



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 698 37 709 T2 2007.12.06

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 011 425 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 698 37 709.5

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US98/04090

(96) Europäisches Aktenzeichen: 98 908 875.2

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 1998/038906

(86) PCT-Anmeldetag: 03.03.1998

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 11.09.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 28.06.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 02.05.2007

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 06.12.2007

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61B 5/00 (2006.01)  
C12Q 1/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

811473 04.03.1997 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,  
LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

DexCom, Inc., San Diego, Calif., US

(72) Erfinder:

SHULTS, Mark C., Madison, WI 53711, US; UPDIKE,  
Stuart J., Madison, WI 53711, US; RHODES,  
Rathbun K., Madison, WI 53713, US

(74) Vertreter:

Glawe, Delfs, Moll, Patentanwälte, 20148 Hamburg

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DES ANALYTPEGELS

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****GEBIET DER ERFINDUNG**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung ist in den Ansprüchen definiert und bezieht sich im Allgemeinen auf eine Einrichtung und auf Methoden zur Bestimmung von Pegeln von Analyten und insbesondere auf implantierbare Einrichtungen und Methoden für das Monitoring von Glucosepegeln in einer biologischen Flüssigkeit.

**HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

**[0002]** Die kontinuierliche Messung von Substanzen in biologischen Flüssigkeiten ist bei der Kontrolle und Untersuchung von metabolischen Krankheiten von Interesse. Für diesen Zweck wurden Elektrodensysteme entwickelt, bei denen eine enzymkatalysierte Reaktion durch einen elektrochemischen Sensor überwacht wird (zum Beispiel durch die Änderung der Konzentrationen der Reaktionspartner oder Produkte). Bei derartigen Elektrodensystemen umfasst der elektrochemikalische Sensor eine Elektrode mit einer potentiometrischen oder amperometrischen Funktion, die im engen Kontakt mit einer dünnen Schicht steht, welche ein Enzym in gelöster oder unlöslicher Form enthält. Üblicherweise trennt eine semipermeable Membran die dünne Schicht der Elektrode, welche das Enzym enthält, von der Probe der biologischen Flüssigkeit, welche die zu messende Substanz enthält.

**[0003]** Elektrodensysteme, welche Enzyme einschließen, wurden verwendet um amperometrisch inaktive Substanzen in Reaktionsprodukte umzuwandeln, welche amperometrisch aktiv sind. So kann beispielsweise bei der Analyse von Blut auf dessen Glucosegehalt die Glucose (welche amperometrisch relativ inaktiv ist) katalytisch durch das Enzym Glucoseoxidase in Anwesenheit von Sauerstoff und Wasser zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid umgewandelt werden. Die Verfolgung der Glucosekonzentration ist möglich, da für jedes umgewandelte Glucosemolekül eine proportionale Änderung entweder des Sauerstoff- oder des Wasserstoffperoxidsensorstroms stattfinden wird [US-Patent Nr. 4,757,022 und 4,994,167 von Shults et al., welche beide hiermit durch Zitierung inkorporiert sind]. Wasserstoffperoxid ist anodisch aktiv und erzeugt einen Strom, welcher proportional zu der Konzentration des Wasserstoffperoxids ist, welche im direkten Zusammenhang zu der Glucosekonzentration in der Probe steht [Updike et al., Diabetes Care, 11:801-807 (1988)].

**[0004]** Die US-A-4 240 889 und FR-A-2 656 423 offenbaren Sensoren für ex-vivo Messungen von Glucose. Die WO 92/13271 offenbart eine implantierbare Messvorrichtung für biologische Flüssigkeiten, die einen Schirm oder eine Membran aufweist, welche mit einem Angiogenesefaktor behandelt ist. Die WO 92/07525 offenbart eine Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, die eine Elektrode aufweist, die mit angiogenem Material bedeckt ist. Die US 5 453 275 offenbart eine angiogene Schicht im Kontext einer implantierbaren Einrichtung. Die EP-A-0 534 074 offenbart einen Kathetersensor für die in vivo Glucosemessung.

**[0005]** Trotz der jüngsten Fortschritte auf dem Gebiet der implantierbaren Monitoringeinrichtungen für Glucose sind die gegenwärtig verwendeten Einrichtungen nicht in der Lage, sicher und zuverlässig Daten über lange Zeiträume bereitzustellen (z. B. Monate oder Jahre) [siehe z. B. Moatti-Sirat et al., Diabetologia 35:224-30 (1992)]. Beispielsweise beschreibt Armour et al., Diabetes 39:1519-26 (1990) einen miniaturisierten Sensor, welcher intravaskulär platziert ist, wodurch es der Spitze des Sensors erlaubt ist, im kontinuierlichen Kontakt mit dem Blut zu stehen. Leider setzen Proben, welche direkt in die Muskulatur platziert werden, den Empfänger einem Risiko in Bezug auf Thrombophlebitis, Thromboembolismus und Thrombophlebitis aus.

**[0006]** Gegenwärtig zur Verfügung stehende Monitoringeinrichtungen für Glucose, welche in Gewebe implantiert werden können (z.B. subkutan), sind ebenfalls mit verschiedenen Nachteilen verbunden. So gibt es beispielsweise keinen zuverlässigen Blutfluss um die Probe zu der Spitze der Sonde der implantierten Einrichtung zu bringen. Ebenso muss die Sonde etwas Sauerstoff und Glucose verbrauchen, jedoch nicht so viel, dass die zur Verfügung stehende Glucose, welche gemessen werden soll, gestört wird, um effektiv zu sein; subkutan implantierte Sonden befinden sich jedoch häufig in einer relativ unbewegten Umgebung, bei denen die sauerstoff- oder glucosearmen Zonen um die Sondenspitze zu fehlerhafterweise geringen gemessenen Glucosepegeln führen können. Schließlich kann die Sonde einem „Bewegungsartefakt“ unterliegen, da die Einrichtung nicht angemessen am Gewebe gesichert ist, was zu unzuverlässigen Ergebnissen beiträgt. Nicht zuletzt wegen diesen Beschränkungen war es vorher schwierig, korrekte Informationen bezüglich der Änderungen in den Mengen des Analyts zu erhalten (z.B., ob der Blutglucosepegel sich erhöht oder verringert); diese Information ist häufig extrem wichtig, beispielsweise bei der Ermittlung, ob dringend eine korrigierende Maßnahme bei der Behandlung von Diabetespatienten notwendig ist.

**[0007]** Es besteht der Bedarf an einer Einrichtung, die die Anwesenheit und die Mengen eines bestimmten Analyts, beispielsweise Glucose, in biologischen Flüssigkeiten genau und kontinuierlich bestimmt. Die Einrichtung sollte einfach zu benutzen sein, sollte in der Lage sein, exakte Messungen des Analyts über lange Zeiträume zu ermöglichen, und sollte nicht leicht Bewegungsartefakten unterliegen.

#### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0008]** Die vorliegende Erfindung ist in den Ansprüchen definiert und bezieht sich im Allgemeinen auf Einrichtungen und Methoden zur Bestimmung von Analytpegeln und insbesondere auf implantierbare Einrichtungen und Methoden für das Monitoring von Glucosepegeln in einer biologischen Flüssigkeit.

**[0009]** Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung und ihre Verwendung ermöglicht die Implantation von Analyt-Monitoringeinrichtungen wie Glucosemonitoringeinrichtungen, die zu einem zuverlässigen Blutfluss führen, um die Probe zu der implantierten Einrichtung in einer Konzentration zu bringen, die repräsentativ für die ist, die in der Vaskulatur vorliegt. Darüber hinaus sind die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung in dem Gewebe des Subjektes gesichert, wodurch das Phänomen des „Bewegungsartefakts“ stark reduziert oder eliminiert wird. Des Weiteren verwenden die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung Materialien, welche den Umgebungsstress, der auf die Sensorgrenzfläche einwirkt, eliminiert oder signifikant verzögert, was es ermöglicht, genaue, längerfristige Daten zu erhalten.

**[0010]** Diese Wirkungen beruhen teilweise auf der Verwendung von Materialien, welche die Bildung einer Fremdkörperkapsel (FBC) verstärken. Vorher wurde die FBC-Bildung als Nachteil für die Sensorfunktion angesehen und die Forscher versuchten die FBC-Bildung zu minimieren (siehe z.B. US-Patent Nr. 5.380.536 von Hubbell et al.). Die Verfahren und Einrichtungen der vorliegenden Erfindung verwenden jedoch spezifische Materialien und eine Microarchitektur, die einen FBC-Typ auslöst, der die Generierung von verlässlichen Daten über lange Zeiträume nicht behindert. Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung sind in der Lage, in einer etwa 37°C, geringen pO<sub>2</sub> Umgebung, die für lebendes Gewebe charakteristisch ist, über längere Zeiträume (z.B. Monate bis Jahre) exakt zu arbeiten.

**[0011]** Die Elektrodenmembranregion der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung weist eine einzigartige Microarchitekturanordnung auf. In bevorzugten Ausführungsformen stehen die Elektrodenoberflächen in Kontakt mit einer dünnen Elektrolytphase (oder sind damit operabel verbunden), welche ihrerseits durch eine Enzymmembran bedeckt ist, die ein Enzym, z.B. Glucoseoxidase, und ein Polymersystem enthält. Eine biologische Schutzmembran bedeckt dieses Enzymmembransystem und dient zum Teil dazu, den Sensor vor externen Belastungen und Faktoren zu schützen, welche zu Umgebungsstressrissbildungen führen könnten. Zum Abschluss ist eine angiogene Schicht über der biologischen Schutzmembran angeordnet und dient der Förderung der Vaskularisation in der Sensorgrenzflächenregion. Es ist selbstverständlich, dass andere Konfigurationen (z.B. Variationen der oben beschriebenen) durch die vorliegende Erfindung erfasst werden und in deren Schutzbereich fallen.

**[0012]** Die vorliegende Erfindung betrachtet eine Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, umfassend a) ein Gehäuse, das elektronische Schaltungsmittel und mindestens zwei Elektroden umfasst, die betriebsfähig mit den elektronischen Schaltungsmitteln verbunden sind; und b) eine aus dem Gehäuse herausragende Sensorvorrichtung, die betriebsfähig mit den Elektroden des Gehäuses verbunden ist, umfassend i) eine biologische Schutzmembran und ii) eine angiogene Schicht, die Poren umfasst, welche die Entwicklung von Blutgefäßen erhalten, wobei die angiogene Schicht mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzmembran. In besonderen Ausführungsformen ist die biologische Schutzmembran im Wesentlichen für Macrophagen undurchlässig. In einigen Ausführungsformen umfasst die biologische Schutzmembran Poren, die Durchmesser aufweisen, die sich von etwa 0,1 µm bis etwa 1,0 µm erstrecken. In bestimmten Ausführungsformen umfasst die biologische Schutzmembran Polytetrafluorethylen, und in bestimmten Ausführungsformen umfasst die angiogene Schicht ebenfalls Polytetrafluorethylen.

**[0013]** Bestimmte Ausführungsformen der Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten umfassen des weiteren c) Mittel zum Befestigen des Gerätes an biologischem Gewebe, wobei das Befestigungsmittel mit dem Gehäuse verbunden ist. In einigen Ausführungsformen der Erfindung umfasst das Befestigungsmittel eine Polyester-Velours-Tasche. In bevorzugten Ausführungsformen bedeckt das Befestigungsmittel die obere Oberfläche (z.B. das obere Element oder die obere Elementhülle, wie des Weiteren weiter unten beschrieben wird) und einen Teil der Sensorgrenzfläche; es sei angemerkt, dass das Befestigungsmittel im Allgemeinen nicht die gesamte Sensorgrenzfläche bedecken sollte, da dies die Fähigkeit der Blutgefäße behindern würde, die Probe zu der Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten zu bringen. In bevorzugten Ausführungsformen umfasst

das Befestigungsmittel Poly(ethylenterephthalat).

**[0014]** In weiteren Ausführungsformen umfasst die Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten des Weitern ein Mittel zur Bestimmung der Menge an Glucose in einer biologischen Probe. In einigen Ausführungsformen umfasst das glucosebestimmende Mittel eine Glucoseoxidase enthaltende Membran, wobei die Glucoseoxidase enthaltende Membran mehr proximal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzmembran. In weiteren Ausführungsformen umfasst das Gehäuse ferner Mittel zur Übermittlung von Daten zu einer Stelle außerhalb des Gerätes (z.B. eine radiotelemetrische Einrichtung).

**[0015]** Die vorliegende Erfindung betrachtet ebenfalls eine Einrichtung für die Messung von Glucose in einer biologischen Flüssigkeit, umfassend a) ein Gehäuse, das elektronische Schaltungsmittel und mindestens eine Elektrode umfasst, die betriebsfähig mit den elektronischen Schaltungsmitteln verbunden ist; und b) eine Sensorvorrichtung, die aus dem Gehäuse herausragt, die betriebsfähig mit der Elektrode des Gehäuses verbunden ist, wobei die Sensorvorrichtung i) ein Mittel zur Bestimmung des Anteils von Glucose in einer biologischen Probe aufweist, wobei das Glucose bestimmende Mittel betriebsfähig mit der Elektrode verbunden ist, ii) eine biologische Schutzmembran, wobei die biologische Schutzmembran mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist als das Glucose bestimmende Mittel und im wesentlichen für Makrophagen undurchdringlich ist und iii) eine angiogene Schicht, die Poren umfasst, welche die Entwicklung von Blutgefäßen erhalten, wobei die angiogene Schicht mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzmembran, aufweist.

**[0016]** In bestimmten Ausführungsformen umfasst das Glucose bestimmende Mittel eine Glucoseoxidase enthaltende Membran. In einigen Ausführungsformen umfasst die angiogene Schicht Polytetrafluorethylen.

**[0017]** In einigen Ausführungsformen weisen die Poren der biologischen Schutzmembran Durchmesser in dem Bereich von etwa 0,1 µm bis etwa 1,0 µm auf, während in anderen Ausführungsformen die Poren Durchmesser in einem Bereich von etwa 0,2 µm bis etwa 0,5 µm aufweisen. In bestimmten Ausführungsformen umfasst die biologische Schutzmembran Polytetrafluorethylen.

**[0018]** Noch andere Ausführungsformen umfassen c) Mittel für die Befestigung der Einrichtung an biologischem Gewebe, wobei das Befestigungsmittel mit dem Gehäuse verbunden ist. In bestimmten Ausführungsformen umfasst das Befestigungsmittel Poly(ethylenterephthalat). Zusätzliche Ausführungsformen umfassen Mittel zur Übermittlung von Daten zu einer Stelle außerhalb des Gerätes; in einigen Ausführungsformen umfasst das Mittel zur Übermittlung von Daten ein radiotelemetrisches Gerät.

**[0019]** Die vorliegende Erfindung ist verwendbar in einem Verfahren für das Monitoring von Glucosepegeln, umfassend a) Bereitstellung i) eines Wirts und ii) einer Einrichtung umfassend ein Gehäuse und Mittel zur Bestimmung des Anteils von Glucose in einer biologischen Flüssigkeit, und b) Implantierung der Einrichtung in den Wirt unter solchen Bedingungen, dass die Einrichtung die Glucose exakt über einen Zeitraum von mehr als 90 Tagen misst. Die Einrichtung misst Glucose exakt über einen Zeitraum der 150 Tage übersteigt, während in anderen Ausführungsformen die Einrichtung Glucose exakt über einen Zeitraum misst, der 360 Tage übersteigt.

**[0020]** Die vorliegende Erfindung ist verwendbar in einem Verfahren zur Messung von Glucose in einer biologischen Flüssigkeit, umfassend a) Bereitstellung i) eines Wirts und ii) einer Einrichtung umfassend ein Gehäuse und Mittel zur Bestimmung des Anteils von Glucose in einer biologischen Flüssigkeit, wobei die glucosebestimmenden Mittel in der Lage sind, Glucose kontinuierlich korrekt zu messen, und b) Implantierung der Einrichtung in den Wirt unter solchen Bedingungen, dass die kontinuierliche Glucosemessung zwischen etwa dem 2. Tag und etwa dem 25. Tag beginnt. Die kontinuierliche Glucosemessung beginnt etwa zwischen dem 3. und etwa dem 21. Tag. Die Implantierung kann subkutan erfolgen.

**[0021]** Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung erlauben kontinuierlich Informationen, beispielsweise in Bezug auf den Glucosepegel, bereitzustellen. Solche kontinuierlichen Informationen ermöglichen die Feststellung von Entwicklungen der Glucosepegel, was äußerst wichtig für das Management von Diabetespatienten sein kann.

## DEFINITIONEN

**[0022]** Um das Verständnis der vorliegenden Erfindung zu erleichtern, wird eine Anzahl von Begriffen nachfolgend definiert.

**[0023]** Der Begriff „genau“ bedeutet, beispielsweise 95 der gemessenen Werte innerhalb 25% der tatsächlichen Werte, wie sie durch die Analyse des Blutplasmas bestimmt wurden, vorzugsweise innerhalb 15% des tatsächlichen Wertes, und besonders bevorzugt innerhalb 5% des tatsächlichen Wertes. Es ist selbstverständlich, dass wie bei anderen analytischen Einrichtungen eine Kalibrierung, eine Kalibrierungsüberprüfung und Nachkalibrierung für die Arbeiten der Einrichtung mit höchster Genauigkeit notwendig ist.

**[0024]** Der Begriff „Analyt“ bezieht sich auf eine Substanz oder chemische Komponente in einer biologischen Flüssigkeit (z.B. Blut oder Urin), die analysiert werden kann. Ein bevorzugtes Analyt für die Messung durch die Einrichtung und Verfahren der vorliegenden Erfindung ist Glucose.

**[0025]** Die Begriffe „Sensorgrenzfläche“, „Sensormittel“ und Ähnliches beziehen sich auf eine Region einer Überwachungseinrichtung, die für die Erkennung eines bestimmten Analyts verantwortlich ist. Beispielsweise bezieht sich in einigen Ausführungsformen einer Glucoseüberwachungseinrichtung die Sensorgrenzfläche auf die Region, bei der eine biologische Probe (z.B. Blut oder interstitielle Flüssigkeit) oder ein Teil davon ein Enzym (z.B. Glucoseoxidase) kontaktiert (direkt oder nach dem Durchtritt durch eine oder mehrere Membranen oder Schichten: die Reaktion der biologischen Probe (oder eines Teils davon) führen zu der Bildung von Reaktionsprodukten, was die Feststellung des Glucosepegels in der biologischen Probe ermöglicht. In bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung umfasst das Sensormittel eine angiogene Schicht, eine biologische Schutzschicht, eine Enzymschicht und eine Elektrolytphase (d.h. eine frei fließende flüssige Phase, die eine Elektrolyt enthaltende Flüssigkeit [weiter unten beschrieben] umfasst). In einigen bevorzugten Ausführungsformen ragt die Sensorgrenzfläche aus der Ebene des Gehäuses heraus.

**[0026]** Die Begriffe „betriebsfähig verbunden“, „betriebsfähig verkettet“ und Ähnliches beziehen sich auf eine oder mehrere Komponenten, welche zu einer anderen Komponente bzw. Komponenten in einer Weise verketten sind, die die Übertragung von beispielsweise Signalen zwischen den Komponenten erlaubt. Beispielsweise können eine oder mehrere Elektroden benutzt werden, um die Menge an Analyt in einer Probe festzustellen und diese Information in ein Signal umzuwandeln; das Signal kann dann zu elektronischen Schaltungsmitteln übertragen werden (d.h. die Elektrode ist „betriebsfähig verbunden“ mit den elektronischen Schaltungsmitteln), die das Signal in einen numerischen Wert in Form von bekannten Standardwerten umwandeln kann.

**[0027]** Der Begriff „elektronische Schaltungsmittel“ bezieht sich auf elektronische Schaltungskomponenten einer Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, die für die Verarbeitung der durch das Sensormittel erhaltenen Informationen in Bezug auf ein bestimmtes Analyt in einer biologischen Flüssigkeit erforderlich sind, wodurch Daten in Bezug auf die Menge des Analyts in der Flüssigkeit bereitgestellt werden. US-Patent Nr. 4,757,022 von Shults et al., vorher bereits durch Zitierung inkorporiert, beschreibt geeignete elektronische Schaltungsmittel (siehe z.B. **Fig. 7**); natürlich ist die vorliegende Erfindung nicht auf die Verwendung der darin beschriebenen elektronischen Schaltungsmittel beschränkt. Eine Vielzahl an Schaltungen werden in Betracht gezogen, einschließlich solcher Schaltungen, die in den US-Patenten Nr. 5,497,772 und 4,787,398, hiermit durch Zitierung inkorporiert, beschrieben sind, ohne auf diese beschränkt zu sein.

**[0028]** Die Begriffe „angiogene Schicht“, „angiogene Membran“ und Ähnliches beziehen sich auf eine Region, Membran, etc. einer Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, die die Entwicklung einer Blutgefäßmicrozirkulation um die Sensorregion der Einrichtung fördert und aufrechterhält. Wie weiter unten im Detail beschrieben wird, kann die angiogene Schicht der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung aus einem Membranmaterial oder Kombinationen von beispielsweise Polytetrafluorethylen, hydrophilen Polyvinylidenfluoriden, gemischten Zelluloseestern, Polyvinylchlorid und anderen Polymeren einschließlich Polypropylen, Polysulfon und Polymethacrylat, ohne auf diese beschränkt zu sein, konstruiert sein.

**[0029]** Der Ausdruck „mehr distal positioniert“ bezieht sich auf die räumliche Beziehung zwischen verschiedenen Elementen im Vergleich zu einem bestimmten Bezugspunkt. Beispielsweise umfassen einige Ausführungsformen einer Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten sowohl eine biologische Schutzmembran, als auch eine angiogene Schicht/Membran. Wenn das Gehäuse der Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten als Bezugspunkt angesehen wird und die angiogene Schicht mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzschicht, dann ist die biologische Schutzschicht näher an dem Gehäuse als die angiogene Schicht.

**[0030]** Die Begriffe „biologische Schutzmembran“, „biologische Schutzschicht“ und Ähnliches beziehen sich auf eine semipermeable Membran, die schützende Biomaterialien aufweist, mit einer Stärke von wenigen Mikrometern oder mehr, welche für Sauerstoff und Glucose durchlässig sind und über der Spitze des Sensors angeordnet sind, um die weißen Blutkörperchen (z.B. Gewebemakrophagen) davon abzuhalten, in die Nähe

der Enzymmembran zu gelangen und diese dann zu schädigen. In einigen Ausführungsformen hat die biologische Schutzmembran Poren (üblicherweise von etwa 0,1 bis etwa 1,0 µm). In bevorzugten Ausführungsformen umfasst die biologische Schutzmembran Polytetrafluorethylen und enthält Poren mit einem Durchmesser von etwa 0,4 µm. Die Porengröße ist durch die Porengröße definiert, die durch den Hersteller oder Lieferanten angegeben wird.

**[0031]** Der Ausdruck „im Wesentlichen undurchlässig für Makrophagen“ bedeutet, dass wenige, wenn überhaupt, Makrophagen in der Lage sind, die Barriere (z.B. die biologische Schutzmembran) zu durchqueren. In bevorzugten Ausführungsformen sind weniger als 1% der Makrophagen, die mit der biologischen Schutzmembran in Kontakt kommen, zur Durchquerung in der Lage.

**[0032]** Der Ausdruck „Mittel zur Befestigung der Einrichtung an biologischem Gewebe“ bezieht sich auf Materialien, die für die Befestigung der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung an beispielsweise faserigem Gewebe einer fremden Körerkapsel geeignet sind. Geeignete Materialien schließen Poly(ethylenterephthalat) ein, ohne auf dieses beschränkt zu sein. In bevorzugten Ausführungsformen ist das Oberteil des Gehäuses mit den Materialien in Form von chirurgischen Grade-Geweben bedeckt; Noch bevorzugtere Ausführungsformen enthalten ebenfalls Material in der Sensorgrenzflächenregion (siehe [Fig. 1B](#)).

**[0033]** Der Ausdruck „Einrichtung für die Bestimmung der Menge an Glucose in einer biologischen Probe“ bezieht sich im weitesten Sinne auf jeglichen Mechanismus (z.B. enzymatischen oder nicht-enzymatischen), in dem Glucose quantifiziert werden kann. Beispielsweise verwenden einige Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung eine Membran, welche Glucoseoxidase enthält, die die Umwandlung von Glucose zu Gluconat:  $\text{Glucose} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Gluconat} + \text{H}_2\text{O}_2$  katalysiert. Da jedes Glucosemolekül zu Gluconat umgewandelt wird, gibt es eine proportionale Änderung bei dem Co-Reaktionspartner  $\text{O}_2$  und dem Produkt  $\text{H}_2\text{O}_2$ , so dass man die aktuelle Änderung in entweder dem Co-Reaktionsmittel oder dem Produkt überwachen kann, um die Glucosekonzentration zu bestimmen.

**[0034]** Der Ausdruck „Mittel für die Übermittlung von Daten zu einer Stelle außerhalb des Gerätes“ bezieht sich im weitesten Sinne auf jeglichen Mechanismus, in dem Daten, die durch eine Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, die in ein Subjekt implantiert wurde, erfasst wurden, zu einer Stelle außerhalb des Subjekts übertragen werden können. In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung wird die Radiotelemetrie verwendet, um Daten in Bezug auf Blutglucosespiegel, Trends und Ähnliches bereitzustellen. Die Begriffe „radiotelemetrisch“, „radiotelemetrisches Gerät“ und Ähnliches beziehen sich auf die Übertragung durch Radiowellen der Daten, die durch die implantierte Einrichtung aufgezeichnet wurden, zu einer ex vivo Aufzeichnungsstation (z.B. ein Computer), wo die Daten aufgezeichnet werden und, bei Bedarf, weiter verarbeitet werden (siehe z.B. US-Patent Nr. 5,321,414 und 4,823,808, hiermit durch Zitierung inkorporiert; PCT-Patentpublikation WO 9422367).

**[0035]** Der Begriff „Wirt“ bezieht sich sowohl auf Menschen als auch Tiere.

**[0036]** Der Ausdruck „kontinuierliche Glucosemessung“ bezieht sich auf den Zeitraum, in dem das Monitoring der Plasmaglucosekonzentration kontinuierlich durchgeführt wird. Insbesondere zu Beginn des Zeitraums, in welchem die kontinuierliche Glucosemessung stattfindet, verschwindet das Ausgangshintergrundssensorenengrundrutsch und der Sensorsausgang stabilisiert sich (z.B. über mehrere Tage) auf einen langfristigen Pegel, der die microzirkulatorische Lieferung von Glucose und Sauerstoff an die Spitze des Sensors adäquat wiederspiegelt (siehe [Fig. 2](#)). Obwohl ein Verständnis dieses Effektes nicht erforderlich ist, um die vorliegende Erfindung auszuführen, so wird davon ausgegangen, dass er darin begründet liegt, dass das adäquat vaskularisierte fremde Körerkapselgewebe im gleichmäßigen Kontakt mit der Sensorgrenzfläche der Blutglucoseüberwachungseinrichtung steht. Das Ausbleiben einer adäquaten Vaskularisation oder eines gleichmäßigen Kontakts des Gewebes mit dem Sensor führt zu dem Ausbleiben einer kontinuierlichen Glucosemessung.

#### KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

**[0037]** [Fig. 1A](#) stellt eine Querschnittszeichnung einer Ausführungsform einer implantierbaren Analyt-Messeinrichtung der vorliegenden Erfindung dar.

**[0038]** [Fig. 1B](#) stellt eine Querschnittsexplosionsansicht der Sensorgrenzflächenkuppel aus [Fig. 1A](#) dar.

**[0039]** [Fig. 1C](#) stellt eine Querschnittsexplosionsansicht der Elektrodenmembranregion aus [Fig. 1B](#) dar, in der die Sensorspitze und die funktionalen Membranschichten detailliert dargestellt sind.

[0040] [Fig. 2](#) stellt graphisch die Glucosespiegel als Funktion der Anzahl von Tagen nach der Implantierung dar.

[0041] [Fig. 3](#) stellt graphisch ein Korrelationsdiagramm (Tage 21 bis 62) einer Glucoseinfusionsuntersuchung mit einer Einrichtung der vorliegenden Erfindung dar.

[0042] [Fig. 4](#) stellt eine typische Antwort auf eine in vitro Kalibrierung auf Glucose einer Einrichtung vorliegender Erfindung dar.

[0043] [Fig. 5A](#), [Fig. 5B](#) und [Fig. 5C](#) stellen drei in vivo Sensorantwortkurven dar, die zusammen mit den Referenzblutglucosewerten für eine Einrichtung vorliegender Erfindung an den Nach-Implantatzeitpunkten von 25, 88 und 109 Tagen gezeichnet sind.

[0044] [Fig. 6](#) stellt graphisch die Sensorglucose im Vergleich zu der Referenzglucose für eine Einrichtung der vorliegenden Erfindung unter Verwendung der Einzelreihe von Kalibrationsfaktoren des Tages 88 aus [Fig. 5B](#) dar.

## BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0045] Die vorliegende Erfindung ist in den Ansprüchen definiert und bezieht sich im Allgemeinen auf Einrichtungen und Verfahren zur Bestimmung von Analytpegeln, und insbesondere auf implantierbare Einrichtungen und Verfahren zur Überwachung von Glucosepegeln in einer biologischen Flüssigkeit. In einer bevorzugten Ausführungsform werden die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung verwendet, um den Glucosepegel in einem Subjekt festzustellen, welches eine besonders wichtige Messung für Individuen ist, welche Diabetes haben.

[0046] Obwohl sich die nachfolgende Beschreibung primär auf Glucose überwachende Einrichtungen und Verfahren für deren Verwendung bezieht, so sind die Einrichtungen und Verfahren zu deren Verwendung nicht auf die Glucosemessung beschränkt. Statt dessen können die Einrichtungen und Verfahren zu deren Verwendung dazu verwendet werden, auch andere Analyte, die in biologischen Flüssigkeiten vorhanden sind, festzustellen und zu quantifizieren (einschließlich Aminosäuren und Lactat, ohne auf diese beschränkt zu sein), insbesondere solche Analyte, welche Substrate für Oxidaseenzyme sind [siehe z.B. US-Patent Nr. 4,703,756 von Gough et al., hiermit durch Zitierung inkorporiert]. Des weiteren können die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung und ihre Verwendung auf anwesende Komponenten von biologischen Flüssigkeiten in Messverfahren eingesetzt werden, die nicht enzymbasiert sind, einschließlich solcher, die auf der Oberflächenplasmonresonanz, auf Oberflächenakustikwellen, optischer Absorption in der langwelligen Infrarotregion und optischer Rotation von polarisiertem Licht basieren, verwendet werden, ohne auf diese beschränkt zu sein.

### I. BESCHAFFENHEIT DER FREMDKÖRPERKAPSEL

[0047] Proben, die in das Gewebe implantiert werden (z.B. subkutan), werden meistens immer eine Fremdkörperkapsel (FBC) als Teil der Körperantwort auf die Einführung von fremdem Material auslösen. Obgleich ein genaues Verständnis des Wesens einer FBC für die Ausführung der vorliegenden Erfindung nicht erforderlich ist, so findet gewöhnlich nach der Implantation eines Glucosesensors zunächst eine akute Entzündungsreaktion statt (welches die Invasion von Gewebemakrophagen einschließt), dem sich die Bildung von fibrotischem Gewebe anschließt. Eine reife Kapsel (d.h. die FBC), die primär gefäßloses faseriges Gewebe aufweist, bildet sich um die Einrichtung [Woodward, Diabetes Care, 5:278-281 (1982)]. Obwohl häufig Flüssigkeit innerhalb des kapselförmigen Raumes zwischen dem Sensor und der Kapsel gefunden wird, so spiegeln die Analytspiegel (z.B. Glucose und Sauerstoff) in der Flüssigkeit häufig nicht die Spiegel in der Körpervaskulatur wieder, was eine genaue Messung schwierig gestaltet. Weiter unten genanntes Beispiel 4 beschreibt die typischen erkennbaren Phasen bei der FBC-Bildung, wie sie sich in Antwort auf einen implantierten Glucosesensor abspielen.

[0048] Gewöhnlich macht die Bildung von FBCs die Sammlung von verlässlichen, kontinuierlichen Informationen unmöglich, da sie den Sensor der implantierten Einrichtung von den biologischen Flüssigkeiten isolieren, vollständig ins Gleichgewicht gebracht mit wenigstens den niedrigmolekularen Gewichtskomponenten, die in dem Blutkreislauf gefunden werden. Die Beschaffenheit der FBCs verhindert ebenso die Stabilisierung der implantierten Einrichtung, was zu Bewegungsartefakten beiträgt, die zu unzuverlässigen Ergebnissen führen. Demnach besteht die herkömmliche Praxis für den Fachmann darin, zu versuchen, die FBC-Bildung zu minimieren, beispielsweise durch die Verwendung einer sich verjüngenden Nadelgeometrie oder die Verwendung von Sensorüberzügen, um die Fremdkörperreaktion zu minimieren.

**[0049]** Im Unterschied zu dem Stand der Technik erkennt die Lehre der vorliegenden Erfindung, dass die FBC-Bildung das beherrschende Ereignis bei der Langzeitimplantation jeglichen Sensors ist und zur Unterstützung, statt zur Behinderung oder Blockierung der Sensorperformance instrumentalisiert werden muss. So arbeiten beispielsweise Sensoren häufig solange nicht gut, bis die FBC ausreichend gereift ist, um das Herieinwachsen von gut befestigtem Gewebe, welches ein reichhaltiges Angebot an Kapillaren aufweist, direkt zu der Oberfläche des Sensors bereitzustellen. Dieser Reifungsprozess nimmt mindestens einige Tage in Anspruch und, wenn er entsprechend der vorliegenden Erfindung initiiert wurde, ist eine Funktion von Biomaterial- und Wirtsfaktoren, welche die Angiogenese initiieren und modulieren und das Fibrozytenhereinwachsen stimulieren und kontrollieren. Die vorliegende Erfindung fasst bestimmte Materialien ins Auge, die die Angiogenese in Nachbarschaft zu der Sensorgrenzfläche (die ebenfalls weiter unten als Elektrodenmembranregion bezeichnet wird) begünstigt und die Einrichtung im Inneren der FBC verankert.

## II. DIE IMPLANTIERBAREN GLUCOSEÜBERWACHUNGSMESSEINRICHTUNGEN DER VORLIEGENDEN ERFINDUNG

**[0050]** Die vorliegende Erfindung betrachtet die Verwendung einer einzigartigen microarchitektonischen Gestaltung um die Sensorgrenzfläche einer implantierbaren Einrichtung. Des Weiteren betrachtet die vorliegende Erfindung die Verwendung von Materialien, die die Einrichtung ganz oder teilweise bedecken, um zu der Stabilisierung der Einrichtung nach der Implantation beizutragen. Es soll jedoch darauf hingewiesen sein, dass die vorliegende Erfindung keine Einrichtung erfordert, die bestimmte elektronische Komponenten (z.B. Elektroden, Schaltungstechnik etc.) aufweist. In der Tat können die Lehren der vorliegenden Erfindung so gut wie für jede Überwachungseinrichtung, die für die Implantation geeignet ist, verwendet werden (oder Gegenstand einer Modifizierung sein, die die Implantation erlaubt); geeignete Einrichtungen schließen solche ein, die in den US-Patenten Nr. 4,703,756 und 4,994,167 von Shults et al.; US-Patent Nr. 4,703,756 von Gough et al. und US-Patent Nr. 4,431,004 von Bessman et al.; deren jeweiliger Inhalt durch die Zitierung inkorporiert ist, und Bindra et al., Anal. Chem. 63:1692-96 (1991) beschrieben sind, ohne auf diese beschränkt zu sein.

**[0051]** In der nachfolgenden Diskussion wird zunächst ein Beispiel einer implantierbaren Einrichtung, welches die Merkmale der vorliegenden Erfindung aufweist, beschrieben. Anschließend werden die spezifischen Eigenschaften von beispielsweise der Sensorgrenzfläche, die bei der vorliegenden Erfindung genannt ist, im Detail beschrieben.

**[0052]** Im Allgemeinen sind die implantierbaren Einrichtungen, die im Rahmen der Benutzung der vorliegenden Erfindung vorgesehen sind, von ovaler Form; selbstverständlich können für die vorliegende Erfindung auch Einrichtungen mit anderen Formen verwendet werden. Die Mustereinrichtung schließt ein Gehäuse mit einem Oberteil und einem Unterteil ein, welche gemeinsam einen Hohlraum definieren. [Fig. 1A](#) zeigt eine Querschnittszeichnung einer Ausführungsform einer implantierbaren Messeinrichtung. Bezugnehmend auf [Fig. 1A](#) weist die Einrichtung ein Hauptgehäuse (auch als Mantel oder Verpackung bezeichnet) auf, welches aus einem Bodenteil **1** mit nach oben gerichteten winkelförmig vorstehenden Erweiterungen entlang seines Umfangs besteht. Die vier nach unten gerichteten vorstehenden Erweiterungen eines ähnlich geformten Oberteils **2** greifen in die nach oben gerichteten Erweiterungen des Bodenteils **1** ein. Wie in [Fig. 1A](#) angedeutet, besteht in dem Oberteil **2** ein Durchlass, der das Hervorragen der Sensorgrenzflächenkuppel **30** erlaubt. Die Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten der vorliegenden Erfindung bringt solch ein Hervorragen der Sensorgrenzflächenkuppel **30** mit sich: obwohl ein genaues Verständnis der Wirkung des Hervorragens nicht erforderlich ist, um die vorliegende Erfindung zu verwirklichen, wird davon ausgegangen, dass das Hervorragen bei der Bildung der Vaskulatur in der Region der Sensorgrenzflächenkuppel **30** hilft, und infolge dessen die Präsentation der Probe an die Elektroden unterstützt.

**[0053]** In bestimmten Ausführungsformen deckt eine Oberteihülle **4** das Oberteil **2** ab; ähnlich dem Oberteil **2** hat die Oberteihülle **4** einen Durchlass, welcher der Sensorgrenzflächenkuppel **30** erlaubt, dadurch hindurchzutreten. Wie im Detail in [Fig. 1B](#) angedeutet, winkelt die Oberteihülle **4** nach oben ab, wenn sie sich dem Durchlass annähert und erlaubt der Sensorgrenzflächenkapselbefestigungsschicht **15** daran gesichert zu sein. Die Oberteihülle **4** kann mit einer Hüllkapselbefestigungsschicht **16** überzogen sein; in einigen Ausführungsformen erstreckt sich die Hüllkapselbefestigungsschicht über die Oberteihülle hinaus (z.B. kann es die Seiten der Einrichtung oder das Unterteil ummanteln).

**[0054]** Die Aufrechterhaltung der Blutversorgung in der Nähe eines implantierten Fremdkörpers wie einem implantierten Analyt überwachenden Sensors erfordert eine stabile Befestigung des FBC-Gewebes an der Oberfläche des Fremdkörpers. Dies kann beispielsweise unter Verwendung von Kapselbefestigungsmembranmaterialien (z.B. solchen Materialien, die die Sensorgrenzfläche und Oberteihapselbefestigungsschichten

aufweisen) erreicht werden, die entwickelt wurden, um Gewebe zu reparieren oder zu verstärken, einschließlich solcher wie Polyester (DACRON®; DuPont; Poly(ethylenterephthalat))velours, geschäumtes Polytetrafluorethylen (TEFLON®; Gore), Polytetrafluorethylenfilze, Polypropylengarn und verwandte poröse Implantatmaterialien, ohne auf diese beschränkt zu sein. Das bevorzugte Material für die FBC-Befestigung ist für die Chirurgie geeignetes Polyestervelours. Das FBC-Gewebe neigt dazu, aggressiv in die oben genannten Materialien hineinzuwachsen und eine starke mechanische Bindung (d.h. eine kapsuläre Befestigung) zu bilden; die Befestigung des Implantats in seiner Kapsel ist wesentlich, um Bewegungsartefakte oder Störungen der neu gebildeten Kapillarblutversorgung zu unterbinden. In bevorzugten Ausführungsformen wird das Kapselbefestigungsmaterial nicht in der Region der Sensorgrenzfläche verwendet, so dass es nicht zu einer Behinderung der Vaskulaturentwicklung in dieser Region kommt.

**[0055]** Seitenklammern **3** sichern die Oberteilhülle **4** an dem Unterteil **1** (siehe [Fig. 1A](#)). Ein herkömmlicher O-Ring **7** oder andere geeignete mechanische Mittel können als Hilfe bei der Befestigung der Membranschichten (z.B. der Enzymschicht) verwendet werden. In einer bevorzugten Ausführungsform hat das Gehäuse von dem Boden des Bodenteils **1** zu der Spitze der Hüllkapselbefestigungsschicht **16** eine Höhe von etwa 1,4 cm und eine Länge von etwa 7,0 cm.

**[0056]** Der Innenraum (d.h. der Hohlraum) des Gehäuses umfasst eine oder mehr Batterien **9**, die betriebsfähig mit einem elektronischen Schaltungsmittel (z.B. einer Schalttafel **8**) verbunden sind, welches seinerseits betriebsfähig mit mindestens einer Elektrode (wie weiter unten beschrieben) verbunden ist; in bevorzugten Ausführungsformen weist das Gehäuse mindestens zwei Elektroden auf. Es können jegliche elektronische Schaltungen und Batterien in Verbindung mit den Einrichtungen der vorliegenden Erfindung verwendet werden, die verlässliche, kontinuierliche, Langzeit (z.B. Monate bis Jahre)-Ergebnisse liefern.

**[0057]** Das Gehäuse der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung macht vorzugsweise Gebrauch von einer einfachen, kostengünstigen Verpackungstechnik, welche die Komponenten der Einrichtung für mindestens 1 Jahr in wässrigem Medium schützt. In bevorzugten Ausführungsformen umfassen die Komponenten des Gehäuses (z.B. das Ober- und Unterteil) thermogeformtes hochdichtetes Polyethylen. Der Bereich in dem Hohlraum des Gehäuses, welcher die Batterien, die elektronische Schaltung, etc. umgibt, kann mit einem Vergussmittel **40** (siehe [Fig. 1A](#)) gefüllt sein, ein Material, welches die Komponenten innerhalb des Hohlraums an ihrem Ort sichert, jedoch nicht mit der Wirkung dieser Komponenten wechselwirkt. In bevorzugten Ausführungsformen basiert das Vergussmittel **40** auf einer Mischung von Petroleumwachs und Harzen mit einer geringen Schmelztemperatur, die für die Heißkleberindustrie entwickelt wurden [Shults et al., IEEE Trans. Biomed. Eng. 41: 937-942 (1994)]. Zusätzlich zu der durch diese Herangehensweise gebildeten hochwertigen Feuchtigkeitsbarriere kann die Elektronik (z.B. die Schalttafel **8**) durch Aufschmelzen und Entleeren des Vergussmittels recycelt werden, wenn die Batterien erschöpft sind.

**[0058]** Die bevorzugten Vergussmassenzusammensetzungen der vorliegenden Erfindung weisen etwa 54% PW 130/35H Wachs (Astor Wax), etwa 40% MVO 2528 Harz (Exxon Chemical) und etwa 6% XS 93,04 Harz (Exxon Chemical, Houston, TX) auf. Diese gepellten Verbindungen ergeben eine gut gemischte Lösung, nachdem sie bei etwa 120°C für etwa eine Stunde erhitzt und gemischt wurden. Die Lösung wird dann in das Polyethylengehäuse, welches die Implantatelektronik enthält, gegossen, wobei darauf geachtet wird, dass die Explosionstemperatur von z.B. etwa 160°C nicht überschritten wird, wenn beispielsweise Lithiumbatterien verwendet werden.

**[0059]** [Fig. 1B](#) zeigt eine Querschnittsexplosionsansicht der Sensorgrenzflächenkuppel **30** aus [Fig. 1A](#). Bezugnehmend auf [Fig. 1B](#) umfasst die Sensorgrenzflächenkuppel eine Region mit einem Epoxidharzinsulator **10**, in dem eine Silberreferenzelektrode **20**, eine Platinarbeitselektrode **21** und eine Platinzählelektrode **22** eingebettet sind. Die vorliegende Erfindung ist weder durch die Zusammensetzung der Elektroden, noch durch ihre Position innerhalb der Sensorgrenzflächenkuppel **30** beschränkt.

**[0060]** [Fig. 1C](#) zeigt eine Querschnittsexplosionsansicht der Elektrodenmembranregion wie sie in [Fig. 1B](#) dargelegt ist, wobei die Details der Sensorspitze und die funktionalen Membranschichten ausgeführt sind. Wie in [Fig. 1C](#) gezeigt, umfasst die Elektrodenmembranregion eine Reihe verschiedener Membranschichten, deren Zusammensetzungen und Funktionen nachfolgend im Detail beschrieben werden. Die obersten Enden der Elektroden stehen in Kontakt mit der Elektrolytphase **31**, einer frei fließenden Flüssigkeitsphase. Die Elektrolytphase ist durch eine Enzymmembran **32**, welche ein Enzym, z.B. Glucoseoxidase, enthält, und verschiedene funktionale Polymerschichten (wie weiter unten beschrieben wird) bedeckt. Eine biologische Schutzmembran **33** bedeckt wiederum die Enzymmembran **32** und dient teilweise dazu, den Sensor vor äußeren Belastungen zu schützen, welche zu Umweltstressrissen der Enzymmembran **32** führen können. Zum Abschluss ist

eine angiogene Schicht **34** über der biologischen Schutzmembran **33** angeordnet und dient der Förderung der Vaskularisation in der Sensorgrenzflächenregion.

**[0061]** Eine Haltedichtung **18** bestehend aus beispielsweise Silikonkautschuk, wird verwendet, um die Sensorgrenzflächenbefestigungsschicht **15** ([Fig. 1A-B](#)) und die angiogene Schicht **34** und die biologische Schutzmembran **33** festzuhalten (nicht dargestellt). In bevorzugten Ausführungsformen treten die angiogene Schicht **34** und die biologische Schutzmembran **33** über die Spitze der Sensorgrenzflächenkuppel **30**, über den O-Ring **7** über und dann unter die Sensorgrenzflächenkapselbefestigungsschicht **15** und die Rückhaltdichtung **18** unter.

**[0062]** Die vorliegende Erfindung fasst die Konstruktion von Membranschichten der Sensorgrenzflächenregion unter Verwendung üblicher Überzugsbeschichtungstechniken ins Auge. Diese Art der Membranherstellung erleichtert die Kontrolle der Membraneigenschaften und die Prüfung der Membran.

### III. SENSORGRENZFLÄCHE

**[0063]** Wie oben bereits angesprochen und in [Fig. 1C](#) offenbart, umfasst die Sensorgrenzflächenregion in einer bevorzugten Ausführungsform eine Reihe verschiedener Schichten und Membrane, welche die Elektroden einer implantierbaren Analyt-Messeinrichtung bedecken. Die Merkmale dieser Schichten und Membrane werden jetzt detaillierter diskutiert. Die Schichten und Membrane schützen die Elektroden vor dem direkten Kontakt mit der biologischen Flüssigkeitsprobe, während selektierte Substanzen (z.B. Analyte) der Flüssigkeit erlaubterweise hindurchtreten, um mit den Elektroden elektrochemikalisch zu reagieren.

**[0064]** Die in der Sensorgrenzflächenregion verwendeten Membrane sind semipermeable Membrane. Im Allgemeinen sind die beiden fundamentalen Diffusionsprozesse, durch die eine semipermeable Membran die Menge einer Substanz, die hindurchtreten kann, limitiert: i) Diffusion durch die semipermeable Membran in Form einer porösen Struktur und ii) Diffusion durch die semipermeable Membran in Form einer monolithischen, homogenen Struktur. Die vorliegende Erfindung ist nicht durch die Art der semipermeablen Membrane, wie sie in der Sensorgrenzflächenregion verwendet werden, beschränkt.

**[0065]** Eine semipermeable Membran, welche eine poröse Struktur aufweist, besteht aus einer relativ impermeablen Matrix, welche eine Vielzahl an „Microlöchern“ oder Poren molekularer Dimension aufweist. Der Transfer durch diese Membranen beruht primär auf dem Hindurchtreten der Substanzen durch diese Poren (d.h. die Membran wirkt als microporöse Barriere oder Sieb). Beispiele von Materialien, welche für die Bildung poröser, semipermeabler Membranen Verwendung finden können, schließen Polyethylen, Polyvinylchlorid, Polytetrafluorethylen, Polypropylen, Polyacrylamid, Celluloseacetat, Polymethylmethacrylat, Siliconpolymere, Polycarbonat und cellulosehaltige Polymere ein, ohne auf diese beschränkt zu sein.

**[0066]** Da die Diffusion primär auf dem Hindurchtreten der Substanz durch die Poren basiert, bezieht ich die Permeabilität auf die effektive Größe der Poren, die Membranstärke und die molekulare Größe der diffundierenden Substanz. Im Ergebnis besteht eine geringe Selektivität bei der Separierung von zwei chemisch oder strukturell ähnlichen Molekülen, außer wenn ihre molekulare Größe etwa der Größe der Poren entspricht; wenn dies der Fall ist, können die zwischen der Substanz und der Oberfläche der Porenkanäle wirkenden Kräfte die Transferrate beeinflussen. Des Weiteren wird die obere Diffusionsgröße durch den größten Porendurchmesser bestimmt, und die Gesamtdiffusionsrate ist von der Gesamtporenanzahl abhängig.

**[0067]** Im Unterschied dazu hängt das Hindurchtreten einer Substanz durch eine monolithische, homogene Membran von der selektiven Auflösung und Diffusion der Substanz als gelöster Stoff durch einen soliden, nicht porösen Film ab. Der Begriff „monolithisch“, wie hier verwendet, meint im Wesentlichen nicht porös und eine im Wesentlichen ununterbrochene Oberfläche aufweisend. Der Begriff „homogene“ in Bezug auf eine Membran bedeutet, dass im Wesentlichen gleichförmige Eigenschaften von einer Seite der Membran zu der anderen vorliegen. Die Membran kann jedoch heterogene strukturelle Domänen aufweisen, die beispielsweise durch die Verwendung eines Blockcopolymers (d.h. Polymere, in welchen verschiedene Blöcke identischer Monomerreinheiten miteinander abwechseln) geschaffen werden, und können immer noch funktionell als homogen in Bezug auf ihre Abhängigkeit von der Auflösung charakterisiert sein, im Unterschied zu der Siebung, um die Separierung der Substanzen zu bewirken. Eine monolithische Membran kann somit verwendet werden um Komponenten einer Lösung auf der Basis von anderen Eigenschaften als deren Größe, Form und Dichte der diffundierenden Substanzen selektiv zu separieren. Monolithische, homogene Membranen wirken wegen der bevorzugten Diffusion von einigen Substanzen durch diese als Barriere. Sie können aus solchen Materialien hergestellt werden, die vorher für poröse Membrane aufgezählt wurden, einschließlich Polyethylen, Polyvinyl-

chlorid, Tetrafluorethylen, Polypropylen, Polyacrylamid, Polymethylmethacrylat, Siliconpolymeren, Polycarbonat, Collagen, Polyurethanen und Blockcopolymeren davon (Blockcopolymere wie diskutiert in US-Patenten Nr. 4,803,243 und 4,686,044, die hiermit durch Zitierung inkorporiert sind), ohne auf diese beschränkt zu sein.

#### A. Angiogene Schicht

**[0068]** Für implantierbare Glucoseüberwachungseinrichtungen muss eine Sensor/Gewebegrenzfläche geschaffen werden, welche den Sensor mit Sauerstoff und Glucosekonzentrationen versorgt, die mit denen vergleichbar sind, die üblicherweise im Gewebe von lebenden Zellen vorliegen. Ohne eine solche Grenzfläche zeigt der Sensor eine instabile und chaotische Performance, die darauf hinweist, dass den Sensor Sauerstoff und/oder Glucose nur unzureichend erreicht. In einem anderen Kontext wurde die Entwicklung von geeigneten Grenzflächen beschrieben. Beispielsweise haben Wissenschaftler Techniken entwickelt, welche die Blutgefäße im Inneren einer FBC stimulieren und aufrechterhalten, um den erhöhten Sauerstoffbedarf von Bauchspeicheldrüseninseln innerhalb einer implantierten Membran bereitzustellen [siehe z.B. Brauker et al., Zusammenfassung von dem 4. Weltbiomaterialien Kongress, Berlin (1992)]. Diese Techniken hängen teilweise von der Verwendung einer vaskularisierenden Schicht auf der Außenseite der implantierten Membran ab. Vorbeschriebene implantierbare analytüberwachende Einrichtungen waren jedoch nicht in der Lage, einen ausreichenden Blutfluss zu der Sensorgrenzfläche aufrecht zu erhalten.

**[0069]** Wie oben beschrieben, weist die am meisten außen gelegene Schicht der Elektrodenmembranregion ein angiogenes Material auf. Die angiogene Schicht der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung kann aus Membranmaterial wie beispielsweise hydrophilem Polyvinylidenfluorid (z.B. Durapore®; Millipore), gemischten Celluloseestern (z.B. MF; Millipore), Polyvinylchlorid (z.B. PVC; Millipore) und anderen Polymeren aufgebaut sein, einschließlich solcher wie Polypropylen, Polysulfon und Polymethacrylat, ohne auf diese beschränkt zu sein. Vorzugsweise beträgt die Stärke der angiogenen Schicht etwa 10 µm bis etwa 20 µm. Die angiogene Schicht weist Porengrößen von etwa 0,5 bis etwa 20 µm, und weiter bevorzugt 1,0 µm bis etwa 10 µm auf, Größen, die den meisten Substanzen das Hindurchtreten ermöglichen, einschließlich z.B. Makrophagen. Das bevorzugte Material ist geschäumtes PTFE einer Stärke von etwa 15 µm und mit einer Porengröße von etwa 5 µm bis etwa 10 µm.

**[0070]** Um die stabile Fremdkörperkapselstruktur weiter zu fördern, ohne in die Angiogenese einzugreifen, kann eine zusätzliche äußere Schicht an Material, bestehend aus dünnem Vliesstoffpolyester geringer Dichte (z.B. von Gore hergestellt) über das oben beschriebene bevorzugte PTFE lamelliert werden. In bevorzugten Ausführungsformen ist die Stärke dieser Schicht etwa 120 µm. Diese zusätzliche dünne Materialschicht greift nicht in die Angiogenese ein und verbessert die Herstellbarkeit der angiogenen Schicht [siehe US-Patent Nr. 5,453,278 von Brauker et al., hiermit durch Zitierung inkorporiert; PCT-Patentpublikationen Nr. 96/32076, 96/01611 und 92/07525, die Baxter zugeordnet sind].

#### B. Biologische Schutzmembran

**[0071]** Die Entzündungsreaktion, die einen FBC initiiert und aufrechterhält, ist sowohl mit Vorteilen, als auch Nachteilen verbunden. Etwas der Entzündungsreaktion ist notwendig, um ein neues Kapillarbett in dichter Nachbarschaft zu der Oberfläche des Sensors zu bilden, um i) kontinuierlich ausreichend Sauerstoff und Glucose bereitzustellen und ii) ein ausreichendes Gewebehineinwachsen hervorzubringen, um das Implantat zu verankern und Bewegungsartefakten vorzubeugen. Andererseits ist die Entzündung mit der Invasion von Gewebemakrophagen verbunden, welche die Eigenschaft haben, viele künstliche Biomaterialien (einige von denen wurden bis vor kurzem als nicht biologisch abbaubar angesehen) biologisch abzubauen. Wenn die Gewebemakrophagen durch einen Fremdkörper aktiviert werden, degranulieren sie unter Abgabe von Hypochlorit (Bleiche), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und anderen Oxidationsmittelarten von ihrem cytoplasmatischen Myeloperoxidasesystem. So wohl Hypochlorit als auch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sind dafür bekannt, eine Vielzahl an Polymeren, einschließlich Polyurethan abzubauen durch ein Phänomen, welches als Umweltstressabbau bezeichnet wird [Phillips et al., J. Biomat. Appl., 3:202-227 (1988); Stokes, J. Biomat. Appl. 3:228-259 (1988)]. In der Tat konnte gezeigt werden, dass Umweltstressabbau die Lebensdauer und Performance einer enzymaktivierten Polyurethanmembran limitiert, welche über die Spitze eines Glucosesensors gestreckt ist [Updike et al., Am. Soc. Artificial Internal Organs, 40: 157-163 (1994)].

**[0072]** Da sowohl Hypochlorit als auch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Chemikalien mit kurzer Lebensdauer in vivo sind, findet kein biologischer Abbau statt, wenn die Makrophagen in einem ausreichenden Abstand von der enzymaktivierten Membran gehalten werden. Die vorliegende Erfindung fasst die Verwendung von biologischen Schutzmaterialien mit einer Stärke von wenigen Micrometern oder mehr ins Auge (d.h. eine biologische Schutzmembran),

die für Sauerstoff und Glucose durchlässig ist und über der Spitze des Sensors platziert wird, um die Makrophagen davon abzuhalten, in die Nähe der Sensormembran zu gelangen. Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung sind nicht durch die Beschaffenheit der biologischen Schutzschicht beschränkt. Die biologische Schutzschicht sollte jedoch über längere Zeiträume (z.B. einige Jahre) biologisch stabil sein; die vorliegende Erfindung zieht die Verwendung von Polymeren wie Polypropylen, Polysulfon, Polytetrafluoroethylen (PTFE) und Poly(ethylenterephthalat) (PET) in Betracht, ohne auf diese beschränkt zu sein.

**[0073]** Vorzugsweise besteht die biologische Schutzmembran aus geschäumtem PTFE mit einer Porengröße von etwa 0,2 µm bis etwa 0,5 µm und einer Stärke von etwa 15 bis etwa 35 µm. Besonders bevorzugt besteht die biologische Schutzmembran aus geschäumtem PTFE mit einer Porengröße von 0,4 µm und einer Stärke von etwa 25 µm (z.B. Millicell CM-Bipore®; Millipore).

#### C. Die Enzymmembran

**[0074]** Die vorliegende Erfindung zieht Membrane in Betracht, die mit einem Enzym imprägniert sind. Es ist nicht vorgesehen, dass die vorliegende Erfindung durch die Art der Enzymmembran beschränkt ist. Die Enzymmembran einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist in [Fig. 1C](#) als einzelne, homogene Struktur dargestellt. In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung umfasst die Enzymmembran jedoch eine Vielzahl von verschiedenen Schichten. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst die Enzymmembran die folgenden vier Schichten (in der Reihenfolge von der biologischen Schutzmembran zu der Elektrolytphase): i) eine Resistenzschicht; ii) eine Enzymschicht; iii) eine Interferenzschicht; und iv) eine Elektrolytschicht.

#### Die Resistenzschicht

**[0075]** Es besteht ein molarer Überschuss an Glucose in Bezug auf die Sauerstoffmenge in den Blutproben. In der Tat liegen für jedes freie Sauerstoffmolekül in der extrazellulären Flüssigkeit typischerweise mehr als 100 Glucosemoleküle vor [Updike et al., Diabetes Care 5:207-21 (1982)]. Jedoch muss ein immobilisierter enzymbasierter Sensor, der Sauerstoff ( $O_2$ ) als Cofaktor verwendet, mit Sauerstoff in nicht limitierendem Überschuss versorgt werden, um linear auf die Änderungen der Glucosekonzentration zu reagieren, während er nicht auf die Änderungen der Sauerstoffspannung reagiert. Insbesondere wenn eine Glucoseüberwachungsreaktion sauerstofflimitiert ist, wird keine Linearität oberhalb einer minimalen Glucosekonzentration erreicht. Ohne einer semipermeablen Membran über der Enzymschicht kann eine lineare Antwort auf die Glucosespiegel nur für bis zu etwa 40 mg/dL erreicht werden; in einer klinischen Situation sind jedoch lineare Antworten auf die Glucosespiegel für bis zu wenigstens etwa 500 mg/dL gewünscht.

**[0076]** Die Resistenzschicht weist eine semipermeable Membran auf, welche den Strom an Sauerstoff und Glucose zu der darunter liegenden Enzymschicht kontrolliert (d.h. den Glucosestrom beschränkt), wobei die notwendige Versorgung mit Sauerstoff in einem nicht limitierenden Überschuss erbracht wird. Im Ergebnis wird die Obergrenze der Linearität der Glucosemessung zu einem um vieles höheren Wert erweitert, als er ohne eine Resistenzschicht erreicht werden könnte. Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung fassen Resistenzschichten ins Auge, die Polymermembranen mit Sauerstoff-zu-Glucose-Permeabilitätsraten von etwa 200:1 aufweisen; als Ergebnis ist die eindimensionale Reaktionspartnerdiffusion ausreichend, um einen Sauerstoffüberschuss bei allen angemessenen Glucose- und Sauerstoffkonzentrationen bereitzustellen, die in der subkutanen Matrix gefunden wurden [Rhodes et al., Anal. Chem., 66:1520-1529 (1994)].

**[0077]** In bevorzugten Ausführungsformen hat die Resistenzschicht eine Stärke von weniger als etwa 45 µm, besonders bevorzugt in einem Bereich von etwa 15 bis etwa 40 µm, und besonders bevorzugt in einem Bereich von etwa 20 bis etwa 35 µm.

#### Die Enzymschicht

**[0078]** Zusätzlich zu der Glucoseoxidase fasst die vorliegende Erfindung die Verwendung von einer Membranschicht ins Auge, die mit anderen Oxidasen, beispielsweise Galactoseoxidase oder Uricase, imprägniert ist. Damit ein enzymatischer elektrochemischer Glucosesensor gut funktioniert, muss die Reaktion des Sensors weder durch die Enzymaktivität noch durch die Cofaktorenkonzentration beschränkt sein. Da Enzyme, einschließlich der sehr robusten Glucoseoxidase, in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen Gegenstand einer Deaktivierung sein können, muss dieses Verhalten bei der Konstruktion von Sensoren für eine langfristige Verwendung mit berücksichtigt werden.

**[0079]** Das Prinzip des Verlustes der Hälfte der ursprünglichen Enzymaktivität in einem bestimmten Zeitraum kann für die Berechnung verwendet werden, wie viel Enzym in die Enzymschicht eingeschlossen werden muss, um einen Sensor mit der erforderlichen Lebensdauer bereitzustellen (siehe den Abschnitt zu den Experimenten). Früher haben die Forscher herausgefunden, dass Glucoseelektroden, wenn sie in eine Salzlösung bei 37°C gelegt werden, die Hälfte ihrer Elektrodenenzymaktivität in 85 bis 105 Tagen verlieren [siehe z.B. Tse und Gough, Biotechnol. Bioeng. 29: 705-713 (1987)]. Unter angemessenen Diabetesbedingungen und normaler Enzymbeladung (z.B.  $2 \times 10^{-4}$  M Glucoseoxidase; siehe Beispiel 4) kann die brauchbare Lebensdauer des Sensors mindestens ein Jahr betragen. Wird der Sensor jedoch hohen Pegeln an Glucose in Kombination mit geringen Sauerstoffpegeln über längere Zeiträume ausgesetzt, kann dies zu einer Verkürzung der Lebensdauer des Sensors führen [Rhodes et al., Anal. Chem 66:1520-1529 (1994)].

**[0080]** Für eine lange Lebensdauer des Sensors ist eine Beladung mit Glucoseoxidase im Überschuss notwendig. Der experimentelle Abschnitt stellt ein Verfahren bereit, welches verwendet werden kann, um die angemessene Menge eines Enzyms, welches in die Enzymschicht eingeschlossen werden soll, festzulegen. Wenn ein Überschuss an Glucoseoxidase verwendet wird, so ist für die Glucoseüberwachungseinrichtungen der vorliegenden Erfindung eine Performance von bis zu zwei Jahren möglich.

#### Interferenzschicht

**[0081]** Die Interferenzschicht weist eine dünne, hydrophobische Membran auf, die nicht aufquillt und eine Durchlässigkeitsgrenze im niedermolekularen Bereich hat. Die Interferenzschicht ist für Substanzen mit einem relativ geringen Molekulargewicht durchlässig, wie beispielsweise für Wasserstoffperoxid, beschränkt aber den Durchtritt von höhermolekularen Substanzen, einschließlich Glucose und Ascorbinsäure. Die Interferenzschicht dient dazu, Analyten und anderen Substanzen, die durch die Elektroden gemessen werden sollen, einen Durchtritt zu ermöglichen, während sie vor der Passage anderer Substanzen schützt.

**[0082]** Die Interferenzschicht hat eine bevorzugte Stärke von weniger als etwa 5 µm, weiter bevorzugt in dem Bereich von etwa 0,1 bis etwa 5 µm und besonders bevorzugt in einem Bereich von etwa 0,5 bis etwa 3 µm.

#### Die Elektrolytschicht

**[0083]** Um die elektrochemische Reaktion sicherzustellen umfasst die Elektrolytschicht eine semipermeable Beschichtung, welche die Hydrophilie an der Elektrodenregion der Sensorgrenzfläche aufrechterhält. Die Elektrolytschicht verstärkt die Stabilität der Interferenzschicht der vorliegenden Erfindung, indem es die Membran, die die Interferenzschicht bildet, schützt und unterstützt. Des Weiteren hilft die Elektrolytschicht bei der Stabilisierung der Arbeitsweise der Einrichtung, indem es die Elektrodenanlaufprobleme und Driftprobleme, die durch mangelhaftes Elektrolyt verursacht werden, überwindet. Die in der Elektrolytschicht enthaltene gepufferte Elektrolytlösung schützt ebenfalls gegen pH-vermittelten Schaden, der aus der Bildung eines großen pH-Gradienten zwischen der hydrophobischen Interferenzschicht und der Elektrode (oder den Elektroden) infolge der elektrochemischen Aktivität der Elektrode entstehend kann.

**[0084]** Vorzugsweise weist die Beschichtung einen flexiblen, Wasser-quellenden, im Wesentlichen festgeähnlichen Film auf, der eine „Trockenfilm“-Stärke von etwa 2,5 µm bis etwa 12,5 µm, vorzugsweise von etwa 6,0 µm hat. „Trockenfilm“-Stärke bezieht sich auf die Stärke eines ausgehärteten Films, der unter Verwendung üblicher Beschichtungstechniken als Beschichtungsformulierung auf die Oberfläche einer Membran gegossen wird. Die Beschichtungsformulierung umfasst einen Prämix aus filmbildenden Polymeren und einem Kreuzvernetzer und härtet nach der Anwendung bei moderater Wärme aus.

**[0085]** Geeignete Beschichtungen bestehen aus einem härbaren Copolymer eines Urethanpolymers und einem hydrophilen filmbildenden Polymer. Besonders bevorzugte Beschichtungen werden aus einem Polyurethanpolymer mit anionischen carboxylatfunktionalen Gruppen und nichtionischen hydrophilen Polyethersegmenten gebildet, die in Anwesenheit von Polyvinylpyrrolidon kreuzvernetzt und bei einer moderaten Temperatur von etwa 50°C ausgehärtet werden.

**[0086]** Für diesen Zweck sind insbesondere wässrige Dispersionen von vollreaktiven kolloidalen Polyurethanpolymeren, die eine kreuzvernetzende Carboxylfunktionalität aufweisen (z.B. BAYBOND®; Mobay Corporation), geeignet. Die Polymere werden in Dispersionsstufen geliefert und haben ein Polycarbonat-Polyurethan-Rückgrat, welches Carboxylat-Gruppen, bezeichnet als XW-121 und XW-123, enthält und ein Polyester-Polyurethan-Rückgrat, welches Carboxylat-Gruppen enthält, das als XW-110-2 bezeichnet wird. Besonders bevorzugt ist BAYBOND® 123, welches eine wässrige anionische Dispersion eines aliphatischen Polycar-

bonaturethanpolymers ist, welche als 35 Gew.-%ige Lösung in Wasser mit dem Co-Lösungsmittel N-methyl-2-pyrrolidon verkauft wird.

**[0087]** Polyvinylpyrrolidon ist besonders als hydrophiles wasserlösliches Polymer bevorzugt und ist kommerziell erhältlich in einem Bereich der Viskositätsstufen und durchschnittlichen Molekulargewichte von etwa 18.000 bis etwa 500.000 unter der PVP K® Homopolymerserie von BASF Wyandotte und von GAF Corporation. Besonders bevorzugt ist ein Homopolymer mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 360.000, das als PVP-K90 (BASF Wyandotte) bezeichnet wird. Ebenfalls geeignet sind hydrophile, filmbildende Copolymeren von N-vinylpyrrolidon, beispielsweise ein Copolymer von N-vinylpyrrolidon und Vinylacetat, ein Copolymer von N-vinylpyrrolidon, Ethylmethacrylat und Methacrylsäuremonomeren und Ähnliches.

**[0088]** Das Polyurethanpolymer wird in Anwesenheit des Polyvinylpyrrolidons kreuzvernetzt, indem ein Prämix der Polymere hergestellt wird und kurz vor der Herstellung der Membran ein Kreuzvernetzer hinzugegeben wird. Geeignete Kreuzvernetzer können Carbodiimide, Epoxide und Melamin/Formaldehydharze sein. Carbodiimid ist bevorzugt, und ein bevorzugter Carbodiimidkreuzvernetzer ist UCARLNK® XL-25 (Union Carbide).

**[0089]** Die Flexibilität und Härte der Beschichtung kann wie gewünscht durch Variation des Trockengewichts der Feststoffe der Komponenten in der Beschichtungsformulierung variiert werden. Der Begriff „Trockengewicht der Feststoffe“ bezieht sich auf das prozentuale Trockengewicht in Bezug auf die Gesamtbeschichtungszusammensetzung, nachdem der Kreuzvernetzer hinzugegeben wurde. Eine bevorzugte geeignete Beschichtungsformulierung kann etwa 6 bis etwa 20% Trockengewicht, vorzugsweise etwa 8% Trockengewicht, Polyvinylpyrrolidon: etwa 3 bis etwa 10% Trockengewicht, vorzugsweise etwa 5% Trockengewicht, Kreuzvernetzer: und etwa 70 bis etwa 91 Gew.-%, vorzugsweise etwa 87 Gew.-% eines Polyurethanpolymers, vorzugsweise ein Polycarbonat- Polyurethan-Polymer, enthalten. Das Reaktionsprodukt einer solchen Beschichtungsformulierung wird hier als Wasserquellbare kreuzvernetzte Matrix von Polyurethan und Polyvinylpyrrolidon bezeichnet.

#### D. Die Elektrolytphase

**[0090]** Die Elektrolytphase ist eine frei fließende Phase, die eine Lösung aufweist, die mindestens eine Verbindung, üblicherweise ein lösliches Chloridsalz, welches elektrischen Strom leitet, enthält. Die Elektrolytphase fließt über die Elektroden (siehe [Fig. 1C](#)) und ist in Kontakt mit der Elektrolytschicht der Enzymmembran. Die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung fassen die Verwendung jeglicher geeigneter Elektrolytlösung, einschließlich üblicher, kommerziell erhältlicher Lösungen, ins Auge.

**[0091]** Üblicherweise sollte die Elektrolytphase denselben oder geringeren osmotischen Druck wie die zu analysierende Probe aufweisen. In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung umfasst die Elektrolytphase normale Saline.

#### E. Die Elektrode

**[0092]** Der Elektrodenaufbau dieser Erfindung kann ebenfalls dem entsprechen, wie er üblicherweise bei Strommessungen verwendet wird. Eine Probe der Flüssigkeit, die analysiert werden soll, wird in Kontakt mit einer Referenzelektrode, z.B. Silber/Silber-Chlorid, und der Elektrode dieser Erfindung, welche vorzugsweise aus Platin besteht, in Kontakt gebracht. Die Elektroden sind mit einem Galvanometer oder einem polarographischen Instrument verbunden und der Strom wird gelesen oder aufgezeichnet, nachdem die gewünschte Gleichstromvorspannung zwischen den Elektroden angelegt wurde.

**[0093]** Die Fähigkeit des vorliegenden Einrichtungselektrodenaufbaus die Konzentration von Substanzen, wie beispielsweise Glucose, in einem breiten Konzentrationsbereich in Flüssigkeiten, einschließlich unverdünnter Gesamtblutproben, genau zu messen, ermöglicht die schnelle und genaue Feststellung der Konzentration dieser Substanzen. Diese Informationen können in den Untersuchungen und Kontrollen von metabolischen Krankheiten, einschließlich Diabetes, verwendet werden.

### IV. IMPLANTIERUNG DES SENSORS UND RADIOTELEMETRISCHER AUSGANG

**[0094]** Am besten wird eine langfristige Sensorperformance erreicht und eine transkutane Bakterieninfektion vermieden, wenn die implantierte Einrichtung eine radiotelemetrische Abgabe hat. Die vorliegende Erfindung fasst die Verwendung der Radiotelemetrie ins Auge, um Daten bezüglich der Blutglucosespiegel, der Trends und Ähnlichem bereitzustellen. Der Begriff „Radiotelemetrie“ bezieht sich auf die Übertragung der von der im-

plantierten Einrichtung aufgezeichneten Daten mittels Radiowellen zu einer ex vivo Aufzeichnungsstation (z.B. einem Computer), wo die Daten aufgezeichnet, und bei Bedarf weiter verarbeitet werden.

**[0095]** Obgleich vollständig implantierte Glucosesensoren mit einer Lebensdauer von drei Monaten und radiotelemetrischem Ausgang in Tiermodellen an intravenösen Orten getestet wurden [siehe z.B. Armour et al., Diabetes 39: 1519-1526 (1990)], ist die subkutane Implantation die bevorzugte Implantationsart [siehe z.B. Gil-ligan et al., Diabetes Care 17:882-887 (1994)]. Der subkutane Ort hat den Vorteil, dass das Risiko für die Thrombophlebitis mit der hematogenen Ausbreitung der Infektion verringert wird und ebenfalls das Risiko einer Venenthrombose mit einer Lungenembolie verringert wird. Des weiteren ist eine subkutane Platzierung technisch einfacher und kostengünstiger als eine intravenöse Platzierung, da es unter lokaler Betäubung von einem nichtchirurgischen Gesundheitsleistungserbringer in einer ambulanten Einrichtung durchgeführt werden kann.

**[0096]** Vorzugsweise sind die radiotelemetrischen Einrichtungen zur Verwendung in Verbindung mit den vorliegenden Merkmalen der Erfindung vorgesehen, was eine kleine Packungsgröße, eine entsprechende Batterielebensdauer, akzeptable störfreie Übertragungsbereiche, keine elektrischen Interferenzen und eine einfache Datensammlung und -verarbeitung einschließt. Die Radiotelemetrie weist verschiedene Vorteile auf, einer der am meisten wichtigen ist die Fähigkeit der implantierten Einrichtung, Analytspiegel in einer abgeschlossenen, sterilen Umgebung zu messen.

**[0097]** Die vorliegende Erfindung ist nicht durch die Art der radiotelemetrischen Ausstattung oder seiner Verwendungsverfahren beschränkt. In der Tat kann kommerziell erhältliches Equipment zur Verwendung mit den Einrichtungen der vorliegenden Erfindung modifiziert werden (z.B. Vorrichtungen, die von Data Sciences hergestellt werden). Ebenso können anwendungsspezifische radiotelemetrische Einrichtungen in Verbindung mit den implantierbaren analytmessenden Einrichtungen der vorliegenden Erfindung verwendet werden, die denen, die in der Literatur beschrieben sind, ähnlich sind [siehe z.B. McKean und Gough, IEEE Trans. Biomed. Eng. 35:526-532 (1988); Shichiri et al., Diabetes Care 9:298-301 (1986); und Shults et al., IEEE Trans. Biomed. Eng. 41:937-942 (1994)]. In einer bevorzugten Ausführungsform werden die Sender mit einem externen Magneten programmiert, um in 4-, 32-, oder 256-Sekunden-Intervallen, in Abhängigkeit von dem Erfordernis des Subjekts, zu übertragen; gegenwärtig beträgt die Batterielebensdauer bei den aktuell längsten Übertragungsintervallen (etwa 256 Sekunden) etwa bis zu zwei Jahren.

## V. Reaktionszeit und Kalibrierung

**[0098]** Jede Messmethode gibt ihre Daten mit einiger Verzögerung nach dem Messvorgang weiter. Damit die Daten nützlich sind, muss diese Verzögerung kleiner sein als manche Zeit, die von den Verfahrenserfordernissen abhängt. Daher wurde die Reaktionszeit der aktuellen Erfindung sorgfältig untersucht. Die Verwendung des Begriffs „Anfangsreaktion“ darf nicht mit dem Begriff „Reaktionszeit“ durcheinander gebracht werden. Nach der Stufenfunktionsänderung der Glucosekonzentration ist die Zeitverzögerung, bevor die erste eindeutige Änderung des Sensorsignals stattfindet, die „Anfangsreaktion“, während die nachfolgende Zeitverzögerung zum Erreichen von 90% der stationären Signalentwicklung die „Reaktionszeit“ ist. Die „Reaktionszeit“ ist der Faktor, der üblicherweise kontrolliert, wie schnell ein Sensor ein dynamisch änderndes System erspüren kann.

**[0099]** Des Weiteren ist die Zeit, die erforderlich ist, bevor ein Glucosesensor in einer FBC eine Anfangsreaktion auf eine bolus-intravenöse Glucoseinjektion aufzeigt, eine Funktion der tierischen „Umlaufzeit“ und des Sensors „Anfangsreaktion“. Die Umlaufzeit ist die Zeit, die für eine Bolusglucoseinjektion notwendig ist, um den Ort der Sensorimplantation zu erreichen.

**[0100]** Gewöhnlich stellt sich das Gleichgewicht zwischen den vaskulären und interstitiellen Abteilungen für die Glucose so schnell ein, dass es für die Anfangsreaktion oder die beobachtete Reaktionszeit keine Rolle spielt. Wenn die Spitze des Sensors in engem Kontakt mit dem interstitiellen Abteil (z.B. ein FBC) ist, dann gibt es keine signifikante Verzögerung der Glucosediiffusion von dem Kapillarlumen zu der Spitze des Sensors. Die Erfinder haben festgestellt, dass die Glucosesensoren der vorliegenden Erfindung in Hunden Anfangsreaktionen von etwa 30 Sekunden haben, wovon die Hälfte die Zirkulationszeit ist. Das Hundemodell ist ein nützliches und akzeptiertes Modell zur Bestimmung der Wirksamkeit der Glucoseüberwachungseinrichtungen.

**[0101]** Obgleich die Einrichtungen der vorliegenden Erfindung keine spezielle Reaktionszeit erfordern, so betragen in bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung die *in vitro* 90% Reaktionszeiten bei 37°C für nachträglich subkutan implantierte Einrichtungen bei Hunden 2 bis 5 Minuten. Obgleich die Verwen-

dung der Einrichtungen der vorliegenden Erfindung kein Verständnis der Faktoren erfordern, die die Reaktionszeit oder die Mechanismen der Faktoren beeinflussen, so wird geglaubt, dass die in vivo Reaktionszeiten primär eine Funktion der Glucosediiffusion durch die Sensormembran (z.B. eine 40-60 Micrometermembran) ist. Von Interesse ist, dass die Reaktionszeit von bis zu etwa 10 Minuten nicht die klinische Anwendbarkeit der Verfolgung der Blutglucose in Diabetespatienten beeinträchtigt, da sich die physiologischen und pathologischen Glucosespiegel nicht schneller als einige wenige Prozent pro Minute ändern.

**[0102]** Bei der Kalibrierung der Glucosesensoren der vorliegenden Erfindung ist es bevorzugt eine Einzel-punktrekalibrierung des Sensors in vier-Wochen-Intervallen gegen eine akzeptable Glucoserefenzmethode durchzuführen (z.B. eine Kalibrierung gegen Blut, das durch einen Fingerstich erhalten wurde). Im Allgemeinen beläuft sich die Rekalibrierung auf eine einfache Anpassung des Sensorzuwachses. Der Sensorgegenstrom (d.h. der Strom bei 0 mg/dL Glucose) muss während der Gebrauchszeit des Implantats für den Sensor unverändert bleiben, um optimale Daten zu liefern.

## VERSUCHE

**[0103]** Die folgenden Beispiele dienen zur Darstellung verschiedener bevorzugter Ausführungsformen und Aspekte der vorliegenden Erfindung und sind nicht so auszulegen, dass sie den Schutzbereich der Erfindung beschränken.

**[0104]** In der vorangegangenen Beschreibung und der nachfolgenden experimentellen Offenbarung werden die folgenden Abkürzungen verwendet: Eq and Eqs (Äquivalente); mEq (Milläquivalente); M (Molar); mM (Millimolar);  $\mu$ M (Micromolar); N (Normal); mol (Mol); mmol (Millimol);  $\mu$ mol (Micromol); nmol (Nanomol); g (Gramm); mg (Milligramm);  $\mu$ g (Microgramm); Kg (Kilogramm); L (Liter); mL (Milliliter); dL (Deziliter);  $\mu$ L (Microliter); cm (Zentimeter); mm (Millimeter);  $\mu$ m (Micrometer); nm (Nanometer); h und hr (Stunde); min. (Minute); s und sec. (Sekunde);  $^{\circ}$ C (Grad Celsius); Astor Wax (Titusville, PA); BASF Wyandotte Corporation (Parsippany, NJ); Data Sciences, Inc. (St. Paul, MN); DuPont (DuPont Co., Wilmington, DE); Exxon Chemical (Houston, TX); GAF Corporation (New York, NY); Markwell Medical (Racine, WI); Meadow Medical, Inc. (Oakland, NJ); Mobay (Mobay Corporation, Pittsburgh, PA); Sandoz (East Hanover, NJ); und Union Carbide (Union Carbide Corporation, Chicago, IL).

## BEISPIEL 1

**[0105]** Die Polyurethane werden vorzugsweise als Blockcopolymere mittels Lösungspolymerisationstechniken hergestellt, wie sie allgemein in Lyman [J. Polymer Sci. 45:49 (1960)] beschrieben sind. Insbesondere wird eine Zwei-Schritt-Lösungspolymerisationstechnik verwendet, bei der das Poly(oxiethylen)glycol zunächst durch Reaktion mit einem Diisocyanat „gekapppt“ wird, um ein Makrodiisocyanat zu bilden.

**[0106]** Das Makrodiisocyanat wird dann mit einem Diol (oder einem Diamin) gekoppelt und das Diisocyanat bildet ein Blockcopolyetherurethan (oder ein Blockcopolyurethanharnstoff). Die erhaltenen Copolymere sind zäh und elastisch und können in Lösung in N,N-Dimethylformamid gegossen werden, um klare Filme zu ergeben, die sich durch gute Nassfestigkeit auszeichnen, wenn sie in Wasser aufgequollen sind.

**[0107]** Insbesondere eine Mischung von 8,4 g (0,006 mol), Poly(oxiethylen)glycol (CARBOWAX<sup>®</sup> 1540, Union Carbide) und 3,0 g (0,012 mol) 4,4'-Diphenylmethandiisocyanat in 20 mL Dimethylsulfoxid/4-Methyl-2-Pentanon (50/50) wird in einen dreinackigen Kolben gebracht, der mit einem Rührer und einem Kühler ausgestattet ist, und vor Nässe geschützt. Die Reaktionsmischung wird bei 110°C für etwa eine Stunde gemischt und erwärmt. Zu dieser klaren Lösung werden 1,5 g (0,014 mol) 1,5-Pentandiol und 2,0 g (0,008 mol) 4,4'-Diphenylmethandiisocyanat hinzugefügt.

**[0108]** Nach einer Erwärmung bei 110°C für weitere zwei Stunden wird die erhaltene viskose Lösung in Wasser gegossen. Das gebildete zähe, gummiartige, weiße Polymerprecipitat wird in einem Waring Blender-Mischer zerhackt, mit Wasser gewaschen und in einem Vakuumofen bei etwa 60°C getrocknet. Der Ertrag ist im Wesentlichen quantitativ. Die dem Copolymer in N,N-Dimethylformamid eigene Viskosität beträgt 0,59 bei 30°C (bei einer Konzentration von etwa 0,05 Gew.-%).

## BEISPIEL 2

**[0109]** Wie vorher beschrieben, kann die Elektrolytschicht, die Membranschicht in nächster Nähe zu der Elektrode, mit einem in Wasser aufquellenden Film beschichtet sein. Dieses Beispiel illustriert eine Beschichtung,

die ein Polyurethan mit anionischen carboxylatfunktionalen Gruppen und hydrophilen Polyethergruppen und Polyvinylpyrrolidon (PVP), welches mit Carbodiimid kreuzvernetzt sein kann, aufweist.

**[0110]** Eine Beschichtungszubereitung wird durch Mischen eines Prämixes einer kolloidalen wässrigen Dispersion von Partikeln eines Urethanpolymers mit einem Polycarbonat-Polyurethan (PC-PU)-Rückgrat, welches Carboxylatgruppen enthält und dem wasserlöslichen hydrophilen Polymer, PVP, welches durch die Addition des Kreuzvernetzers unmittelbar vor der Herstellung der Beschichtungsmembran kreuzvernetzt wird, hergestellt. Beispiele für Beschichtungsformulierungen sind in Tabelle 1 beschrieben.

TABELLE 1

	A		B		C	
	Ge-wicht	Trocken-gew.-%	Ge-wicht	Trocken-gew.-%	Ge-wicht	Trocken-gew.-%
Premix						
PVP <sup>1</sup>	48	6	64	8	160	20
PC-PV <sup>2</sup>	260	91	248	87	200	70
Kreuz-vernetzer						
Carbodiimid <sup>3</sup>	6	3	10	5	20	10
Summen	314	100	322	100	380	100
1. Wässrige Lösung enthaltend 12,5 Gew.-% PVP, hergestellt aus Polyvinylpyrrolidon mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 360.000, welches als Pulver unter der Handelsmarke BASF K90 von BASF Wyandotte Corporation verkauft wird.						

2. Kolloidale Dispersion eines Polycarbonatpolyurethans (PCPU)-Polymers mit etwa 35 Gew.-% Feststoffen in eine cosolventen Mischung von etwa 53 Gew.-% Wasser und etwa 12 Gew.-% N-methyl-2-pyrrolidon (BAYBOND® 123 oder XW123; Mobay Corporation). So wie es geliefert wird, hat die Dispersion einen pH von etwa 7,5-9,0.
3. Carbodiimid (UCARLNK® XL25SE, Union Carbide Corporation) wird geliefert mit etwa 50 Gew.-% Feststoffen in einer flüssigen Lösung aus Propylenglycolmonomethyletheracetat.

**[0111]** Die Viskosität und der pH-Wert des Prämixes kann während der Verarbeitung kontrolliert und durch Hinzufügung von Wasser oder Einstellung des pH-Werts mit verdünnter Ammoniaklösung oder einer äquivalenten Base vor dem Hinzufügen des Kreuzvernetzers seine Brauchbarkeitsdauer aufrechterhalten werden.

**[0112]** Bei der Herstellung wird die Beschichtung mit einem Mayer-Stab auf die ungebundene Oberfläche ei-

ner Mehrschichtenmembran aufgetragen. Die Menge der aufgetragenen Beschichtung sollte einen Film mit einer „Trockenfilm“-Stärke von etwa 2,5 µm bis etwa 12,5 µm, vorzugsweise etwa 6,0 µm ergeben. Die Beschichtung wird oberhalb der Raumtemperatur, vorzugsweise bei etwa 50°C getrocknet. Die Beschichtung trocknet solange, bis sie im Wesentlichen einen Festgelähnlichen Film ergibt, welcher im Wasser aufquellen kann, um das Elektrolyt zwischen der Membran, welche die Elektrode bedeckt, und der Elektrode in der Elektrodenanordnung während der Verwendung aufrecht zu erhalten.

### BEISPIEL 3

**[0113]** Die folgenden Arbeitsschritte wurden ausgeführt, um die Menge des Enzyms zu bestimmen, welches in die Enzymschicht eingeschlossen werden soll. Es versteht sich von selbst, dass die vorliegende Erfindung nicht auf die Verwendung dieser oder einer ähnlichen Prozedur beschränkt ist und auch die Verwendung anderer Techniken, wie sie aus dem Stand der Technik bekannt sind, einschließt.

**[0114]** Aus dem Enzymgewicht und dem Endvolumen der Enzymschicht wurde eine Startglucoseoxidasekonzentration von  $2 \times 10^{-4}$  M errechnet. Anschließend wurde eine Serie von acht weiteren Membranformulierungen hergestellt, bei denen die Enzymkonzentration in 50% Schritten abgesenkt sind (dies wird als Änderung einer „halben Beladung“ bezeichnet), herunter bis auf  $7,8 \times 10^{-7}$  M. Die Sensorreaktionen wurden dann für diese Reihe an Enzymbeladungen gesammelt und mit computersimulierten Sensorausgaben verglichen. Die Simulationsparameterreihe, die verwendet wurde, schließt früher bestimmte Membranpermeabilitäten und Literaturmechanismen und Kinetiken für die Glucoseoxidase ein [Rhodes et al., Anal. Chem. 66: 1520-1529 (1994)].

**[0115]** Es bestand eine gute Übereinstimmung der realen in Bezug auf die simulierten Sensorausgaben bei allen Beladungen (Daten nicht gezeigt). Es waren etwa sechs bis sieben „Halbbeladungs“-Abfälle der Enzymaktivität erforderlich, bevor die Sensorausgabe 10% abfiel; ein weiterer zwei bis drei Halbbeladungsabfall der Enzymaktivität war notwendig, um die Sensorausgabe auf 50% der vollen Beladungssensorreaktion abfallen zu lassen. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die verwendete Beladung und die gemessenen Abfallraten eine bis zu zweijährige Performance dieser Sensoren ermöglichen, sofern der Sensor nicht über lange Zeiträume hohen Glucosekonzentrationen und physiologisch geringen O<sub>2</sub>-Konzentrationen ausgesetzt ist.

### BEISPIEL 4

**[0116]** Dieses Beispiel illustriert die Langzeitglucosesensoreinrichtungsreaktion, nachdem die Sensoreinrichtungen der vorliegenden Erfindung in einen Hund subkutan implantiert wurden. Die Stadien der FBC-Entwicklung werden durch die Langzeitglucosesensoreinrichtungsreaktion indiziert.

**[0117]** [Fig. 2](#) zeigt graphisch die Glucosespiegel in Abhängigkeit von der Tageszahl nach der Implantation. Die in [Fig. 2](#) gezeigten Daten wurden in vier-Minuten-Intervallen über einen Zeitraum von 60 Tagen nach der Implantation genommen. Die Sensorreaktion wurde aus einer Einzelpräimplantatkalibrierung bei 37°C errechnet. Die Glucosekonzentration bei normalem Fasten des Hundes von 5,5 mM ist zum Vergleich gezeigt.

**[0118]** Die in [Fig. 2](#) dargestellten Daten können zur Illustrierung der vier typischen identifizierbaren Phasen der FBC-Bildung verwendet werden. Phase 1 zeigt einen schnellen Abfall der Reaktion von dem Zeitpunkt der Implantation, im vorliegenden Fall Tag 3. Obgleich ein Verständnis des Mechanismusses für diesen Abfall der Sensorausgabe nicht erforderlich ist, um die vorliegende Erfindung auszuführen, so wird jedoch geglaubt, dass dies den geringen pO<sub>2</sub> und die geringe Glucose, die in der Flüssigkeit vorliegen, die mit dem Sensor in Kontakt steht, wiederspiegelt. Die Phase 2 zeigt intermittierend den Sensor-Gewebe-Kontakt in der Seroma-Flüssigkeit von in vorliegendem Fall Tag 3 bis etwa Tag 13. Während dieser Phase kontaktiert das anfällige neue Gewebe und die Blutversorgung intermittierend den Sensor (welcher von der Seroma-Flüssigkeit umgeben ist). Die Phase 3 zeigt die Stabilisierung der Kapillarversorgung zwischen, im vorliegenden Fall, den Tagen 13 und 22. Insbesondere verschwindet die Störanfälligkeit und die Sensorausgabe wächst über etwa 6 Tage auf ein Langzeitniveau an, welches mit dem Aufspüren der FBC-Glucose verbunden ist. Nochmals zur Wiederholung, obgleich ein Verständnis dieses Effektes nicht erforderlich ist, um die vorliegende Erfindung in die Praxis umzusetzen, so wird geglaubt, dass dieser Effekt den stetigen Kontakt des FBC-Gewebes mit der Sensoroberfläche wiederspiegelt. Phase 4 von, im vorliegenden Fall, dem Tag 22 bis zu dem Tag 60, zeigt die Länge der nützlichen Sensoreinrichtungslebenszeit. Obgleich es von Sensoreinrichtung zu Sensoreinrichtung Zeitunterschiede der Stadien gibt, so nehmen im Allgemeinen die ersten drei Schritte dieses Prozesses von Tag 3 bis zu 3 Wochen in Anspruch und es kann eine kontinuierliche Messung für nachfolgende Zeiträume (z.B. für Zeiträume von 150 Tagen und mehr) beobachtet werden.

## BEISPIEL 5

**[0119]** Zusätzlich zu der Sammlung von normalen glycémischen oder nicht-diabetischen Hundedaten durch den Sensor der vorliegenden Erfindung, wie er in Beispiel 4 gezeigt ist, können des weiteren die Kalibrationsstabilität, der dynamische Bereich, die Sauerstoffabhängigkeit, die Reaktionszeit und die Linearität des Sensors durch künstliche Manipulationen der intravenösen Glucose des Sensorwirtes untersucht werden.

**[0120]** Dies wurde in diesem Beispiel mittels Infusion eines 15 g Bolus mit 50% steriler Dextrose getan, welche intravenös in weniger als 20 Sekunden verabreicht wurde. Die Referenzblutglucosedaaten wurden dann von einer anderen Vene in 2-5 Minuten-Intervallen bis zu zwei Stunden nach der Bolus-Infusion genommen. [Fig. 3](#) stellt die Korrelationskurven von 6 Bolus-Infusionsuntersuchungen in Intervallen von 7-10 Tagen für einen Sensor der vorliegenden Erfindung dar. Die Sensorglucosekonzentrationen wurden unter Verwendung einer Einzel 37°C in vitro Präimplantationskalibrierung errechnet. Die Sensorreaktionszeit ist ausgewiesen als Berechnung der Sensorglucosekonzentrationen zu den Zeiten der Referenzblutabnahmen, bei dem die Sensordaten um 4 Minuten verschoben wurden.

**[0121]** Wie bei jeglichem analytischen System sollte auch bei den Einrichtungen der vorliegenden Erfindung periodisch eine Kalibrierung durchgeführt werden. Somit zieht die vorliegende Erfindung auch einige Intervalle für die Kalibrierung und/oder Kontrolltestungen in Betracht, um den analytischen, klinischen und behördlichen Anforderungen gerecht zu werden.

## BEISPIEL 6

**[0122]** Dieses Beispiel beschreibt Experimente, die sich auf die Sensorgenaugigkeit und Langzeitglucosesensorreaktion verschiedener Sensoreinrichtungen bezieht, die durch vorliegende Erfindung in Betracht gezogen werden.

## Vor der Implantierung stattfindende in vitro Evaluierung

**[0123]** Die in vitro Erprobung der Sensoreinrichtungen wurde auf eine Art und Weise durchgeführt, wie sie bereits früher beschrieben wurde [Gilligan et al., Diabetes Care 17:882-887 (1994)]. Kurz zusammengefasst, die Sensorperformance wurde verifiziert, indem die Linearität bis 100 mg/dL in Glucosekonzentrationsschritten von 0 mg/dL bis 400 mg/dL (22 mM) mit einer 90%igen Reaktionszeit auf die Glucoseschritte von weniger als 5 Minuten gezeigt wurde. Eine typische ausreichende Reaktion auf dieses Protokoll ist in [Fig. 4](#) gezeigt. Kontinuierliche Konzentrationen gelösten Sauerstoffs von einem  $\text{PO}_2$  von 150 bis runter auf 30 mm Hg (0:25 bis 0,05 mM) zeigten nicht mehr als einen 10%igen Abfall der Sensorausgabe bei 400 mg/dL für die bevorzugten Sensoreinrichtungen der vorliegenden Erfindung. Die Stabilität der Kalibrierung wurde in einem 10% Bereich für eine Woche aufrechterhalten, bevor die abschließende biologische Schutz- und Angiogenesemembran hinzugefügt wurden, um die Implantatverpackung zu vervollständigen. Ein letzter Kalibrationscheck wurde durchgeführt und musste innerhalb von 20% der früheren Sensorergebnisse liegen, um in das Implantatstadium zu gelangen. Diese letzten Kalibrierungsfaktoren (lineare Regression der kleinsten Quadrate für den Null-Glucose-Strom und den Ausgang auf 100 mg/dL-Strom) wurden für die Ausgangs in vivo Kalibrierung verwendet. Die Sensoreinrichtungen wurden mit 0,05% Thimerosal 24 Stunden unmittelbar vor der Implantation trockensterilisiert.

## In vivo Prüfung

**[0124]** Sechs Sensoreinrichtungen, die den oben genannten Parametern gerecht werden, wurden unter Vollnarkose (Pentothal-Induktion für die Herbeiführung, gefolgt von einer Halothan-Aufrechterhaltung) chirurgisch in das paravertebrale subkutane Gewebe derselben nicht diabetischen Mischlingshunde implantiert. Es wurde ein Zweizollhautschnitt einige Zoll von der Wirbelsäule entfernt für jedes Implantat durchgeführt, welches die Herstellung eines gut sitzenden subkutanen Beutels mittels stumpfer Sektion ermöglicht. Das Implantat wurde dann in den Beutel mit dem Sensor nach unten eingesetzt. Das subkutane Gewebe wurde dann mit 3-0 Vicryl und die Haut mit 2-0 Nylon geschlossen. Die Tiere wurden genau in Bezug auf Beschwerde nach der Chirurgie beobachtet und bei Bedarf Analgetika verabreicht.

**[0125]** Die Sensoreinrichtungen wurden jeweils zwei Mal in demselben Hund in etwa sechs-Wochen-Intervallen implantiert. Vier der Sensoreinrichtungen waren mit einer PTFE-aufweisenden angiogenen Schicht bedeckt (diese Sensoreinrichtungen wurden als Sensoren 1901, 1902, 1903 und 1905 bezeichnet), während zwei der Sensoreinrichtungen als Kontrollsensoreinrichtungen dienten und keine angiogene Schicht aufwie-

sen, d.h. sie hatten eine biologische Schutzmembran und darunter liegende Sensorgrenzflächenstrukturen, wie sie vorher beschrieben wurden (diese Sensoreinrichtungen wurden als Sensoren 1904 und 1906 bezeichnet). Um die Verankerung der Einrichtungen in dem subkutanen Gewebe sicherzustellen, wurden die Sensorseiten von jedem Implantat, außer der Bereich über der Sensorspitze, in chirurgisches Doppelvelourpolyestergewebe (Meadox Medical, Inc.) gehüllt. Alle Sensoreinrichtungen wurden nach der Implantation in vier-Minuten-Intervallen unter Verwendung der Radiotelemetrie verfolgt, um die langfristige Sensorreaktion auf die Normoglycemia zu verfolgen, welches erlaubt, die langfristige Stabilität des Sensors zu verifizieren. Um die Sensorreaktion auf Glucoseänderungen an bestimmten Tagen nach der Implantation zu überprüfen, wurde die Reaktion auf 0,5 mg Glucagon gemessen, welches subkutan verabreicht wurde. Die reagierenden Sensoren wurden durch ein charakteristisches stabiles Signal vor der Glucagonverabreichung identifiziert, gefolgt von einem wesentlichen Signalanstieg innerhalb von 20 Minuten nach der Glucagoninjektion. Die Sensorstöße drehten sich dann um und kehrten auf die vorherigen Signalpegel innerhalb einer Stunde nach der Glucagoninjektion zurück.

**[0126]** Um die in vivo Sensorreaktionszeiten, die Kurzzeitstabilität, die Linearität zur Glucosekonzentration und mögliche sauerstoffcofaktorenlimitierende Wirkungen zu untersuchen, wurden Glucoseinfusionsstudien von bis zu fünf Stunden Dauer an dem Hund durchgeführt. Diese Studien wurden etwa einmal alle drei Wochen durchgeführt. Der Hund war zuvor trainiert worden, um sich wohl zu fühlen, und war vollster Aufmerksamkeit während dieses Versuchs. In diesen Experimenten wurde das Somatostatin-Analog Octreotid (SANDOSTATIN®, Sandoz) verwendet, um die Freisetzung von Insulin zu unterdrücken, was ein langsames Eintauchen der Blutglucose in den 400-500 mg/dL Konzentrationsbereich ermöglicht.

**[0127]** Die Sensoren wurden in 32-Sekunden-Intervallen überwacht, was die simultane Verfolgung von bis zu sechs Sensoreinrichtungen ermöglicht. In diesem Protokoll wurde Octreotid 15-20 Minuten vor dem Beginn der Glucoseinfusion injiziert (36-50 µg/kg). Kanülen wurden in zwei periphere Venen des Hundes eingeführt, um die Glucoseinfusion und die Blutglucoseproben zu ermöglichen. Es wurde 10%ige Dextrose (0,55 mM) kontinuierlich in schrittweise ansteigenden Raten eingeflößt, um einen gleichmäßigen Anstieg der Blutglucose von der nahezu Fastenglucosekonzentration von etwa 100 mg/dL bis über 400 mg/dL zu erreichen. Dieses Infusionsprotokoll stellt Sensorglucosekonzentrationsdaten bereit, welche mit den Referenzplasmaglucosewerten korreliert werden können, wenn Blutproben von dem Tier alle 5-10 Minuten genommen wurden. Die primären Referenzglucosewerte wurden unter Verwendung einer Hexokinase-Methode an dem DuPont Dimension AR® ermittelt. Ein DIRECT 30/30® Messgerät (Markwell Medical) wurde ebenfalls während der Durchführung des Experimentes verwendet und diente als sekundäre Überwachung der Referenzblutglucosewerte und zur Abschätzung, wann 400 mg/dL erreicht wurden. Zu diesem Zeitpunkt wurde die Glucoseinfusionspumpe abgestellt und der Blutglucose ermöglicht, auf ihr normales Niveau zurückzukehren.

**[0128]** Eine weitere Variation des oben beschriebenen Protokolls schließt die Untersuchung der Wirkung einer Insulinverabreichung auf die Blutglucosekonzentration vor der Octreotid-Injektion ein. Für diese Untersuchungen wurden 5 Insulineinheiten intravenös injiziert, die Blutglucose auf 40 mg/dL mit dem DIRECT 30/30® (Markwell Medical) eingestellt, die Octreotid-Injektion wie vorher durchgeführt und dann die Infusionspumpe angeschaltet. Während die Ausgangsglucosepumpenrate die gleiche war, erhöhte sie sich schneller als vorher, um dem Insulin entgegenzuwirken und das gleiche experimentelle Timing aufrecht zu erhalten.

**[0129]** Sobald die Untersuchungen beendet waren, wurden die Daten zunächst unter Verwendung der endgültigen in vitro Sensorkalibrationsfaktoren analysiert, um die implantierten Sensorglucosekonzentrationen zu berechnen. Wenn bei diesen Faktoren Änderungen notwendig waren, um die lineare Regression der Sensoren auf die Referenzblutglucose zu optimieren, so wurden diese durchgeführt und vermerkt und über die Lebensspanne der Sensoreinheit verfolgt.

**[0130]** Zu verschiedenen Zeitpunkten waren die implantierten Sensoreinrichtungen nicht mehr optimal und wurden dann explantiert, um die zu Grunde liegende Ursache festzustellen (nicht mehr optimal wurde als Unfähigkeit einer genauen Verfolgung der Glucoseinfusion während zwei aufeinander folgenden Tests definiert). Die explantationschirurgischen Protokolle waren sehr ähnlich zu denen, die für die Implantationsprozedur verwendet wurden, mit Ausnahme dessen, dass die Fremdkörperkapsel um das Perimeter des ovalen Implantats geöffnet wurde. Die Rückseite und die Seiten des Gehäuses hatten keine Gewebebefestigung (da sie nicht mit Polyesterelours bedeckt waren), und konnten somit leicht von dem umgebenden Gewebe separiert werden. Die Spitze der Sensoreinrichtung mit der angehefteten Kapsel wurde dann von dem subkutanen Gewebe vorsichtig freigeschnitten.

**[0131]** Sobald die Explantation stattgefunden hatte, wurden die Sensoreinrichtungen vorsichtig unter einem

Sezermikroskop untersucht mit Blick auf den Zustand des Kapselgewebes, welches die Sensormembrane kontaktiert. Sobald dies charakterisiert und dokumentiert wurde, wurde das Gewebe vorsichtig von der Membranoberfläche entfernt und für die histologische Untersuchung aufgehoben. Wenn die Besichtigung des Sensors intakte Membranschichten zeigte, wurde ein erster in vitro Kalibrierungscheck durchgeführt. Die Sensoren wurden dann von der Membranspitze beginnend nach unten auseinander gebaut (d.h. von der Membran, welche am weitesten von den Elektroden gelegen ist), wobei ein Glucose- und Wasserstoffperoxidkalibrierungscheck nach der Entfernung jeder Schicht durchgeführt wurde. Dies erlaubt die Differenzierung der Mechanismen, die zu suboptimalen Ergebnissen in den Membranen führen, und die Feststellung, ob solche Prozesse wie beispielsweise Rissbildung durch Umweltstress, biologische Anschmutzung oder der Verlust von Enzymaktivität stattgefunden haben.

### Ergebnisse und Schlussfolgerungen

**[0132]** Typische Glucoseinfusionsstudien: Die sechs Sensoreinrichtungen wurden für 20-150 Tage eingesetzt und unter Verwendung des Octreotid-Glucoseinfusionsprotokolls ausgewertet. Die [Fig. 5A](#), [Fig. 5B](#) und [Fig. 5C](#) zeigen drei in vivo Sensorreaktionskurven (unter Verwendung der besten Kalibrierungsfaktoren), die zusammen mit den Referenzblutglucosewerten des Sensors 1903 zu den Nachimplantationszeitpunkten von 25, 88 und 109 Tagen gezeichnet sind; diese Daten sind repräsentativ für die Daten, die mit den Sensoreinrichtungen der vorliegenden Erfindung erhältlich sind. Bezugnehmend auf die [Fig. 5A](#)-C zeigt der mit „#1“ bezeichnete Pfeil die Octreotid-Injektion, der mit „#2“ bezeichnete Pfeil das Anschalten der Glucoseinfusionspumpe und der mit „#3“ bezeichnete Pfeil das Ausschalten dieser Pumpe. Die 90%ige Reaktionszeit für diesen Sensor über seine Lebensdauer lag in dem Bereich von 5-10 Minuten und betrug 5 Minuten für die gezeigten Daten. Solche Reaktionszeiten sind ausreichend, da die Änderungen bei Diabetikpatienten im geringeren Maße erfolgt als dies bei den verwendeten Infusionsprotokollen der Fall ist.

**[0133]** [Fig. 6](#) stellt graphisch die Sensorglucose der Referenzglucose (für den Sensor 1903) unter Verwendung eines Einzelsets an Kalibrierungsfaktoren vom Tag 88 gegenüber. Wie in [Fig. 6](#) gezeigt, werden, wenn die Sensorglucose gegenüber der Referenzglucose gezeichnet ist, die Änderungen der Sensorkalibrierung über die Lebenszeit des Sensors ersichtlich. Diese Änderungen spiegeln primär die Ausgabesensitivität in Bezug auf einen bekannten Glucosekonzentrationsschritt wieder, während der Null-Strom äußerst stabil bleibt. Diese Ergebnisse legen nahe, dass die in vivo Rekalibrierung vorzugsweise jeden Monat für diesen Sensor durchgeführt werden sollte, um eine optimale Glucoseverfolgung zu ermöglichen.

### Performancevergleiche

**[0134]** Angiogenesestimulierende Membransensoren im Vergleich zu Kontrollmembransensoren: Im Allgemeinen kann eine Einschätzung über die Verbesserung eines Sensors dahingehend bewertet werden, ob signifikante Verbesserungen in der Sensoranlaufzeit, erhöhte Werte des funktionierenden Glucosesensors, eine Verlängerung der Sensorlebensspanne und eine Aufrechterhaltung der Kalibrierungsfaktoren vorliegen. Die Lebensspanne eines Glucosesensors kann als die Zeit definiert werden, die sich von der ersten Glucosemessung (in diesem Fall während einer Glucagonanregung) bis zu der letzten Glucoseinfusionsstudie, welche korrekte Glucosetrends auf die Konzentrationsänderungen bereitstellt, erstreckt. Alle Sensoren zeigten eine Glucoseverfolgung und nur ein Sensor hatte eine Gebrauchszeit von weniger als 10 Tagen. Für die Sensoren, welche mit der angiogenesestimulierenden Membran ausgestattet waren, wurde eine durchschnittliche Sensorlebensspanne von  $84 \pm 55$  Tage beobachtet, welches ausgezeichnete Werte in Bezug auf die Kontrollsensoren sind, welche lediglich eine Lebensspanne von  $35 \pm 10$  Tagen zeigten. Des Weiteren stellte einer der Sensoren, der eine angiogene Membran hatte, optimale Daten bis zu 150 Tagen zur Verfügung.

**[0135]** Die oben gegebene Beschreibung und experimentellen Materialien dienen lediglich zur Illustration der vorliegenden Erfindung, ohne den Schutzbereich dieser zu beschränken.

### Patentansprüche

1. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten, umfassend:
  - a) ein Gehäuse (**1**, **2**), das elektronische Schaltungsmittel (**8**) und mindestens zwei Elektroden (**20**, **21**, **22**) umfasst, die betriebsfähig mit den elektronischen Schaltungsmitteln verbunden sind; und
  - b) eine Sensorvorrichtung, die betriebsfähig mit den Elektroden des Gehäuses verbunden ist, wobei die Sensorvorrichtung
    - i) eine biologische Schutzmembran (**33**) und
    - ii) eine angiogene Schicht (**34**), die Poren umfasst, welche die Entwicklung von Blutgefäßen erhalten, wobei

die angiogene Schicht mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzmembran; umfasst  
**dadurch gekennzeichnet**, dass die Sensorvorrichtung aus dem Gehäuse herausragt.

2. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die biologische Schutzmembran (33) im Wesentlichen für Makrophagen undurchdringlich ist.

3. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die biologische Schutzmembran (33) Poren umfasst, die Poren-Durchmesser aufweisen, die sich von etwa 0,1 Mikrometer bis etwa 1,0 Mikrometer erstrecken.

4. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die biologische Schutzmembran (33) Polytetrafluorethylen umfasst.

5. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die angiogene Schicht (34) Polytetrafluorethylen umfasst.

6. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, ferner umfassend c) Mittel zum Befestigen des Gerätes an biologischem Gewebe, wobei das Befestigungsmittel mit dem Gehäuse verbunden ist.

7. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 6, wobei das Befestigungsmittel Poly(ethylenterephthalat) umfasst.

8. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die Sensorvorrichtung ferner Mittel zur Bestimmung der Glucosemenge in einer biologischen Probe umfasst.

9. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 8, wobei das Mittel zur Glucosebestimmung eine Membran umfasst, die Glucose-Oxidase (32) enthält, wobei die Glucose-Oxidase enthaltende Membran mehr proximal zu dem Gehäuse positioniert ist als die biologische Schutzmembran.

10. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei das Gehäuse ferner Mittel zur Übermittlung von Daten zu einer Stelle außerhalb des Gerätes umfasst.

11. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 1, wobei die Sensorvorrichtung Mittel zur Bestimmung der Glucosemenge in einer biologischen Probe umfasst, das Mittel zur Glucosebestimmung betriebsfähig mit den Elektroden (20, 21, 22) verbunden ist und wobei die biologische Schutzmembran (33) mehr distal zu dem Gehäuse positioniert ist, als die Mittel zur Glucosebestimmung und im Wesentlichen für Makrophagen undurchdringlich ist.

12. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, wobei das Mittel zur Glucosebestimmung eine Membran (32) umfasst, die Glucose-Oxidase enthält.

13. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, wobei die biologische Schutzmembran (33) ferner Poren umfasst, die Durchmesser aufweisen, die sich von etwa 0,1 Mikrometer bis etwa 1,0 Mikrometer erstrecken.

14. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 13, wobei die Poren der biologischen Schutzmembran (33) Durchmesser aufweisen, die sich von etwa 0,2 Mikrometer bis etwa 0,5 Mikrometer erstrecken.

15. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, wobei die biologische Schutzmembran (33) Polytetrafluorethylen umfasst.

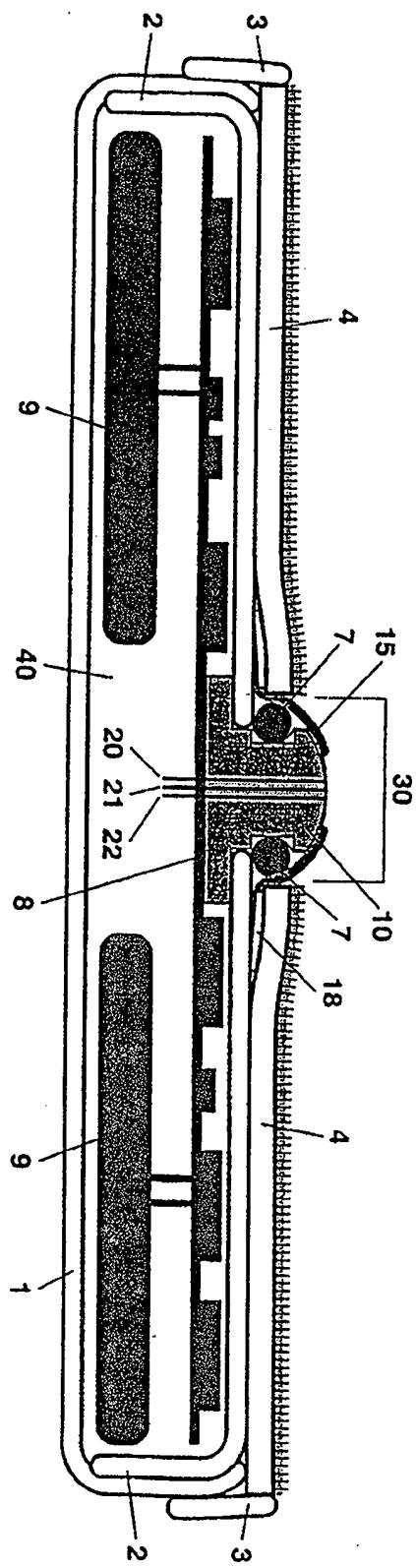
16. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, wobei die angiogene Schicht (34) Polytetrafluorethylen umfasst.

17. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, ferner umfassend c) Mittel zum Befestigen des Gerätes an biologischem Gewebe, wobei die Befestigungsmittel mit dem Gehäuse verbunden sind.

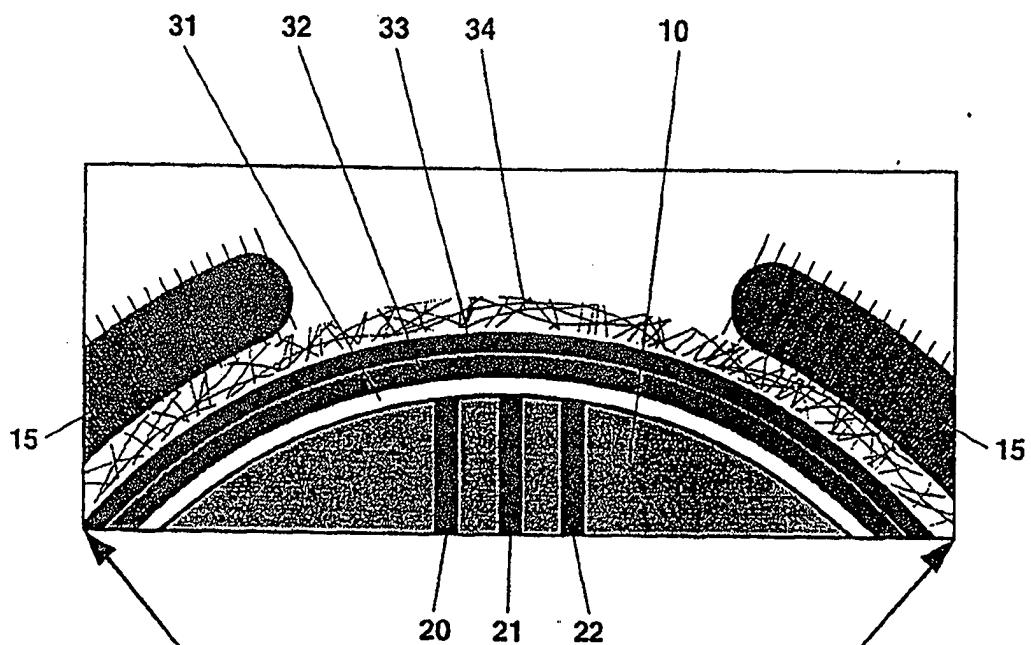
18. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 17, wobei die Befestigungsmittel Poly(ethylenterephthalat) umfassen.
19. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 11, wobei das Gehäuse ferner Mittel zur Übermittlung von Daten zu einer Stelle außerhalb des Gerätes umfasst.
20. Messeinrichtung für biologische Flüssigkeiten nach Anspruch 19, wobei die Mittel zur Übermittlung von Daten ein radiotelemetrisches Gerät umfassen.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

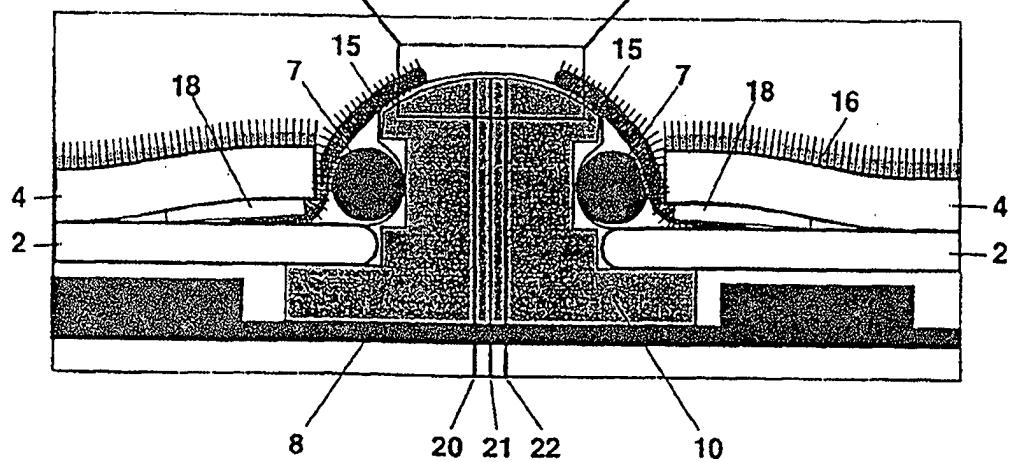
Figur 1a



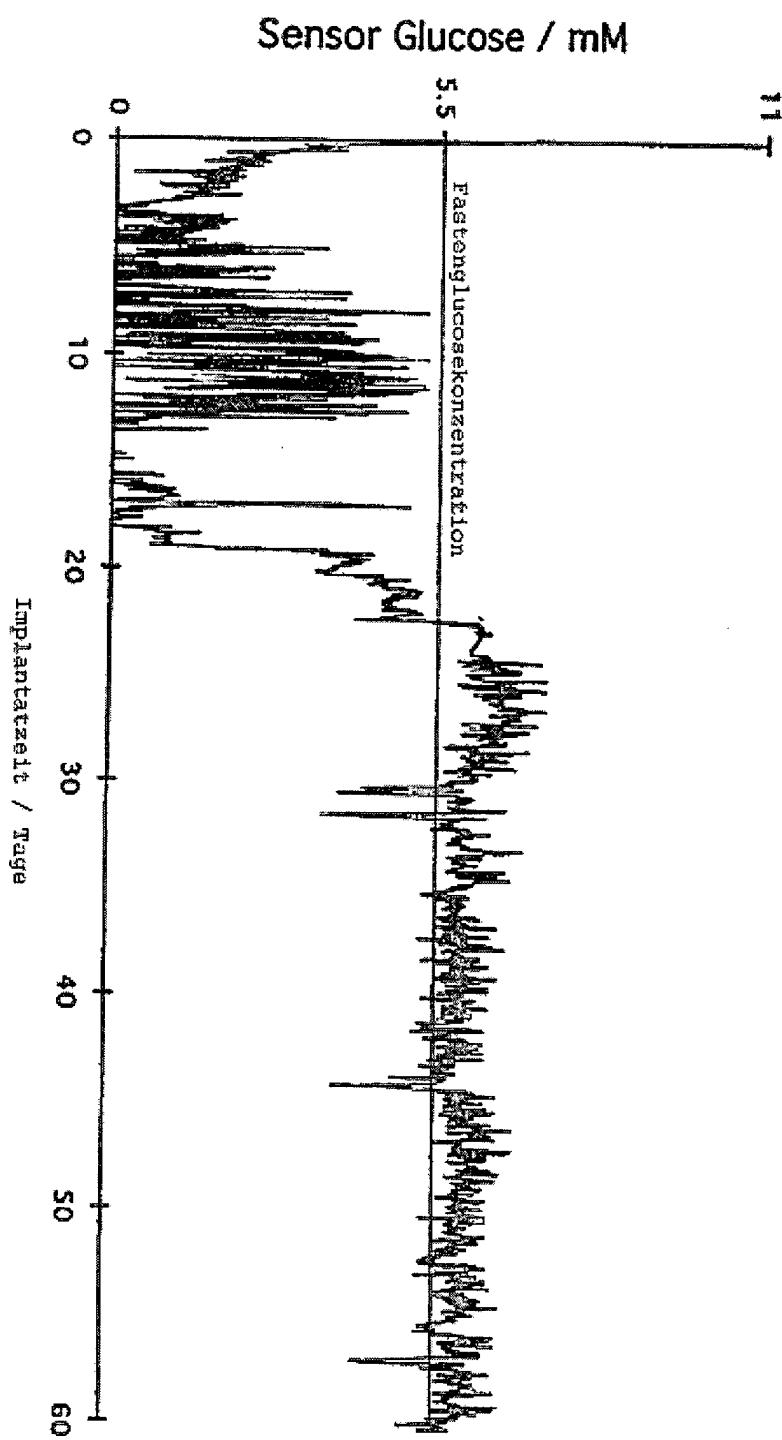
Figur 1c



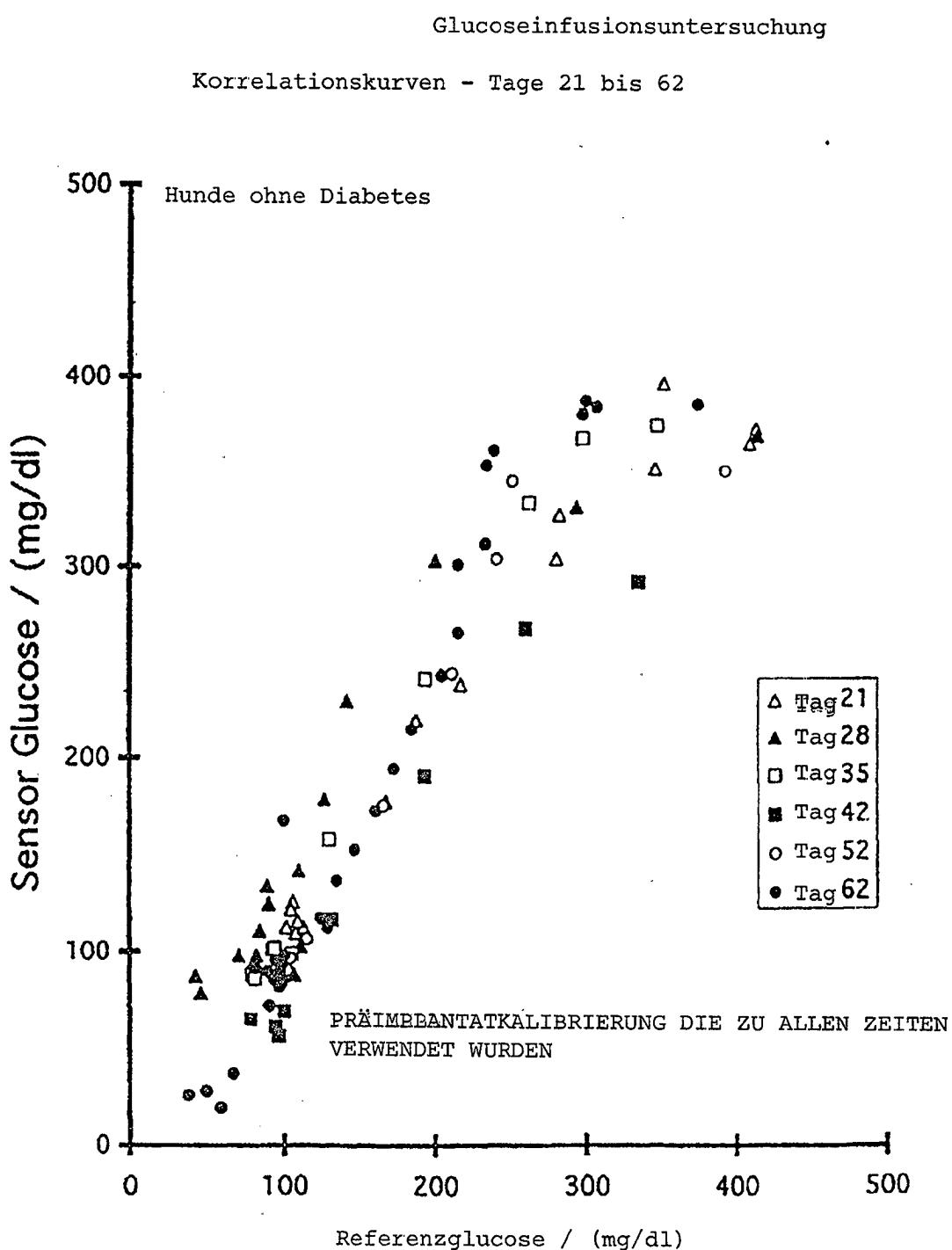
Figur 1b



Figur 2

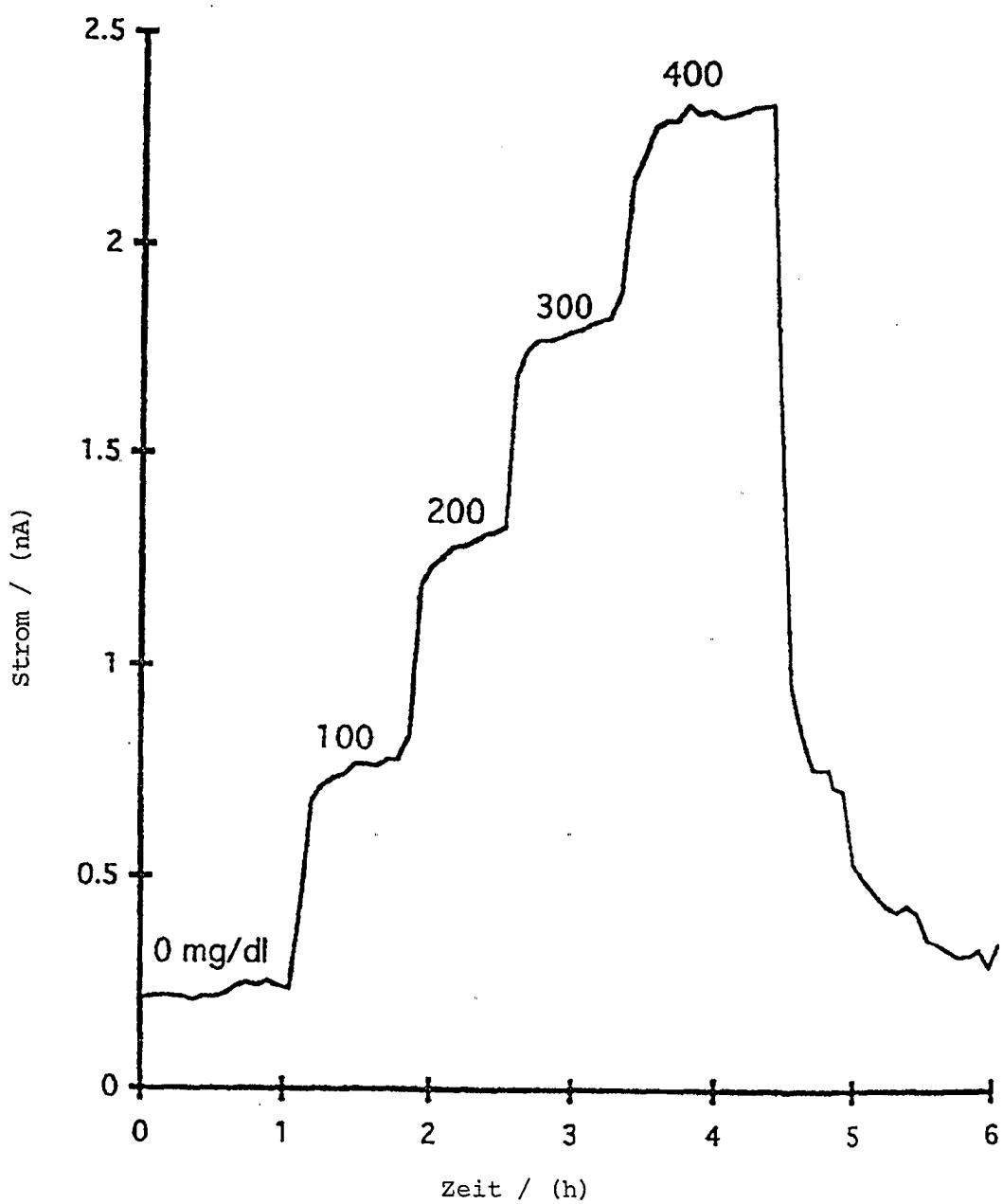


Figur 3



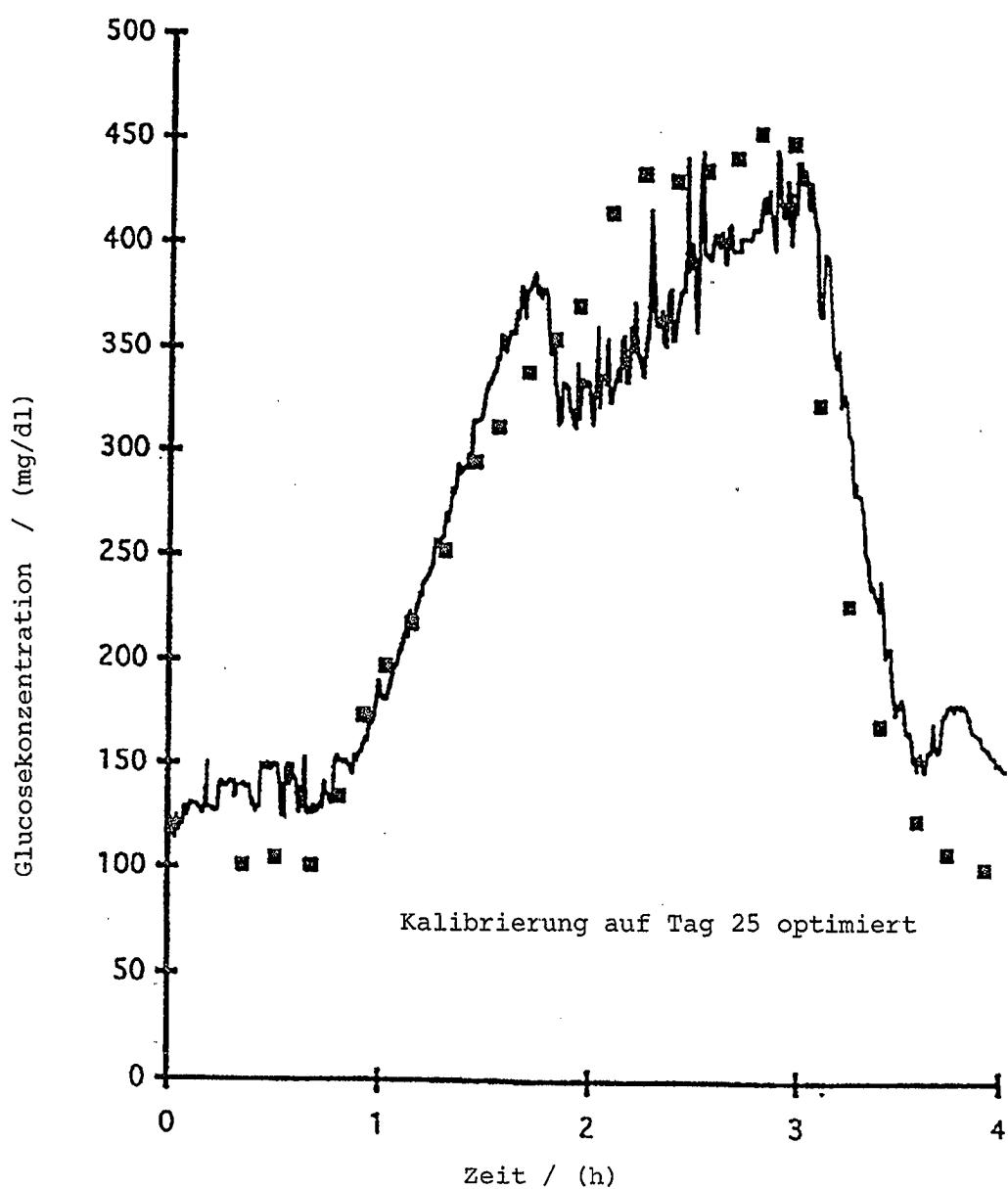
Figur 4

In Vitro Kalibrierung auf Glucose



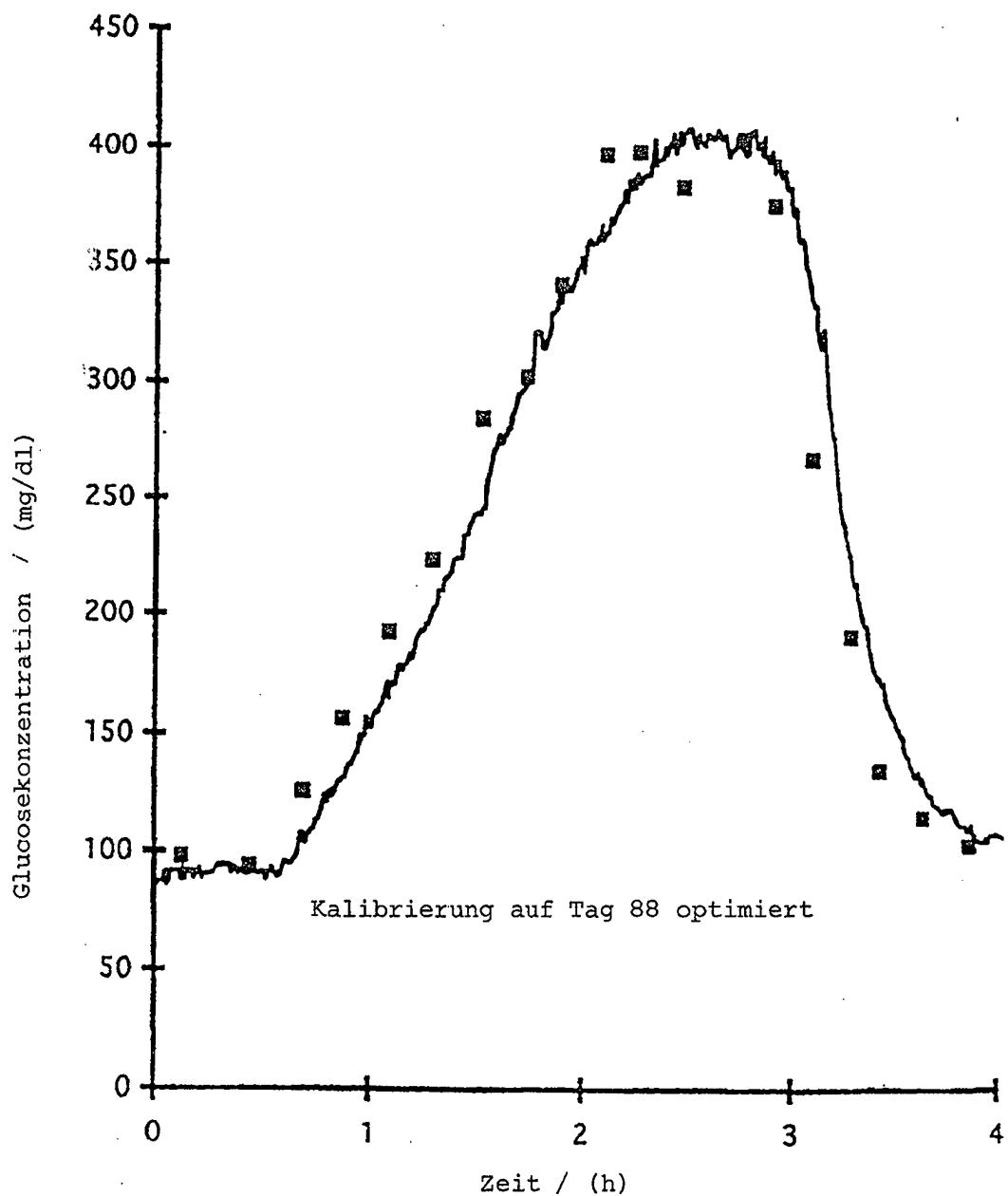
Figur 5a

Glucoseinfusionsuntersuchung - 25 Tage  
nach der Implantierung



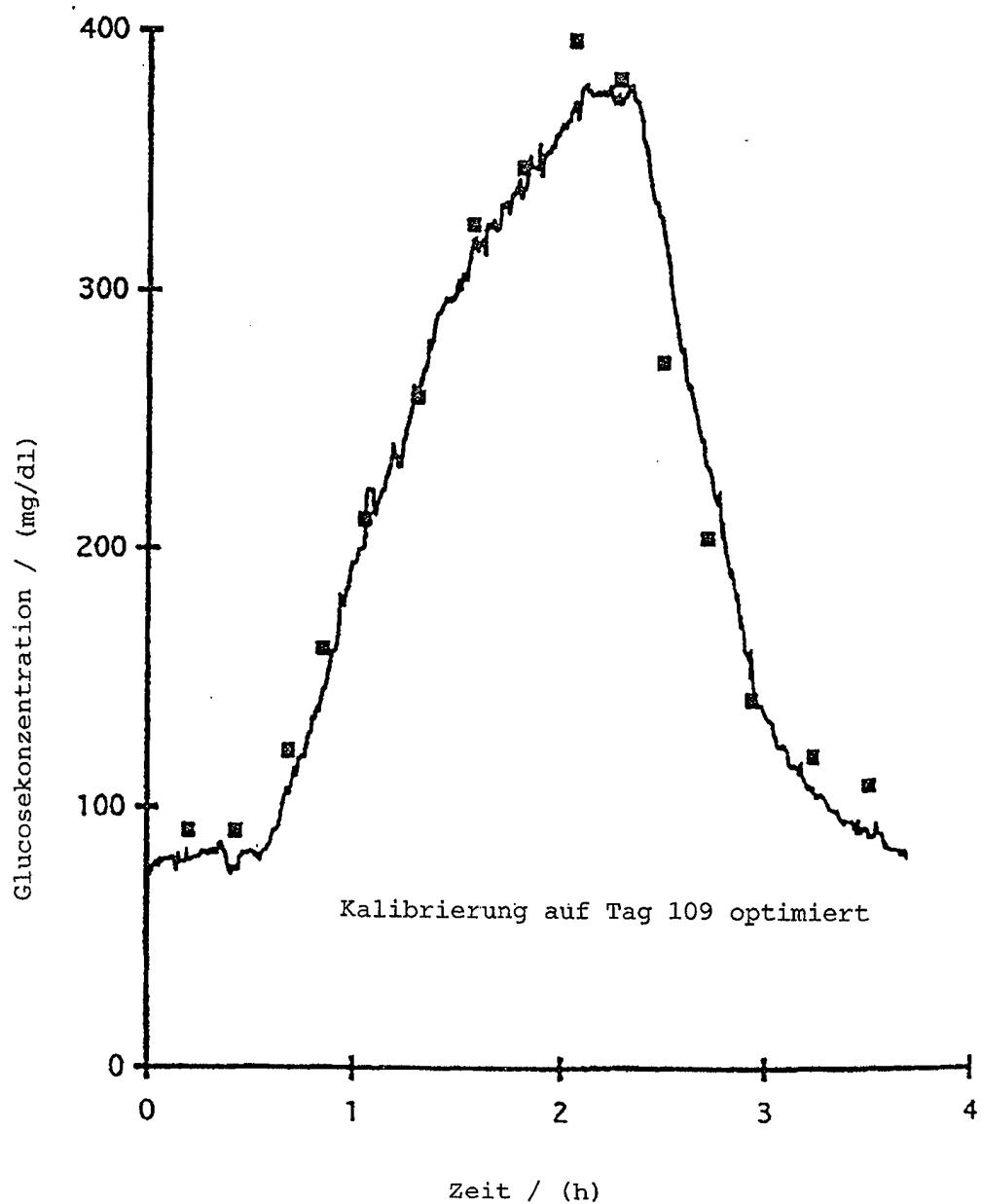
Figur 5b

Glucoseinfusionsuntersuchung - 88 Tage nach  
der Implantierung



Figur 5c

Glucoseinfusionsuntersuchung - 109 Tage  
nach der Implantierung



Figur 6

