

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 995 203**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/145** (2006.01)

**A61B 5/1486** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.01.2020** **PCT/US2020/015365**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2020** **WO20159956**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2020** **E 20712075 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2024** **EP 3917396**

54 Título: **Sensores de analitos que presentan una detección doble de glucosa y cetonas**

30 Prioridad:

**28.01.2019 US 201962797566 P**  
**09.08.2019 US 201962884869 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.02.2025**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**FELDMAN, BENJAMIN J.;**  
**SLOAN, MARK K.;**  
**KUMAR, ASHWIN;**  
**KIAIE, NAMVAR y**  
**LOVE, MICHAEL R.**

74 Agente/Representante:

**PONTI & PARTNERS, S.L.P.**

ES 2 995 203 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 analitos que presentan una detección doble de glucosa y cetonas

## 5 ANTECEDENTES

[0001] La detección de varios analitos dentro de un individuo puede ser a veces vital para monitorizar el estado de su salud y bienestar. La desviación de los niveles normales de analito a menudo puede ser indicativa de una afección fisiológica subyacente, tal como una afección o enfermedad metabólica, o exposición a condiciones ambientales particulares. Si bien un solo analito puede estar desregulado de manera singular para una afección fisiológica dada, a veces sucede que más de un analito está desregulado simultáneamente, ya sea debido a la misma afección fisiológica o como resultado de una afección fisiológica comórbida (relacionada). Cuando múltiples analitos están desregulados simultáneamente, el grado de desregulación puede variar para cada analito. Por tanto, puede ser necesario monitorizar cada analito para obtener una evaluación satisfactoria de la salud de un individuo.

[0002] La monitorización periódica ex vivo de analitos utilizando un fluido corporal extraído puede ser suficiente para observar una afección fisiológica dada para muchas personas. Sin embargo, la monitorización ex vivo de analitos puede ser incómoda o dolorosa para algunas personas, en particular si la extracción de fluido corporal debe realizarse con bastante frecuencia (por ejemplo, varias veces al día). La monitorización continua de analitos utilizando un sensor de analitos in vivo implantado puede ser un enfoque más deseable para personas que tienen una desregulación grave de analitos y/o niveles de analitos que fluctúan rápidamente, aunque también puede ser beneficiosa para otras personas debido a la comodidad que ofrece. Los sensores de analitos subcutáneos, intersticiales o dérmicos pueden proporcionar una precisión de medición suficiente en muchos casos al tiempo que ofrecen una incomodidad mínima para el usuario.

[0003] Muchos analitos representan objetivos interesantes para los análisis fisiológicos, siempre que se pueda identificar una química de detección adecuada. Con este fin, en los últimos años se han desarrollado y perfeccionado sensores amperométricos configurados para analizar la glucosa in vivo con el fin de ayudar a monitorizar la salud de las personas diabéticas. Otros analitos que suelen estar sujetos a una desregulación simultánea con la glucosa en las personas diabéticas incluyen, por ejemplo, el lactato, el oxígeno, el pH, la Ale, las cetonas y similares. Se conocen sensores configurados para detectar analitos que suelen estar desregulados en combinación con la glucosa, pero actualmente están considerablemente menos perfeccionados.

[0004] Los sensores de analito in vivo normalmente están configurados para analizar un único analito con el fin de proporcionar análisis específicos, empleando a menudo una enzima para proporcionar una alta especificidad para un analito dado. Debido a dicha especificidad analítica, los sensores de analito in vivo actuales configurados para analizar glucosa son generalmente ineficaces para analizar otros analitos que frecuentemente se desregulan en combinación con glucosa o que resultan de niveles de glucosa desregulados. En el mejor de los casos, los enfoques de monitorización de analito actuales requieren que una persona diabética use dos sensores de analito in vivo diferentes, uno configurado para analizar glucosa y el otro configurado para analizar otro analito de interés, tal como lactato o cetonas. Los enfoques de monitorización de analito que emplean múltiples sensores de analito in vivo pueden ser muy inconvenientes para un usuario. Además, cuando se utilizan múltiples sensores de analito in vivo, existe una carga de coste adicional para el equipo y una mayor probabilidad estadística de fallo de al menos uno de los sensores de analito in vivo individuales.

[0005] El documento US 2019/004005 A1 divulga un procedimiento para detectar un analito utilizando un sensor que tiene un electrodo de trabajo, el procedimiento incluye proporcionar al electrodo de trabajo una enzima específica del analito y un mediador redox, proporcionar el electrodo de trabajo al analito, acumular la carga derivada del analito que reacciona con la enzima específica del analito y el mediador redox durante un período de tiempo establecido, conectar el electrodo de trabajo al circuito después del período de tiempo establecido y medir la señal de la carga acumulada.

## 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.

Las Figuras 2A-2C muestran diagramas de sistemas enzimáticos particulares que pueden usarse para detectar cetonas de acuerdo con la presente divulgación.

Las Figuras 3A-3C muestran diagramas de sección transversal de sensores de analito que tienen un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas sobre un solo electrodo de trabajo.

La Figura 4 muestra un diagrama de sección transversal de un sensor de analito que tiene un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas sobre electrodos de trabajo separados.

Las figuras 5A-5D muestran vistas en perspectiva de sensores de analito que presentan electrodos sustancialmente cilíndricos que están dispuestos concéntricamente entre sí.

La Figura 6 muestra cuatro réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene diaforasa,  $\text{NAD}^+$  y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa cuando se expone a diferentes concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato.

La Figura 7 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente promedio frente a la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato para los electrodos de la Figura 6.

5 La Figura 8 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente para los electrodos de la Figura 6 cuando se expone a 8 mM de  $\beta$ -hidroxibutirato en 100 mM de PBS a 33 °C durante 2 semanas.

La Figura 9 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de un sensor de analito que contiene un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas dispuestas sobre electrodos de trabajo separados después de la exposición a 30 mM de glucosa y 10 mM de cetonas.

10 Las Figuras 10-12 muestran gráficos ilustrativos de la respuesta de un sensor de analito que contiene un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas a concentraciones variables de glucosa y  $\beta$ -hidroxibutirato. Las Figuras 13A y 13B muestran cuatro réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene  $\text{NADHox}$ ,  $\text{NAD}^+$  y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa cuando se expone a diferentes concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato.

15 La Figura 14 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente frente al tiempo para un electrodo que contiene  $\text{NADHox}$ ,  $\text{NAD}^+$  y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa después de la exposición a concentraciones crecientes de  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa.

La Figura 15A muestra la respuesta de corriente para un electrodo de trabajo de carbono, y la Figura 15B muestra la respuesta de corriente para un electrodo de trabajo de nanotubos de carbono, cada uno conteniendo poli-1,10-fenantrolina-5,6-diona y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa.

20 La Figura 16 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

25 [0007] La presente invención se describe en las reivindicaciones. La presente divulgación describe en general sensores de analitos que emplean múltiples enzimas para la detección de dos analitos diferentes y, más específicamente, sensores de analitos que emplean múltiples enzimas para la detección de glucosa y cetonas y procedimientos correspondientes para su uso.

30 [0008] Tal como se ha comentado anteriormente, los sensores de analito que emplean una enzima se utilizan habitualmente para detectar un único analito, tal como la glucosa o un analito relacionado, debido a la frecuente especificidad de la enzima para un sustrato o una clase de sustrato en particular. Sin embargo, la monitorización 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 monitorizan múltiples analitos *in vivo*, debido a problemas, tales como, por ejemplo, el coste de múltiples sensores de analito, la incomodidad del usuario al llevar puestos múltiples sensores de analito y una mayor probabilidad estadística de fallo de un sensor de analito individual.

40 [0009] La presente divulgación da a conocer sensores de analitos que responden tanto a la glucosa como a las cetonas, dos analitos que se encuentran desregulados habitualmente en individuos diabéticos. Dado que las concentraciones de glucosa y cetonas pueden no correlacionarse directamente entre sí en un individuo diabético que también presenta cetoacidosis (desregulación de cetonas), puede ser ventajoso monitorizar ambos analitos simultáneamente utilizando los sensores de analitos divulgados en este documento, lo que potencialmente conduce a mejores resultados de salud. Además de proporcionar beneficios de salud para las personas diabéticas, los sensores de analitos pueden ser beneficiosos para otros individuos que desean monitorizar sus niveles de cetonas, tales como las personas que practican una dieta cetogénica. Las dietas cetogénicas pueden ser beneficiosas para promover la pérdida de peso, así como para ayudar a las personas epilépticas a controlar su afección. La monitorización simultánea de la glucosa durante la monitorización de la dieta cetogénica puede ofrecer ventajas relacionadas.

50 [0010] En particular, la presente divulgación da a conocer sensores de analitos en los que un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas están presentes dentro de la cola de un único sensor de analitos, permitiendo así que ambos analitos se controlen simultáneamente para identificar una posible desregulación de los mismos utilizando el único sensor de analitos. Tal como es evidente a partir de la descripción anterior, la detección simultánea de glucosa y cetonas utilizando un único sensor de analitos puede proporcionar varias ventajas sobre los enfoques de monitorización que emplean sensores de analitos separados. Varias disposiciones físicas del área activa sensible a la glucosa y del área activa sensible a las cetonas son posibles dentro de los sensores de analitos, tal como se analiza a continuación. 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 a las cetonas pueden interrogarse por separado para determinar la concentración de cada analito, tal como por ejemplo mediante la disposición de las áreas activas sobre electrodos de trabajo separados. Tal como se analiza a continuación, existen desafíos asociados con la incorporación de áreas activas que presentan diferentes químicas de detección en un solo sensor de analitos, que se abordan en la presente divulgación.

65 [0011] Los sensores de analitos sensibles a la glucosa son un campo bien estudiado y aún en desarrollo para ayudar a las personas diabéticas a controlar mejor su salud. A pesar de la prevalencia de la desregulación comórbida de analitos en personas diabéticas, las químicas de sensores adecuadas para detectar cetonas y otros analitos que se

desregulan habitualmente en combinación con glucosa se han quedado muy atrás de las químicas de detección de glucosa mejor desarrolladas. La presente divulgación alivia esta deficiencia dando a conocer químicas de sensores adecuadas para detectar cetonas con buena estabilidad de respuesta en un rango de concentraciones de cetonas, particularmente químicas de detección que utilizan sistemas enzimáticos que comprenden al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "de manera conjunta" se refiere a una reacción enzimática acoplada, en la que el producto de una primera reacción enzimática se convierte en el sustrato para una segunda reacción enzimática, y la segunda reacción enzimática sirve como base para medir la concentración del sustrato (analito) que reaccionó durante la primera reacción enzimática. Aunque se define en términos de dos reacciones enzimáticas acopladas, se debe entender que más de dos reacciones enzimáticas también pueden estar acopladas en algunos casos. Por ejemplo, el producto de una primera reacción enzimática puede convertirse en el sustrato de una segunda reacción enzimática, y el producto de la segunda reacción enzimática puede convertirse en el sustrato de una tercera reacción enzimática, sirviendo la tercera reacción enzimática como base para medir la concentración del sustrato (analito) que reaccionó durante la primera reacción enzimática. A continuación se presenta una discusión de sistemas enzimáticos adecuados para detectar cetonas de acuerdo con la presente divulgación.

[0012] 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 la enzima es inhibida por uno o más productos de la reacción enzimática o no puede pasar cíclicamente de un estado oxidado a un estado reducido cuando se dispone dentro de un sensor de analito. Algunos productos producidos por una sola enzima pueden no ser detectables electroquímicamente.

[0013] Incluso teniendo a mano productos químicos de detección adecuados, la combinación de un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas en un único sensor de analito no es una cuestión sencilla. Los sensores de analito sensibles a la glucosa emplean comúnmente una membrana que recubre el área activa sensible a la glucosa para funcionar como una membrana limitante del transporte de masa y/o para mejorar la biocompatibilidad. Limitar el acceso de la glucosa al área activa sensible a la glucosa con una membrana limitante del transporte de masa puede ayudar a evitar la sobrecarga del sensor (saturación), mejorando así el rendimiento y la precisión de la detección. Una membrana limitante del transporte de masa puede actuar como una barrera limitante de la difusión para reducir la tasa de transporte de masa de la glucosa para lograr lo anterior. La membrana limitante del transporte de masa puede ser homogénea y comprender un único polímero de membrana en sensores sensibles a la glucosa convencionales. Desafortunadamente, la glucosa y las cetonas presentan valores de permeabilidad significativamente diferentes a través de un material de membrana determinado, de modo que si una sola membrana limitante del transporte de masa recubre las áreas activas de un sensor de analitos capaz de detectar tanto glucosa como cetonas, pueden obtenerse sensibilidades significativamente diferentes para cada analito, lo que complica la capacidad de detectar glucosa y cetonas de manera simultánea y precisa. Aunque los problemas de sensibilidad de los analitos pueden abordarse, en principio, ajustando el grosor de la membrana y/o alterando el tamaño de las áreas activas entre sí, estas soluciones pueden ser difíciles de implementar en la práctica.

[0014] En respuesta a lo anterior, la presente divulgación también proporciona composiciones de membrana y procedimientos para su deposición que son adecuados para facilitar la detección simultánea de glucosa y cetonas. Específicamente, la presente divulgación proporciona composiciones de membrana que tienen diferentes valores de permeabilidad que pueden disponerse por separado como composiciones distintas sobre el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas. Sorprendentemente, un polímero de membrana adecuado para su uso como membrana limitante del transporte de masa en un sensor de analito sensible a la glucosa también puede incorporarse adecuadamente en una membrana limitante del transporte de masa de múltiples componentes para recubrir el área activa en un sensor de analito sensible a las cetonas, incluso cuando el polímero de membrana solo no es de otro modo adecuado para su uso con cetonas debido a un rendimiento deficiente (por ejemplo, valores de permeabilidad no deseados). Ventajosamente, las arquitecturas de los sensores de analito descritas en el presente documento permiten disponer una membrana continua que tiene una parte de membrana homogénea sobre el área activa sensible a la glucosa de los sensores de analito y una parte de membrana multicomponente sobre el área activa sensible a las cetonas de los sensores de analito, nivelando así las permeabilidades de cada analito simultáneamente para proporcionar una sensibilidad y precisión de detección mejoradas. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "membrana homogénea" se refiere a una membrana que comprende un único tipo de polímero de membrana, y el término "membrana multicomponente" se refiere a una membrana que comprende dos o más tipos de polímeros de membrana. Tanto las membranas bicapa como las mezcladas pueden ser adecuadas para su uso como membrana multicomponente en la presente divulgación. Al utilizar una membrana multicomponente junto con las arquitecturas de sensores divulgadas en este documento, se pueden lograr ventajas de fabricación al combinar químicas de detección sensibles a la glucosa y sensibles a las cetonas entre sí, en comparación con los enfoques de fabricación que alteran el grosor de la membrana y/o el tamaño de las áreas activas para ajustar la sensibilidad de uno de los analitos.

[0015] Antes de describir los sensores de analito de la presente divulgación con más detalle, se proporcionará primero una breve descripción general de las configuraciones de sensores de analito *in vivo* adecuadas y los sistemas de sensores que emplean los sensores de analito para que las realizaciones de la presente divulgación se puedan

entender mejor. La Figura 1 muestra un diagrama de un sistema de detección ilustrativo que puede incorporar un sensor de analitos de la presente divulgación, específicamente un sensor de analitos que comprende un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas. Tal como se muestra, el sistema de detección 100 incluye un dispositivo de control de sensor 102 y un dispositivo lector 120 que están 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 concentraciones de analito y alertas 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. Si bien solo se muestra un dispositivo lector 120, pueden estar presentes múltiples dispositivos lectores 120 en ciertos casos. 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 ruta(s) o enlace(s) 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 también o de manera alternativa puede 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 de comunicación/enlace 153. Alternativamente, el sensor 104 puede comunicarse directamente con el terminal remoto 170 y/o el sistema informático de confianza 180 sin que esté presente un dispositivo lector 120 por medio. 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 directa a la red 150, de acuerdo con algunas realizaciones, tal como se describe en la Publicación de solicitud de patente de EE. UU. 2011/0213225. Se puede utilizar cualquier protocolo de comunicación electrónica adecuado para cada una de las rutas o enlaces de comunicación, tales como por ejemplo, protocolos de comunicación de campo cercano (NFC), identificación por radiofrecuencia (RFID), protocolos BLUETOOTH® o BLUETOOTH® de bajo consumo, WiFi o similares. El terminal remoto 170 y/o el sistema informático de confianza 180 pueden ser accesibles, según 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, según algunas realizaciones.

[0016] 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. Un procesador (no mostrado) se puede acoplar comunicativamente al sensor 104, estando el procesador ubicado físicamente dentro de la carcasa de sensor 103 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 la 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.

[0017] El sensor 104 está adaptado para insertarse al menos parcialmente en un tejido de interés, tal como por ejemplo 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 un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas sobre una superficie del al menos un electrodo de trabajo para facilitar la detección de estos analitos. Un contraelectrodo puede estar presente en combinación con dicho al menos un electrodo de trabajo. Las configuraciones particulares de electrodos sobre la cola de sensor se describen con más detalle a continuación en referencia a las figuras 3A-5D.

[0018] Una o más membranas limitadoras del transporte de masa pueden recubrir el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas sobre dicho al menos un electrodo de trabajo, tal como también se describe con más detalle a continuación. El área activa sensible a la glucosa puede comprender una enzima sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas puede comprender un sistema enzimático que comprende al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas. Los sistemas enzimáticos adecuados se describen con más detalle a continuación en referencia a las Figuras 2A-2C. El área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas pueden incluir cada una un polímero al que al menos algunas de las enzimas están unidas covalentemente, según diversas realizaciones. En diversas realizaciones de la presente divulgación, la glucosa y las cetonas pueden monitorizarse en cualquier fluido biológico de interés, tal como fluido dérmico, fluido intersticial, plasma, sangre, linfa, fluido sinovial, fluido cefalorraquídeo, saliva, lavado broncoalveolar, fluido amniótico o similares. En realizaciones particulares, los sensores de analitos de la presente divulgación pueden adaptarse para analizar fluido dérmico o fluido intersticial para determinar concentraciones de glucosa y/o cetonas *in vivo*.

[0019] Haciendo referencia todavía a la Figura 1, el sensor 104 puede enviar automáticamente datos al dispositivo lector 120. Por ejemplo, los datos de concentración de analito (es decir, concentraciones de glucosa y/o cetonas) 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 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 usuario 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 aún otras realizaciones, puede implementarse 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 esté dentro del rango de comunicación del sensor 104.

[0020] Un introductor puede estar presente transitoriamente 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 pueden residir transitoriamente en la proximidad del sensor 104 antes de la inserción en el tejido y a continuación extraerse después. Cuando 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 puede 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 puede extraerse de modo que no represente un peligro de elementos punzantes. En realizaciones ilustrativas, las agujas adecuadas 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 250 micrones. Sin embargo, debe reconocerse que las agujas adecuadas pueden tener un diámetro de sección transversal mayor o menor si es necesario para aplicaciones particulares.

[0021] En algunas realizaciones, una punta de la aguja (cuando está presente) puede estar en ángulo sobre el extremo del sensor 104, de modo que la aguja 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 de la aguja, con la aguja abriendo de manera similar una vía de acceso para el sensor 104. En cualquier caso, la aguja se extrae posteriormente después de facilitar la inserción del sensor.

[0022] Haciendo referencia ahora a las Figuras 2A-2C, se describirán con más detalle los sistemas enzimáticos particulares que se pueden utilizar para detectar cetonas según la presente divulgación. En las reacciones enzimáticas representadas, el  $\beta$ -hidroxibutirato sirve como sustituto de las cetonas formadas *in vivo*. Tal como se muestra en la Figura 2A, un par de enzimas concertadas que se pueden utilizar para detectar cetonas de acuerdo con la divulgación en el presente documento es la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH) y la diaforasa, que se pueden depositar dentro de un área activa sensible a las cetonas sobre la superficie de al menos un electrodo de trabajo, tal como se describe más adelante en el presente documento. Cuando un área activa sensible a las cetonas contiene este par de enzimas concertadas, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa puede convertirse en  $\beta$ -hidroxibutirato y el nicotinamida adenina dinucleótido oxidado ( $\text{NAD}^+$ ) en acetoacetato y el nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH), respectivamente. Los cofactores enzimáticos  $\text{NAD}^+$  y NADH ayudan a promover las reacciones enzimáticas concertadas divulgadas en el presente documento. El NADH puede entonces experimentar una reducción bajo la mediación de la diaforasa, y los electrones transferidos durante este proceso proporcionan la base para la detección de cetonas en el electrodo de trabajo. Por lo tanto, existe una correspondencia molar 1:1 entre la cantidad de electrones transferidos al electrodo de trabajo y la cantidad de  $\beta$ -hidroxibutirato convertido, proporcionando así la base para la detección y cuantificación de cetonas en función de la cantidad medida de corriente en el electrodo de trabajo. La transferencia de los electrones resultantes de la reducción de NADH al electrodo de trabajo puede tener lugar a través de un agente de transferencia de electrones, tal como un compuesto de osmio (Os), como se describe más adelante. La albúmina puede estar presente como estabilizador con este par de enzimas concertadas. De acuerdo con realizaciones particulares, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y la diaforasa pueden estar unidas covalentemente a un polímero dentro del área activa sensible a las cetonas de los sensores de analitos. El  $\text{NAD}^+$  puede o no estar unido covalentemente al polímero, pero si el  $\text{NAD}^+$  no está unido covalentemente, puede quedar físicamente retenido dentro del área activa sensible a las cetonas. Una membrana que recubre el área activa sensible a las cetonas puede ayudar a retener el  $\text{NAD}^+$  dentro del área activa sensible a las cetonas, permitiendo al mismo tiempo una difusión interna suficiente de las cetonas para permitir su detección. En este documento se analizan con más detalle polímeros de membrana adecuados para recubrir el área activa sensible a las cetonas.

[0023] Otras químicas adecuadas para detectar cetonas enzimáticamente se muestran en las Figuras 2B y 2C. En ambos casos, existe nuevamente una correspondencia molar de 1:1 entre la cantidad de electrones transferidos al electrodo de trabajo y la cantidad de  $\beta$ -hidroxibutirato convertido, lo que proporciona la base para la detección de cetonas.

[0024] Tal como se muestra en la Figura 2B, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH) puede convertir nuevamente el  $\beta$ -hidroxibutirato y el  $\text{NAD}^+$  en acetoacetato y NADH, respectivamente. En lugar de que la transferencia de electrones al electrodo de trabajo la complete la diaforasa (ver la Figura 2A) y un agente de transferencia de electrones de metal de transición, la forma reducida de NADH oxidasa ( $\text{NADHox}$  (Red)) experimenta una reacción para formar la forma oxidada correspondiente ( $\text{NADHox}$  (Ox)). La  $\text{NADHox}$  (Red) puede a continuación reformarse a través de una

reacción con oxígeno molecular para producir superóxido, que puede experimentar una conversión posterior en peróxido de hidrógeno bajo la mediación de la superóxido dismutasa (SOD). El peróxido de hidrógeno puede a continuación experimentar una reducción en el electrodo de trabajo para proporcionar una señal que puede correlacionarse con la cantidad de cetonas que estaban presentes inicialmente. La SOD puede estar unida covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas, de acuerdo con varias realizaciones. Al igual que el sistema enzimático que se muestra en la Figura 2A, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y la NADH oxidasa pueden estar unidas covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas, y el NAD puede o no estar unido covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas. Si el NAD<sup>+</sup> no está unido covalentemente, puede quedar físicamente retenido dentro del área activa sensible a las cetonas, con un polímero de membrana que promueve la retención del NAD<sup>+</sup> dentro del área activa sensible a las cetonas.

[0025] Tal como se muestra en la Figura 2C, otra química de detección enzimática de cetonas puede utilizar la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH) para convertir el  $\beta$ -hidroxibutirato y el NAD<sup>+</sup> en acetoacetato y NADH, respectivamente. El ciclo de transferencia de electrones en este caso se completa mediante la oxidación de poli-1,10-fenantrolina-5,6-diona en el electrodo de trabajo para reformar NAD. La poli-1,10-fenantrolina-5,6-diona puede o no estar unida covalentemente a un polímero dentro del área activa sensible a las cetonas. Al igual que el sistema enzimático que se muestra en la Figura 2A, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa puede estar unida covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas, y el NAD puede o no estar unido covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas. La inclusión de una albúmina en el área activa puede proporcionar una mejora sorprendente en la estabilidad de la respuesta. Un polímero de membrana adecuado puede promover la retención del NAD<sup>+</sup> dentro del área activa sensible a las cetonas.

[0026] Las áreas activas sensibles a la glucosa en los sensores de analito descritos en el presente documento pueden adsorberse físicamente a una superficie de electrodo de trabajo y pueden comprender una enzima sensible a la glucosa, tal como la glucosa oxidasa o la glucosa deshidrogenasa. El área activa sensible a la glucosa puede comprender un polímero que está unido covalentemente a la enzima sensible a la glucosa, de acuerdo con diversas realizaciones. A continuación se describen polímeros adecuados para su inclusión en las áreas activas.

[0027] Los sensores de analitos 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 a las cetonas) sobre un único electrodo de trabajo o sobre dos o más electrodos de trabajo separados. Las configuraciones de sensores con 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 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 3A-3C. Cada una de estas configuraciones de sensor puede incorporar adecuadamente un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas, 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 4 y 5A-5D. Cuando hay varios electrodos de trabajo, se puede disponer un área activa sensible a las cetonas sobre un primer electrodo de trabajo y un área activa sensible a la glucosa sobre un segundo electrodo de trabajo. Las configuraciones de sensor que emplean varios electrodos de trabajo pueden ser particularmente ventajosas para incorporar tanto un área activa sensible a la glucosa como un área activa sensible a las cetonas según la presente divulgación, ya que las membranas limitadoras del transporte de masa que tienen diferentes composiciones y/o diferentes valores de permeabilidad se pueden depositar más fácilmente durante la fabricación cuando las áreas activas están separadas y/o espaciadas de esta manera. En las Figuras 5A-5D se muestran configuraciones de sensor particulares que presentan varios electrodos de trabajo dispuestos de una manera que facilita la deposición de membranas limitadoras 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 limitadoras 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 las mismas.

[0028] 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, en el que el segundo electrodo puede funcionar tanto como un contraelectrodo como un electrodo de referencia (es decir, un contraelectrodo/electrodo de referencia). En las configuraciones de sensor de dos electrodos y de tres electrodos, tanto el área activa sensible a la glucosa como el área activa sensible a las cetonas pueden estar 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 a las cetonas espaciadas lateralmente sobre el electrodo de trabajo. En todas las configuraciones de sensores descritas en el presente documento, los diversos electrodos pueden estar aislados eléctricamente entre sí mediante un material dieléctrico o un aislante similar.

[0029] Los sensores de analitos que presentan múltiples electrodos de trabajo pueden comprender de manera similar al menos un electrodo adicional. Cuando hay un electrodo adicional presente, el electrodo adicional puede funcionar

como un contraelectrodo/electrodo de referencia para cada uno de los múltiples electrodos de trabajo. Cuando hay dos electrodos adicionales presentes, uno de los electrodos adicionales puede funcionar como un contraelectrodo para cada uno de los múltiples electrodos de trabajo y el otro de los electrodos adicionales puede funcionar como un electrodo de referencia para cada uno de los múltiples electrodos de trabajo.

[0030] A continuación se describirán con más detalle las configuraciones de sensores de analito que tienen un solo electrodo de trabajo. La Figura 3A muestra un diagrama en sección transversal 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 algunas realizaciones de la divulgación en el presente documento. Tal como se muestra, el sensor de analitos 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 a las cetonas) están espaciadas lateralmente entre sí sobre la superficie del electrodo de trabajo 214. En las diversas configuraciones de sensor que se muestran en el presente documento, las áreas activas 218a y 218b pueden comprender múltiples puntos o un único punto configurado para la detección de cada analito. El sensor de analitos 200 puede utilizarse para analizar glucosa y cetonas mediante cualquiera de las técnicas de detección electroquímica coulométrica, amperométrica, voltamperométrica o potenciométrica.

[0031] Haciendo referencia todavía a la Figura 3A, 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, o la totalidad del sensor de analitos 200. Una o ambas caras del sensor de analitos 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 3A, 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. Por ejemplo, la membrana 220 puede pulverizarse y/o imprimirse sobre las áreas activas 218a y 218b, de modo que la composición de la membrana 220 difiera en cada ubicación. En otra alternativa, la membrana 220 puede depositarse mediante recubrimiento por inmersión comenzando desde el extremo A del sensor de analitos 200. Específicamente, el extremo A del sensor de analitos 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 analitos 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 continua y presentar una bicapa en el área activa 218a y ser homogénea en el área activa 218b.

[0032] Las Figuras 3B y 3C muestran diagramas en sección transversal de configuraciones ilustrativas de sensores de tres electrodos que tienen un solo 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 solo electrodo de trabajo pueden ser similares a las que se muestran para el sensor de analito 200 en la Figura 3A, excepto por la inclusión del electrodo adicional 217 en los sensores de analitos 201 y 202 (Figuras 3B y 3C). Con el electrodo adicional 217, el electrodo 216 puede funcionar entonces 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 3B, 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 entre ellos. 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 3C. 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 separado del mismo 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 3B y 3C. Al igual que con el sensor de analito 200 que se muestra en la Figura 3A, las áreas activas 218a y 218b en los sensores de analitos 201 y 202 están dispuestas espaciadas lateralmente una de otra sobre el electrodo de trabajo 214 en las configuraciones de sensor de las Figuras 3B y 3C. Al igual que el sensor de analitos 200, los sensores de analitos 201 y 202 pueden utilizarse para analizar glucosa y cetonas mediante cualquiera de las técnicas de detección electroquímica coulométrica, amperométrica, voltamperométrica o potenciométrica.

[0033] Además, al igual que el sensor de analitos 200, la membrana 220 también puede recubrir las áreas activas 218a y 218b, así como otros componentes del sensor, en los sensores de analitos 201 y 202. El electrodo adicional 217 puede estar recubierto con la membrana 220 en algunas realizaciones. Aunque las Figuras 3B y 3C han representado todos los electrodos 214, 216 y 217 que están recubiertos con la membrana 220, se debe reconocer que solo el electrodo de trabajo 214 o las áreas activas 218a y 218b pueden estar recubiertos en algunas realizaciones. Aunque no es evidente en las Figuras 3B y 3C, el grosor de la membrana 220 puede ser el mismo o diferente en varias ubicaciones, tales como grosores variables en las áreas activas 218a y 218b. Asimismo, la membrana 220 también



puede variar en cuanto a su composición en las áreas activas 218a y 218b para regular de manera diferencial el flujo de analito en cada ubicación. Por ejemplo, el recubrimiento por inmersión desde el extremo A de los sensores de analitos 201 y 202 se puede utilizar para depositar una membrana continua que presenta una parte de membrana bicapa en el área activa 218a y una parte de membrana homogénea en el área activa 218b, tal como se describió con más detalle anteriormente para la Figura 3A. Al igual que en las configuraciones de sensores de analito de dos electrodos (Figura 3A), una o ambas caras de los sensores de analitos 201 y 202 pueden estar recubiertas con la membrana 220 en las configuraciones de sensor de las Figuras 3B y 3C, o la totalidad de los sensores de analitos 201 y 202 pueden recubrirse. En consecuencia, las configuraciones de sensores de tres electrodos que se muestran en las Figuras 3B y 3C deben entenderse como ilustrativa y no limitativas de la divulgación del presente documento, con configuraciones alternativas de electrodos y/o capas que residen dentro del alcance de la presente divulgación.

[0034] Las configuraciones de sensores que tienen múltiples electrodos de trabajo, específicamente dos electrodos de trabajo, se describirán ahora con más detalle en referencia a las Figuras 4 y 5A-5D. Aunque la siguiente descripción está dirigida principalmente a configuraciones de sensores que tienen dos electrodos de trabajo, se debe tener en cuenta que se pueden incorporar más de dos electrodos de trabajo mediante la extensión de la divulgación en este documento. Se pueden utilizar electrodos de trabajo adicionales para impartir capacidades de detección adicionales a los sensores de analito más allá de la detección de glucosa y cetonas.

[0035] La Figura 4 muestra un diagrama en sección transversal de una configuración ilustrativa de sensor de analitos que tiene dos electrodos de trabajo, un electrodo de referencia y un contraelectrodo, que es compatible para su uso en algunas realizaciones de la divulgación en este documento. Tal como se muestra en la Figura 4, el sensor de analitos 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. Las áreas activas 310a y 310b pueden ser sensibles a la glucosa y sensibles a las cetonas, según 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 posicionadas sobre el electrodo de referencia 321 y el contraelectrodo 320, respectivamente. La membrana 340 tiene una primera parte de membrana 340a y una segunda parte de membrana 340b, que recubren por separado al menos las áreas activas 310a y 310b, respectivamente, de acuerdo con diversas realizaciones, con otros componentes del sensor de analitos 300 o la totalidad del sensor de analitos 300 opcionalmente recubiertos con la primera parte de membrana 340a y/o la segunda parte de membrana 340b también. Nuevamente, la membrana 340 puede ser continua pero puede variar en la composición dentro de la primera parte de membrana 340a y la segunda parte de membrana 340b (es decir, sobre las áreas activas 310a y 310b) para proporcionar diferentes valores de permeabilidad para regular diferencialmente el flujo de analito en cada ubicación. Por ejemplo, se pueden pulverizar y/o imprimir diferentes formulaciones de membrana sobre las caras opuestas del sensor de analitos 300. Las técnicas de recubrimiento por inmersión también pueden ser apropiadas, particularmente para depositar al menos una parte de una membrana bicapa sobre una de las áreas activas 310a y 310b. En consecuencia, una de la primera parte de membrana 340a y la segunda parte de membrana 340b puede comprender una membrana bicapa y la otra de la primera parte de membrana 340a y la segunda parte de membrana 340b puede comprender un único polímero de membrana, de acuerdo con realizaciones particulares de la presente divulgación. Al igual que los sensores de analitos 200, 201 y 202, el sensor de analitos 300 puede funcionar para analizar glucosa y cetonas mediante cualquiera de las técnicas de detección electroquímica coulométrica, amperométrica, voltamétrica o potenciométrica.

[0036] Configuraciones de sensores alternativas que tienen múltiples electrodos de trabajo y que difieren de la que se muestra en la Figura 4 pueden presentar un contraelectrodo/electrodo de referencia en lugar de contraelectrodos y electrodos de referencia separados 320, 321, y/o presentar disposiciones de capas y/o membrana que varían de las expresamente representadas. Por ejemplo, la posición del contraelectrodo 320 y el electrodo de referencia 321 puede ser inversa a la representada en la Figura 4. 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 4.

[0037] 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 de transporte de masa, tal como se describe a continuación. Las figuras 5A-5D muestran vistas en perspectiva de sensores de analitos que presentan electrodos sustancialmente cilíndricos que están dispuestos concéntricamente entre sí. Aunque las figuras 5A-5D han representado configuraciones de sensores que presentan dos electrodos de trabajo, debe tenerse en cuenta 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 aquí presentada.

[0038] La Figura 5A 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 analitos 400 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 analitos 400. El espaciado del electrodo de trabajo 410 y del electrodo de trabajo 420 a lo largo de un eje longitudinal también se puede realizar en configuraciones de sensor sustancialmente planas, tales como las proporcionadas anteriormente.

[0039] Haciendo referencia todavía a la Figura 5A, 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 contacto con un fluido para que se produzca la detección de glucosa y/o cetonas. Aunque las áreas activas 414a y 414b se han representado como tres puntos discretos en la Figura 5A, se debe tener en cuenta que pueden estar presentes menos o más de tres puntos en configuraciones de sensor alternativas. Cada una de las áreas activas 414a y 414b también puede ser una capa continua que se dispone como un anillo sobre la superficie expuesta de los electrodos de trabajo 410 y 420, respectivamente.

[0040] De manera similar a la configuración del sensor analizada anteriormente, al menos los electrodos de trabajo 410 y 420 y las áreas activas 414a y 414b sobre los mismos están recubiertos con una membrana en la configuración del sensor de la Figura 5A. Aunque una membrana que presenta una única composición puede recubrir las áreas activas 414a y 414b, las composiciones de la membrana pueden diferir en la composición en cada ubicación para proporcionar diferentes valores de permeabilidad, nivelando así la respuesta del sensor para cada analito. En la configuración del sensor que se muestra en la Figura 5A, la parte de membrana 450 que tiene una primera composición recubre el electrodo de trabajo 410 y el área activa 414a, junto con un recubrimiento opcional de la capa dieléctrica 412, y la parte de membrana 451 que tiene una segunda composición que difiere de la primera composición recubre el electrodo de trabajo 420 y el área activa 414b, junto con un recubrimiento opcional de la capa dieléctrica 412 y/o la capa dieléctrica 422. Aunque no se muestra en la Figura 5A, el contraelectrodo 430, el electrodo de referencia 440 y las capas dieléctricas 432 y 442 también pueden estar recubiertos con la membrana 451.

[0041] La Figura 5B muestra una configuración de sensor alternativa a la representada en la Figura 5A, en la que todos los componentes de la cola del sensor están recubiertos por membrana. En la configuración del sensor que se muestra en la Figura 5B, el sensor 401 contiene un electrodo de trabajo 410, un área activa 414a y una capa dieléctrica 412 que están recubiertos cada uno con una primera parte 452a de la membrana 452. La primera parte 452a comprende dos capas de membrana, definiendo así una membrana bicapa. La segunda parte 452b de la membrana 452 recubre el electrodo de trabajo 420, el área activa 414b 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) con un único polímero de membrana. Aunque se muestra con dos partes 452a y 452b, se debe entender que pueden estar presentes partes adicionales. Además, la primera parte 452a puede ser una membrana bicapa, tal como se representa, o una mezcla homogénea de múltiples polímeros de membrana. Las configuraciones de sensor que tienen la primera parte 452a como una membrana bicapa pueden presentar un área activa 414a que responde a cetonas y un área activa 414b que responde a glucosa, de acuerdo con diversas realizaciones de la presente divulgación. A continuación se proporcionan más detalles sobre polímeros de membrana adecuados y técnicas para la deposición de la primera y segunda partes 452a, 452b de la membrana 452 en cada ubicación.

[0042] Se debe entender además que la posición de los diversos electrodos en las Figuras 5A y 5B pueden diferir de lo que se representa expresamente. Por ejemplo, las posiciones del contraelectrodo 430 y del electrodo de referencia 440 pueden estar invertidas con respecto a las configuraciones representadas en las Figuras 5A y 5B. De manera similar, las posiciones de los electrodos de trabajo 410 y 420 no están limitadas a las que se representan expresamente en las Figuras 5A y 5B. La Figura 5C muestra una configuración de sensor alternativa a la que se muestra en la Figura 5B, en la que el sensor 405 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 5C), facilitando así una mayor intensidad de señal en algunos casos. Las ubicaciones de la membrana bicapa definida por la primera parte 452a y la membrana homogénea definida por la segunda parte 452b se han ajustado de manera similar para adaptarse al cambio de ubicación de los electrodos de trabajo 410 y 420.

[0043] Aunque las Figuras 5A-5C han representado configuraciones de sensores que están soportadas cada una sobre el sustrato central 402, se debe tener en cuenta que las configuraciones de sensores alternativas pueden estar soportadas por electrodos y carecer del sustrato central 402. En particular, el electrodo concéntrico más interno puede utilizarse para soportar los otros electrodos y capas dieléctricas. La Figura 5D muestra una configuración de sensor alternativa a la representada en la Figura 5C, en la que el sensor 406 no contiene el sustrato central 402 y el contraelectrodo 430 es el electrodo concéntrico más interno y se emplea 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. Por tanto, la configuración de sensor representada en la Figura 5D debe considerarse de carácter ilustrativo y no limitativo.

[0044] Por consiguiente, algunas realizaciones de sensores de analitos descritas en el presente documento pueden comprender una cola de sensor que comprende al menos un electrodo de trabajo, un área activa sensible a la glucosa que comprende una enzima sensible a la glucosa dispuesta sobre una superficie del electrodo de trabajo y un área activa sensible a las cetonas dispuesta sobre la superficie del electrodo de trabajo y separada del área activa sensible a la glucosa. El área activa sensible a las cetonas comprende un sistema enzimático que comprende al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas. Cada área activa tiene un potencial de oxidación-reducción, y el potencial de oxidación-reducción del área activa sensible a la glucosa está suficientemente separado del potencial de oxidación-reducción del área activa sensible a las cetonas para permitir la producción independiente de una señal desde una del área activa sensible a la glucosa o el área activa sensible a las cetonas.

[0045] Cuando el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas están dispuestas sobre un único electrodo de trabajo de esta manera, una de las áreas activas puede estar configurada de manera que pueda ser interrogada por separado para facilitar la detección de cada analito, tal como se describe a continuación. Es decir, tanto el área activa sensible a la glucosa como el área activa sensible a las cetonas pueden producir una señal independientemente de la otra área activa.

[0046] Algunas u otras realizaciones de sensores de analitos descritas en el presente documento pueden presentar el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas sobre la superficie de diferentes electrodos de trabajo. Dichos sensores de analitos pueden comprender una cola de sensor que comprende al menos un primer electrodo de trabajo y un segundo electrodo de trabajo, un área activa sensible a las cetonas dispuesta sobre una superficie del primer electrodo de trabajo, un área activa sensible a la glucosa que comprende una enzima sensible a la glucosa dispuesta sobre una superficie del segundo electrodo de trabajo, y una membrana que tiene una primera parte que recubre el área activa sensible a las cetonas y una segunda parte que recubre el área activa sensible a la glucosa, en la que la primera parte y la segunda parte tienen diferentes composiciones.

[0047] En realizaciones particulares, la primera parte es multicomponente y comprende al menos un primer polímero de membrana y un segundo polímero de membrana que difieren entre sí, y la segunda parte es homogénea y comprende uno del primer polímero de membrana y el segundo polímero de membrana.

[0048] 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 el área activa sensible a las cetonas en cualquiera de las configuraciones ilustrativas de sensores divulgadas en el presente documento. Los agentes de transferencia de electrones adecuados pueden facilitar el transporte de electrones al electrodo de trabajo adyacente después de que cualquiera de los analitos experimente una reacción de oxidación-reducción enzimática dentro del área activa correspondiente, generando de ese modo 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 de sensor utilizada, los agentes de transferencia de electrones en el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas pueden ser iguales o diferentes. Por ejemplo, cuando el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas están dispuestas sobre el mismo electrodo de trabajo, el agente de transferencia de electrones dentro de cada área activa puede ser diferente (por ejemplo, químicamente diferente de modo que los agentes de transferencia de electrones exhiban diferentes potenciales de oxidación-reducción). Cuando hay varios electrodos de trabajo, el agente de transferencia de electrones dentro de cada área activa puede ser el mismo o diferente, ya que cada electrodo de trabajo puede ser interrogado por separado.

[0049] De acuerdo con diversas realizaciones de la presente divulgación, 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 de agentes de transferencia de electrones adecuados incluyen aquellos 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.

[0050] Las áreas activas adecuadas para detectar glucosa y cetonas también pueden comprender un polímero al que los agentes de transferencia de electrones están unidos 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 unidos a polímeros pueden incluir los descritos en las Patentes de EE.UU. 8.444.834, 8.268.143 y 6.605.201. Los 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 activa puede ser el mismo o diferente.

[0051] 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 reticulado. 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 parte de la membrana limitante del transporte de masa que recubre el área activa sensible a la glucosa puede ser monocomponente (contiene un único polímero de membrana) y la parte de la membrana limitante del transporte de masa que recubre el área activa sensible a las cetonas puede ser multicomponente (contiene dos o más polímeros de membrana diferentes, uno de los cuales es un homopolímero o copolímero de polivinilpiridina). La membrana multicomponente puede estar presente como una membrana bicapa o como una mezcla homogénea de los dos o más polímeros de membrana. Una mezcla homogénea puede depositarse combinando los dos o más polímeros de membrana en una solución y a continuación depositando la solución sobre un electrodo de trabajo. En realizaciones aún 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 a las cetonas puede estar recubierta con una membrana multicomponente que comprende polivinilpiridina y polivinilpiridina-co-estireno, ya sea como una membrana bicapa o una mezcla homogénea.

[0052] La forma de unión covalente entre el agente de transferencia de electrones y el polímero que comprende cada área activa no se considera particularmente limitada. La unión covalente del agente de transferencia de electrones al polímero 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 del 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).

[0053] De manera similar, de acuerdo con algunas u otras diversas realizaciones de la presente divulgación, una o más de las enzimas dentro de las áreas activas pueden estar unidas covalentemente al polímero. Cuando un sistema enzimático que comprende múltiples enzimas está presente en un área activa dada, 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 enzimático 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. De acuerdo con realizaciones más específicas, la unión covalente de la(s) enzima(s) al polímero en un área activa dada puede tener lugar a través de un reticulador 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, éter diglicídico de polietilenglicol (PEGDGE) u otros poliepóxidos, cloruro cianúrico, N-hidroxisuccinimida, imidoésteres, epiclorhidrina 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 con el polímero es generalmente intermolecular, pero puede ser intramolecular en algunas realizaciones.

[0054] 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 dentro del polímero sin estar unidos al mismo. Los agentes de transferencia de electrones y/o enzima(s) atrapados físicamente pueden interactuar adecuadamente con un fluido para promover la detección de analitos sin ser lixiviados sustancialmente de las áreas activas.

[0055] En realizaciones particulares, la enzima sensible a la glucosa en el área activa sensible a la glucosa puede estar unida covalentemente a un polímero en el área activa sensible a la glucosa, en combinación con un agente de transferencia de electrones que también está unido covalentemente al polímero.

[0056] En otras realizaciones particulares, al menos una parte de las enzimas en el sistema enzimático dentro del área activa sensible a las cetonas puede estar unida covalentemente a un polímero en el área activa sensible a las cetonas, en combinación con un agente de transferencia de electrones que también está unido covalentemente al polímero. Un sistema enzimático adecuado que puede ser adecuado para facilitar la detección de cetonas es la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (NADH), el nicotinamida adenina dinucleótido ( $\text{NAD}^+$ ) y la diaforasa (véase la Figura 2A). En realizaciones particulares de la presente divulgación, la  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y la diaforasa pueden estar unidas covalentemente al polímero en el área activa sensible a las cetonas, y el  $\text{NAD}^+$  puede estar asociado de forma no covalente con el polímero. El polímero dentro del área activa sensible a las cetonas puede elegirse de manera que la difusión hacia afuera del  $\text{NAD}^+$  sea limitada. El polímero de membrana que recubre el área activa sensible a las cetonas puede limitar de forma similar la difusión hacia afuera del  $\text{NAD}^+$  para promover una vida útil razonable del sensor (días a semanas) mientras que todavía permite una difusión hacia adentro suficiente de las cetonas para promover la detección. En otras realizaciones adicionales, los componentes del sistema enzimático anterior pueden estar unidos covalentemente o asociados de forma no covalente con el polímero en el área activa sensible a las cetonas como se describió anteriormente, en combinación con un agente de transferencia de electrones que también está unido covalentemente al polímero.

[0057] Las áreas activas sensibles a la glucosa y sensibles a las cetonas en los sensores de analitos descritos en el presente documento pueden comprender uno o más puntos discretos (por ejemplo, de uno a aproximadamente diez puntos, o incluso más puntos discretos), que pueden variar en tamaño desde aproximadamente  $0,01 \text{ mm}^2$  a aproximadamente  $1 \text{ mm}^2$ , aunque también se contemplan en el presente documento puntos individuales más grandes o más pequeños dentro de las áreas activas. Las áreas activas definidas como bandas continuas alrededor de un electrodo cilíndrico también son posibles en la presente divulgación.

[0058] En realizaciones más específicas, los sensores de analitos de la presente divulgación pueden comprender una cola de sensor que está configurada para su inserción en un tejido. Los tejidos adecuados no se consideran particularmente limitados y se abordan con más detalle anteriormente. De manera similar, se abordan anteriormente las consideraciones para desplegar una cola de sensor en una posición particular dentro de un tejido.

[0059] En realizaciones en las que el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas 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 a las cetonas 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 tener los potenciales de oxidación-reducción de las dos áreas activas suficientemente separados en magnitud entre sí, 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 a las cetonas) sin inducir sustancialmente una reacción electroquímica dentro de la otra área activa. Por lo tanto, una señal de una del área activa sensible a la glucosa o del área activa sensible a las cetonas 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 del área activa sensible a la glucosa y del área activa sensible a las cetonas (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 dentro del área activa sensible a las cetonas. 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 a las cetonas, 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 a las cetonas) 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 a las cetonas en o por encima de su potencial de oxidación-reducción correspondiente.

[0060] En realizaciones más específicas, el área activa sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas 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 a las cetonas 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.

[0061] Idealmente, las áreas activas sensibles a la glucosa y las áreas activas sensibles a las cetonas 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 rápida consecución 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 a las cetonas pueden variar de aproximadamente 0,1 micrones a aproximadamente 10 micrones. 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 variar de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 50 % en peso del área activa, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 50 % en peso, o entre aproximadamente el 0,1 % y aproximadamente el 10 % en peso, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 10 % en peso. También se pueden emplear estabilizadores para promover la estabilidad de la respuesta.

[0062] También se debe entender que la sensibilidad (corriente de salida) de los sensores de analitos 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 aquí presentada.

[0063] Los procedimientos de detección para ensayar glucosa y cetonas que emplean sensores de analitos que presentan un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas sobre un único electrodo de trabajo pueden comprender: exponer un sensor de analitos a un fluido que comprende al menos uno de glucosa y cetonas. El sensor de analito comprende una cola de sensor que comprende al menos un electrodo de trabajo, particularmente un único electrodo de trabajo, y al menos un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas dispuestas sobre una superficie del electrodo de trabajo y un espacio separado del área activa sensible a la glucosa. El área activa sensible a la glucosa comprende una enzima sensible a la glucosa y un polímero, y el área activa sensible a las cetonas comprende un sistema enzimático que comprende dos o más enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas. Cada área activa tiene un potencial de oxidación-reducción, y el potencial de oxidación-reducción de una primera área activa (por ejemplo, ya sea el área activa sensible a la glucosa o el área activa sensible a las cetonas) está suficientemente separado del potencial de oxidación-reducción de la otra área activa sensible a la glucosa o el área activa sensible a las cetonas para permitir la producción de una señal desde la primera área activa independientemente de la producción de una señal desde la otra área activa. Los procedimientos comprenden adicionalmente: obtener una primera señal en o por encima del más bajo de un potencial de oxidación-reducción y el segundo potencial de oxidación-reducción, pero por debajo del más alto de un primer potencial de oxidación-reducción y el segundo potencial de oxidación-reducción, de modo que la primera señal sea proporcional a una concentración de glucosa o cetonas en el fluido; obtener una segunda señal en o por encima del más alto del primer potencial de oxidación-reducción y el segundo potencial de oxidación-reducción, de modo que la segunda señal sea una señal compuesta que comprenda una contribución de señal desde el área activa sensible a la glucosa y una contribución de señal desde el área activa sensible a las cetonas; y restar la primera señal de la segunda señal para obtener una señal de diferencia, siendo la señal de diferencia proporcional a una concentración de glucosa y cetonas.

[0064] En realizaciones más específicas, el potencial de oxidación-reducción asociado con la primera área activa puede estar separado del potencial de oxidación-reducción de la segunda área activa en al menos aproximadamente 100 mV, o en al menos aproximadamente 150 mV, o en al menos aproximadamente 200 mV para proporcionar una separación suficiente para la producción independiente de una señal desde la primera área activa. En particular, los potenciales de oxidación-reducción de la primera área activa y la segunda área activa pueden estar separados en aproximadamente 100 mV a aproximadamente 500 mV, o de aproximadamente 100 mV a aproximadamente 400 mV, o de aproximadamente 100 mV a aproximadamente 300 mV.

[0065] En algunas realizaciones, las señales asociadas con cada área activa pueden correlacionarse con una concentración correspondiente de glucosa o cetonas 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 como una función de la concentración y determinando una función de calibración adecuada sobre el intervalo de calibración (por ejemplo, mediante regresión, particularmente regresión lineal).

[0066] 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 una variación de aproximadamente el 10 % o más.

5 [0067] 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.

10 [0068] Los procedimientos de detección para analizar glucosa y cetonas que emplean sensores de analitos que presentan un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas sobre electrodos de trabajo separados pueden comprender: exponer un sensor de analitos a un fluido que comprende al menos uno de glucosa y cetonas. El sensor de analitos comprende una cola de sensor que comprende al menos un primer electrodo de trabajo y un segundo electrodo de trabajo, un área activa sensible a las cetonas dispuesta sobre una superficie del primer electrodo de trabajo, un área activa sensible a la glucosa dispuesta sobre una superficie del segundo electrodo de trabajo y una membrana que tiene una primera parte que recubre el área activa sensible a las cetonas y una segunda parte que recubre el área activa sensible a la glucosa. El área activa sensible a la glucosa comprende una enzima sensible a la glucosa y el área activa sensible a las cetonas comprende un sistema enzimático que comprende al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas.

20 [0069] En realizaciones particulares, la primera parte puede ser multicomponente y comprender al menos un primer polímero de membrana y un segundo polímero de membrana que difieren entre sí, y la segunda parte puede ser homogénea y comprender uno del primer polímero de membrana y el segundo polímero de membrana. Por tanto, la membrana que recubre el área activa sensible a la glucosa difiere en composición de la membrana multicomponente que recubre el área activa sensible a las cetonas.

25 [0070] Los procedimientos comprenden además aplicar un potencial al primer electrodo de trabajo y al segundo electrodo de trabajo, obtener una primera señal en o por encima de un potencial de oxidación-reducción del área activa sensible a la glucosa, en la que la primera señal es proporcional a una concentración de glucosa en el fluido, obtener una segunda señal en o por encima de un potencial de oxidación-reducción del área activa sensible a las cetonas, en la que la segunda señal es proporcional a una concentración de cetonas en el fluido, y correlacionar la primera señal con la concentración de glucosa en el fluido y la segunda señal con la concentración de cetonas en el fluido.

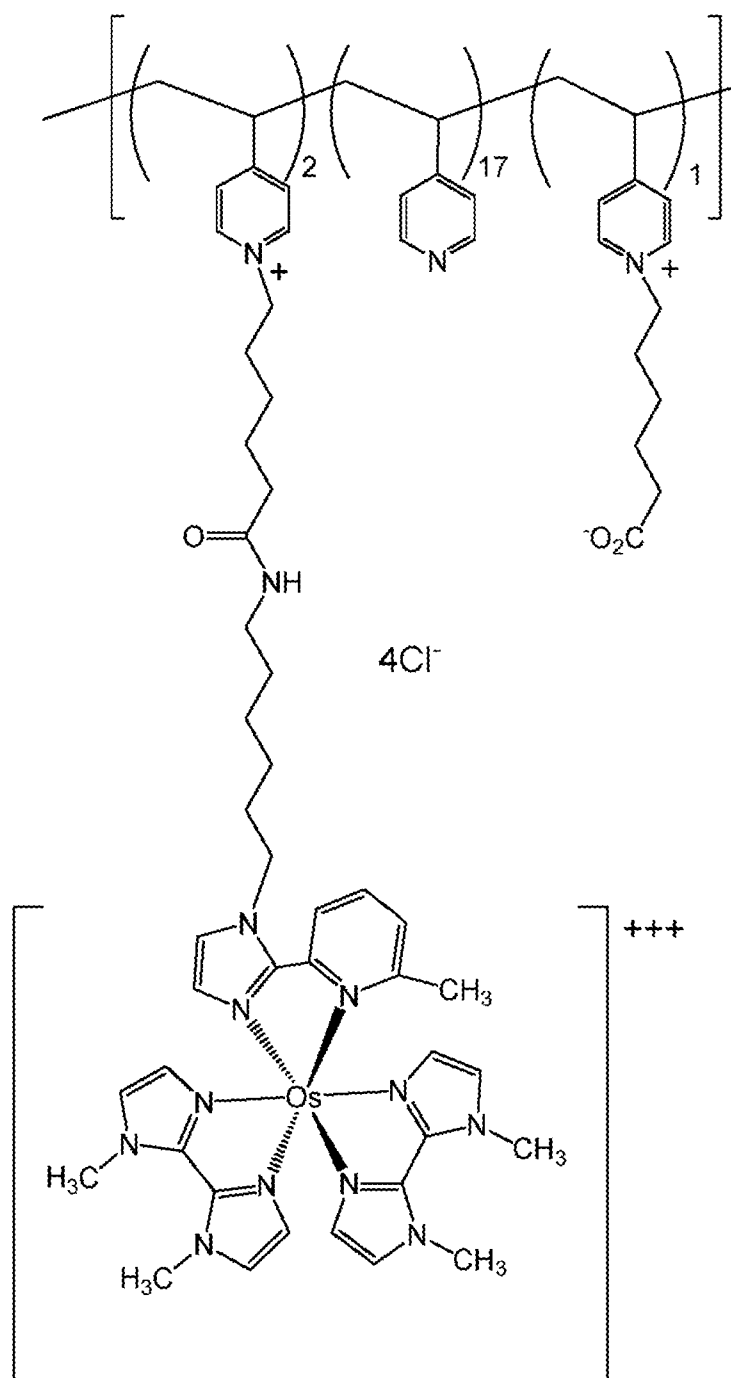
35 [0071] La primera parte de la membrana puede comprender una mezcla de polímeros de membrana en algunas realizaciones de la presente divulgación o comprender una membrana bicapa u otra estructura de membrana que tenga al menos dos capas de membrana en otras realizaciones de la presente divulgación. Cuando la primera parte de la membrana comprende una membrana bicapa, la membrana bicapa puede comprender un primer polímero de membrana dispuesto sobre el área activa sensible a las cetonas, y un segundo polímero de membrana dispuesto sobre el primer polímero de membrana. La membrana homogénea que recubre el área activa sensible a la glucosa puede comprender el segundo polímero de membrana. Es decir, el primer polímero de membrana puede estar dispuesto directamente sobre el área activa sensible a las cetonas, y el segundo polímero de membrana puede estar dispuesto sobre el primer polímero de membrana y sobre el área activa sensible a la glucosa. Por lo tanto, la primera parte de la membrana puede ser más gruesa que la segunda parte de la membrana. Como se ha comentado anteriormente, las membranas bicapa y las membranas homogéneas de este tipo pueden depositarse mediante recubrimiento por inmersión de configuraciones de electrodos particulares en algunas realizaciones de la presente divulgación. En realizaciones particulares de la presente divulgación, la primera parte de la membrana puede comprender polivinilpiridina (PVP) y polivinilpiridina-co-estireno, y la segunda parte de la membrana puede comprender polivinilpiridina-co-estireno.

50 [0072] Según realizaciones más específicas, la primera señal y la segunda señal pueden medirse en tiempos diferentes. Por lo tanto, en dichas realizaciones, se puede aplicar un potencial de manera alternada al primer electrodo de trabajo y al segundo electrodo de trabajo. En otras realizaciones específicas, la primera señal y la segunda señal se pueden medir simultáneamente a través de un primer canal y un segundo canal, en cuyo caso se puede aplicar un potencial a ambos electrodos al mismo tiempo. En cualquier caso, la señal asociada con cada área activa se puede correlacionar a continuación con la concentración de glucosa y cetonas utilizando una tabla de consulta o una función de calibración de una manera similar a la descrita anteriormente.

## EJEMPLOS

60 [0073] Se preparó un complejo de metal de transición unido a poli(vinilpiridina) que tiene la estructura que se muestra en la Fórmula 1. Se proporcionan más detalles sobre este complejo de metal de transición y la transferencia de electrones con el mismo en la patente del mismo propietario US 6.605.200. Los subíndices de cada monómero representan proporciones atómicas ilustrativas y no son indicativos de ningún orden particular de monómeros.

65

**Fórmula 1**

[0074] **Ejemplo 1: Detección de cetonas utilizando un sensor de analitos que tiene diaforasa y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa actuando de manera conjunto.** Para este ejemplo, el sistema enzimático de la Figura 2A se utilizó para facilitar la detección de cetonas. La formulación de puntos que se muestra en la Tabla 1 a continuación recubrió un electrodo de trabajo de carbono. Se realizó la deposición para colocar seis puntos, cada uno con un área de alrededor de 0,01 mm<sup>2</sup>, sobre el electrodo de trabajo. Después de la deposición, el electrodo de trabajo se curó durante la noche a 25 °C. A continuación, se aplicó una membrana de PVP homogénea al electrodo de trabajo mediante recubrimiento por inmersión utilizando una solución de recubrimiento formulada con 4 ml de 100 mg/ml de PVP, 0,2 ml de 100 mg/ml de PEGDGE400 (PEGDGE con un peso molecular de aproximadamente 400) y 0,0132 ml de 100 mg/ml de polidimetilsiloxano (PDMS). El curado de la membrana se realizó durante 24 horas a 25 °C, seguido de 48 horas a 56 °C en viales desecados.



Tabla 1

$\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH) en tampón MES 10 mM a pH = 5,5	
Componente	Concentración (mg/mL)
HBDH	8
Diaforasa	4
Albúmina	8
NAD <sup>+</sup>	8
Polímero de la Fórmula 1	8
PEGDGE400	4

[0075] Los análisis de cetonas se llevaron a cabo sumergiendo el electrodo en un tampón PBS 100 mM (pH = 7,4) a 33 °C e introduciendo varias cantidades de  $\beta$ -hidroxibutirato (adición total de  $\beta$ -hidroxibutirato de 0, 1, 2, 3, 4, 6 y 8 mM) como sustituto de las cetonas. La Figura 6 muestra cuatro réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene diaforasa, NAD<sup>+</sup> y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa cuando se expone a concentraciones variables de  $\beta$ -hidroxibutirato. Solo dos trazos son evidentes en la Figura 6 debido a la superposición de la respuesta de la señal para los cuatro sensores probados. Tal como se muestra, la respuesta de corriente aumentó en el transcurso de varios minutos después de la exposición a una nueva concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato antes de estabilizarse posteriormente. La Figura 7 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente promedio frente a la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato para los electrodos de la Figura 6. Los sensores de cetonas también exhibieron una respuesta estable durante tiempos de medición prolongados, tal como se muestra en la Figura 8. La Figura 8 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de corriente para los electrodos de la Figura 6 cuando se expuso a 8 mM de  $\beta$ -hidroxibutirato en 100 mM de PBS a 33 °C durante 2 semanas. La pérdida de señal media durante el período de medición fue de solo el 3,1 %.

[0076] **Ejemplo 2: Detección de glucosa y cetonas utilizando un sensor de analitos que tiene un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas en electrodos de trabajo separados.** Para este ejemplo, se preparó un sensor de analitos con un área activa sensible a la glucosa que comprende glucosa oxidasa depositada sobre un primer electrodo de trabajo y un área activa sensible a las cetonas que comprende diaforasa y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa depositada sobre un segundo electrodo de trabajo. Los dos electrodos de trabajo eran electrodos de carbono dispuestos sobre caras opuestas de un sustrato dieléctrico plano

[0077] El área activa sensible a la glucosa se depositó sobre el primer electrodo de trabajo utilizando la formulación de glucosa oxidasa especificada en la Tabla 2 a continuación. La deposición del área activa se llevó a cabo colocando cinco puntos separados y discretos, cada uno con un área de aproximadamente 0,01 mm<sup>2</sup>, sobre el electrodo de trabajo. Después de la deposición, el electrodo de trabajo se curó durante la noche a 25 °C.

Tabla 2

Formulación de glucosa oxidasa (GOX) en tampón HEPES 10 mM a pH = 8			
Componente	Concentración inicial (mg/ml)	Volumen añadido (ml)	Concentración final (mg/ml)
GOX	60	0,41	24,6
Polímero de la Fórmula 1	60	0,34	20,4
PEGDGE400	60	0,25	15

El área activa sensible a las cetonas se depositó sobre el segundo electrodo de trabajo utilizando la formulación de diaforasa/ $\beta$ -hidroxibutirato especificada en la Tabla 1 anterior. La deposición y el curado del área activa se llevaron a cabo como en el Ejemplo 1 anterior, excepto que en este caso se depositaron cinco puntos de detección. El curado del área activa sensible a las cetonas y del área activa sensible a la glucosa se llevó a cabo al mismo tiempo.

[0078] Después de la deposición de las áreas activas, se depositó una membrana bicapa sobre el área activa sensible a las cetonas de la siguiente manera. Primero se depositó una membrana de PVP sobre el área activa sensible a las cetonas utilizando un procedimiento de recubrimiento por ranura modificado. La membrana de PVP en este ejemplo se depositó a partir de una solución de recubrimiento formulada con 4 ml de 160 mg/ml de PVP, 0,133 ml de 100 mg/ml de PEGDGE400 y 0,0132 ml de 100 mg/ml de PDMS. A continuación se realizó el curado durante 24 horas a 25 °C. El procedimiento de recubrimiento por ranura se llevó a cabo utilizando una bomba de jeringa para bombear la

solución de recubrimiento desde una boquilla ubicada a una pequeña distancia por encima de una fila de colas de sensores. La solución de recubrimiento se bombeó a una velocidad constante mientras se movía la boquilla a una velocidad fija a lo largo de la fila de colas de sensores. Se variaron parámetros, tales como el caudal, el diámetro de la boquilla, la velocidad de movimiento de la boquilla, la distancia entre la boquilla y las colas del sensor, la viscosidad de la solución, la temperatura y el disolvente para obtener una membrana con el grosor deseado.

[0079] A continuación, todo el conjunto (es decir, ambos electrodos de trabajo, el área activa sensible a la glucosa, el recubrimiento de PVP sobre el electrodo de trabajo que contiene el área activa sensible a las cetonas y los electrodos de referencia y contraelectrodo) se recubrió por inmersión para introducir un polímero de membrana de polivinilpiridina-co-estireno reticulado sobre el mismo. El polímero de membrana que recubre todo el conjunto se depositó utilizando 4 ml de polivinilpiridina-co-estireno en tampón etanol:HEPES 80:20 (140 mg/ml), 0,2 ml de PEGDGE400 en tampón etanol:HEPES 80:20 (100 mg/ml) y 0,0132 ml de polidimetilsiloxano (PDMS) con terminación en aminopropilo en etanol (100 mg/ml). Se realizó nuevamente el curado durante 24 horas a 25 °C, seguido de 48 horas a 56 °C en un entorno desecado. De esta manera, se depositó una membrana homogénea (polivinilpiridina-co-estireno) sobre el área activa sensible a la glucosa y una membrana bicapa (capa interna de PVP y capa externa de polivinilpiridina-co-estireno) sobre el área activa sensible a las cetonas.

[0080] El sensor de analitos se utilizó para analizar glucosa y cetonas simultáneamente en PBS 100 mM a 37 °C. En un primer experimento, el sensor se expuso durante 2 semanas a 37 °C a una solución de PBS 100 mM que contenía glucosa 30 mM y  $\beta$ -hidroxibutirato 10 mM (sustituto de cetonas). El sensor se mantuvo a +40 mV en relación con Ag/AgCl para este experimento. La Figura 9 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de un sensor de analitos que contiene un área activa sensible a la glucosa y un área activa sensible a las cetonas dispuestas sobre electrodos de trabajo separados después de la exposición a 30 mM de glucosa y 10 mM de cetonas. Tal como se muestra, la respuesta del sensor de analitos se mantuvo muy estable durante el período de observación para ambos analitos.

[0081] A continuación, se añadieron glucosa y  $\beta$ -hidroxibutirato de forma incremental a 100 mM de PBS a 37 °C para determinar la respuesta del sensor de analitos hacia cada analito. El sensor se mantuvo de nuevo a +40 mV en relación con Ag/AgCl para esta prueba. Se añadió glucosa en un intervalo de concentraciones de 0-30 mM, y se añadió  $\beta$ -hidroxibutirato en un intervalo de concentraciones de 0-10 mM. Cada analito se añadió simultáneamente en concentraciones de 10 mM o inferiores. Por encima de 10 mM, solo se añadió glucosa adicional a la solución, y 10 mM representa la concentración máxima de cetonas analizada. Las Figuras 10-12 muestran gráficos ilustrativos de la respuesta del sensor de analito a concentraciones variables de glucosa y  $\beta$ -hidroxibutirato. Tal como se muestra en las Figuras 10 y 11, el sensor de analitos proporcionó una respuesta lineal hacia ambos analitos en los rangos de concentración probados. Tal como se muestra en la Figura 12, la respuesta del sensor fue rápida para ambos analitos y se mantuvo estable a una concentración de analito determinada.

[0082] **Ejemplo 3: Detección de cetonas utilizando un sensor de analitos que tiene NADH oxidasa y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa actuando de manera conjunta.** Para este ejemplo, el sistema enzimático de la Figura 2B se utilizó para facilitar la detección de cetonas. La formulación de detección de puntos que se muestra en la Tabla 3 a continuación se aplicó sobre un electrodo de trabajo de carbono o un electrodo de trabajo de nanotubos de carbono. El recubrimiento se realizó a mano en 3 pasadas para recubrir la totalidad de la punta del sensor. El área activa media fue de 3,0 mm<sup>2</sup> para el electrodo de trabajo de carbono y de 7,6 mm<sup>2</sup> para el electrodo de trabajo de nanotubos de carbono. Después de la deposición, los electrodos de trabajo se curaron durante la noche a 25 °C. A continuación, se aplicó una membrana de PVP a los electrodos de trabajo mediante recubrimiento por inmersión utilizando una solución de recubrimiento formulada con 4 ml de 100 mg/ml de PVP y 0,2 ml de 100 mg/ml de PEGDGE400. El curado de la membrana se realizó durante 24 horas a 25 °C.

Tabla 3

$\beta$ -hidroxibutirato Deshidrogenasa (HBDH) en tampón MES 10 mM a pH = 5,5	
Componente	Concentración (mg/mL)
HBDH	8
Albúmina	8
NAD <sup>+</sup>	8
NADHOx	8
PVI	8
PEGDGE400	4

[0083] Los análisis de cetonas se realizaron como se establece en el Ejemplo 1. Las Figuras 13A y 13B muestran cuatro réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene NADHOx, NAD<sup>+</sup> y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa

cuando se exponen a diferentes concentraciones de  $\beta$ -hidroxibutirato. La Figura 13A muestra la respuesta de corriente para un electrodo de trabajo de carbono, y la Figura 13B muestra la respuesta de corriente para un electrodo de trabajo de nanotubos de carbono. Tal como se muestra, la respuesta de corriente para ambos tipos de electrodo de trabajo aumentó a medida que la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato aumentó hasta una concentración de 10 mM. La Figura 14 muestra un gráfico ilustrativo de la respuesta de la corriente en función del tiempo para un electrodo que contiene NADHOx, NAD<sup>+</sup> y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa después de la exposición a concentraciones crecientes de  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa. Tal como se muestra, la corriente aumentó rápidamente después de agregar  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y se estabilizó a partir de entonces.

[0084] **Ejemplo 4: Detección de cetonas utilizando un sensor de analitos que contiene poli-1,10-fenantrolina-5,6-diona y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa.** Para este ejemplo, el sistema enzimático de la Figura 2C se utilizó para facilitar la detección de cetonas. La formulación de detección de puntos que se muestra en la Tabla 4 a continuación se aplicó como recubrimiento sobre un electrodo de trabajo de carbono o un electrodo de trabajo de nanotubos de carbono. El recubrimiento y curado de la formulación de detección de puntos y la membrana de PVP se realizó como se especifica en el Ejemplo 3. El área activa media fue de 3,0 mm<sup>2</sup> para el electrodo de trabajo de carbono y de 7,6 mm<sup>2</sup> para el electrodo de trabajo de nanotubos de carbono.

Tabla 4

$\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBDH) en tampón MES 10 mM a pH = 5,5	
Componente	Concentración (mg/mL)
HBDH	8
Albúmina	8
NAD <sup>+</sup>	8
1,10-fenantrolina-5,6-diona	8
PVI	8
PEGDGE400	4

[0085] Los análisis de cetonas se realizaron como se establece en el Ejemplo 1. Las Figuras 15A y 15B muestran cuatro réplicas de la respuesta de un electrodo que contiene poli-1,10-fenantrolina-5,6-diona y  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa cuando se expone a concentraciones diferentes de  $\beta$ -hidroxibutirato. La Figura 15A muestra la respuesta de corriente de un electrodo de trabajo de carbono y la Figura 15B muestra la respuesta de corriente de un electrodo de trabajo de nanotubo de carbono. Tal como se muestra, la respuesta de corriente para ambos tipos de electrodo de trabajo aumentó a medida que la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato aumentó hasta una concentración de aproximadamente 2 mM antes de que la respuesta comenzara a estabilizarse.

#### Bloqueo de encendido del sensor de analitos

[0086] 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. Conducir el vehículo sin estar capacitado podría 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.

[0087] 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.

[0088] 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 conducir un vehículo de manera segura.

[0089] 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 rangos 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 de seguridad implementado que evite o advierta al usuario de operar un vehículo y potencialmente ponerse a sí mismo o a otros en peligro.

[0090] La Figura 16 es un diagrama esquemático de un sistema de control de vehículo y monitorización de analitos de ejemplo 1600, 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 1600 (en adelante "el sistema 1600") 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 1602, 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 1602. 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.

[0091] Si bien el sistema 1600 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 1600 puede incorporar alternativamente un sensor de analito *ex vivo* (por ejemplo, un medidor de glucosa en sangre "SMBG" de autocontrol). 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.

[0092] Tal como se ilustra, el sistema 1600 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 1602. El dispositivo lector 120 puede estar en comunicación con un módulo de control 1604, que está en comunicación con el sistema eléctrico de un vehículo 1606 y alimentado por la batería del vehículo o alimentado de otra manera 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 1604 para su procesamiento. En otras realizaciones, sin embargo, el dispositivo de control de sensor 102 puede comunicarse directamente con el módulo de control 1604 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 1600.

[0093] En la realización ilustrada, el vehículo 1606 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 1606 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.

[0094] El módulo de control 1604 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 1606. Tras el emparejamiento, el módulo de control 1604 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 1602 se acerca o ingresa en el vehículo 3206, el módulo de control 1604 puede detectar automáticamente la presencia del dispositivo de control de sensor 102 y habilitar la comunicación entre ellos o con el dispositivo lector 120.

[0095] En algunas realizaciones, el módulo de control 1604 puede estar en comunicación con una interfaz de usuario del vehículo 1608 incluida en el vehículo 1606, tal como un sistema de infoentretenimiento, una pantalla táctil o una pantalla de información. En dichas realizaciones, el módulo de control 1604 puede comunicarse visualmente con el operador 1602 a través de la interfaz de usuario del vehículo 1608 y también puede comunicarse de forma audible con el operador 1602 a través de los altavoces de audio incluidos en el vehículo 1606. En otras realizaciones, sin embargo, el módulo de control 1604 puede estar configurado para comunicarse con el dispositivo lector 120 para poder comunicarse con el operador 1602.

[0096] Tal como se ilustra, el módulo de control 1604 puede ser o de otra manera incluir un sistema informático 1610 configurado y de otra manera programado para controlar varias operaciones y/o sistemas del vehículo 1606 en base a niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 obtenidos por el dispositivo de control de sensor 102. El funcionamiento del vehículo 1606 se controla, desactiva o modifica desactivando uno o más sistemas críticos del vehículo 1606 o activando sistemas de advertencia en el vehículo 1606. Cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 están dentro de un rango seguro predeterminado, entonces se puede considerar seguro para el operador 1602 para hacer funcionar el vehículo 1606. Sin embargo, cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 caen fuera del rango seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado, el sistema informático 1610 puede entonces programarse para controlar, desactivar o modificar el funcionamiento del vehículo 1606.

[0097] En algunas realizaciones, por ejemplo, el sistema informático 1610 puede configurarse para desactivar varios sistemas críticos del vehículo cuando los niveles de analito detectados del operador 1602 caen fuera de un rango predeterminado o de otro modo cruzan un umbral predeterminado, desactivando así progresivamente y de forma segura el funcionamiento del vehículo cuando se identifica al operador 1602 como incapacitado para el funcionamiento seguro del vehículo 1606. Los sistemas críticos del vehículo 1606 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 1610 puede impedir que los sistemas críticos del vehículo se activen o funcionen. En consecuencia, el operador 1602 no podrá arrancar ni hacer funcionar el vehículo 1606, impidiendo así que el operador 1602 se ponga a sí mismo y/o a otros en peligro.

[0098] En otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1610 puede configurarse para activar varios sistemas no críticos del vehículo cuando los niveles de analito detectados del operador 1602 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 1606. 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 1602 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.

[0099] En aún otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1610 puede estar configurado para realizar automáticamente una llamada telefónica a uno o más contactos de emergencia cuando los niveles de analito del operador 1602 caen fuera de un rango operativo seguro predeterminado o de otro modo cruzan un umbral predeterminado. En dichas realizaciones, el sistema informático 1610 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 1606 (por ejemplo, OnStar®). En otras realizaciones, o además de las mismas, el sistema informático 1610 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 1602 caen fuera de un rango operativo seguro predeterminado o de otro modo cruzan 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.

[0100] En algunas realizaciones, el sistema 1600 puede incluir además uno o más sensores de proximidad 1612 configurados para detectar la presencia del operador 1602 y, más particularmente, el dispositivo de control de sensor 102. En dichas realizaciones, el sensor o sensores de proximidad 1612 pueden estar configurados para monitorizar el área general del asiento del operador 1614 dentro del vehículo 1606. Si el sensor o sensores de proximidad 1612 detectan el dispositivo de control de sensor 102 dentro del área del asiento del operador 1614, eso puede proporcionar una indicación positiva de que el operador 1602 está en el asiento del operador 1614 y potencialmente está intentando hacer funcionar el vehículo 1606. En dichos casos, se puede enviar una señal al módulo de control 1604 para alertar al sistema informático 1610 de que el operador 1602 está en el vehículo 1606 y potencialmente está intentando hacer funcionar el vehículo 1606. Si los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 están dentro de un rango seguro predeterminado o por debajo de un nivel predeterminado, entonces el sistema informático 1610 puede permitir que el operador 1602 haga funcionar el vehículo 1606. Sin embargo, cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 caen fuera del rango seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado, el sistema informático 1610 puede controlar, desactivar o modificar el funcionamiento del vehículo 1606, tal como se describió en general anteriormente. Como se entenderá, el sensor o sensores de proximidad 1612 pueden ser ventajosos para evitar el funcionamiento del vehículo 1606 solamente cuando el operador 1602 incapacitado esté en el asiento del operador 1614 y listo para hacer funcionar el vehículo 1606. En consecuencia, un usuario que lleva el dispositivo de control de sensor 102 puede viajar como pasajero en el vehículo 1606 en cualquier estado sin afectar el funcionamiento del módulo de control 1604 o del vehículo 1606.

[0101] En algunas realizaciones, el módulo de control 1604 puede incluir además un módulo de detección de estado del vehículo 1616 configurado para detectar el estado actual del vehículo 1606, incluyendo si el vehículo 1606 está actualmente en movimiento o está estacionario. Además, el módulo de detección de estado del vehículo 1616 puede

estar configurado para determinar si el motor en el vehículo 1606 está actualmente en funcionamiento o está detenido. En una o más realizaciones, el módulo de detección de estado del vehículo 1616 puede proporcionar una señal de estado al módulo de control 1604, y el módulo de control 1604 puede entonces utilizar la señal de estado para determinar qué operaciones del vehículo deben activarse o desactivarse cuando los niveles de analito medidos en tiempo real del operador 1602 caen fuera del rango seguro predeterminado o cruzan un umbral predeterminado. Por ejemplo, cuando la señal de estado indica que el vehículo 1606 está estacionario, el módulo de control 1604 puede desactivar 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 1606 está en movimiento, el módulo de control 1604 puede activar la bocina del vehículo, hacer parpadear las luces del vehículo o activar una advertencia audible para el operador 1602 y/o aquellos alrededor del operador 1602 de que el operador 1602 está incapacitado.

[0102] En algunas realizaciones, una vez que el operador 1602 ingresa en el vehículo 1606 o cuando el módulo de control 1604 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 1608, y puede aparecer un tablero digital en el dispositivo lector 120 y/o en la interfaz de usuario del vehículo 1608 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 rango de operación seguro predeterminado, el sistema informático 1610 puede programarse para desactivar uno o más sistemas críticos del vehículo para evitar que el operador 1602 haga funcionar el vehículo 1606. En dichas realizaciones, el módulo de control 1604 puede emitir una alerta visual o audible para informar al operador 1602 sobre el motivo por el cual el vehículo 1606 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 1608, o se puede transmitir una alerta audible (por ejemplo, un mensaje vocal) a través de los altavoces del dispositivo lector 120 o del vehículo 1606.

[0103] Si no se hace automáticamente, se puede solicitar al operador 1602 que obtenga un nivel de analito actual al emparejar el dispositivo de control de sensor 102 con el módulo de control 1604. En algunos casos, se puede impedir que el vehículo 1606 funcione hasta que se obtenga un nivel de analito actual. Si los niveles de analito actuales están dentro de límites seguros, el sistema informático 1610 puede permitir el funcionamiento del vehículo 1606. En algunos aspectos, y a menos que se haga automáticamente, el módulo de control 1604 puede solicitar al operador 1602 que obtenga niveles de analito actuales adicionales después de hacer funcionar el vehículo 1606 durante un período de tiempo predeterminado (por ejemplo, después de 1 hora, 2 horas, 5 horas, etc.).

[0104] En algunas realizaciones, el módulo de control 1604 puede estar configurado para emitir recomendaciones visuales o audibles o instrucciones al operador 1602 que pueden ayudar a que los niveles de analito medidos vuelvan a rangos 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 rangos seguros. Además, en algunas realizaciones, el operador 1602 puede ser capaz de comunicarse con el módulo de control 1604 verbalmente emitiendo respuestas o comandos verbales. Esto puede resultar ventajoso para ayudar a prevenir la operación distraída del vehículo 1606.

[0105] En algunas realizaciones, el operador 1602 puede personalizar los ajustes del módulo de control 1604 para permitir que el usuario tome decisiones informadas una vez que se han detectado niveles de analito inseguros y el módulo de control 1604 ha emitido una alerta visual o audible. Más específicamente, en al menos una realización, el módulo de control 1604 puede incluir una función de derivación que el operador 1602 puede habilitar para permitir que el operador 1602 haga funcionar el vehículo 1606 incluso cuando se han medido niveles de analito inseguros. En dichas realizaciones, el operador 1602 puede hacer funcionar el vehículo 1606 reconociendo que el operador 1602 podría estar funcionando el vehículo 1606 en un estado de salud deteriorado o inseguro.

[0106] En algunas realizaciones, el sistema informático 1610 puede configurarse o programarse de otro modo para calcular una línea de tiempo prevista en la que los niveles de analito del operador 1602 pueden alejarse de un rango seguro predeterminado o en cualquier caso cruzar un umbral predeterminado. En dichas realizaciones, el módulo de control 1604 puede configurarse para emitir alertas visuales o audibles al operador 1602 indicando aproximadamente cuánto tiempo tiene el operador 1602 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 alcancen 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.

[0107] En algunas realizaciones, si se miden niveles de analito inseguros mientras el operador 1602 está operando el vehículo 1606, el módulo de control 1604 puede estar configurado para emitir una o más alertas (visuales o audibles) que adviertan al operador 1602 de los niveles de analito inseguros. En algunos casos, el volumen del equipo de sonido en el vehículo 1606 puede reducirse automáticamente para permitir que el operador 1602 escuche una alerta audible. En dichas realizaciones, el módulo de control 1604 puede estar configurado para sugerir una o más acciones

correctivas al operador 1602. Las acciones correctivas de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, reducir la velocidad y detener el vehículo 1606, localizar y conducir hasta una tienda de conveniencia o farmacia cercana, y localizar un hospital o centro médico cercano. Si el vehículo 1606 es un vehículo autónomo y los niveles actuales de analito colocan al operador 1602 en condiciones potencialmente peligrosas, el módulo de control 1604 puede dirigir automáticamente el vehículo 1606 a un centro médico para su tratamiento. Como alternativa, o además de ello, el módulo de control 1604 puede reducir o restringir progresivamente la velocidad del vehículo 1606 cuando se detectan niveles de analito inseguros, obligando así al operador 1602 a detenerse y solucionar el problema antes de continuar operando el vehículo 1606.

[0108] El sistema 1600 puede ser útil en varios escenarios diferentes para proteger al operador 1602 y/o a quienes se encuentran alrededor del operador 1602 mientras conduce. En algunas aplicaciones, el sistema 1600 puede ser incorporado voluntariamente por el operador para detectar la incapacidad en tiempo real. En otras aplicaciones, el propietario del vehículo 1606 puede requerir al sistema 1600 para que detecte la incapacidad del operador 1602. En dichas aplicaciones, el propietario del vehículo 1606 puede ser una empresa de transporte o de camiones. En aún otras aplicaciones, el sistema 1600 puede ser impuesto legalmente al operador 1602 para detectar la incapacidad.

[0109] 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.

[0110] 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.

[0111] 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.

[0112] 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.

[0113] 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. Por lo tanto, es evidente que las realizaciones ilustrativas particulares divulgadas anteriormente pueden alterarse, combinarse o modificarse y todas esas variaciones se consideran dentro del alcance de la presente divulgación. 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" o "una", como se usan en las reivindicaciones, se definen en este documento para significar uno de los elementos que introduce. Si existe algún conflicto entre el uso de una palabra o término en esta memoria descriptiva y uno o más documentos de patente u otros documentos que puedan citarse aquí, se deberán adoptar las definiciones que sean consistentes con esta memoria descriptiva.

5



# REIVINDICACIONES

1. Sensor de analitos (300) que comprende:  
una cola de sensor que comprende al menos un primer electrodo de trabajo (304) y un segundo electrodo de trabajo (306), la cola de sensor configurada para su inserción en un tejido;  
un área activa sensible a cetonas (310a) dispuesta sobre una superficie del primer electrodo de trabajo (304), comprendiendo el área activa sensible a cetonas (310a) un sistema enzimático que comprende al menos dos enzimas que son capaces de actuar de manera conjunta para facilitar la detección de cetonas;  
un área activa sensible a la glucosa (310b) que comprende una enzima sensible a la glucosa dispuesta sobre una superficie del segundo electrodo de trabajo (306); y  
una membrana (340) que tiene una primera parte (340a) que recubre el área activa sensible a cetonas (310a) y una segunda parte (340b) que recubre el área activa sensible a la glucosa (310b);  
en el que la primera parte (340a) y la segunda parte (340b) tienen composiciones diferentes.
2. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 1, en el que la primera parte (340a) de la membrana (340) es multicomponente y comprende al menos un primer polímero de membrana y un segundo polímero de membrana que difieren entre sí, opcionalmente en el que la segunda parte (340b) de la membrana (340) es homogénea y comprende uno del primer polímero de membrana o el segundo polímero de membrana.
3. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 2, en el que la primera parte (340a) de la membrana (340) que es multicomponente comprende una primera capa de membrana y una segunda capa de membrana, opcionalmente en el que el primer polímero de membrana está dispuesto directamente sobre el área activa sensible a cetonas (310a) que forma la primera capa de membrana, en el que el segundo polímero de membrana está dispuesto sobre el primer polímero de membrana que forma la segunda capa de membrana, y en el que el segundo polímero de membrana está dispuesto además sobre el área activa sensible a glucosa (310b), de modo que el primer y el segundo polímeros de membrana definen la primera parte (340a) de la membrana (340) que es multicomponente y el segundo polímero de membrana define la segunda parte (340b) de la membrana (340) y es homogénea, opcionalmente en el que la primera parte (340a) de la membrana (340) es más gruesa que la segunda parte (340b) de la membrana (340), y/u opcionalmente en el que el primer polímero de membrana comprende polivinilpiridina, y el segundo polímero de membrana comprende polivinilpiridina-co-estireno.
4. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 2, en el que la primera parte (340a) de la membrana (340) comprende una mezcla del primer polímero de membrana y el segundo polímero de membrana.
5. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 1, en el que la primera parte (340a) y la segunda parte (340b) definen una membrana continua que recubre el área activa sensible a las cetonas (310a) y el área activa sensible a la glucosa (310b).
6. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 1, en el que el área activa sensible a la glucosa (310b) y el área activa sensible a las cetonas (310a) comprenden cada una un agente de transferencia de electrones que está unido covalentemente a un polímero en cada una del área activa sensible a la glucosa (310b) y el área activa sensible a las cetonas (310a), opcionalmente en el que la enzima sensible a la glucosa está unida covalentemente al polímero en el área activa sensible a la glucosa (310b) y una o ambas de las al menos dos enzimas en el sistema enzimático están unidas covalentemente al polímero en el área activa sensible a las cetonas (310a).
7. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 1, que comprende además:  
un módulo de control (1604) en comunicación con el sensor de analitos (300) y un sistema eléctrico de un vehículo (1606), incluyendo el módulo de control (1604) un sistema informático (1608) programado para recibir y procesar datos proporcionados por el sensor de analitos (300),  
en el que el funcionamiento del vehículo (1606) es controlado o desactivado por el sistema informático (1608) cuando un nivel de analito medido en tiempo real del operador cruza un umbral seguro predeterminado.
8. Sensor de analitos (300), según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el primer electrodo de trabajo (304) y el segundo electrodo de trabajo (306) son planos, y están ubicados sobre una misma cara de un sustrato plano (302) y separados por una capa dieléctrica, o están ubicados sobre una cara opuesta del sustrato plano (302).
9. Sensor de analitos (300), según la reivindicación 3, en el que el primer polímero de membrana y el segundo polímero de membrana tienen diferentes valores de permeabilidad.
10. Sensor de analitos (300), según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la enzima sensible a la glucosa es glucosa oxidasa o glucosa deshidrogenasa.
11. Sensor de analitos (300), según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las al menos dos enzimas en el sistema enzimático comprenden  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y diaforasa, o  $\beta$ -hidroxibutirato deshidrogenasa y nicotinamida adenina dinucleótido oxidasa.

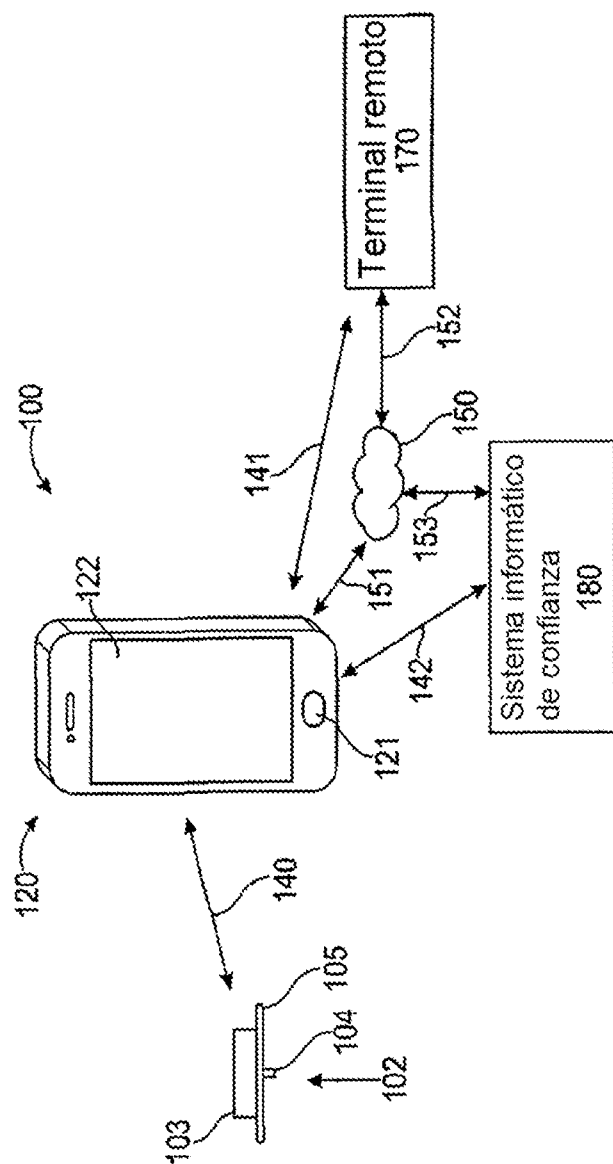


FIG. 1

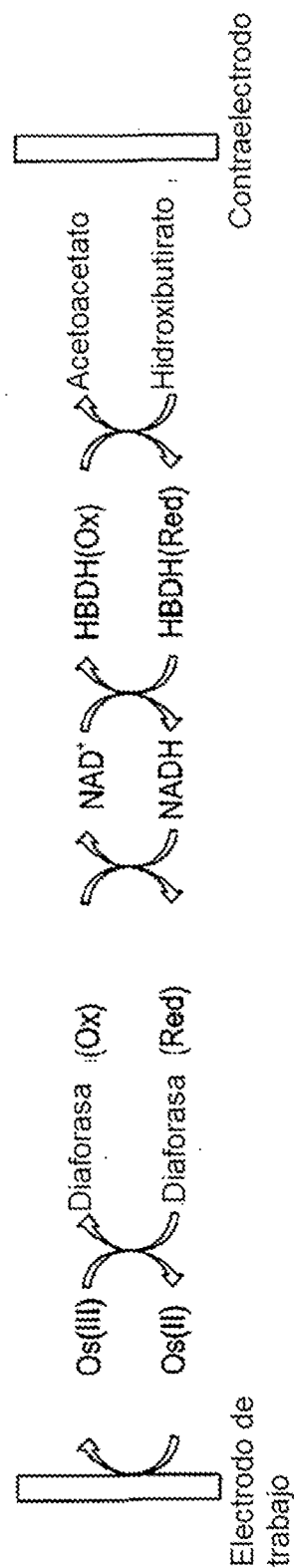


FIG. 2A

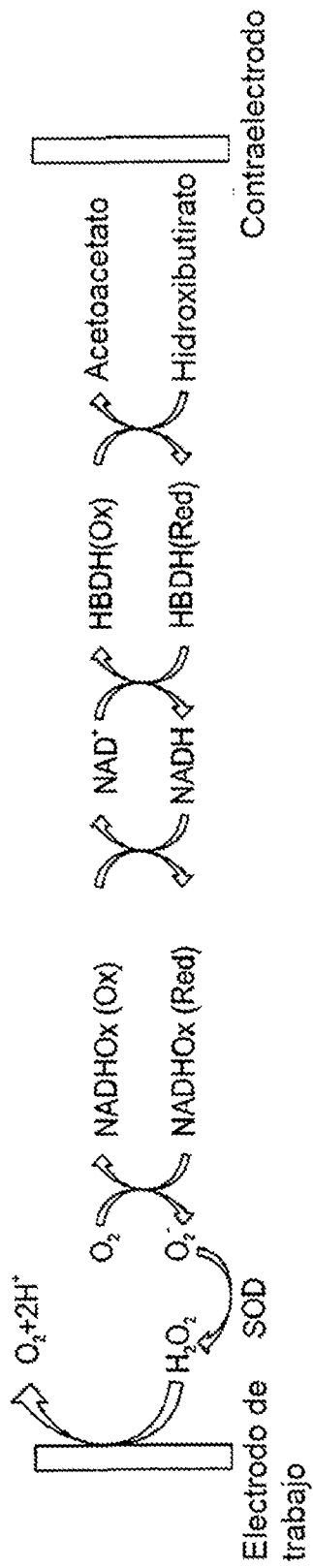


FIG. 2B

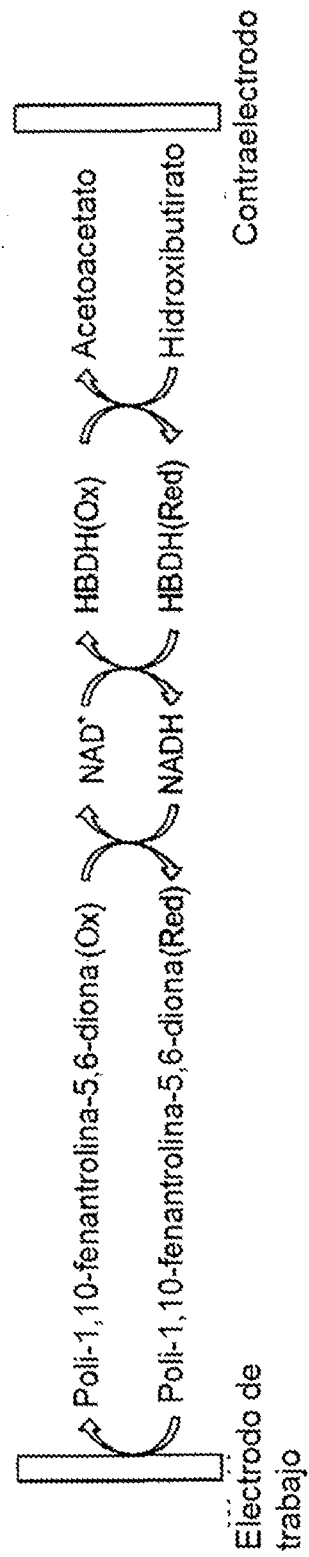


FIG. 2C

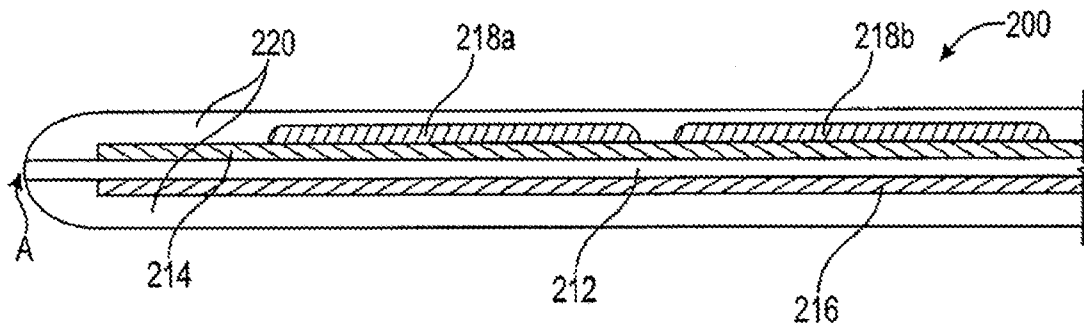


FIG. 3A

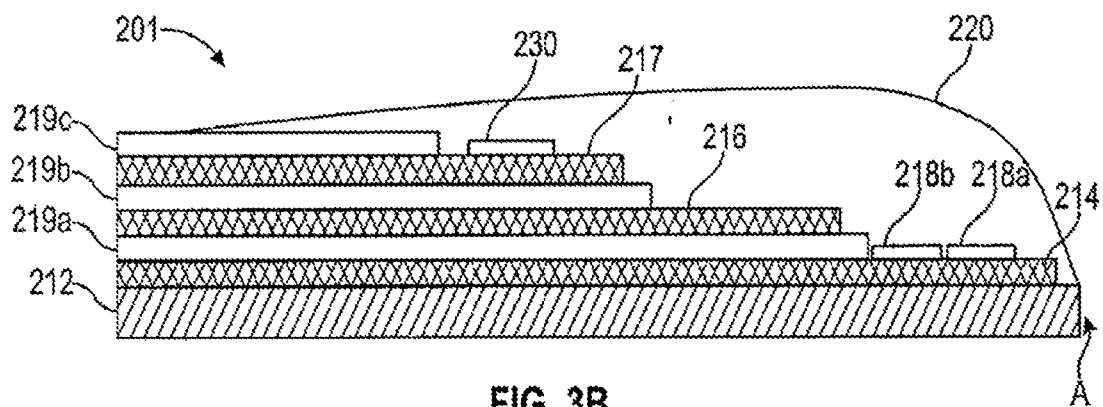


FIG. 3B

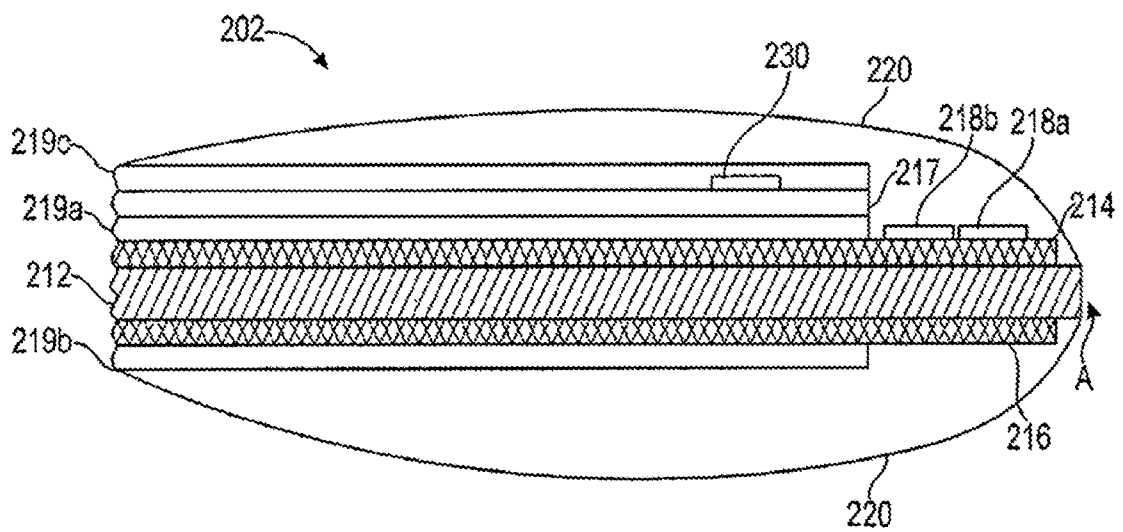


FIG. 3C

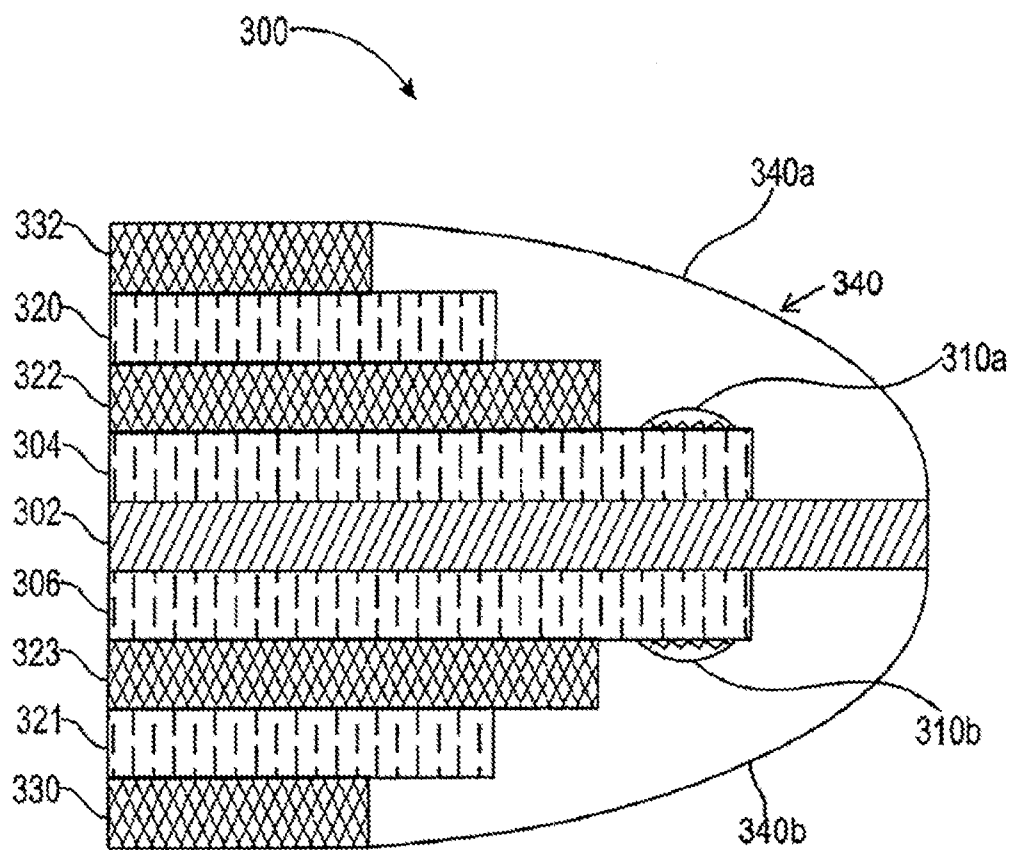


FIG. 4

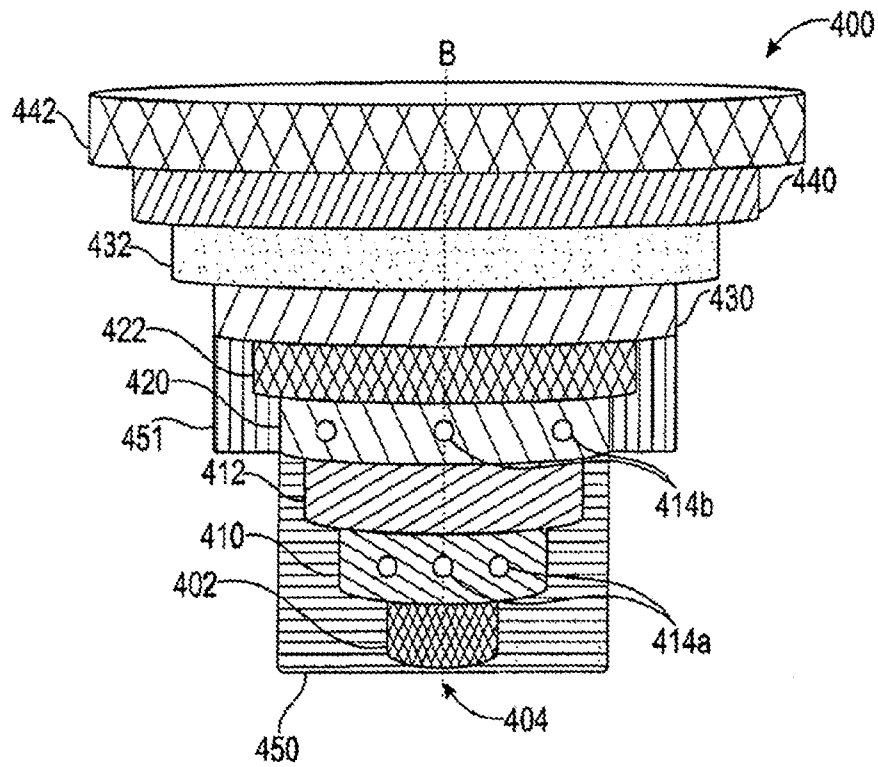


FIG. 5A

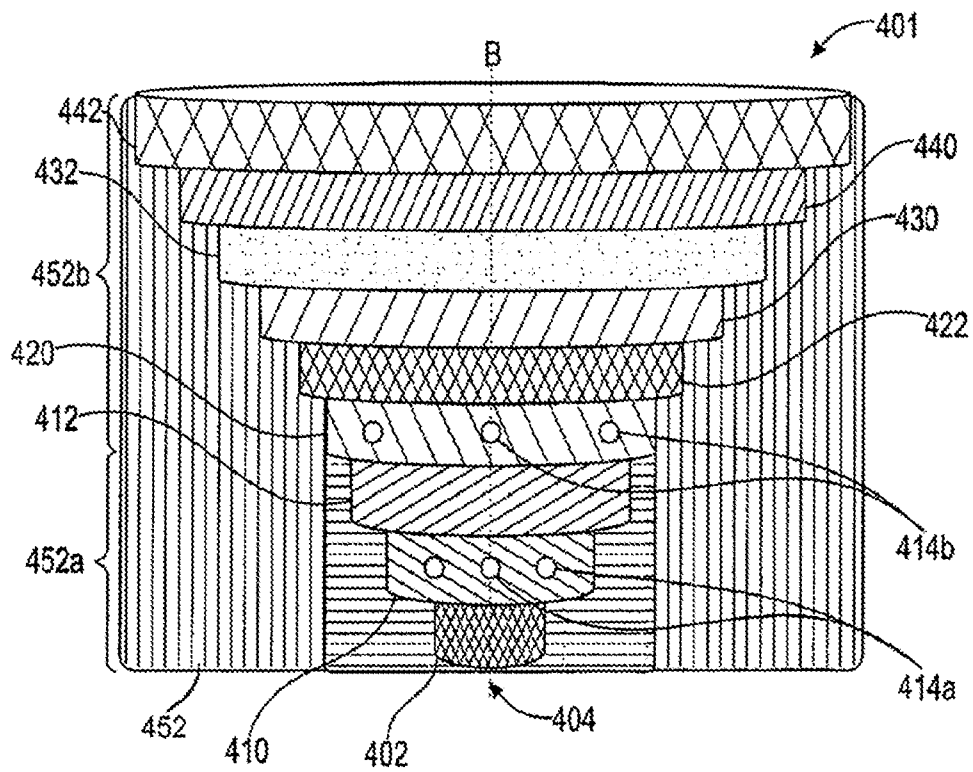


FIG. 5B

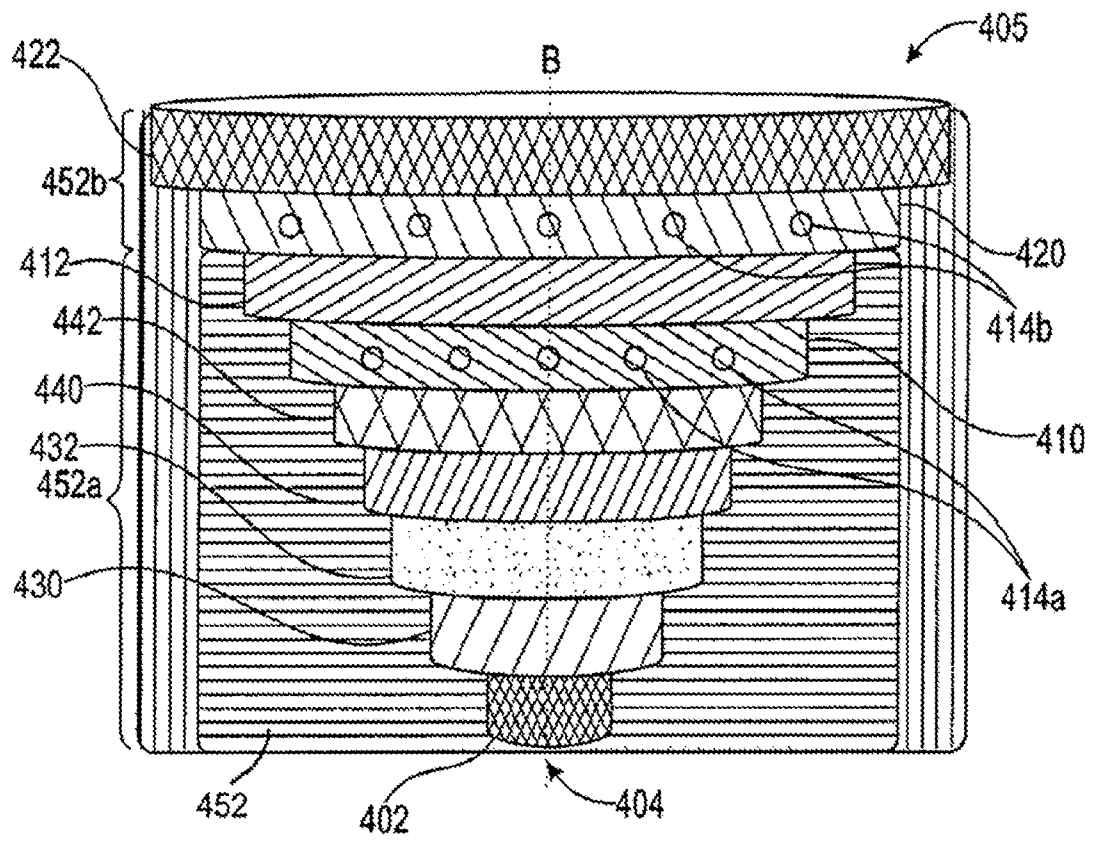


FIG. 5C

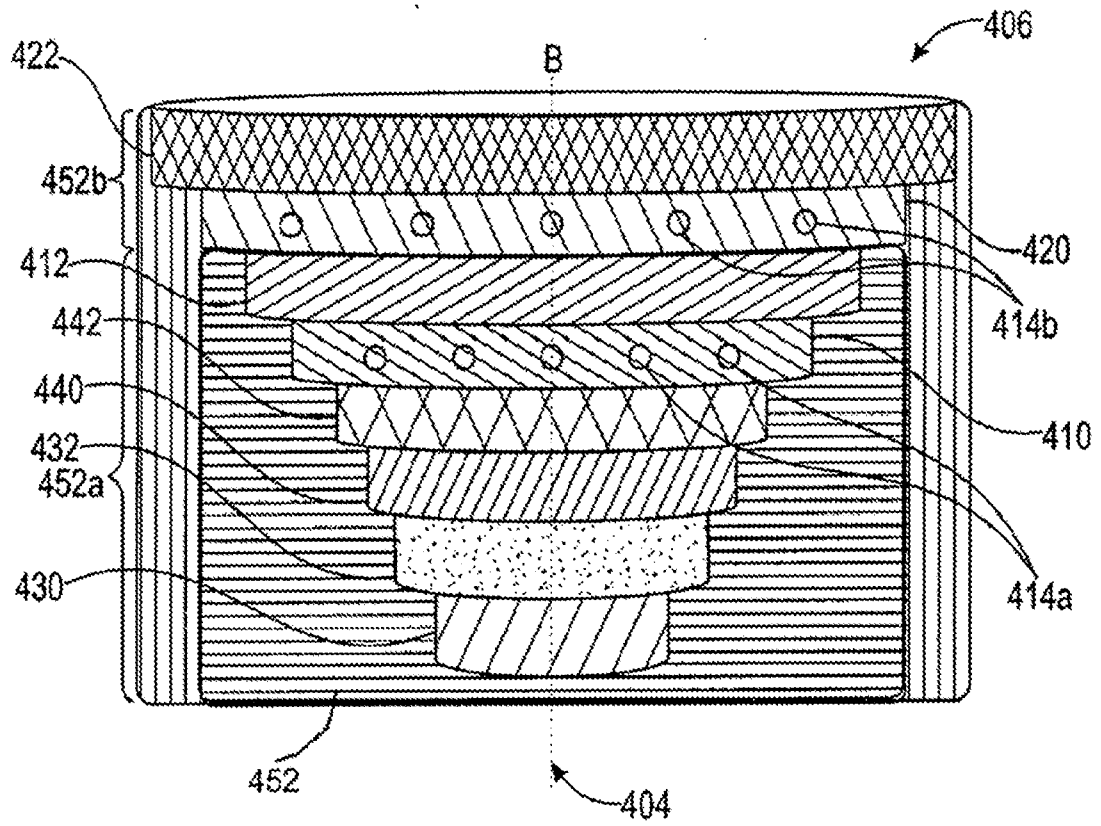


FIG. 5D



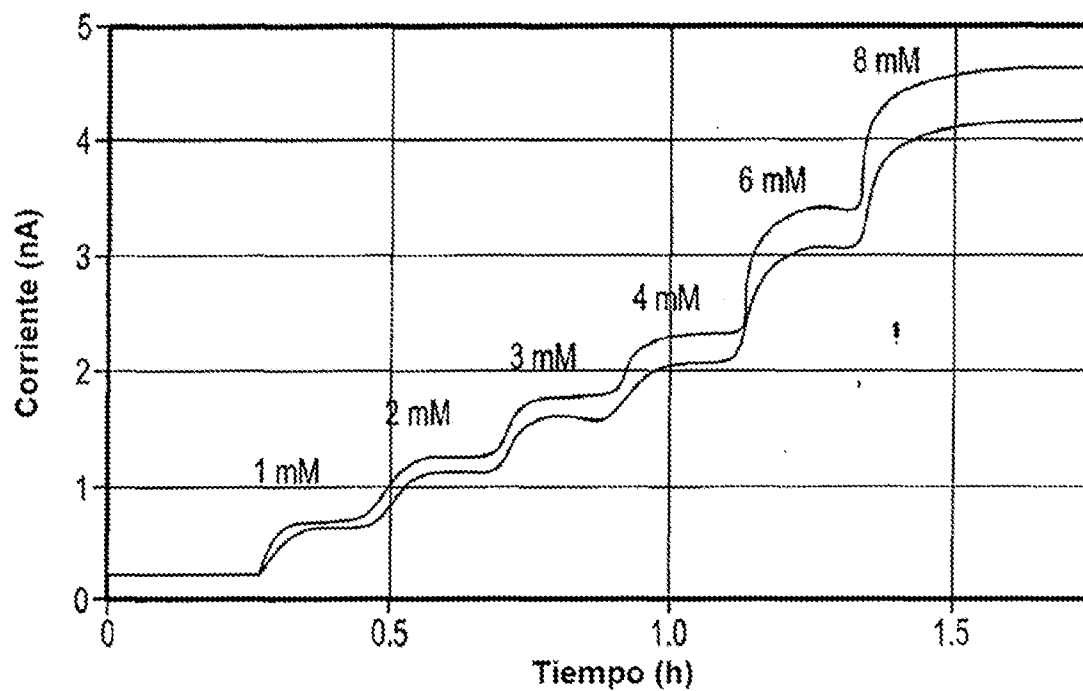


FIG. 6

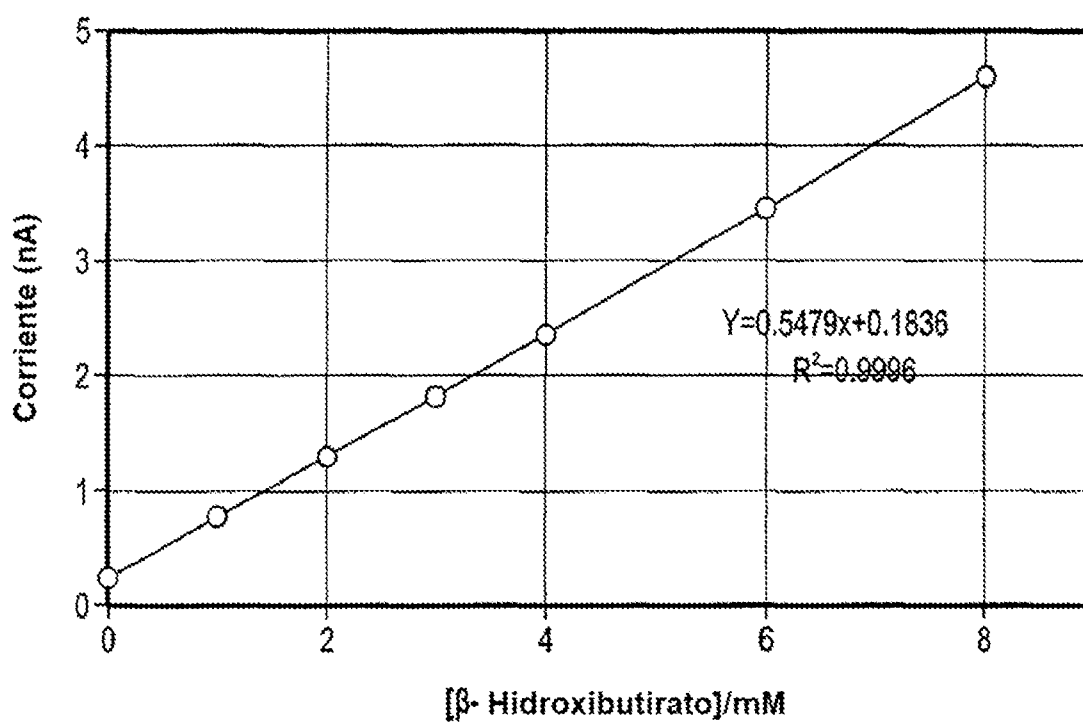


FIG. 7

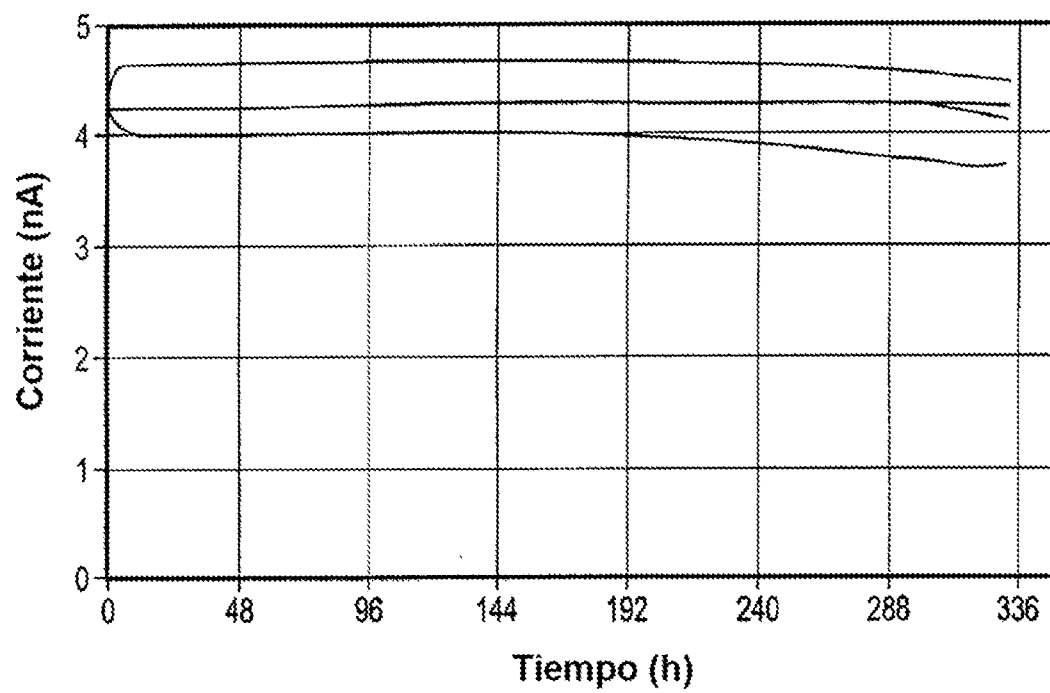


FIG. 8

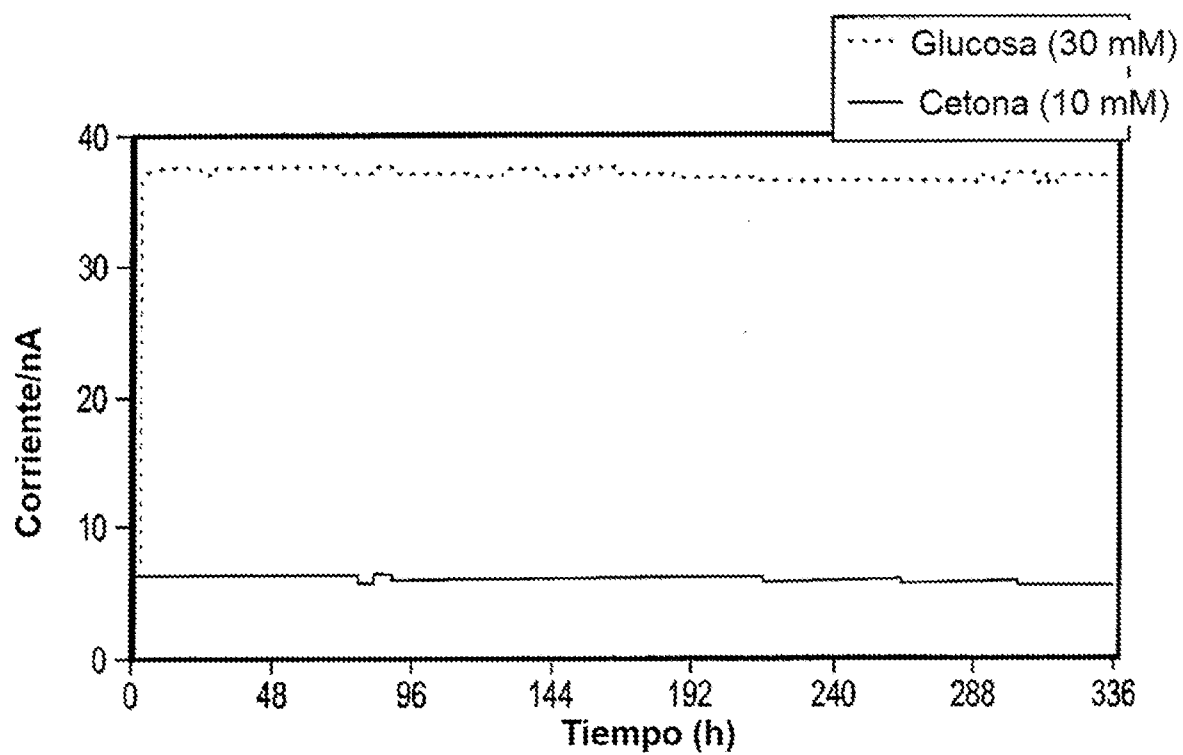


FIG. 9

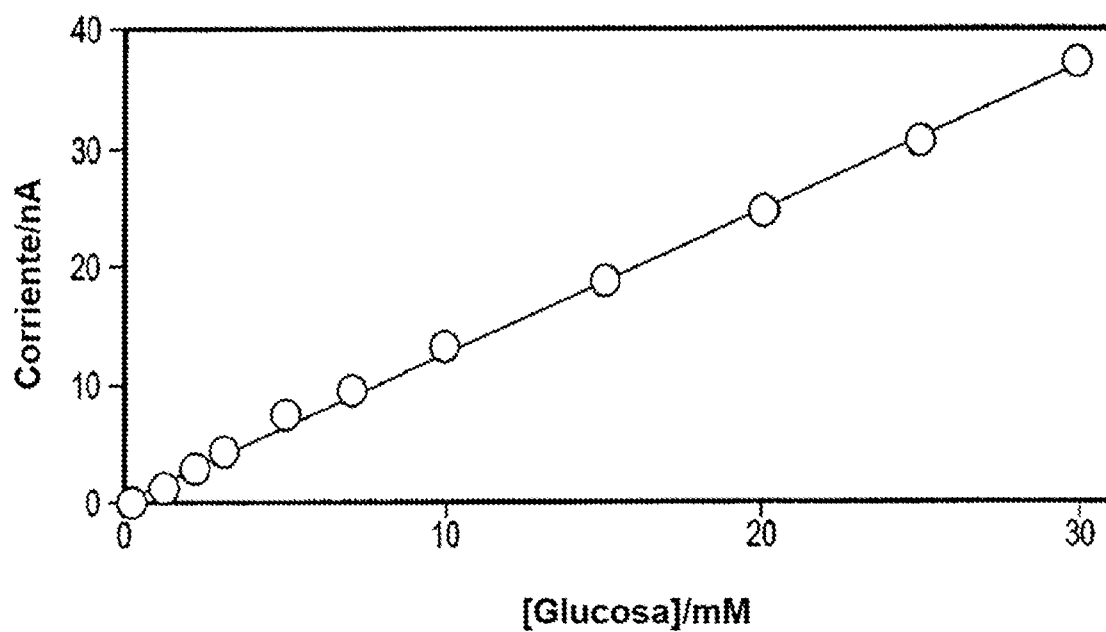


FIG. 10

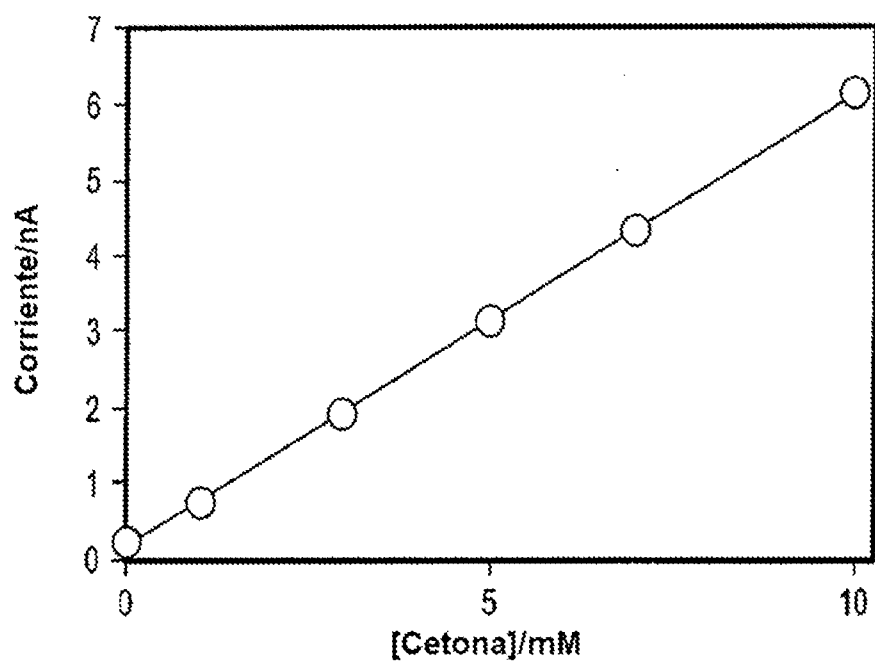


FIG. 11

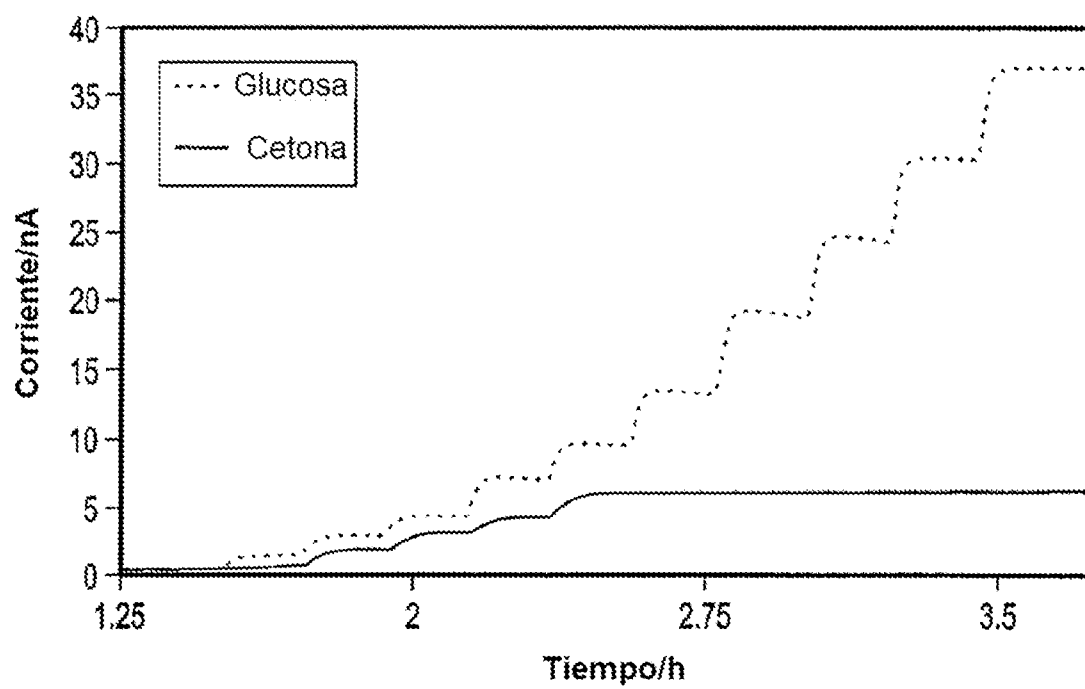


FIG. 12

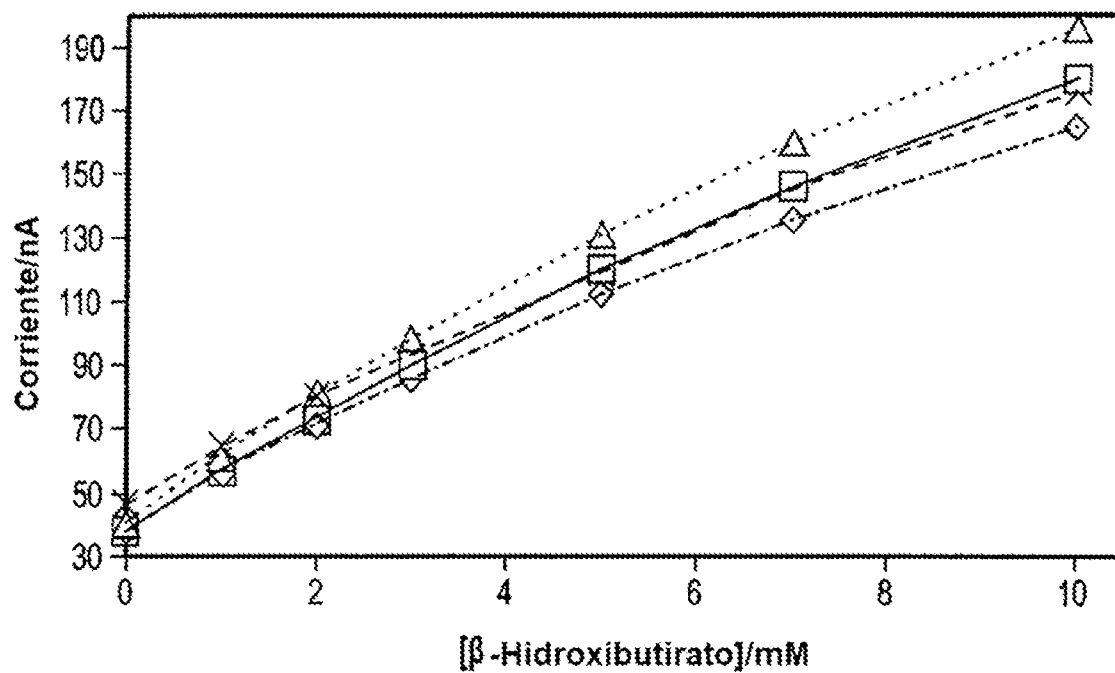


FIG. 13A

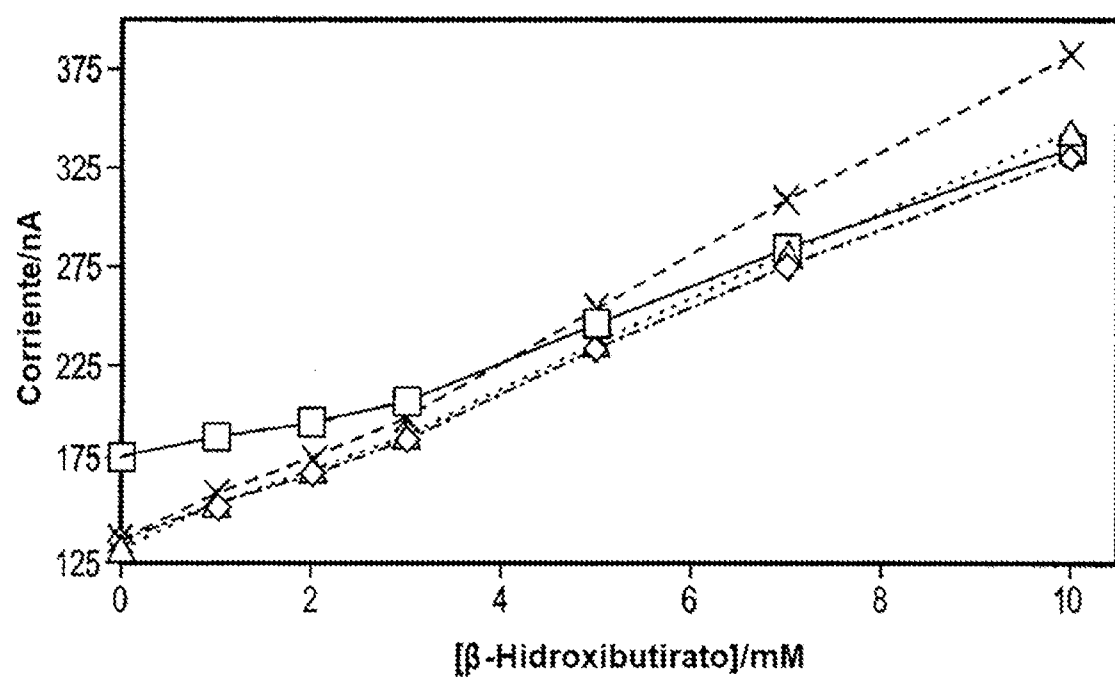


FIG. 13B

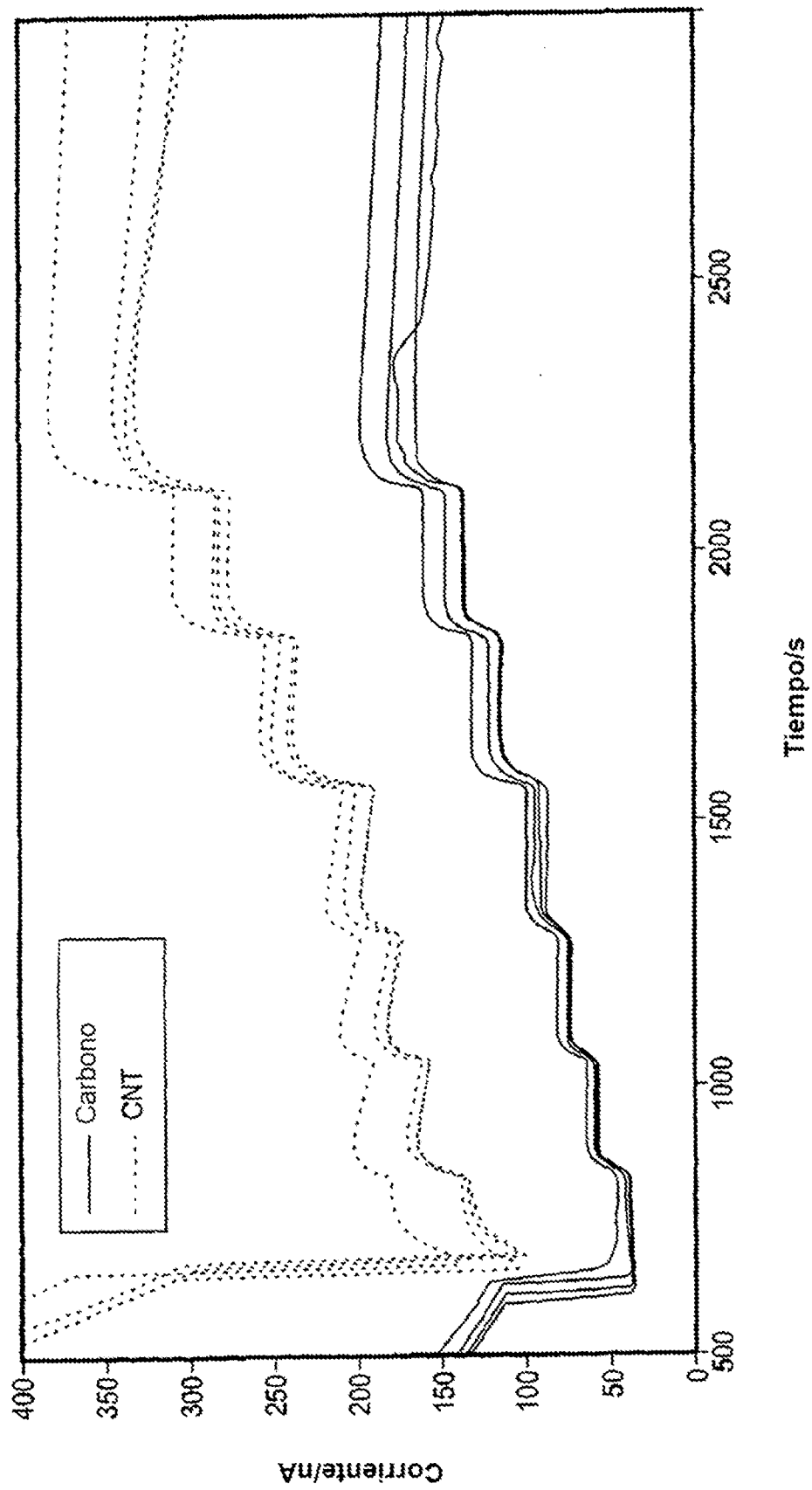


FIG. 14

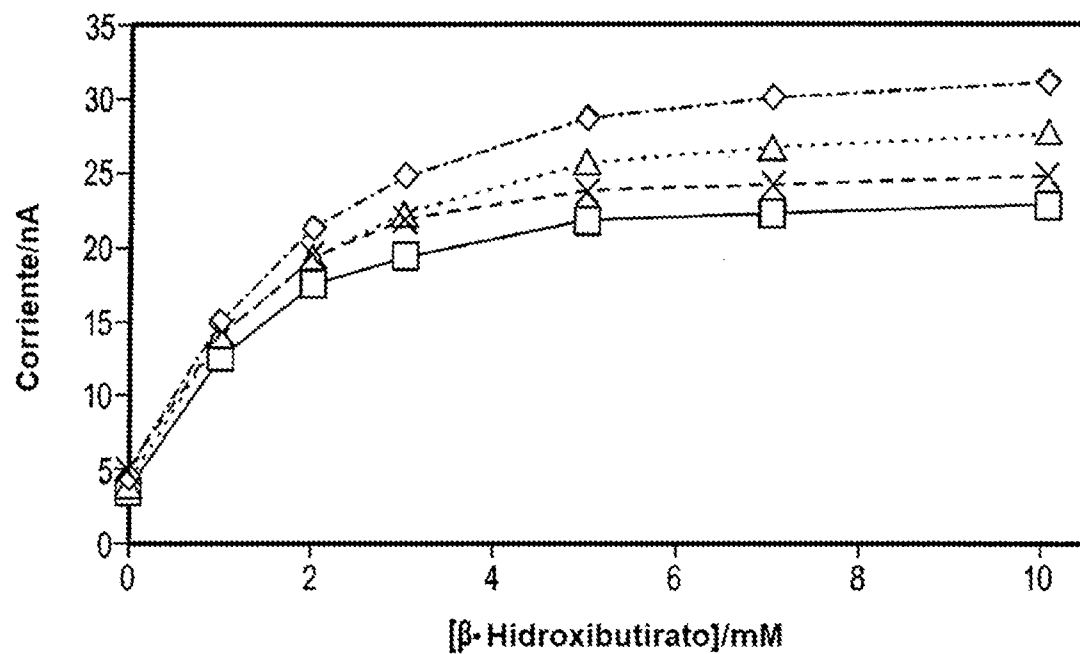


FIG. 15A

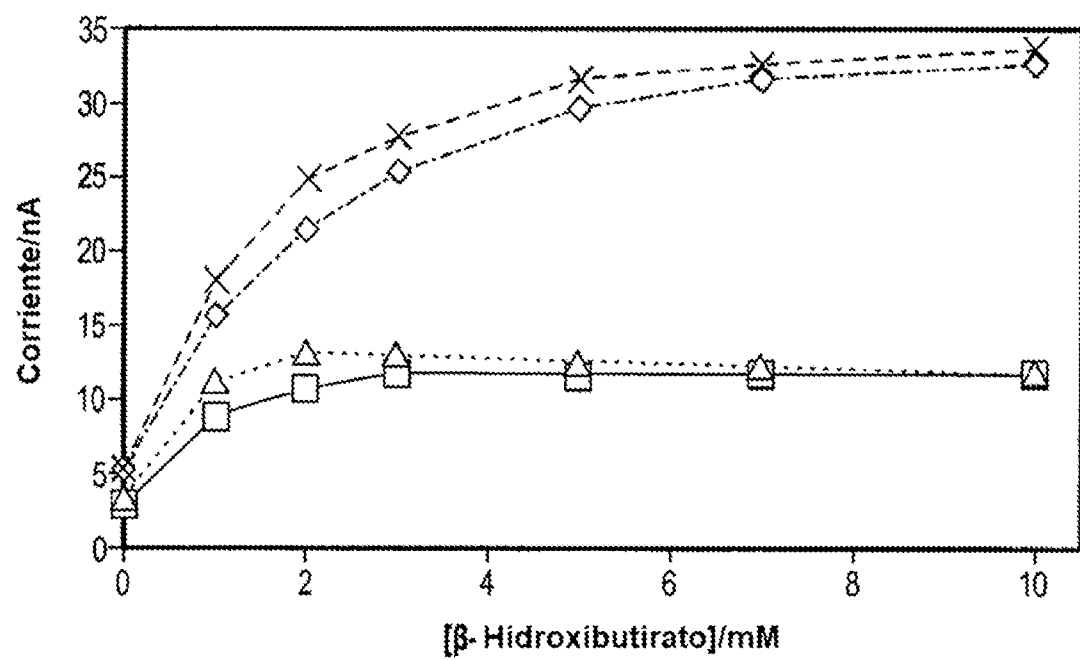


FIG. 15B

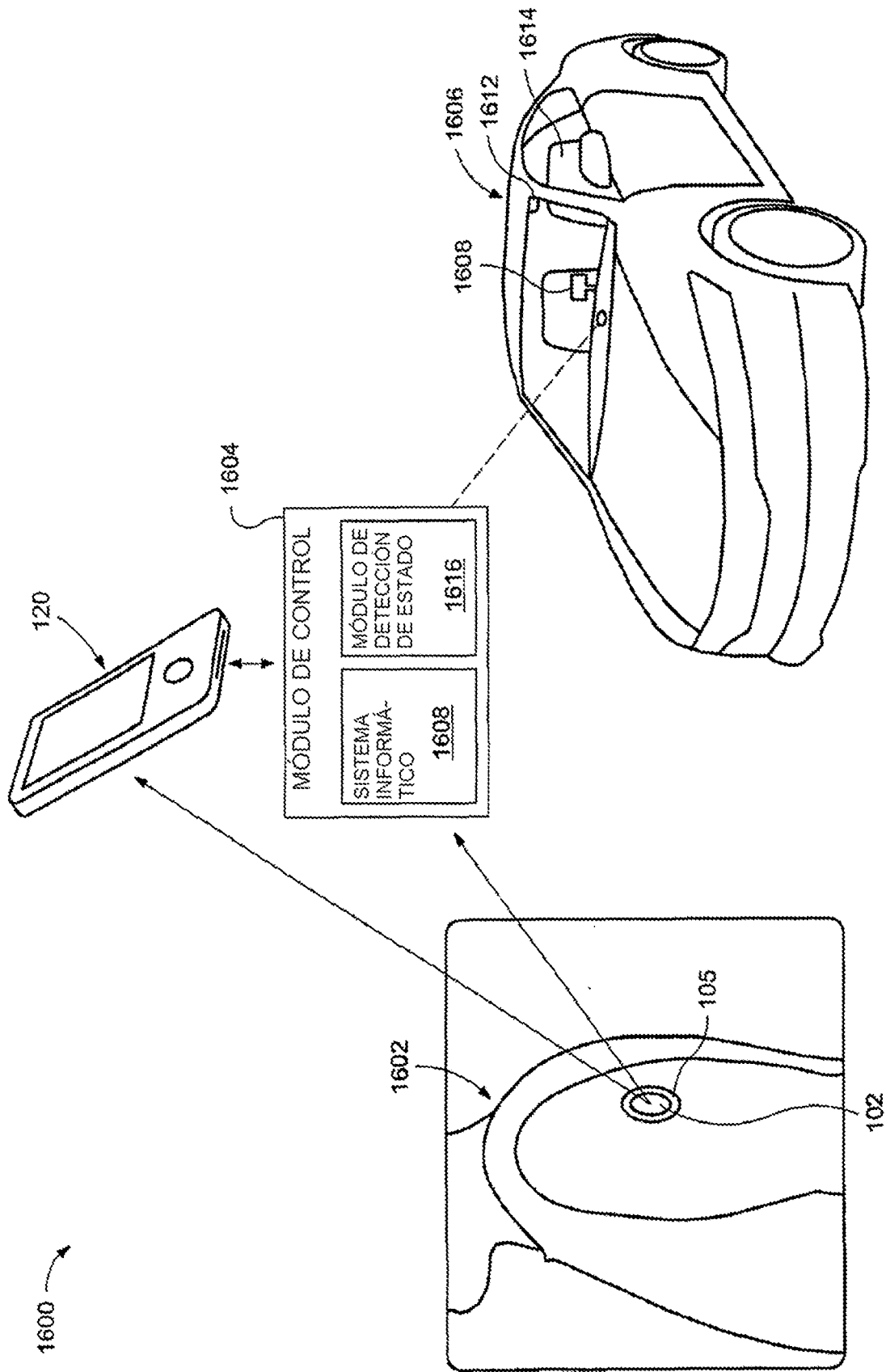


FIG. 16