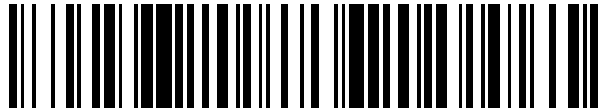


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 722**

51 Int. Cl.:

**A61B 5/00**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2007 E 06850294 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2155047**

54 Título: **Almohadilla multicapa y procedimientos de uso de la misma**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.04.2015**

73 Titular/es:

**BAYER HEALTHCARE LLC (100.0%)  
100 Bayer Boulevard  
Whippany, NJ 07981-0915, US**

72 Inventor/es:

**ZHU, BORU;  
REBEC, MIHAILO V. y  
BURSON, PAMELA J.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 533 722 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

Almohadilla multicapa y procedimientos de uso de la misma

**Campo de la invención**

5 La presente invención versa en general sobre una almohadilla multicapa y procedimientos de uso de la misma. Una o más capas de la almohadilla multicapa son hidrogeles que se usan para facilitar el análisis de analitos que se encuentran en la piel.

**Antecedentes de la invención**

10 La determinación cuantitativa de analitos en los fluidos corporales es de gran importancia en los diagnósticos y el mantenimiento de ciertas anomalías fisiológicas. Por ejemplo, en ciertos individuos deberían monitorizarse el lactato, el colesterol y la bilirrubina. En particular, es importante que los individuos diabéticos comprueben con frecuencia el nivel de glucosa en sus fluidos corporales para regular la ingesta de glucosa en su dieta. Los resultados de tales pruebas pueden ser usados para determinar cuál insulina u otra medicación, en el caso de que sea necesario, es preciso administrar.

15 Un procedimiento no invasivo para obtener una muestra sin usar una lanceta es tomar una muestra transdérmica de un analito encontrado en fluido intersticial (ISF). En este procedimiento, se coloca sobre la piel una composición tal como un hidrogel que ayuda a facilitar la difusión de los analitos desde la piel de un usuario hasta un instrumento de detección o medidor y, en algunos casos (por ejemplo, la glucosa) de sus productos subsiguientes después de reacciones catalizadas por enzimas. Una enzima en la composición de hidrogel ayuda a determinar la concentración del analito de la muestra. Idealmente, esta composición posee suficiente estabilidad mecánica y térmica para proporcionar un contacto reactivo y acuoso relativamente estático entre el sitio de muestreo dérmico y el instrumento detector. Un problema encontrado en las composiciones existentes de hidrogel es la tendencia de la enzima a lixivarse de las mismas.

20

El documento US 7.045.054 B1 da a conocer un biosensor multicapa que represente la técnica anterior más cercana.

**Sumario de la invención**

25 Según una realización, una almohadilla multicapa definida en las reivindicaciones está adaptada para ser usada para determinar una concentración de analito. La almohadilla multicapa incluye una primera capa y una segunda capa. La primera capa incluye una enzima, estando la enzima adaptada para contribuir a determinar la concentración del analito. La segunda capa está unida a la primera capa y está fabricada de un material que se adapta a la piel.

30

Según otra realización, se adapta una almohadilla multicapa para ser usada en la determinación de una concentración de un analito. La almohadilla multicapa incluye una primera capa, una segunda capa y una tercera capa. La primera capa incluye una enzima que está adaptada para contribuir a determinar la concentración del analito. La segunda capa está unida a una primera superficie de la primera capa y está fabricada de un material que se adapta a la piel. La tercera capa está unida a una segunda superficie de la primera capa y la primera capa está situada entre la segunda capa y la tercera capa.

35

Además, se da a conocer un procedimiento de determinación continua de una concentración de un analito. Se proporciona una almohadilla multicapa que comprende una primera capa y una segunda capa, estando unida la segunda capa a la primera capa. La primera capa incluye una enzima que está adaptada a contribuir a determinar la concentración del analito. La segunda capa está fabricada de un material que se adapta a la piel. También se proporciona un sensor que está adaptado a contribuir a determinar la concentración del analito. La almohadilla multicapa se coloca sobre la piel y está situado entre el sensor y la piel. El procedimiento incluye, además, la acción de determinar la concentración del analito.

40

En otra realización, se da a conocer un procedimiento de determinación continua de una concentración de un analito. Se proporciona una almohadilla multicapa que incluye una primera capa, una segunda capa y una tercera capa. La segunda capa está fabricada de un material que se adapta a la piel. La primera capa incluye una enzima que está adaptada a contribuir a determinar la concentración del analito. La primera capa está situada entre la segunda capa y la tercera capa. También se proporciona un sensor que está adaptado a contribuir a determinar la concentración del analito. La almohadilla multicapa se coloca sobre la piel y está situado entre el sensor y la piel. El procedimiento incluye, además, la acción de determinar la concentración del analito.

45

50

No se pretende que el anterior sumario de la presente invención represente cada realización o cada aspecto de la presente invención. Características y beneficios adicionales de la presente invención son evidentes a partir de la descripción detallada y de las figuras presentadas más abajo.

**Breve descripción de los dibujos**

- La FIG. 1a es una almohadilla de dos capas según una realización.  
 La FIG. 1b es la almohadilla de dos capas de la FIG. 1 aplicada a la piel.  
 La FIG. 2 es una almohadilla de tres capas según una realización.  
 5 La FIG. 3 es una almohadilla de cinco capas según una realización.  
 La FIG. 4 es un sensor electroquímico según una realización.  
 La FIG. 5 es un sistema sensor electroquímico que incluye el sensor electroquímico de la FIG. 4 y la almohadilla de la FIG. 2.

**Descripción de las realizaciones ilustradas**

- 10 La presente invención va dirigida a una almohadilla multicapa novedosa que está adaptada para contribuir a determinar una concentración de un analito. La almohadilla multicapa presenta propiedades deseables necesarias para un procedimiento transdérmico de determinación de analitos en un procedimiento. En una realización, la almohadilla multicapa está adaptada para ser usada para contribuir a determinar una concentración de un analito de fluido intersticial (ISF) con un sensor. Más específicamente, la almohadilla multicapa está adaptada para servir como  
 15 una superficie de contacto generalmente entre la piel y el sensor y acoplando ambos.

- Los analitos que pueden ser medidos con una almohadilla multicapa incluyen glucosa, perfiles lipídicos (por ejemplo, colesterol, triglicéridos, LDL y HDL), microalbúmina, fructosa, lactato o bilirrubina. Se contempla que puedan determinarse concentraciones de otros analitos. Los analitos pueden estar, por ejemplo, en una muestra de sangre completa, una muestra de suero sanguíneo, una muestra de plasma sanguíneo, otros fluidos corporales como el ISF (fluido intersticial) y la orina, y en fluidos no corporales. Según se usa en esta solicitud, el término "concentración" se refiere a la concentración de un analito, a la actividad (por ejemplo, de enzimas y electrolitos), a los títulos (por ejemplo, anticuerpos), o a cualquier otra concentración de medidas usada para medir el analito deseado.

- Con referencia inicialmente a la FIG. 1a, se muestra una almohadilla multicapa 10 según una realización. La almohadilla 10 de la FIG. 1a comprende una primera capa 12 y una segunda capa 14. La primera capa 12 es  
 25 adyacente a la segunda capa 14.

La primera capa 12 es generalmente un tejido, una membrana porosa o un material de papel. La primera capa 12 contiene enzimas que pueden añadirse al tejido, a la membrana porosa o al material de papel mediante varios procedimientos. Por ejemplo, las enzimas pueden ser absorbidas y secadas físicamente sobre el tejido, la membrana porosa o el material de papel o en los mismos.

- 30 El tejido puede estar fabricado de varios materiales que incluyen, sin limitación, materiales presentes de forma natural, tales como seda y celulosa, y materiales poliméricos sintéticos, tales como tereftalato de polietileno, poliuretano y fibras de vidrio. Para mejorar la biocompatibilidad superficial hacia las enzimas, los materiales textiles pueden ser tratados de antemano con plasma luminoso, implantación de iones, ozono, radiación ultravioleta (UV), radiación ultravioleta al vacío (VUV), ataque químico o modificación de la superficie, o ser recubiertos de antemano o  
 35 injertados con polímeros hidrófilos y/o proteínas. Se contempla que puedan usarse otros materiales para formar el tejido. Un ejemplo específico de polímero que puede usarse para formar el tejido es el tejido de tereftalato de polietileno. Sin embargo, se contempla que también puedan usarse otros materiales poliméricos para formar el tejido.

- La membrana porosa puede estar fabricada de varios materiales que incluyen, sin limitación, la celulosa y sus derivados, nailon, poliacrilonitrilo, policarbonato, polipropileno, polisulfona o cloruro de polivinilo. Para mejorar la biocompatibilidad superficial hacia las enzimas, las membranas hidrófilas pueden ser tratadas de antemano con plasma luminoso, implantación de iones, ozono, radiación ultravioleta (UV), radiación ultravioleta al vacío (VUV), ataque químico o modificación de la superficie, o ser recubiertas de antemano o injertadas con polímeros hidrófilos y/o proteínas.

- 45 El material de papel puede estar fabricado de varios materiales que incluyen, sin limitación, la celulosa y sus derivados. Se contempla que puedan usarse otros materiales para formar el material de papel. Un ejemplo específico de tal material de papel es el paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark. Sin embargo, se contempla que puedan usarse otros materiales de papel, tales como el papel filtro.

- Las enzimas que han de añadirse al tejido o al material de papel contribuyen a determinar la concentración de un analito. Dependiendo del analito, una enzima puede contribuir a convertir el analito en una especie susceptible de detección, tal como la detección electroquímica. Un ejemplo de una enzima que puede usarse en la determinación de la glucosa es la glucosa oxidasa. Se contempla que puedan usarse otras enzimas para contribuir a la determinación de la glucosa, tal como la glucosa dehidrogenasa. Si son de interés otros analitos, una enzima debidamente seleccionada puede contribuir a determinar la concentración de ese analito.

- 55 Según se ha expuesto más arriba, la enzima puede ser adsorbida físicamente o inmovilizada químicamente en el tejido, la membrana o el material de papel que han de formar la primera capa 12. Para la adsorción física, la enzima

puede ser disuelta en una solución tampón, por ejemplo un tampón fosfato salino. La primera capa 12 puede formarse sumergiendo el tejido, la membrana o el material de papel en la solución que contiene la enzima y secándola subsiguientemente. También pueden añadirse polímeros hidrosolubles en la solución enzimática antes de la inmersión en el sustrato. Una vez que el tejido, la membrana o el material de papel están sumergidos en la solución enzimática, el polímero hidrosoluble puede ser adsorbido en el sustrato solo con la enzima. Tras secar, la presencia del polímero hidrosoluble puede mejorar la captura física de la enzima.

Para la inmovilización química, la enzima puede ser fijada con un reticulante tal como el glutaraldehído. Para mejorar la actividad enzimática, la enzima puede ser mezclada de antemano con otra proteína tal como albúmina o gelatina. En otra realización, puede llevarse a cabo un tratamiento previo para introducir algunos grupos funcionales, incluyendo el amino y el carboxil, en la superficie del sustrato. La inmovilización también puede realizarse formando enlaces químicos entre las moléculas de la enzima y el sustrato.

Además de enzimas, también se contempla que puedan incluirse en la primera capa 12 otros materiales, tales como tensioactivos, polisacáridos y sales, para mejorar la estabilidad enzimática a largo plazo.

La segunda capa 14 está fabricada de un material que se adapta a la piel. Según se define en la presente memoria, un "material que se adapta a la piel" incluye los materiales que se adaptan a la piel y que mantienen un contacto deseable con la piel. Un ejemplo no limitante de un material que se adapta a la piel es un hidrogel. Otros materiales potenciales incluyen los polímeros porosos y los materiales comerciales esponjosos, tales como las membranas que tienen muchos espacios abiertos que se empapan de un líquido tamponado. En consecuencia, en una realización, la segunda capa 14 es un hidrogel. El hidrogel debería poder mantener un contenido de agua entre aproximadamente el 40% y aproximadamente el 98%, más idealmente entre aproximadamente el 80% y aproximadamente el 95%, para facilitar la rápida difusión de los analitos. Idealmente, la segunda capa 14 está optimizada para que tenga una buena biocompatibilidad para su contacto con la piel.

La segunda capa 14, en otra realización, es un polímero hidrófilo reticulado. En otra realización, la segunda capa 14 puede ser un polímero con cierto equilibrio hidrófilo e hidrófobo. Para formar un polímero reticulado en una realización, la segunda capa 14 se polimeriza a partir de una mezcla de monómeros o es recubierta con una solución de polímeros. Un ejemplo específico no limitante de una solución de monómeros para formar un polímero reticulado incluye N-vinil pirrolidona, acetato de vinilo, éter divinílico de dietilenglicol y (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona, que es un iniciador UV, en una proporción predeterminada. Se contempla que puedan formarse otros polímeros hidrófilos reticulados usando acrilatos de polietilenglicol, ácido acrílico y acrilamida.

En la realización descrita en lo que antecede, puede usarse un iniciador UV y, por lo tanto, la polimerización de radicales libres de la primera capa 12 con la segunda capa 14 se inicia mediante irradiación UV. También pueden usarse otros procedimientos para iniciar la copolimerización, incluyendo la iniciación térmica (con iniciador térmico), rayos y haz de electrones (con o sin iniciador).

En otra realización, la segunda capa 14 se forma a partir de una solución de polímeros de recubrimiento. Un ejemplo no limitante de una solución de polímeros de recubrimiento incluye el uso de alginato de sodio y poli(óxido de etileno). El alginato es un copolímero natural de dos ácidos urónicos: el ácido D-manurónico y el ácido L-gulurónico. Un procedimiento para reticular el recubrimiento polimérico descrito más arriba con la primera capa 12 para formar la segunda capa 14, es asociar la solución polimérica con iones de calcio. Aunque sin entrar en consideraciones teóricas, se cree que los iones de calcio se enlazan con el polímero cuando hay dos residuos contiguos de ácido gulurónico. Este enlace forma una red insoluble.

Se contempla que, para formar la segunda capa 14, puedan usarse otros materiales, tales como el  $\omega$ -metoxi- $\alpha$ -(clorometil benzóil) polietilenglicol, un polímero hidrófilo con grupos funcionales fotosensibles. La reacción reticulante puede iniciarse con irradiación UV para formar la segunda capa 14 después de que se aplica una solución polimérica a la primera capa 12. En otra realización, pueden usarse polímeros hidrófilos en solución como recubrimiento y secarse sobre la primera capa 12. La reacción reticulante puede iniciarse con exposición a plasma en un gas inerte, tal como, por ejemplo, argón o nitrógeno. La reacción reticulante también puede iniciarse con rayos y o con un haz de electrones.

Para proporcionar y mantener las aberturas formadas en la piel, la segunda capa 14 puede incluir un potenciador de la permeación. Ejemplos no limitantes de potenciadores de la permeación que pueden usarse incluyen el escualeno, ácidos grasos insaturados, derivados de glicerol de alcoholes grasos, dimetilsulfóxido y ésteres alquílicos de ácidos grasos. Además, cuando resulte deseable mantener húmeda la piel, la segunda capa 14 también puede incluir humectantes. Ejemplos no limitantes de humectantes que se pueden usar en la segunda capa 14 incluyen glicerol, hexilenglicol y sorbitol, maltitol, polidextrosa, propilenglicol, ácido láctico y sales metálicas de lactato. Para contribuir a que la almohadilla multicapa 10 obtenga un contacto deseable con la piel, la segunda capa 14 también puede incluir tensioactivos. Ejemplos no limitantes de tensioactivos que pueden usarse incluyen fenoles alquílicos tales como TRITON® X-100 (octil fenol etoxilato, que tiene una fórmula molecular  $C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ , en la que una "n" media es 9 o 10), y sorbitol y derivados de sorbitol tales como la serie TWEEN™.

También se contempla que puedan incluirse otros materiales en la segunda capa 14. Por ejemplo, puede incluirse un electrolito en la segunda capa 14. El electrolito puede realizar múltiples funciones. En primer lugar, el electrolito es un compuesto químico que se ioniza cuando se disuelve, produciendo un medio eléctricamente conductor. En segundo lugar, idealmente el electrolito contiene una elevada concentración en sales, de modo que, cuando se usa en aplicaciones que hacen contacto con la piel, contribuye a ejercer una presión osmótica sobre la piel. Así, los electrolitos se desean en capas que hacen contacto con la piel, tales como la segunda capa 14. Al ejercer presión osmótica sobre la piel, el electrolito contribuye a extraer el fluido intersticial (ISF) que contiene el analito. Ejemplos no limitantes de electrolitos que pueden usarse incluye las sales de sodio y de potasio de cloruro, fosfato, citrato, acetato y lactato.

Según se ha expuesto más arriba, la almohadilla multicapa 10 de la FIG. 1a puede aplicarse a la piel. En la FIG. 1b se muestra un ejemplo de la almohadilla multicapa 10 haciendo contacto con la piel 15.

Con referencia ahora a la FIG. 2, se da a conocer una almohadilla multicapa 20 en otra realización. La almohadilla multicapa 20 de la FIG. 2 comprende una primera capa 12, una segunda capa 22 y una tercera capa 24. La segunda capa 22 es adyacente a una primera superficie de la primera capa 12 y la tercera capa 24 es adyacente a una segunda superficie de la primera capa 12. Así, la primera capa 12 con la enzima está situada entre la segunda capa 22 y la tercera capa 24. Situando las enzimas entre la segunda capa 22 y la tercera capa 24, mejora la capacidad de impedir o inhibir que las enzimas se lixivien. Además, también se reduce o se elimina la interacción cutánea con las enzimas. Si se usa radiación UV para iniciar la reacción de reticulación según se ha descrito más arriba con referencia a la FIG. 1a, la situación de las enzimas en la primera capa 12 puede impedir o inhibir una gran pérdida en la actividad de la misma. Además, al proporcionar la primera capa 12 entre dos capas opuestas 22, 24, pueden seleccionarse diferentes materiales para formar la segunda capa 22 y la tercera capa 24. Por ejemplo, la segunda capa 22 puede ser optimizada para el contacto con la piel, mientras que la tercera capa 24 puede ser optimizada para la reacción redox. La segunda capa 22 y la tercera capa 24 pueden estar fabricadas de los materiales que fueron descritos con referencia a la segunda capa 14. La almohadilla multicapa 20 también puede ser aplicada a la piel de manera similar a la almohadilla multicapa 10 de la FIG. 1b.

La FIG. 3 ilustra una almohadilla multicapa 30 según otra realización. La almohadilla multicapa 30 incluye la primera capa 12, una segunda capa 32, una tercera capa 34, una cuarta capa 36 y una quinta capa 38. La segunda capa 32 es adyacente a la primera superficie de la primera capa 12, mientras que la tercera capa 34 es adyacente a la segunda superficie de la primera capa 12. La cuarta capa 36 es adyacente a la segunda capa 32 en la superficie opuesta a la primera capa 12. Y la quinta capa 38 es adyacente a la tercera capa 34 en la superficie opuesta a la primera capa 12. Las capas exteriores (la segunda capa 32, la tercera capa 34, la cuarta capa 36 y la quinta capa 38) pueden estar optimizadas para diferentes fines, de forma muy similar a aquella en que las capas exteriores de la almohadilla multicapa 20 (la segunda capa 22 y la tercera capa 24) de la FIG. 2 pueden estar optimizadas para diferentes fines. Las capas 34 y 38, 32 y 36, pueden estar fabricadas de materiales diferentes o iguales. Por ejemplo, la tercera capa 34 y la quinta capa 38 pueden ser capas de hidrogel. Estas capas 34, 38 pueden desarrollarse a partir de los mismos polímeros hidrófilos a la vez que presentan diferente porosidad para mejorar la selectividad de difusión. En otro ejemplo, una o ambas de la cuarta capa 36 o de la quinta capa 38 pueden ser otra membrana porosa, otro papel y/u otro material textil para mejorar las propiedades mecánicas de la almohadilla multicapa 30.

Según se ha mencionado anteriormente, las almohadillas multicapa 10, 20 o 30 están adaptadas para servir como una superficie de contacto generalmente entre la piel y el sensor y acoplado ambos según un procedimiento. En un procedimiento, el sensor determina la concentración del analito deseado a partir de un muestreo del ISF. En una realización, el sensor es un sensor electroquímico.

Con referencia a la FIG. 4, se muestra un sensor electroquímico 40 según una realización. El sensor electroquímico 40 incluye al menos un contraelectrodo 42 y un electrodo 44 de trabajo. En el sensor electroquímico 40 pueden incluirse otros electrodos, tales como un electrodo 46 de detección. Se contempla que puedan formarse más o menos electrodos en el procedimiento de la presente invención. Por ejemplo, el sensor de prueba puede incluir exactamente dos electrodos o al menos tres electrodos. Los exactamente dos electrodos pueden ser un electrodo de trabajo y un contraelectrodo en los que fluye una corriente creada electroquímicamente cuando estos electrodos están conectados eléctricamente y se crea un potencial entre ellos.

Según se muestra en la FIG. 5, el sistema sensor electroquímico 50 incluye el sensor electroquímico 40 de la FIG. 4, la almohadilla multicapa 20 y un anillo adhesivo 54. En esta realización, el anillo adhesivo 54 tiene dos funciones: (a) cubrir una porción de la almohadilla multicapa 20 y sujetarla al sensor electroquímico 40; y (b) fijar el sistema sensor electroquímico 50, incluyendo la almohadilla multicapa 20, a la piel.

En un procedimiento de determinación de la concentración de un analito, se añade a la piel una almohadilla multicapa (por ejemplo, la almohadilla multicapa 10, 20 o 30). La almohadilla multicapa puede colocarse en un sitio cutáneo tal como el antebrazo volar entre la muñeca y el codo. Se contempla que la almohadilla multicapa pueda situarse en otros sitios de la piel, como el abdomen. La piel puede ser tratada en antemano en este procedimiento para aumentar la permeabilidad cutánea. Un ejemplo de tratamiento previo es el uso de energía ultrasónica para

alterar la bicapa lipídica del estrato córneo para aumentar la permeabilidad de la piel. Al aumentar la permeabilidad de la piel aumenta la cantidad de analito difundido desde el ISF de la dermis. Esto da como resultado un muestreo mejorado de los analitos de interés (por ejemplo, la glucosa) encontrados en el ISF. Un sensor determina la concentración del analito deseado tras el contacto de la almohadilla multicapa y la piel.

- 5 Una fuente no limitante de un sistema de energía ultrasónica es el sistema de permeación cutánea ultrasónica Sontra SonoPrep® comercializado por Sontra Medical Corporation. El sistema SonoPrep® aplica energía ultrasónica de baja frecuencia relativa a la piel un tiempo limitado (entre aproximadamente 10 y 20 segundos). La bocina ultrasónica contenida en el dispositivo vibra aproximadamente 55.000 veces por segundo (55 KHz) y aplica energía a la piel a través del medio de acoplamiento líquido para crear burbujas de cavitación que se expanden y se contraen en el medio de acoplamiento. Esa cavitación da como resultado la creación de cavidades en el estrato córneo.

### **Ejemplos**

#### **Ejemplo 1**

- 15 Se disolvieron 5 g de glucosa oxidasa (GO) en un tampón fosfato salino que contenía 0,4 M de ácido láctico con un pH de 7,2. Se sumergió paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark en la solución de GO del 5% en peso durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se sacó el paño de papel de la solución de GO y se secó en una estancia de humedad reducida a temperatura ambiente. Acto seguido, el paño de papel que contenía GO fue sumergido en una solución de monómeros. La solución de monómeros contenía 60 partes de N-vinil pirrolidona, 40 partes de acetato de vinilo, 1 parte de éter divinílico de dietilenglicol y 1 parte de (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona, que es un iniciador UV. A continuación se inició la copolimerización con irradiación UV. Tras finalizar la polimerización sin ningún resto monomérico, se formó una estructura de tres capas. Después de hidratar las capas poliméricas exteriores, se adapta la almohadilla multicapa para ser usada directamente.

#### **Ejemplo 2**

- 25 Se disolvieron 5 g de glucosa oxidasa (GO) y 2 g de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) en 93 g de agua nanopura. Se sumergió paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark en la solución de GO- $\text{CaCl}_2$  durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se sacó el paño de papel de la solución de GO- $\text{CaCl}_2$  y se secó en una estancia de humedad reducida a temperatura ambiente. Se recubrieron con una solución que contenía un 4% en peso de alginato de sodio y un 1% en peso de poli(óxido de etileno) ambos lados del paño de papel tratado con GO- $\text{CaCl}_2$  y luego se envolvió con un envoltorio de película plástica. La película de recubrimiento fue expuesta entonces a una temperatura que oscilaba entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8°C un lapso de hasta 6 meses. Se cree que los iones de calcio del paño de papel acabaron disolviéndose y difundiéndose en las soluciones poliméricas que cubrían ambos lados y que se reticularon con el alginato de sodio. El alginato es un copolímero natural de dos ácidos urónicos: el ácido D-manurónico y el ácido L-gulurónico. Aunque sin entrar en consideraciones teóricas, se cree que los iones de calcio se enlazan con el polímero siempre que hay dos residuos contiguos de ácido gulurónico y que forman una red insoluble.

#### **Ejemplo 3**

- 40 5 g de glucosa oxidasa (GO) y 95 g de un tampón fosfato salino. Se sumergió paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark en la solución de GO durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se sacó el paño de papel de la solución de GO y se secó en una estancia de humedad reducida a temperatura ambiente. Se recubrieron con una solución que contenía un 4% en peso de alginato de sodio y un 1% en peso de poli(óxido de etileno) ambos lados del paño de papel tratado con GO. Acto seguido, se roció una solución de cloruro de calcio del 5% en peso sobre cada superficie y el paño recubierto se envolvió con un envoltorio de película plástica. La película de recubrimiento fue expuesta entonces a una temperatura que oscilaba entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8°C un lapso de hasta 6 meses. Aunque sin entrar en consideraciones teóricas, se cree que los iones de calcio del paño de papel acabaron disolviéndose y difundiéndose en las soluciones poliméricas que cubrían ambos lados y que se reticularon con el alginato de sodio, formando una red insoluble.

#### **Ejemplo 4**

- 50 Se disolvieron 5 g de glucosa oxidasa (GO) en 95 g de un tampón fosfato salino. Se sumergió paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark en la solución de GO durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se sacó el paño de papel de la solución de GO y se secó en una estancia de humedad reducida a temperatura ambiente. Se mezcló una solución que contenía un 4% en peso de alginato de sodio y un 1% en peso de poli(óxido de etileno) con  $\text{CaCO}_3$  en polvo. A continuación, se recubrieron con esta mezcla ambos lados del paño de papel tratado con GO. Acto seguido, se roció una solución de ácido acético sobre cada superficie y el paño recubierto se envolvió con un envoltorio de película plástica. La película de recubrimiento fue expuesta entonces a una temperatura que oscilaba entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8°C un lapso de hasta 6 meses.

Aunque sin entrar en consideraciones teóricas, se cree que los iones de calcio del paño de papel acabaron disolviéndose y difundiendo en las soluciones poliméricas que cubrían ambos lados y que se reticularon con el alginato de sodio, formando una red insoluble.

#### **Ejemplo 5**

- 5 Se disolvieron 5 g de glucosa oxidasa (GO) en 95 g de un tampón fosfato salino. Se sumergió paño de papel Kimwiper® EX-L de Kimberly-Clark en la solución de GO durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se sacó el paño de papel de la solución de GO y se secó en una estancia de humedad reducida a temperatura ambiente. Se recubrieron con una solución de gelatina del 3% en peso en agua nanopura ambos lados del paño de papel tratado con GO. Cada superficie del paño de papel fue expuesta entonces a radiación UV durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las moléculas de gelatina se reticularon entre sí bajo irradiación UV, formando una red insoluble.

#### **Realización alternativa A**

Una almohadilla multicapa adaptada para ser usada para determinar una concentración de un analito, comprendiendo la almohadilla:

- 15 una primera capa que incluye una enzima, estando adaptada la enzima para contribuir a determinar la concentración del analito; y  
una segunda capa que está unida a la primera capa, estando fabricada la segunda capa de un material que se adapta a la piel.

#### **Realización alternativa B**

- 20 La almohadilla de la realización alternativa A en la que el material que se adapta a la piel comprende un hidrogel.

#### **Realización alternativa C**

La almohadilla de la realización alternativa A en la que el material que se adapta a la piel es un polímero hidrófilo reticulado.

#### **Realización alternativa D**

- 25 La almohadilla de la realización alternativa A en la que la segunda capa incluye potenciadores de la permeación, humectantes, tensioactivos o combinaciones de los mismos.

#### **Realización alternativa E**

La almohadilla de la realización alternativa A en la que la primera capa incluye, además, un tejido, una membrana porosa o un material de papel.

- 30 **Realización alternativa F**

La almohadilla de la realización alternativa E en la que la enzima es absorbida físicamente sobre el tejido, la membrana porosa o el material de papel o en los mismos.

#### **Realización alternativa G**

- 35 La almohadilla de la realización alternativa E en la que la enzima es inmovilizada químicamente en el tejido, la membrana porosa o el material de papel.

#### **Realización alternativa H**

La almohadilla de la realización alternativa A en la que la enzima es glucosa oxidasa.

#### **Realización alternativa I**

La almohadilla de la realización alternativa A en la que la enzima es glucosa dehidrogenasa.

- 40 **Realización alternativa J**

Una almohadilla multicapa adaptada para ser usada para determinar una concentración de un analito, comprendiendo la almohadilla:

- 45 una primera capa que incluye una enzima, estando adaptada la enzima para contribuir a determinar la concentración del analito;  
una segunda capa que está fabricada de un material que se adapta a la piel; y  
una tercera capa, estando situada la primera capa entre la segunda capa y la tercera capa.

**Realización alternativa K**

La almohadilla de la realización alternativa J en la que el material que se adapta a la piel comprende un hidrogel.

**Realización alternativa L**

5 La almohadilla de la realización alternativa J en la que el material que se adapta a la piel es un polímero hidrófilo reticulado.

**Realización alternativa M**

La almohadilla de la realización alternativa J en la que la segunda capa incluye potenciadores de la permeación, humectantes, tensioactivos o combinaciones de los mismos.

**Realización alternativa N**

10 La almohadilla de la realización alternativa J en la que la primera capa incluye, además, un tejido, una membrana porosa o un material de papel.

**Realización alternativa O**

La almohadilla de la realización alternativa N en la que la enzima es absorbida físicamente sobre el tejido, la membrana porosa o el material de papel o en los mismos.

15 **Realización alternativa P**

La almohadilla de la realización alternativa N en la que la enzima es inmovilizada químicamente en el tejido, la membrana porosa o el material de papel.

**Realización alternativa Q**

La almohadilla de la realización alternativa J en la que la enzima es glucosa oxidasa.

20 **Realización alternativa R**

La almohadilla de la realización alternativa J en la que la enzima es glucosa dehidrogenasa.

**Proceso alternativo S**

Un procedimiento de determinación continua de una concentración de un analito, comprendiendo el procedimiento las acciones de:

25 proporcionar una almohadilla multicapa que comprende una primera capa y una segunda capa, estando unida la segunda capa a la primera capa, incluyendo la primera capa una enzima, estando adaptada la enzima a contribuir a determinar la concentración del analito, estando fabricada la segunda capa de un material que se adapta a la piel;

30 proporcionar un sensor que está adaptado a contribuir a determinar la concentración del analito; colocar la almohadilla multicapa sobre la piel, estando situada la almohadilla multicapa entre el sensor y la piel; y determinar la concentración del analito.

**Proceso alternativo T**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que la piel es el antebrazo volar.

35 **Proceso alternativo U**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que el analito es glucosa.

**Proceso alternativo V**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que el sensor es un sensor electroquímico.

**Proceso alternativo W**

40 El procedimiento del proceso alternativo S en el que el material que se adapta a la piel comprende un hidrogel.



**Proceso alternativo X**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que el material que se adapta a la piel es un polímero hidrófilo reticulado.

**Proceso alternativo Y**

- 5 El procedimiento del proceso alternativo S en el que la segunda capa incluye potenciadores de la permeación, humectantes, tensioactivos o combinaciones de los mismos.

**Proceso alternativo Z**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que la primera capa incluye, además, un tejido, una membrana porosa o un material de papel.

- 10 **Proceso alternativo AA**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que la enzima es glucosa oxidasa.

**Proceso alternativo AB**

El procedimiento del proceso alternativo S en el que la enzima es glucosa dehidrogenasa.

**Proceso alternativo AC**

- 15 Un procedimiento de determinación continua de una concentración de un analito, comprendiendo el procedimiento las acciones de:

- 20 proporcionar una almohadilla multicapa que comprende una primera capa, una segunda capa y una tercera capa, estando fabricada la segunda capa de un material que se adapta a la piel, incluyendo la primera capa una enzima, estando adaptada la enzima a contribuir a determinar la concentración del analito, estando situada la primera capa entre la segunda capa y la tercera capa;  
proporcionar un sensor que está adaptado a contribuir a determinar la concentración del analito;  
colocar la almohadilla multicapa sobre la piel, estando situada la almohadilla multicapa entre el sensor y la piel; y  
determinar la concentración del analito.

- 25 **Proceso alternativo AD**

El procedimiento del proceso alternativo AC en el que el material que se adapta a la piel comprende un hidrogel.

**Proceso alternativo AE**

El procedimiento del proceso alternativo AC en el que el material que se adapta a la piel es un polímero hidrófilo reticulado.

- 30 **Proceso alternativo AF**

El procedimiento del proceso alternativo AC en el que la segunda capa incluye potenciadores de la permeación, humectantes, tensioactivos o combinaciones de los mismos.

**Proceso alternativo AG**

- 35 El procedimiento del proceso alternativo AC en el que la primera capa incluye, además, un tejido, una membrana porosa o un material de papel.

**Proceso alternativo AH**

El procedimiento del proceso alternativo AC en el que la enzima es glucosa oxidasa.

**Proceso alternativo AI**

El procedimiento del proceso alternativo AC en el que la enzima es glucosa dehidrogenasa.

- 40 **Realización alternativa AJ**

Un sistema sensor electroquímico que comprende:

un sensor electroquímico que tiene, al menos, un contraelectrodo y un electrodo de trabajo;

una almohadilla multicapa acoplada al sensor electroquímico, comprendiendo la almohadilla multicapa una primera capa y una segunda capa, estando unida la segunda capa a la primera capa, siendo la segunda capa biocompatible para su contacto con la piel, incluyendo la primera capa una enzima, estando adaptada la enzima para contribuir a determinar la concentración del analito.

5 **Realización alternativa AK**

El sistema sensor de la realización alternativa AJ en el que la almohadilla multicapa está unida al sensor electroquímico.

**Realización alternativa AL**

10 El sistema sensor de la realización alternativa AJ en el que la almohadilla multicapa está unida al sensor electroquímico mediante un adhesivo.

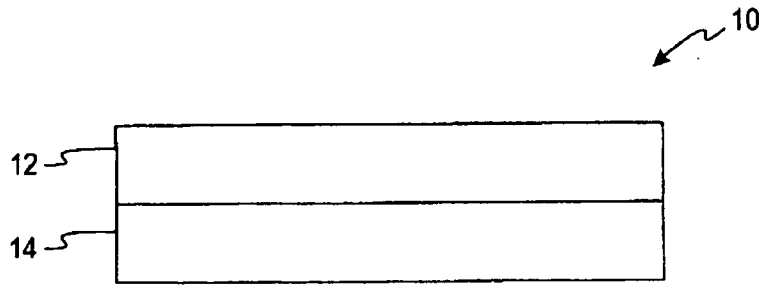
**Realización alternativa AM**

El sistema sensor de la realización alternativa AJ en el que el sensor incluye, además, un tercer electrodo.

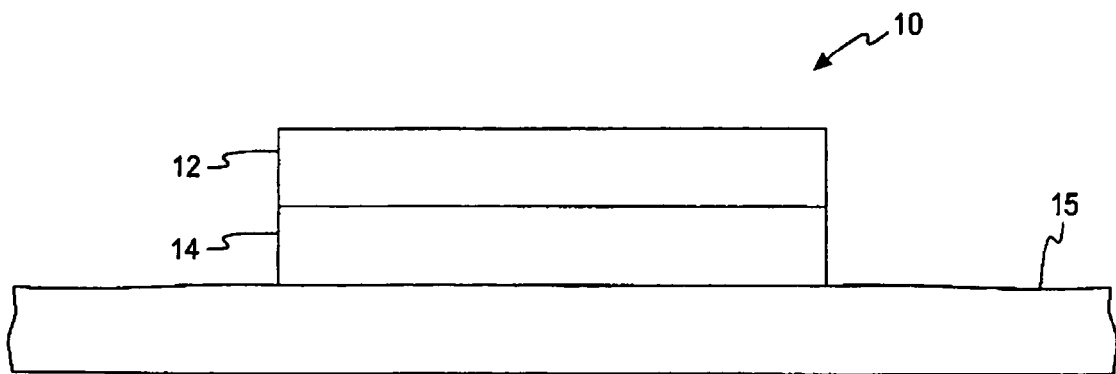
15 Aunque la invención es susceptible de diversas modificaciones y de formas alternativas, en la presente memoria se han mostrado y se describen con detalle realizaciones y procedimientos específicos de la misma a título de ejemplo en los dibujos. Sin embargo, debería entenderse que no se pretende limitar la invención a las formas o los procedimientos particulares dados a conocer, sino que, al contrario, la invención ha de abarcar todas las modificaciones, los equivalentes o las alternativas que se encuentren dentro del alcance de la invención definido por las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

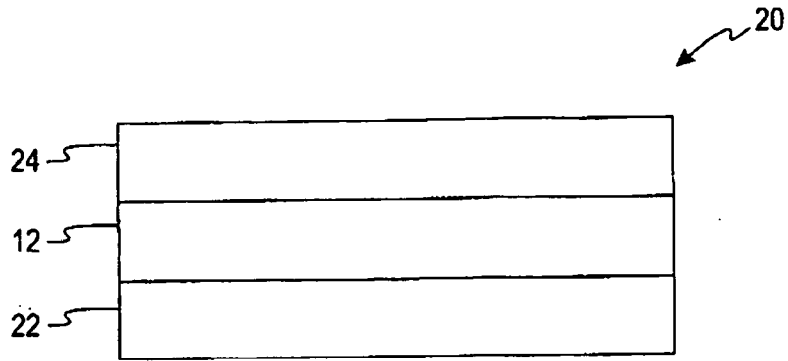
1. Una almohadilla multicapa (10) adaptada para ser usada en la determinación de la concentración de un analito, comprendiendo la almohadilla:
  - 5 una primera capa (12) que incluye una enzima y un polímero, estando adaptada la enzima para contribuir a determinar la concentración del analito; y
  - una segunda capa (14) que está unida a la primera capa, estando fabricada la segunda capa (14) de un material que se adapta a la piel que es un polímero hidrófilo reticulado, estando unida la segunda capa (14) por reticulación a la primera capa (12), **caracterizado porque** la primera capa es un tejido, una membrana porosa o un material de papel.
- 10 2. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la enzima es glucosa oxidasa o glucosa dehidrogenasa.
3. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la enzima es inmovilizada químicamente en el tejido, la membrana porosa o el material de papel o absorbida físicamente sobre o en los mismos.
4. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 que, además, comprende una tercera capa (24), estando situada la primera capa (12) entre la segunda capa (14) y la tercera capa (24), estando unidas las capas segunda y
  - 15 tercera (14, 24) por reticulación a la primera capa (12).
5. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la primera capa (12) está copolimerizada con la segunda capa (14) a partir de una solución de monómeros, iniciándose la copolimerización mediante irradiación UV, e incluyéndose un iniciador UV en la solución de monómeros.
6. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la primera capa (12) está copolimerizada con la segunda
  - 20 capa (14) a partir de una solución de monómeros, y en la que la copolimerización comienza mediante iniciación térmica, iniciación de rayos  $\gamma$  o iniciación de un haz de electrones.
7. La almohadilla (10) de la reivindicación 6 en la que la iniciación térmica incluye el uso de un iniciador térmico incluido en la mezcla de monómeros.
8. La almohadilla (10) de la reivindicación 5 en la que el iniciador UV es (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-
  - 25 metilpropiofenona y la solución de monómeros incluye N-vinil pirrolidona, acetato de vinilo, éter divinílico de dietilenglicol y (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona en una proporción predeterminada.
9. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la primera capa (12) se polimeriza con la segunda capa (14) mediante la polimerización de radicales libres por medio de irradiación UV, y en la que la segunda capa (14) se
  - 30 polimeriza a partir de una solución de monómeros que incluye N-vinil pirrolidona, acetato de vinilo, éter divinílico de dietilenglicol y (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona en una proporción predeterminada para formar un polímero reticulado.
10. La almohadilla (10) de la reivindicación 9 en la que la solución de monómeros incluye N-vinil pirrolidona, acetato de vinilo, éter divinílico de dietilenglicol y (2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona en una proporción predeterminada.
- 35 11. La almohadilla (10) de la reivindicación 1 en la que la segunda capa (14) está formada a partir de una solución de polímeros de recubrimiento.
12. La almohadilla (10) de la reivindicación 11 en la que la segunda capa (14), unida por reticulación a la primera capa (12), se obtiene por asociación de la solución de polímeros de recubrimiento con iones de calcio.



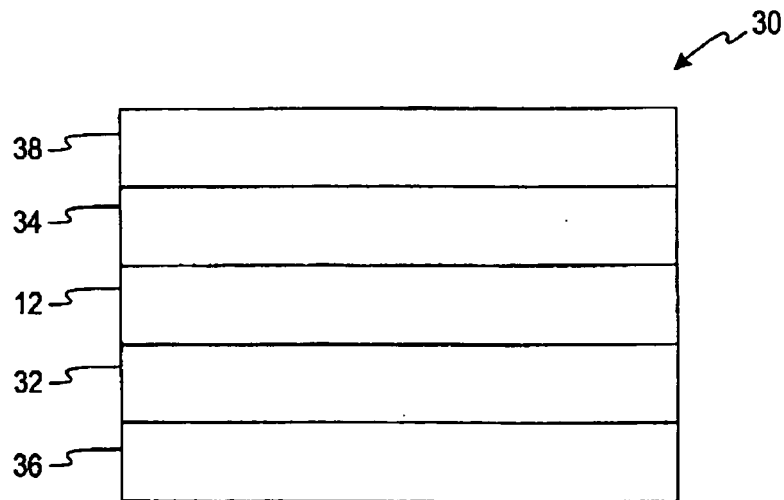
*Fig. 1a*



*Fig. 1b*



*Fig. 2*



*Fig. 3*

