al alcance de la reivindicación, cada parámetro numérico debe interpretarse al menos a la luz del número de dígitos significativos indicados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

Bloqueo de encendido del sensor de analitos

[0113] Los dispositivos de seguridad para vehículos, tales como los bloqueos de encendido, se utilizan a veces para impedir que un operador conduzca un vehículo cuando no está capacitado o no se encuentra en condiciones de hacerlo de forma segura. Operar el vehículo sin estar capacitado podría potencialmente presentar peligros importantes para el operador y el público. Un tipo común de bloqueo de encendido está diseñado para impedir la conducción en estado de ebriedad y, más específicamente, para impedir que las personas conduzcan un vehículo en estado de intoxicación por el consumo de alcohol. Dichos dispositivos de bloqueo conectan un analizador de alcoholemia o un sensor óptico al sistema de encendido del vehículo, y el conductor debe pasar con éxito una prueba de nivel de alcohol en sangre antes de poder poner en marcha el vehículo.

[0114] La intoxicación es un tipo de incapacidad o condición que un operador puede experimentar y que lo vuelve no apto o incapaz de operar un vehículo. Sin embargo, otras incapacidades y condiciones también pueden afectar a un operador y también deben ser monitorizados de cerca para asegurar que el operador no conduzca un vehículo mientras esté impedido. Por ejemplo, un operador con diabetes y que conduce con hipoglucemia (es decir, bajo nivel de azúcar en sangre) podría potencialmente sufrir mareos, confusión, dolor de cabeza, pérdida de conciencia, convulsiones y reflejos retardados, cualquiera de los cuales podría poner en peligro su propia vida y la de aquellos que se encuentran en el vehículo o en las cercanías del mismo.

[0115] Se han desarrollado sistemas de monitorización de analitos para facilitar la monitorización a largo plazo de analitos en fluidos corporales (por ejemplo, sangre). Algunos sistemas de monitorización de analitos están diseñados para detectar y monitorizar los niveles de glucosa en sangre, lo que puede ser útil para tratar afecciones diabéticas. Sin embargo, otros sistemas de monitorización de analitos están diseñados para detectar y monitorizar otros analitos presentes en el fluido corporal de un operador, y los niveles anormales de analitos detectados en un operador pueden ser indicativos de que el operador no está en condiciones de operar un vehículo de manera segura.

[0116] La siguiente discusión describe un sistema de control de vehículo y monitorización de analito utilizado para evitar el funcionamiento de un vehículo cuando los niveles de analito del operador superan un umbral predeterminado. El dispositivo de control de sensor 102 (Figura 1) correctamente implementado permite al usuario rastrear y monitorizar de manera inteligente los niveles y tendencias de analitos en fluidos corporales. Cuando algunos niveles de analitos superan ciertos umbrales, puede producirse un deterioro físico o cognitivo que haga que el usuario no sea apto para operar un vehículo de manera segura. En tales casos, el usuario debe tomar las medidas adecuadas para que los niveles de analitos vuelvan a intervalos seguros antes de intentar operar un vehículo. Sin embargo, en algunos casos, un usuario puede sentirse perfectamente bien para operar un vehículo, pero, no obstante, tener niveles de analitos inseguros que podrían desencadenar repentinamente la aparición de un deterioro físico peligroso. En tales casos, puede ser ventajoso tener un sistema a prueba de fallos implementado que evite o advierta al usuario de operar un vehículo y potencialmente ponerse a sí mismo o a otros en peligro.

[0117] La Figura 11 es un diagrama esquemático de un sistema de control de vehículo y monitorización de analitos de ejemplo 1100, de acuerdo con una o más realizaciones de la presente divulgación. Tal como se ilustra, el sistema de control de vehículo y monitorización de analitos 1100 (en adelante "el sistema 1100") incluye el dispositivo de control de sensor 102, que puede implementarse en un usuario u "operador" 3202 y, de otro modo, suministrarse a una

ubicación de monitorización objetivo en el cuerpo del operador 1102, tal como la parte posterior de un brazo. Tal como se describió anteriormente, el dispositivo de control de sensor 102 incluye el sensor 104 (Figura 1), y cuando se implementa correctamente, el sensor 104 se coloca transcutáneamente dentro de la piel para detectar y monitorizar los analitos presentes dentro de un fluido corporal del operador 1102. El parche adhesivo 105 (Figura 1) aplicado a la parte inferior del dispositivo de control del sensor 102 se adhiere a la piel para asegurar el dispositivo de control del sensor 102 en su lugar durante el funcionamiento.

[0118] Si bien el sistema 1100 se describe en el presente documento como que incluye el dispositivo de control de sensor corporal 102 para detectar e informar de los niveles de analito, el sistema 1100 puede incorporar alternativamente un sensor de analito *ex vivo* (por ejemplo, un medidor de glucosa en sangre de autocontrol "SMBG", *Self-monitoring blood glucose*). En consecuencia, el término "dispositivo de control de sensor" debe interpretarse en el presente documento como que incluye no solo sistemas de sensor corporal, como se describió en general anteriormente, sino también sistemas de sensor portátiles tradicionales.

[0119] Tal como se ilustra, el sistema 1100 puede incluir además el dispositivo lector 120, y el dispositivo de control de sensor 102 puede estar en comunicación con el dispositivo lector 120 a través de una ruta o enlace de comunicación local para proporcionar datos de concentración de analito de forma automática, periódica o según lo desee el operador 1102. El dispositivo lector 120 puede estar en comunicación con un módulo de control 1104, que está en comunicación con el sistema eléctrico de un vehículo 1106 y alimentado por la batería del vehículo o alimentado de otro modo por una batería separada. En dichas realizaciones, los datos transmitidos al dispositivo lector 120 desde el dispositivo de control de sensor 102 pueden ser transmitidos posteriormente por el dispositivo lector 120 al módulo de control 1104 para su procesamiento. En otras realizaciones, sin embargo, el dispositivo de control de sensor 102 puede comunicarse directamente con el módulo de control 1104 a través de cualquier protocolo de comunicación inalámbrica, tal como BLUETOOTH®. En tales realizaciones, el dispositivo lector 120 puede o no ser necesario en el sistema 1100.

[0120] En la realización ilustrada, el vehículo 1106 se representa como un automóvil. Sin embargo, tal como se utiliza en el presente documento, el término "vehículo" se utiliza de forma amplia y pretende incluir cualquier tipo de vehículo de transporte que pueda ser operado por un usuario humano u "operador", pero también puede incluir vehículos autónomos utilizados para transportar humanos. Los ejemplos del vehículo 1106 incluyen, pero sin limitarse a los mismos, cualquier tipo de automóvil, camión, vehículo utilitario deportivo, aeronave, embarcación, nave espacial y/o cualquier otro medio de transporte, o combinaciones de los mismos.

[0121] El módulo de control 1104 puede incluir una interfaz de comunicaciones para comunicar información hacia/desde el dispositivo de control de sensor 102 y/o el dispositivo lector 120. En el caso de un dispositivo de control de sensor 102 y/o un dispositivo lector 120 habilitados con BLUETOOTH® de ejemplo, se puede ingresar a un modo de emparejamiento cuando el dispositivo de control de sensor 102 se acerca al vehículo 1106. Tras el emparejamiento, el módulo de control 1104 se puede programar y configurar para detectar automáticamente la presencia y establecer comunicación con el dispositivo de control de sensor 102 y/o el dispositivo lector 120. Por ejemplo, cuando el operador 1102 se acerca o ingresa en el vehículo 1106, el módulo de control 1104 puede detectar automáticamente la presencia del dispositivo de control de sensor 102 y habilitar la comunicación entre ellos o con el dispositivo lector 120.

[0122] En algunas realizaciones, el módulo de control 1104 puede estar en comunicación con una interfaz de usuario del vehículo 1108 incluida en el vehículo 1106, tal como un sistema de infoentretenimiento, una pantalla táctil o una pantalla de información. En dichas realizaciones, el módulo de control 1104 puede comunicarse visualmente con el operador 1102 a través de la interfaz de usuario del vehículo 1108 y también puede comunicarse de forma audible con el operador 1102 a través de los altavoces de audio incluidos en el vehículo 1106. En otras realizaciones, sin embargo, el módulo de control 1104 puede estar configurado para comunicarse con el dispositivo lector 120 para poder comunicarse con el operador 1102.

[0123] Tal como se ilustra, el módulo de control 1104 puede ser o de otra manera incluir un sistema informático 1110 configurado y de otra manera programado para controlar varias operaciones y/o sistemas del vehículo 1106 en base a niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 a medida que son obtenidos por el dispositivo de control de sensor 102. El funcionamiento del vehículo 1106 se controla, deshabilita o modifica deshabilitando uno o más sistemas críticos del vehículo 1106 o activando sistemas de advertencia en el vehículo 1106. Cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 están dentro de un intervalo seguro predeterminado, entonces se puede considerar seguro para el operador 1102 hacer funcionar el vehículo 1106. Sin embargo, cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 caen fuera del intervalo seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado, el sistema informático 1110 puede entonces programarse para controlar, deshabilitar o modificar funcionamiento del vehículo 1106.

[0124] En algunas realizaciones, por ejemplo, el sistema informático 1110 puede configurarse para desactivar varios sistemas críticos del vehículo cuando los niveles de analito detectados del operador 1102 caen fuera de un intervalo predeterminado o cruzan de otro modo un umbral predeterminado, desactivando así progresivamente y de forma segura el funcionamiento del vehículo cuando se identifica al operador 1102 como incapacitado para el funcionamiento seguro del vehículo 1106. Los sistemas críticos del vehículo 1106 que pueden desactivarse incluyen el sistema de encendido (por ejemplo, sistema de conmutación/control de energía), el sistema de transmisión (o caja de cambios),

el sistema de combustible, el sistema de suministro de energía (por ejemplo, una batería, un condensador, una celda de conversión/reacción, etc.). Cuando se detectan niveles de analito elevados o reducidos (inseguros), el sistema informático 1110 puede impedir que los sistemas críticos del vehículo se activen o funcionen. En consecuencia, el operador 1102 no podrá arrancar ni hacer funcionar el vehículo 1106, impidiendo así que el operador 1102 se ponga a sí mismo y/o a otros en peligro.

[0125] En otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1110 puede configurarse para activar varios sistemas no críticos del vehículo cuando los niveles de analito detectados del operador 1102 superan o cruzan un umbral predeterminado. Los sistemas no críticos del vehículo que pueden activarse incluyen, por ejemplo, la bocina del vehículo, las luces del vehículo o un sistema de advertencia audible instalado en el vehículo 1106. En dichas realizaciones, la activación de los sistemas no críticos del vehículo puede alertar a las fuerzas del orden y a otros (por ejemplo, operadores de vehículos adyacentes, transeúntes, peatones, etc.) de un operador 1102 que puede estar conduciendo en una condición de incapacidad, lo que permite a las fuerzas del orden abordar rápidamente cualquier problema relacionado con ello y poner a otros en alerta sobre una situación potencialmente peligrosa.

[0126] En aún otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1110 puede estar configurado para realizar automáticamente una llamada telefónica a uno o más contactos de emergencia cuando los niveles de analito del operador 1102 caen fuera de un intervalo operativo seguro predeterminado o cruzan de otro modo un umbral predeterminado. En dichas realizaciones, el sistema informático 1110 puede funcionar a través del dispositivo lector 120 (por ejemplo, un móvil) o un sistema de comunicación celular o por satélite incorporado en el vehículo 1106 (por ejemplo, OnStar®). En otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1110 puede estar configurado para enviar automáticamente un mensaje (por ejemplo, mensaje de texto o SMS, correo electrónico, etc.) a un contacto de emergencia cuando los niveles de analito del operador 1102 caen fuera de un intervalo operativo seguro predeterminado o cruzan de otro modo un umbral predeterminado. Los contactos de emergencia de ejemplo incluyen, pero sin limitarse a los mismos, un cónyuge, un padre, personal médico (por ejemplo, un médico), un hospital, 911 o cualquier combinación de ellos.

[0127] En algunas realizaciones, el sistema 1100 puede incluir además uno o más sensores de proximidad 1112 configurados para detectar la presencia del operador 1102 y, más particularmente, el dispositivo de control de sensor 102. En dichas realizaciones, el sensor o sensores de proximidad 1112 pueden estar configurados para monitorizar el área general del asiento del conductor 1114 dentro del vehículo 1106. Si el sensor o sensores de proximidad 1112 detectan el dispositivo de control de sensor 102 dentro del área del asiento del conductor 1114, eso puede proporcionar una indicación positiva de que el operador 1102 está en el asiento del conductor 1114 y potencialmente está intentando hacer funcionar el vehículo 1106. En dichos casos, se puede enviar una señal al módulo de control 1104 para alertar al sistema informático 1110 de que el operador 1102 está en el vehículo 1106 y potencialmente está intentando hacer funcionar el vehículo 1106. Si los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 están dentro de un intervalo seguro predeterminado o por debajo de un nivel predeterminado, entonces el sistema informático 1110 puede permitir que el operador 1102 haga funcionar el vehículo 1106. Sin embargo, cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 caen fuera del intervalo seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado, el sistema informático 1110 puede controlar, deshabilitar o modificar el funcionamiento del vehículo 1106, tal como se describió en general anteriormente. Como se entenderá, el sensor o sensores de proximidad 1112 pueden ser ventajosos para evitar el funcionamiento del vehículo 1106 solamente cuando el operador 1102 incapacitado esté en el asiento del conductor 1114 y listo para hacer funcionar el vehículo 1106. En consecuencia, un usuario que lleva el dispositivo de control de sensor 102 puede viajar como pasajero en el vehículo 1106 en cualquier estado sin afectar el funcionamiento del módulo de control 1104 o del vehículo 1106.

[0128] En algunas realizaciones, el módulo de control 1104 puede incluir además un módulo de detección de estado del vehículo 1116 configurado para detectar el estado actual del vehículo 1106, incluyendo si el vehículo 1106 está actualmente en movimiento o está estacionario. Además, el módulo de detección de estado del vehículo 1116 puede estar configurado para determinar si el motor en el vehículo 1106 está actualmente en funcionamiento o está detenido. En una o más realizaciones, el módulo de detección de estado del vehículo 1116 puede proporcionar una señal de estado al módulo de control 1104, y el módulo de control 1104 puede entonces utilizar la señal de estado para determinar qué operaciones del vehículo deben activarse o deshabilitarse cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1102 caen fuera del intervalo seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado. Por ejemplo, cuando la señal de estado indica que el vehículo 1106 está estacionario, el módulo de control 1104 puede deshabilitar el sistema de combustible del vehículo, el sistema de transmisión, el sistema de encendido o cualquier combinación de los mismos. Por el contrario, cuando la señal de estado indica que el vehículo 1106 está en movimiento, el módulo de control 1104 puede activar la bocina del vehículo, hacer parpadear las luces del vehículo o activar una advertencia audible para el operador 1102 y/o aquellos alrededor del operador 1102 de que el operador 1102 está incapacitado.

[0129] En algunas realizaciones, una vez que el operador 1102 ingresa en el vehículo 1106 o cuando el módulo de control 1104 se empareja con el dispositivo de control de sensor 102 y/o el dispositivo lector 120, se puede iniciar una aplicación en el dispositivo lector 120 o en la interfaz de usuario del vehículo 1108, y puede aparecer un tablero digital en el dispositivo lector 120 y/o en la interfaz de usuario del vehículo 1108 que muestra los niveles de analito actuales, la tendencia, los datos históricos y los niveles de analito proyectados. Sin embargo, si los niveles de analito actuales

caen fuera de un intervalo de operación seguro predeterminado, el sistema informático 1110 puede programarse para deshabilitar uno o más sistemas críticos del vehículo para evitar que el operador 1102 haga funcionar el vehículo 1106. En dichas realizaciones, el módulo de control 1104 puede emitir una alerta visual o audible para informar al operador 1102 sobre el motivo por el cual el vehículo 1106 no está arrancando. Más particularmente, se puede generar una alerta visual (por ejemplo, un mensaje escrito) y mostrarla en el dispositivo lector 120 o en la interfaz de usuario del vehículo 1108, o se puede transmitir una alerta audible (por ejemplo, un mensaje vocal) a través de los altavoces del dispositivo lector 120 o del vehículo 1106.

[0130] Si no se hace automáticamente, se puede solicitar al operador 1102 que obtenga un nivel de analito actual al emparejar el dispositivo de control de sensor 102 con el módulo de control 1104. En algunos casos, se puede impedir que el vehículo 1106 funcione hasta que se obtenga un nivel de analito actual. Si los niveles de analito actuales están dentro de límites seguros, el sistema informático 1110 puede permitir el funcionamiento del vehículo 1106. En algunos aspectos, y a menos que se haga automáticamente, el módulo de control 1104 puede solicitar al operador 1102 que obtenga niveles de analito actuales adicionales después de hacer funcionar el vehículo 1106 durante un período de tiempo predeterminado (por ejemplo, después de 1 hora, 2 horas, 5 horas, etc.).

[0131] En algunas realizaciones, el módulo de control 1104 puede estar configurado para emitir recomendaciones visuales o audibles o instrucciones al operador 1102 que pueden ayudar a que los niveles de analito medidos vuelvan a intervalos seguros. En dichas realizaciones, dichas recomendaciones visuales o audibles pueden incitar al usuario a realizar alguna acción que podría dar como resultado que los niveles de analito vuelvan a intervalos seguros. Además, en algunas realizaciones, el operador 1102 puede ser capaz de comunicarse con el módulo de control 1104 verbalmente emitiendo respuestas o comandos verbales. Esto puede resultar ventajoso para ayudar a prevenir la operación distraída del vehículo 1106.

[0132] En algunas realizaciones, el operador 1102 puede personalizar los ajustes del módulo de control 1104 para permitir que el usuario tome decisiones informadas una vez que se han detectado niveles de analito inseguros y el módulo de control 1104 ha emitido una alerta visual o audible. Más específicamente, en al menos una realización, el módulo de control 1104 puede incluir una función de derivación que el operador 1102 puede habilitar para permitir que el operador 1102 haga funcionar el vehículo 1106 incluso cuando se han medido niveles de analito inseguros. En dichas realizaciones, el operador 1102 puede hacer funcionar el vehículo 1106 reconociendo que el operador 1102 podría estar funcionando el vehículo 1106 en un estado de salud deteriorado o inseguro.

[0133] En algunas realizaciones, el sistema informático 3210 puede configurarse o programarse de otro modo para calcular una línea de tiempo prevista en la que los niveles de analito del operador 1102 pueden alejarse de un intervalo seguro predeterminado o en cualquier caso cruzar un umbral predeterminado. En dichas realizaciones, el módulo de control 1104 puede configurarse para emitir alertas visuales o audibles al operador 1102 indicando aproximadamente cuánto tiempo tiene el operador 1102 antes de que se puedan alcanzar niveles de analito inseguros y pueda sobrevenir una posible condición médica insegura. Se pueden proporcionar múltiples alertas para indicar cuándo el operador tiene incrementos de tiempo específicos restantes antes de que se alcancen niveles de analito inseguros. Por ejemplo, se pueden emitir alertas visuales o audibles cuando se alcanzarán niveles de analito inseguros en una hora, en media hora, en 10 minutos, en 5 minutos, en 1 minuto y en cualquier incremento de tiempo entre ellos. Además, se puede emitir una alerta visual o audible una vez que los niveles de analito del operador alcancen un nivel inseguro o crucen un umbral predeterminado.

[0134] En algunas realizaciones, si se miden niveles de analito inseguros mientras el operador 1102 está operando el vehículo 1106, el módulo de control 1104 puede estar configurado para emitir una o más alertas (visuales o audibles) que adviertan al operador 1102 de los niveles de analito inseguros. En algunos casos, el volumen del estéreo en el vehículo 1106 puede reducirse automáticamente para permitir que el operador 1102 escuche una alerta audible. En dichas realizaciones, el módulo de control 1104 puede estar configurado para sugerir una o más acciones correctivas al operador 1102. Las acciones correctivas de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, reducir la velocidad y detener el vehículo 1106, localizar y conducir hasta una tienda de conveniencia o farmacia cercana, y localizar un hospital o centro médico cercano. Si el vehículo 1106 es un vehículo autónomo y los niveles actuales de analito colocan al operador 1102 en condiciones potencialmente peligrosas, el módulo de control 1104 puede dirigir automáticamente el vehículo 1106 a un centro médico para su tratamiento. Como alternativa, o además de ello, el módulo de control 1104 puede reducir o restringir progresivamente la velocidad del vehículo 1106 cuando se detectan niveles de analito inseguros, obligando así al operador 1102 a detenerse y solucionar el problema antes de continuar operando el vehículo 1106.

[0135] El sistema 1100 puede ser útil en varios escenarios diferentes para proteger al operador 1102 y/o a quienes se encuentran alrededor del operador 1102 mientras conduce. En algunas aplicaciones, el sistema 1100 puede ser incorporado voluntariamente por el operador para detectar la incapacidad en tiempo real. En otras aplicaciones, el propietario del vehículo 1106 puede requerir al sistema 1100 para que detecte la incapacidad del operador 1102. En dichas aplicaciones, el propietario del vehículo 1106 puede ser una empresa de transporte o de camiones. En aún otras aplicaciones, el sistema 1100 puede ser impuesto legalmente al operador 1102 para detectar la incapacidad.

[0136] En el presente documento se presentan una o más realizaciones ilustrativas que incorporan diversas

características. No se describen ni se muestran todas las características de una implementación física en aras de la claridad. Se entiende que en el desarrollo de una realización física que incorpora las realizaciones de la presente invención, se deben tomar numerosas decisiones específicas de la implementación para lograr los objetivos del desarrollador, tal como el cumplimiento de las restricciones relacionadas con el sistema, relacionadas con el negocio, relacionadas con el gobierno y otras, que varían según la implementación y de vez en cuando. Si bien los esfuerzos de un desarrollador pueden emplear mucho tiempo, dichos esfuerzos serían, no obstante, una tarea rutinaria para aquellos con conocimientos ordinarios en la materia y que se benefician de esta divulgación.

[0137] Si bien en este documento se describen diversos sistemas, herramientas y procedimientos en términos de "que comprenden" diversos componentes o etapas, los sistemas, herramientas y procedimientos también pueden "consistir esencialmente en" o "consistir en" los diversos componentes y etapas.

[0138] Tal como se utiliza en el presente documento, la frase "al menos uno de" que precede a una serie de elementos, con los términos "y" o "o" para separar cualquiera de los elementos, modifica la lista en su totalidad, en lugar de cada miembro de la lista (es decir, cada elemento). La frase "al menos uno de" permite un significado que incluye al menos uno de cualquiera de los elementos, y/o al menos uno de cualquier combinación de los elementos, y/o al menos uno de cada uno de los elementos. A modo de ejemplo, las frases "al menos uno de A, B y C" o "al menos uno de A, B o C" se refieren cada uno solo a A, solo a B o solo a C; cualquier combinación de A, B y C; y/o al menos uno de cada uno de A, B y C.

[0139] Por lo tanto, los sistemas, herramientas y procedimientos divulgados están bien adaptados para lograr los fines y ventajas mencionados, así como aquellos que son inherentes a los mismos. Las realizaciones particulares divulgadas anteriormente son solo ilustrativas, ya que las enseñanzas de la presente divulgación pueden modificarse y practicarse de maneras diferentes, pero equivalentes, evidentes para aquellos expertos en la técnica que tengan el beneficio de las enseñanzas en el presente documento. Además, no se pretenden limitaciones para los detalles de construcción o diseño mostrados en el presente documento, excepto como se describe en las reivindicaciones a continuación. Los sistemas, herramientas y procedimientos divulgados de manera ilustrativa en el presente documento pueden practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento que no esté específicamente divulgado en el presente documento y/o cualquier elemento opcional divulgado en el presente documento. Si bien los sistemas, herramientas y procedimientos se describen en términos de "que comprenden", "que contienen" o "que incluyen" varios componentes o etapas, los sistemas, herramientas y procedimientos también pueden "consistir esencialmente en" o "consistir en" los diversos componentes y etapas. Todos los números e intervalos divulgados anteriormente pueden variar en cierta cantidad. Siempre que se divulga un intervalo numérico con un límite inferior y un límite superior, se divulga específicamente cualquier número y cualquier intervalo incluido que se encuentre dentro del intervalo. En particular, se debe entender que cada intervalo de valores (de la forma, "de aproximadamente a a aproximadamente b", o, equivalentemente, "de aproximadamente a a b", o, equivalentemente, "de aproximadamente a-b") divulgado en el presente documento establece cada número e intervalo comprendido dentro del intervalo más amplio de valores. Además, los términos en las reivindicaciones tienen su significado simple y ordinario a menos que el titular de la patente los defina explícita y claramente de otra manera. Además, los artículos indefinidos "un" y "una", tal como se utilizan en las reivindicaciones, se definen en el presente documento con el significado de uno.

REIVINDICACIONES

1. Sensor de analito que comprende:
una cola de sensor que comprende al menos un electrodo de trabajo (700);
5 un área activa sensible a la glucosa (706) dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo (700), comprendiendo el área activa sensible a la glucosa (706) una enzima activa sensible a la glucosa;
una primera parte (702a) de un área activa sensible al etanol dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo (700) espaciada del área activa sensible a la glucosa (706), comprendiendo la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol xantina oxidasa, un primer polímero y un agente de transferencia de electrones opcional;
10 una primera membrana (704) dispuesta sobre la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol, comprendiendo la primera membrana (704) un primer polímero de membrana y siendo permeable al menos a acetaldehído;
una segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol dispuesta sobre la primera membrana (704), comprendiendo la segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol glucosa oxidasa, catalasa y un segundo polímero; y
15 una segunda membrana (708) dispuesta sobre el área activa sensible a la glucosa (706) y la segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol, comprendiendo la segunda membrana (708) un segundo polímero de membrana y siendo permeable al menos a glucosa y etanol.
2. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que la cola del sensor está configurada para su inserción en un tejido.
3. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que el primer y el segundo polímero de membrana son uno de una polivinilpiridina, una polivinilimidazona o cualquier copolímero de las mismas.
- 25 4. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que la primera membrana (704) es polivinilpiridina y el segundo polímero de membrana es polivinilpiridina-co-estireno.
5. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que la xantina oxidasa está unida covalentemente al primer polímero en la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol, y la glucosa oxidasa está unida covalentemente al segundo polímero en la segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol.
- 30 6. Sensor de analito, de la reivindicación 1, en el que la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol comprende el agente de transferencia de electrones, y el agente de transferencia de electrones está unido covalentemente al primer polímero.
- 35 7. Sensor de analito, según la reivindicación 6, en el que el agente de transferencia de electrones comprende un complejo de osmio.
8. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que la enzima sensible a la glucosa es glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa.
- 40 9. Sensor de analito, según la reivindicación 1, en el que la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol comprende además catalasa.
- 45 10. Procedimiento para hacer funcionar un sensor de analito para detectar glucosa y etanol en un fluido, comprendiendo el sensor de analito:
una cola de sensor que comprende al menos un electrodo de trabajo (700);
un área activa sensible a la glucosa (706) dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo (700), comprendiendo el área activa sensible a la glucosa (706) una enzima activa sensible a la glucosa;
50 una primera parte (702a) de un área activa sensible al etanol dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo (700) espaciada del área activa sensible a la glucosa (706), comprendiendo la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol xantina oxidasa, un primer polímero y un agente de transferencia de electrones opcional;
una primera membrana (704) dispuesta sobre la primera parte (702a) del área activa sensible al etanol, comprendiendo la primera membrana (704) un primer polímero de membrana y siendo permeable al menos a acetaldehído;
55 una segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol dispuesta sobre la primera membrana (704), comprendiendo la segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol glucosa oxidasa, catalasa y un segundo polímero; y
una segunda membrana (708) dispuesta sobre el área activa sensible a la glucosa (706) y la segunda parte (702b) del área activa sensible al etanol, comprendiendo la segunda membrana (708) un segundo polímero de membrana y siendo permeable al menos a glucosa y etanol; y
60 comprendiendo el procedimiento:
aplicar un potencial al electrodo de trabajo (700) para generar una primera señal en o por encima de un potencial de oxidación-reducción del área activa sensible a la glucosa (706) y una segunda señal en o por encima de un potencial de oxidación-reducción del área activa sensible al etanol, siendo la primera señal proporcional a una concentración de

glucosa en el fluido, siendo la segunda señal proporcional a una concentración de etanol en el fluido; y correlacionar la primera señal con la concentración de glucosa en el fluido y la segunda señal con la concentración de etanol en el fluido.

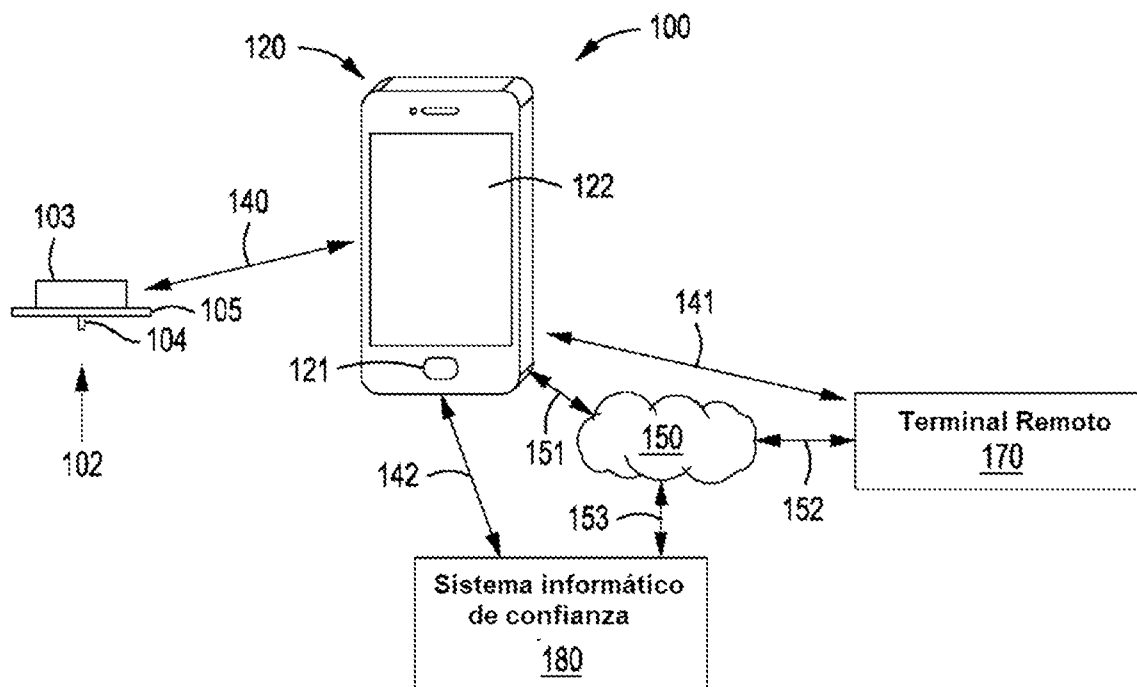


FIG. 1

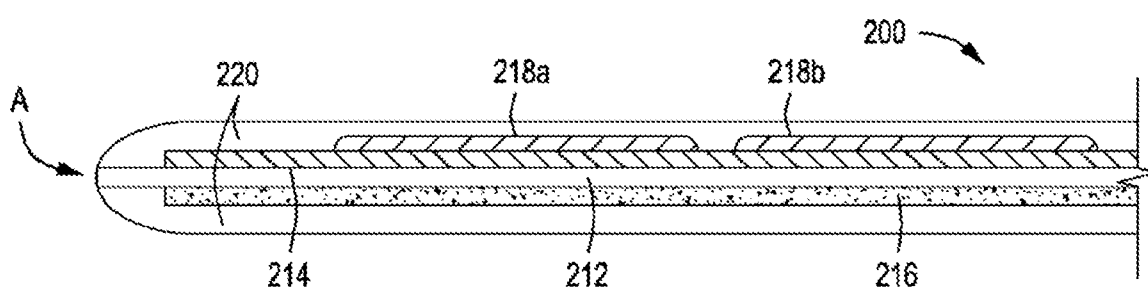


FIG. 2A

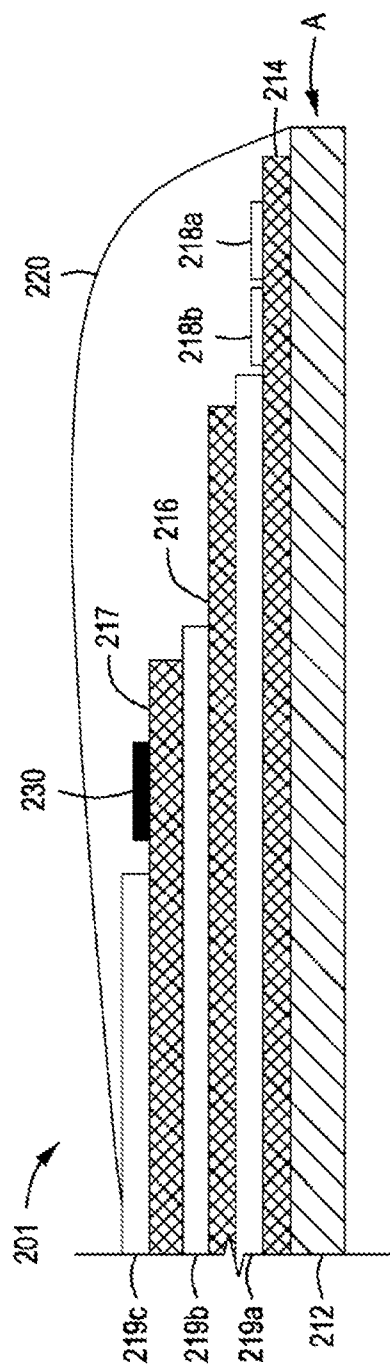


FIG. 2B

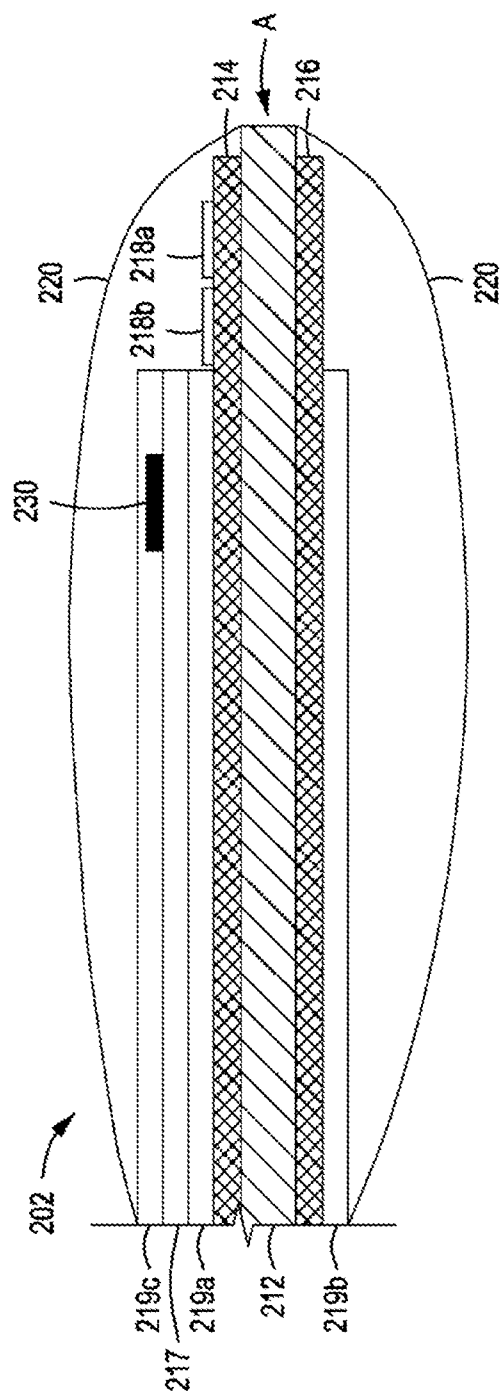


FIG. 2C.

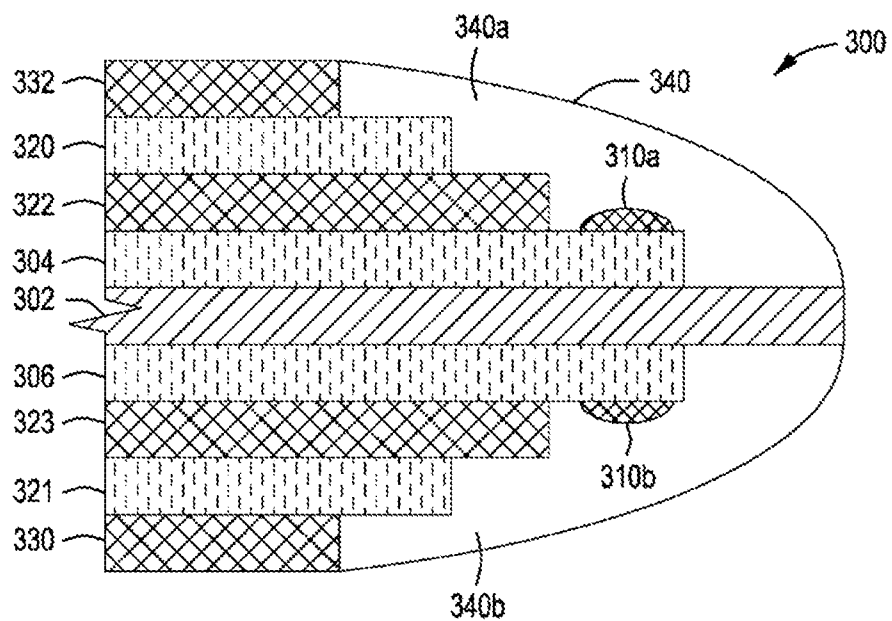


FIG. 3

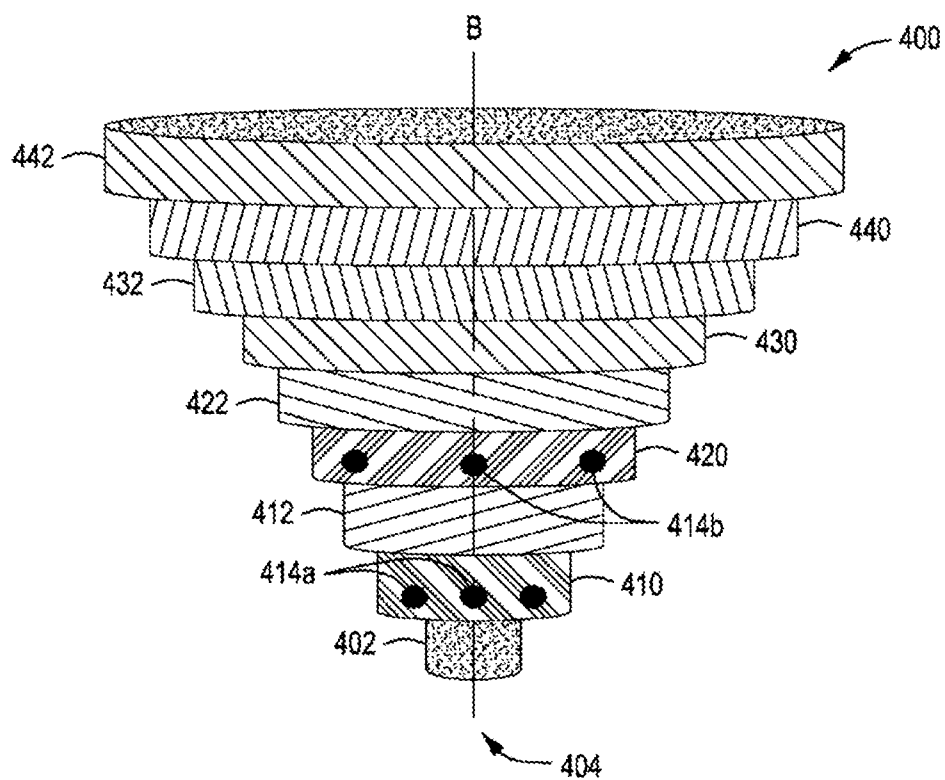


FIG. 4

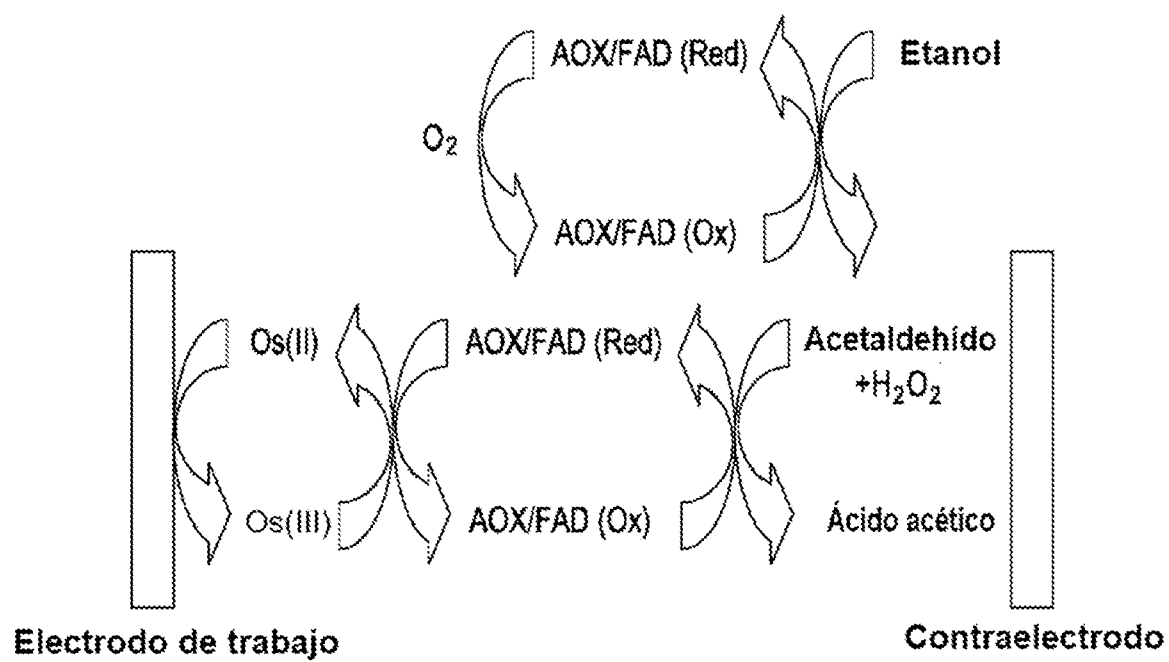


FIG. 5A

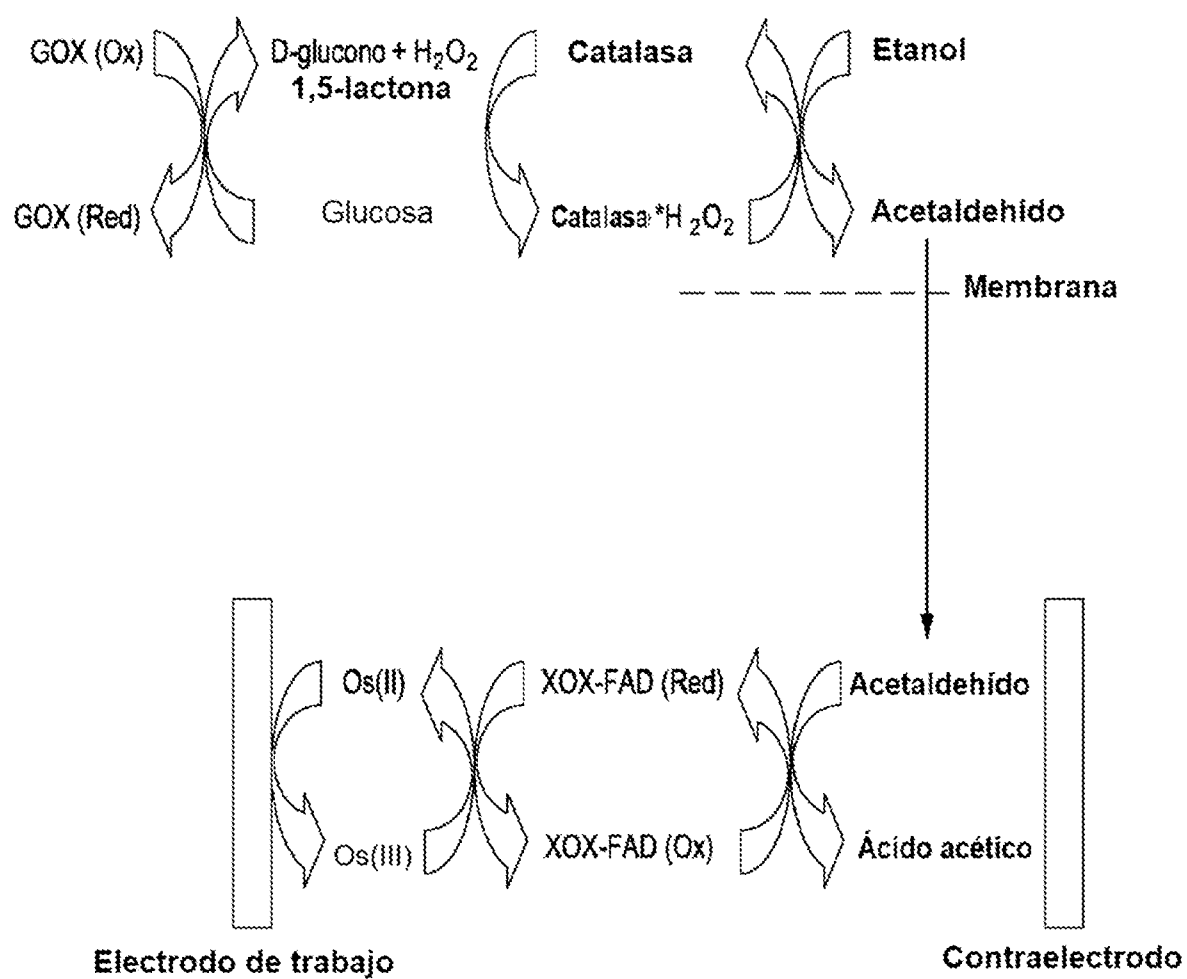


FIG. 5B

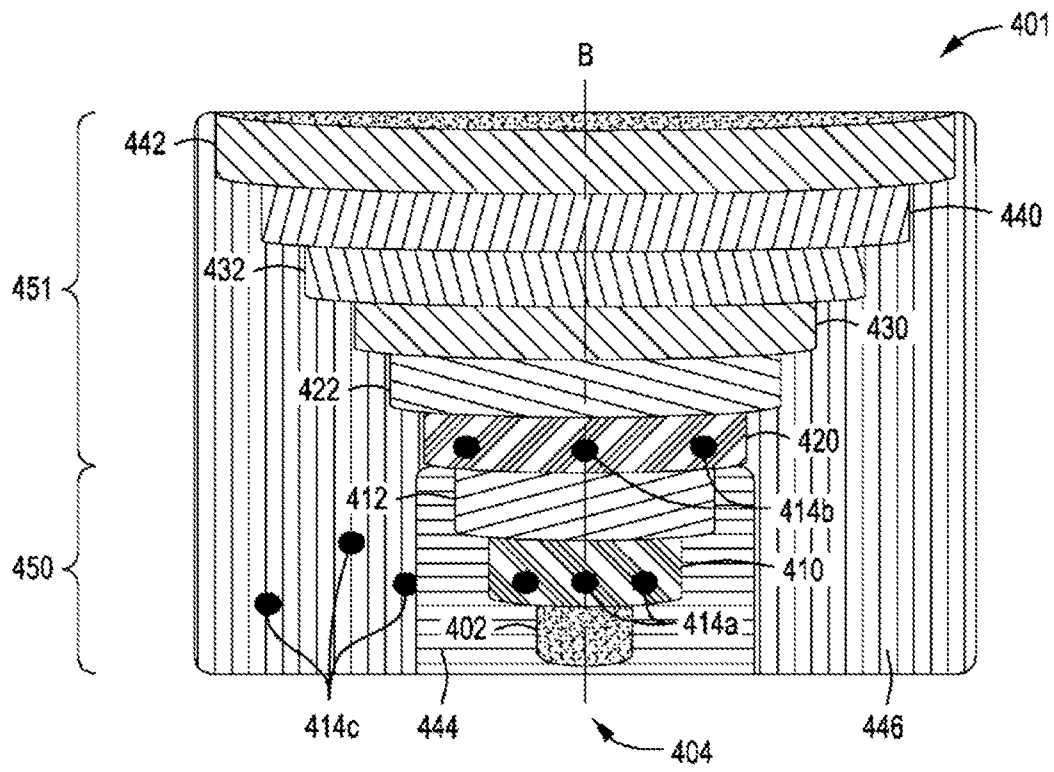


FIG. 6A

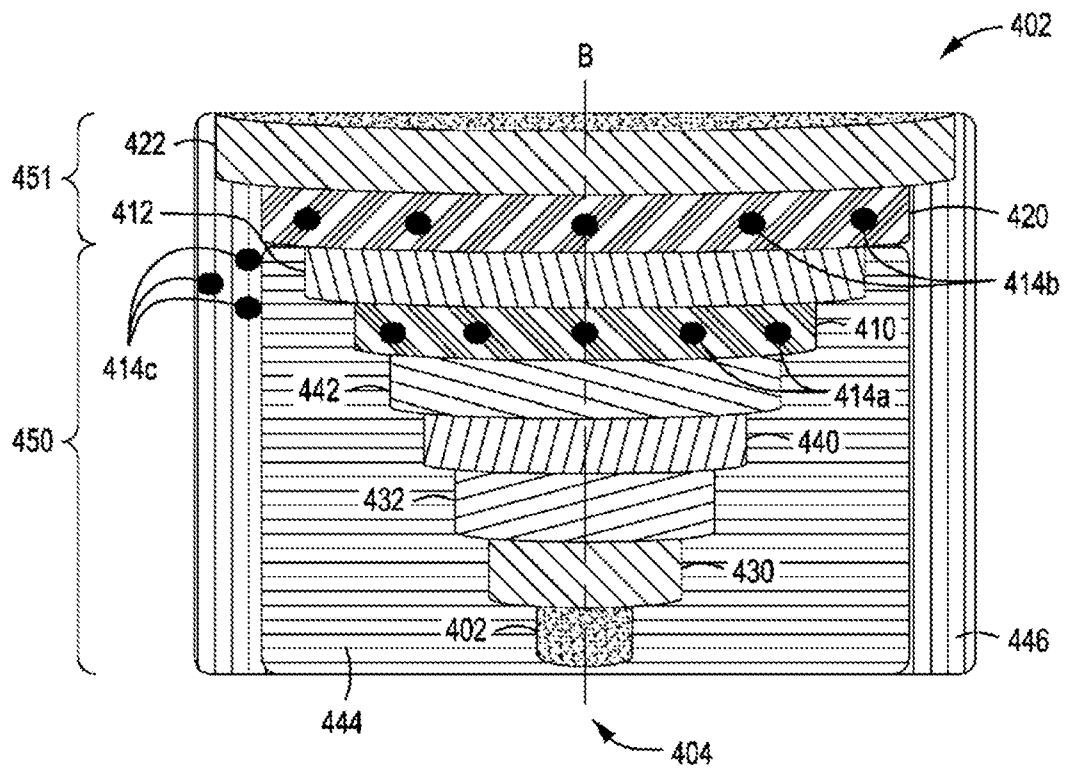


FIG. 6B

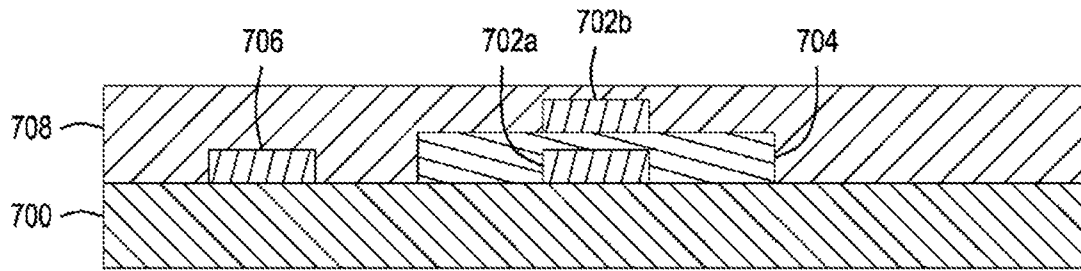


FIG. 7

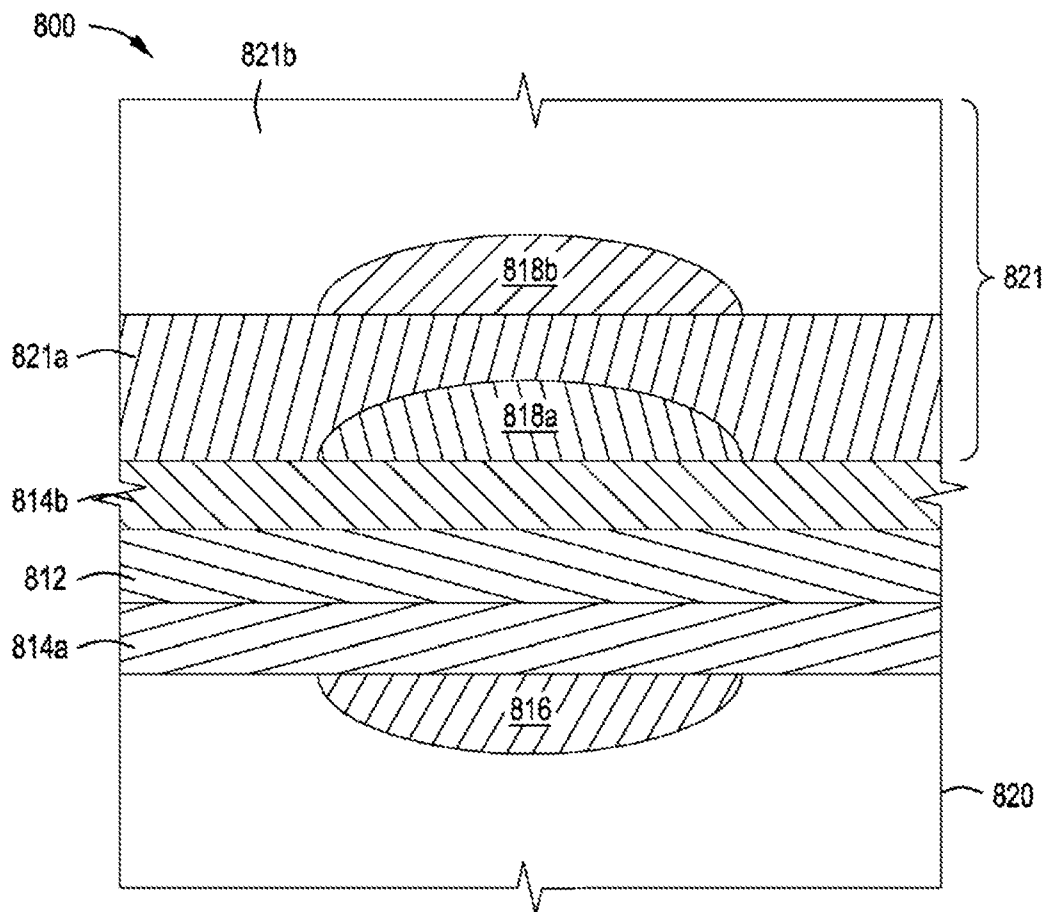
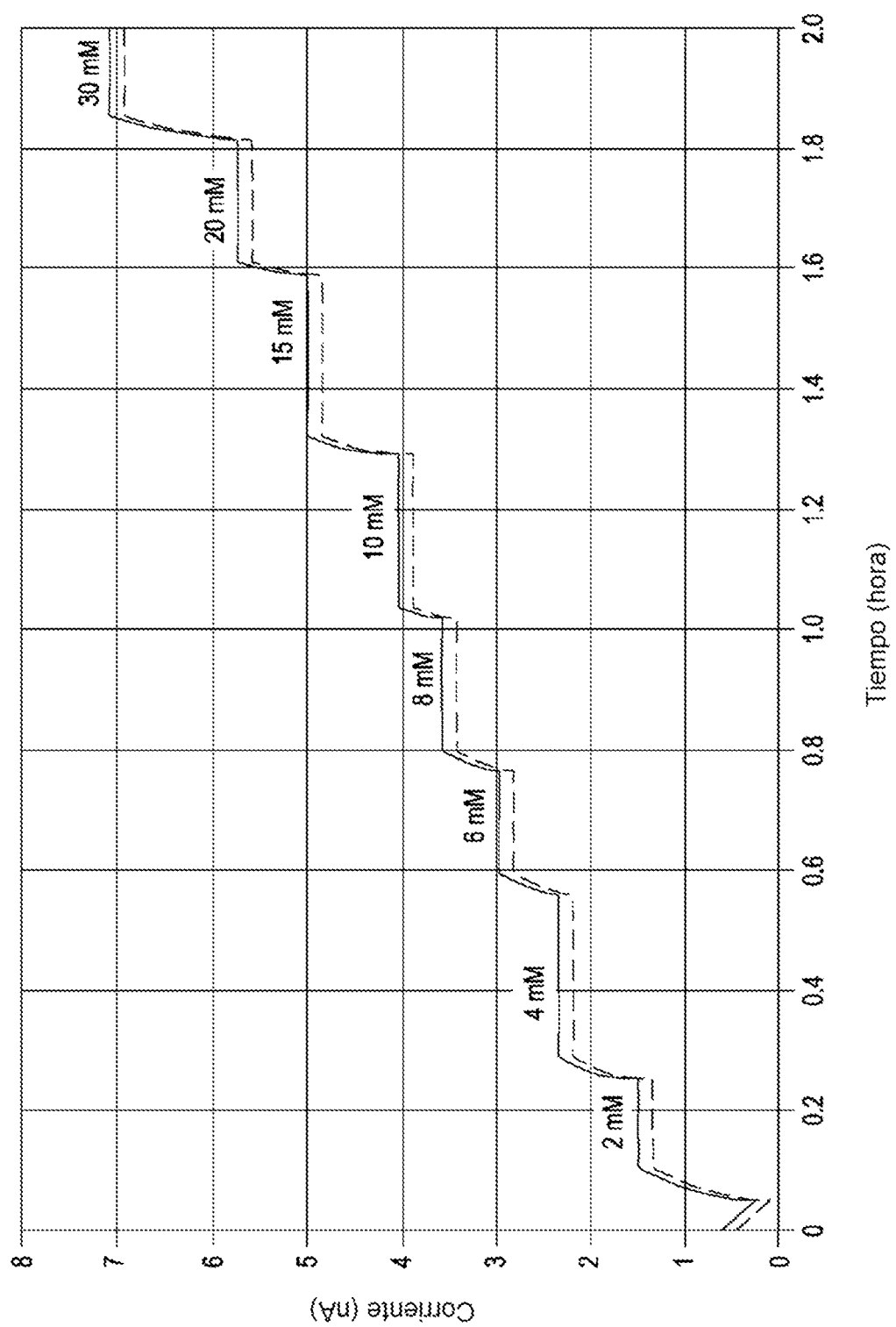


FIG. 8



Tiempo (hora)

FIG. 9A

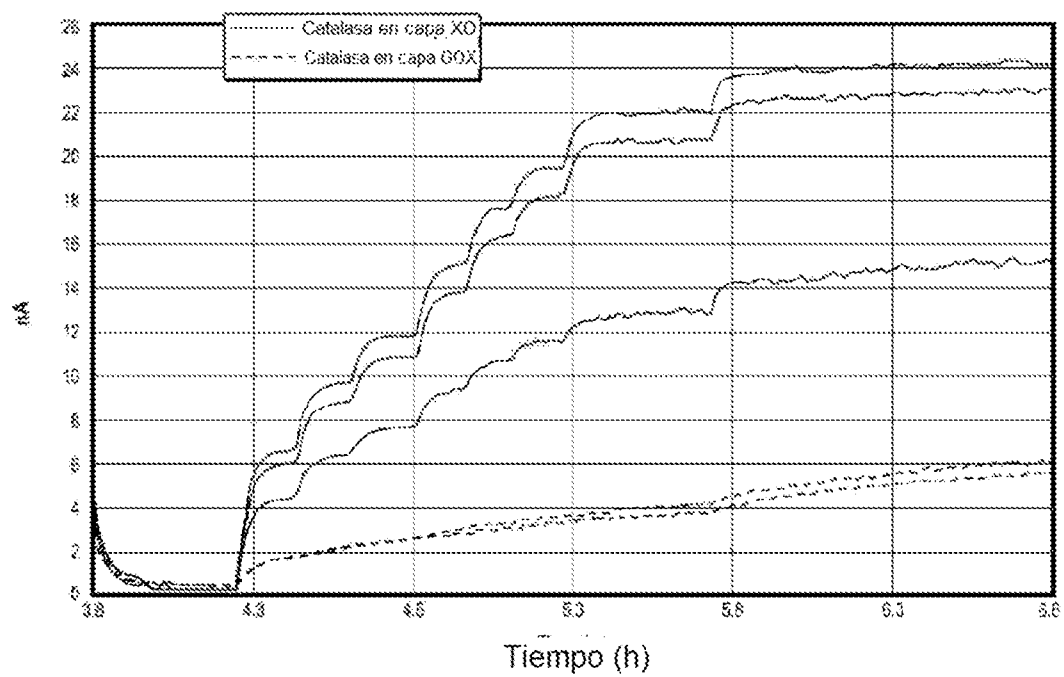


FIG. 9B

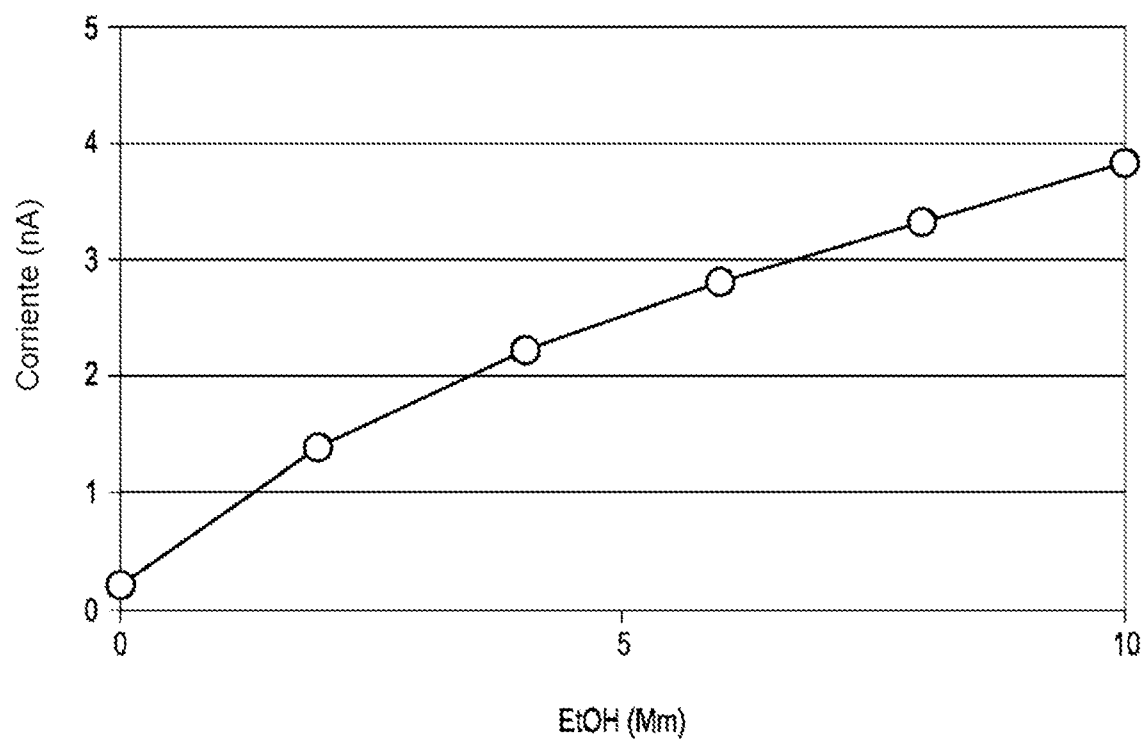


FIG. 10

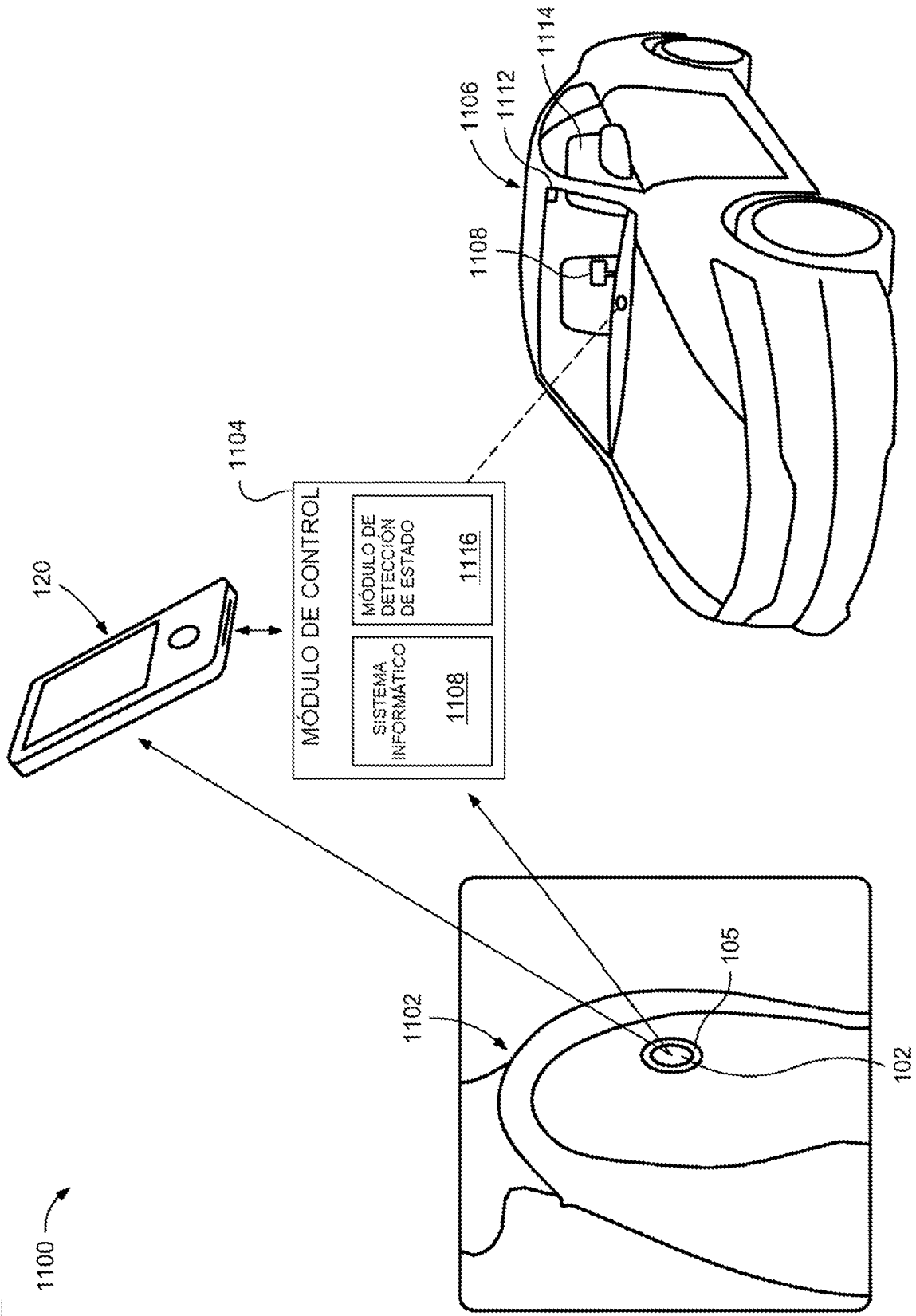


FIG. 11