

MESURE CONTINUE DE LA GLYCEMIE : METHODES INVASIVES UTILISANT UN CAPTEUR DE GLUCOSE

par
G. REACH*, B. AUSSÉDAT*, C. CHOLEAU*, J.C. KLEIN**
et G.S. WILSON***

On peut situer à la fin des années 70 un tournant dans l'histoire du traitement du diabète [1] : c'est à cette époque que sont publiées les données suggérant que l'apparition des complications du diabète est liée à la qualité du contrôle glycémique [2, 3]. C'est en 1976 qu'a lieu la découverte du rapport entre le taux d'hémoglobine glyquée et l'équilibre métabolique des mois qui précèdent [4] ; c'est en 1979 qu'est mis au point le premier appareil autotopique permettant de développer véritablement l'autosurveillance glycémique [5], qu'on voit les premières séries importantes de patients traités par pompes portables [6], et, moins de trois ans plus tard, les premières publications sur les pompes implantables [7]. C'est aussi la période où deux révolutions thérapeutiques sont *annoncées* : 1974, c'est l'année où sont développés les premiers pancréas artificiels, reposant sur l'application à la mesure de la glycémie d'un principe physique permettant une mesure continue de la glycémie ; celle-ci est capable de commander le débit d'une pompe à insuline et de normaliser, au moins pendant quelques heures, la glycémie [8] ; 1976, c'est l'année où la greffe de pancréas prend son essor, et où Paul Lacy applique à la greffe d'îlots de Langerhans le concept d'immunoaltération des îlots qui permet d'envisager une greffe en l'absence d'immunosuppression ; c'est l'année des premières publications sur les pancréas bioartificiels dans lesquels les îlots de Langerhans seraient immunoprotégés par une membrane artificielle, et où l'on commence à parler de xéno greffe d'îlots en l'absence de toute immunosuppression.

Au cours des deux décennies qui ont suivi, deux autres *annonces* ont fait espérer d'autres progrès permettant d'améliorer la qualité de la vie de nos patients, concernant non pas le traitement, mais la surveillance du diabète : celle, en 1982, de la mesure en continu de la glycémie au moyen d'un capteur de glucose implanté dans le tissu sous-cutané [9], qui permettrait aux patients de disposer d'un dispositif indiquant en permanence leur glycémie, et surtout qui déclencherait une alarme en cas d'hypoglycémie imminente ; celle, en 1991, de la mise au point de la mesure non invasive de la glycémie par spectroscopie infrarouge, qui ne nécessiterait plus l'obtention d'une goutte de sang capillaire, annoncée à grand renforts médiatiques sous le nom de *dream beam* [10].

Dans cette perspective historique, on peut enfin remarquer que l'attention des diabétologues, illustrée par le retentissement de l'étude DCCT [11], après avoir été focalisée, à juste titre, sur la prévention des complications à long terme du diabète et avoir atteint déjà certains résultats, notamment en matière de prévention de la néphropathie [12], s'est plus récemment concentrée sur le risque d'hypoglycémie sévère, notamment à la suite des données de l'étude DCCT [13]. Ce risque représente d'une part un problème en soi, d'autre part est cause de l'hésitation de bon nombre de patients à réellement rechercher un équilibre glycémique optimal. Un phénomène particulièrement gênant est en effet la disparition des phénomènes avant-coureurs de l'hypoglycémie observée chez les patients bien équilibrés [14], phénomène dans lequel l'hypoglycémie elle-même pourrait jouer un rôle causal. Ainsi, le diabète sucré insulino-dépendant pourrait être véritablement considéré comme une maladie touchant deux fonctions, non seulement l'insulinosécrétion pancréatique, mais aussi la reconnaissance cérébrale de l'hypoglycémie. On comprend que les outils de l'insulinothérapie aient été très vite couplés à des instruments d'autosurveillance glycémique. Cependant, dans son état actuel, cette dernière présente des limites. Elle a surtout le défaut d'être discontinue, ne pouvant donner un renseignement que sur l'instant où elle est pratiquée, ne pouvant être réalisée la nuit de manière répétée, au moment où surviennent surtout les hypoglycémies (entre une heure et trois heures du matin). De fait, si on voulait avoir une image réelle des excursions glycémiques [15] survenant sur le nyctémère chez un patient insulino-traité, il faudrait que le patient accepte de réaliser au moins 6 à 7 mesures de la glycémie, avant et après chaque repas, au coucher, et au milieu de la nuit.

De ce qui précède, on peut conclure que le développement d'un système de mesure en continu de la glycémie représenterait en soi une révolution dans l'histoire du traitement du diabète insulino-dépendant [1]. Le but de cet article est de faire le point sur une des approches possibles : celle reposant sur des méthodes invasives utilisant un capteur de glucose, directement implanté dans les tissus du patient ou dosant le glucose dans le liquide d'un système de microdialyse. Les autres approches actuellement à l'étude, reposant sur l'iontophorèse ou sur des méthodes entièrement non invasives, sont traitées plus en détail ailleurs dans ce volume.

CAHIER DES CHARGES D'UN SYSTEME DE MESURE EN CONTINU DE LA GLYCEMIE

Le système est fait d'un capteur de glucose et d'un système électronique : le capteur de glucose est un instrument capable de

*INSERM U341, service de diabétologie, Hôtel-Dieu, 1 place du Parvis de Notre-Dame, 75004 Paris.

transformer de manière continue une concentration de glucose en un signal dont l'interprétation peut, en retour, donner une estimation continue de la concentration de glucose. Le système électronique est l'appareillage qui permet au capteur de fonctionner et qui gère les données produites par ce dernier.

Calibration

Le rapport entre le signal produit par le capteur de glucose, ayant par exemple la forme d'un courant électrique exprimé en nA, et la concentration en glucose correspondante exprimée par exemple en g/l, définit un coefficient de sensibilité du capteur exprimé en nA/g/l. On peut ensuite utiliser ce paramètre pour "calibrer" le système, c'est-à-dire transformer le courant produit par le capteur à chaque instant en une estimation de la concentration en glucose. Comme il n'existe le plus souvent pas de corrélation entre les valeurs de la sensibilité du capteur observées in vitro et in vivo [16, 17, 18], une étape de calibration in vivo est donc indispensable. Il est important de réaliser que cette étape cruciale n'est pas évidente, notamment lorsque le capteur de glucose n'est pas implanté dans le sang, mais dans un espace interstitiel, par exemple le tissu sous-cutané.

Dans le procédé de calibration à un point, le coefficient de sensibilité du capteur est simplement déterminé en divisant une valeur du courant à un moment donné par la glycémie concomitante ; en divisant ensuite à chaque instant le courant par le coefficient de sensibilité, on obtient en retour une mesure continue de la concentration en glucose [19, 20]. Cette méthode de calibration n'est valable que si, d'une part, le courant de fond (qui serait obtenu en absence de glucose) est négligeable, et si, d'autre part, le point choisi pour déterminer le coefficient de sensibilité correspond à un état où la concentration en glucose dans le milieu interstitiel, que mesure le capteur de glucose, reflète la glycémie. De plus, l'estimation ultérieure, après calibration, de la concentration en glucose peut ne pas être identique à la glycémie si il existe un délai entre les variations des deux paramètres. Un algorithme mathématique a été proposé pour compenser les différences entre les deux paramètres notamment dans des situations de variations de la glycémie [21].

Dans un procédé de calibration à deux points, la glycémie et le courant sont déterminés à deux moments, par exemple avant et après une charge en glucose ou une injection d'insuline [18, 22, 23]. Les paramètres de la calibration, la sensibilité et le courant de fond, sont déterminés par extrapolation linéaire et sont ensuite utilisés pour estimer la concentration de glucose sous-cutané à partir du courant lors des variations de la glycémie. Cette méthode est valable quel que soit le courant de fond, mais ici également son application suppose que les variations de la concentration en glucose dans le tissu interstitiel et dans le sang sont identiques.

Nous avons récemment montré que chez le rat, il existait des discordances entre glucose interstitiel et glycémie, notamment lors de variations de la glycémies provoquées par l'effet de l'insuline [24, 25]. Ces discordances peuvent rendre difficile l'interprétation des résultats, non seulement parce qu'elles peuvent gêner la détermination du coefficient de sensibilité du capteur, mais aussi parce qu'elles doivent faire se rappeler que ce que l'on mesure n'est pas la glycémie, mais la concentration en glucose dans le tissu sous-cutané, et qu'il n'y a pas obligatoirement identité entre les deux paramètres. Ces considérations s'appliquent en fait pour tout système de mesure de la glycémie dans lequel l'élément de mesure n'est pas directement en contact avec le sang.

Linéarité de la réponse

La réponse du capteur au glucose doit être linéaire in vivo jusqu'à environ 20 mmol/l, et l'exactitude de la mesure doit être acceptable. Il est clair que la précision exigée dépend de la zone de concentration considérée, et on l'évalue souvent comme on le fait pour les lecteurs de glycémie, en utilisant la grille d'erreur de Clarke [26]. Ici également, il faut envisager le cas d'un capteur mesurant le glucose non pas dans le sang mais dans le liquide interstitiel : si, lors d'une augmentation de la glycémie, la concentration en glucose dans le tissu interstitiel s'élève de manière moins importante, par exemple parce que l'insuline fait rentrer le glucose depuis le milieu interstitiel vers les cellules environnantes, la réponse du capteur pourrait sembler ne pas être linéaire lorsque le courant mesuré est corrélé, non pas à la concentration en glucose dans le tissu interstitiel (que par définition, on ne connaît pas puisque c'est ce qu'on essaie de mesurer), mais à la glycémie.

Délai de réponse du capteur

Le délai de réponse du système doit être suffisamment court : dans des conditions physiologiques, le pancréas répond à une variation de la glycémie en trois minutes pour pouvoir assurer l'homéostasie glycémique. Si le système doit être utilisé dans le cadre d'un système de régulation de la glycémie (pancréas artificiel), une modélisation a montré que le temps de réponse du capteur devait être in vivo inférieur à 10 minutes [27]. Si le système doit être utilisé comme alarme d'hypoglycémie, il doit donner l'information d'une manière suffisamment rapide pour que son utilisation par le patient puisse prévenir la survenue d'une hypoglycémie sévère. La rapidité de cette information dépend évidemment de la rapidité de la baisse glycémique.

Spécificité de la réponse

La réponse du système doit être spécifique pour le glucose. Ceci explique que ce sont les capteurs de glucose reposant sur une méthode enzymatique qui ont atteint le stade de développement le plus avancé. L'action spécifique de l'enzyme sur le glucose produit la formation d'électrons. Il s'agit donc d'une méthode de détection enzymatique et ampérométrique (puisque c'est un courant que l'on

mesure) du glucose. Dans certains systèmes, l'oxydation du glucose produit de l'eau oxygénée qui est, à son tour, oxydée en présence d'un potentiel de 0,6 volt imposé entre les deux bornes de l'électrode sur laquelle est déposée l'enzyme. Cependant, toute molécule capable de s'oxyder en présence du potentiel imposé au niveau de l'anode serait source d'interférence. C'est le cas de substances endogènes comme l'acide ascorbique, l'acide urique ou certains médicaments comme le paracétamol. Il est heureusement possible de freiner l'accès de ces substances à l'anode par des membranes appropriées : acétate de cellulose pour l'ascorbate et l'urate, membrane composite à base de Nafion pour le paracétamol [28]. Afin de réduire les interférences, une autre méthode consiste à utiliser un médiateur, transporteur d'électrons, entre l'enzyme et l'anode. Le système peut alors fonctionner à un très faible potentiel et il est moins sensible aux interférents [29, 30].

Miniaturisation

Si on envisage une stratégie impliquant que le capteur ne soit pas implanté définitivement, mais changé régulièrement (tous les 5-6 jours par exemple) par le patient lui-même, son diamètre doit être faible, par exemple de l'ordre de celui des aiguilles utilisées pour l'injection d'insuline. De même, le système électronique qui a pour fonctions de polariser le capteur, de recueillir le courant, de le traiter en temps réel (filtrage, calibration, affichage, déclenchement d'alarmes etc.), de stocker les données dans une mémoire interne, doit être d'une taille compatible avec son utilisation clinique sans entraver la qualité de vie du patient. Par exemple, nos laboratoires ont développé un capteur de glucose miniaturisé ayant la forme d'un filament souple de 0,35 mm de diamètre, qui fonctionne en étant implanté sur une distance d'un cm dans le tissu sous-cutané, et un système électronique pouvant être porté sans encombre pendant plusieurs jours [31]. Un système analogue est développé par la firme Minimed.

Biocompatibilité du capteur

Le capteur doit fonctionner avec une dérive acceptable pendant la période envisagée d'implantation : en d'autres termes, le rapport signal/bruit doit rester suffisamment élevé pour permettre une appréciation exacte de la glycémie, au besoin après une recalibration, éventuellement quotidienne. Par exemple le capteur que nous développons fonctionne pendant plus d'une semaine lorsqu'il est implanté dans le tissu sous-cutané de rats ce qui pourrait donc être compatible avec le concept de capteur jetable, remplacé par exemple tous les 4-5 jours. □ L'évidence, il s'agit d'une question capitale, dont la réponse définit une stratégie : capteur transcutané, changé de manière régulière, ou système totalement implanté (comprenant le capteur et le système électronique qui le fait fonctionner), mais devant alors avoir une longévité très importante (plusieurs mois, ou années), rappelant l'alternative entre pompe portable et pompe implantable pour l'administration d'insuline.

DEUX TYPES D'APPROCHE POUR MESURER EN CONTINU LA GLYCEMIE

Les approches non invasives permettent d'obtenir l'information sans effraction du corps du patient et en utilisant les propriétés de la substance à doser (spectre, optique, thermique, électromagnétique). Les approches invasives sont caractérisées par un contact entre la partie sensible du capteur et le tissu ou le fluide dans lequel la concentration en glucose est mesurée.

Mesure continue invasive de manière minimale

IONTOPHORESE

Le principe de ce procédé est d'extraire, par un champ électrique, le liquide extracellulaire à travers la peau dans une chambre d'iontophorèse dans laquelle se trouvent les deux bornes, positive (anode) et négative (cathode), d'une pile [32]. La peau, chargée négativement, est sélectivement perméable aux cations. Le courant imposé entre l'anode et la cathode permet de provoquer un flux net d'ions et donc de solvant vers la cathode, dans lequel des substances non chargées, comme le glucose, sont dissoutes en quantité micromolaire [33, 34, 35]. La concentration en glucose est mesurée par un capteur de glucose placé dans la chambre d'iontophorèse. Cependant, il existe un délai d'environ 20 minutes entre le début de l'extraction du fluide et la détermination de la concentration en glucose [36]. Un système de mesure miniaturisé intégrant la méthode d'extraction par iontophorèse (GlucoWatch[®]) approche le stade de la commercialisation, et fait l'objet d'un chapitre de ce volume.

EXTRACTION DU GLUCOSE PAR ASPIRATION

Le glucose sous-cutané peut également être extrait à travers la peau sous l'effet du vide. Une unité collecte le fluide par une très légère aspiration à travers la peau dont la couche supérieure de l'épiderme a été préalablement retirée [37]. Un capteur de glucose est alors capable de déterminer la concentration en glucose dans une très petite quantité de fluide (1 ml) stockée dans une chambre située à l'extérieur de la peau. Ce système a été testé in vivo chez des lapins [38] ainsi que chez des patients diabétiques [39]. Le délai de réponse du capteur est de 10 minutes mais le système apparaît difficilement miniaturisable.

Mesure complètement non invasive

La quantification d'un soluté défini est possible en déterminant l'atténuation de la lumière causée par son absorption à une longueur d'onde donnée. La quantification d'un seul soluté parmi d'autres baignant dans le même milieu est possible en utilisant différentes longueurs d'ondes [40]. Les propriétés d'absorption de la lumière par le glucose peuvent être utilisées par spectroscopie dans la zone proche de l'infrarouge (NIR, *near infrared*), entre 700 et 1000 nm, pour déterminer la concentration en glucose [41, 42]. Il est possible, grâce à une série de diodes lasers, d'émettre des rayons lumineux de longueur d'onde définie et ainsi de choisir la région du spectre dans laquelle on désire mesurer la quantité de lumière absorbée. Cette source de lumière peut passer à travers ou être réfléchiée par une partie du corps, le site de mesure est habituellement le doigt [43]. La spectroscopie permet de détecter la quantité de lumière absorbée en comparant un rayon de référence avec un rayon de détection. Simultanément un système d'analyse des données définit à partir de la quantité de lumière absorbée, à des longueurs d'ondes choisies, le niveau de la glycémie [36]. Mais cette méthode doit faire face à de nombreuses difficultés, comme par exemple une distribution hétérogène du glucose dans la peau (intracellulaire, interstitiel, sanguin), ou encore une dépendance importante de l'absorption de la lumière vis à vis de la température. En outre, le développement de cette méthode se heurte à la présence de molécules comme l'urée, l'hémoglobine et même tout simplement l'eau qui absorbent la lumière dans la même région du spectre que le glucose. Enfin, le système est difficilement miniaturisable et nécessite une calibration hautement complexe. On est donc loin de passer de ce concept séduisant à une application clinique.

Une autre méthode consiste à mesurer les variations de la concentration en glucose en mesurant la dispersion de la lumière. Cette dispersion d'un rayon lumineux dépend de l'index de diffraction de la particule qui baigne dans ce milieu [44]. Dans un tissu biologique, les particules capables de disperser la lumière sont entourées de plasma sanguin, de fluide interstitiel ou de liquide intracellulaire. L'index de diffraction de la plupart des composants de la peau (membranes, collagène) est constant ce qui n'est pas le cas pour les fluides biologiques. Chaque variation de l'index de diffraction du liquide interstitiel, par augmentation de la concentration en glucose, provoque une diminution de la valeur de la différence entre l'index de diffraction du liquide et celui de la peau. Cette différence est proportionnelle à la concentration en glucose. Contrairement à la méthode de spectroscopie, il s'agit là d'une détermination indirecte de la concentration en glucose [40]. Le développement de ces méthodes non invasives est décrit en détail dans un autre chapitre de ce volume.

Mesure continue invasive

PRINCIPES D'ELECTROCHIMIE

Le système est constitué de deux éléments : l'élément de reconnaissance de la molécule de glucose et l'élément de transduction qui produit en conséquence un signal électrique ou optique proportionnel à la quantité de glucose reconnue par le sélecteur. Le capteur est soit directement implanté dans le corps soit situé à l'extérieur mais toujours en contact avec un fluide physiologique (sang, serum, liquide interstitiel). □ l'extérieur du corps, un instrument de mesure électronique relié au capteur permet d'analyser le signal détecté.

Comme nous l'avons déjà vu, la technique la plus fréquemment utilisée est fondée sur l'utilisation de la glucose oxydase. La glucose oxydase est une enzyme qui catalyse l'oxydation du glucose par une molécule d'oxygène, produisant ainsi de l'acide gluconique et de l'eau oxygénée. Trois types de capteurs électrochimiques ont été développés. Ils se distinguent par le mécanisme de transfert de la particule chargée entre l'enzyme et l'électrode [43].

Mesure directe de la quantité d'oxygène ou d'eau oxygénée

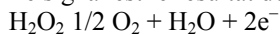
Le fonctionnement du premier type repose sur la mesure soit de la quantité d'oxygène consommée lors de l'oxydation du glucose soit de la quantité d'eau oxygénée produite.

- Détection de l'oxygène consommée

Le signal ampérométrique est le résultat de la réduction électrochimique de l'oxygène. La glucose oxydase est couplée à un capteur électrochimique d'oxygène, c'est le cas pour l'électrode de Clark utilisée dans les analyseurs de glucose Beckman [45, 46]. Le signal produit correspond à la différence entre le niveau d'oxygène de base et le niveau atteint, c'est en fait l'épuisement de l'oxygène par la réaction enzymatique qui est mesuré. L'avantage de cette méthode est que ce type de système requiert un potentiel pour lequel seules quelques molécules endogènes peuvent interférer. Cependant, il est très dépendant de la pression en oxygène au niveau du site d'implantation. Nécessitant deux électrodes, sa miniaturisation apparaît difficile.

- Détection de la quantité d'eau oxygénée produite

Le signal est le résultat de l'oxydation de l'eau oxygénée [47].



La glucose oxydase est entourée d'une membrane à travers laquelle diffusent le glucose et l'oxygène. L'eau oxygénée produite lors de l'oxydation du glucose diffuse vers l'électrode, où elle est oxydée ce qui produit un courant électrique proportionnel à la concentration en glucose au niveau du site d'implantation [48]. Le principal avantage de ce type de capteur est sa facilité de fabrication et sa possibilité de miniaturisation. Cependant cette technique souffre de la faible sélectivité due à l'électro-oxydation de molécules autres que le glucose présentes dans les liquides physiologiques.

Utilisation d'un médiateur

L'oxygène comme accepteur final d'électrons est remplacé par un médiateur artificiel. Le ferrocène et ses dérivés sont les plus

communément utilisés. L'oxydation de ces derniers peut se produire à un potentiel plus bas que pour l'eau oxygénée, diminuant ainsi l'interférence électrochimique [29,30]. L'oxygène n'étant plus l'accepteur final, la réponse du capteur devient indépendante de la pression en oxygène. L'électrode à glucose de certains lecteurs de glycémie (par exemple Medisense[®]) repose sur ce principe.

Transfert direct des électrons entre l'enzyme et l'électrode

Le troisième type de capteur ampérométrique est fondé sur le principe du transfert direct d'électrons entre l'enzyme et l'électrode. Des sels organiques conducteurs ou des polymères sont utilisés. Dans ce dernier cas, aucun cosubstrat, comme l'oxygène ou médiateur n'est requis [49].

MISE EN FORME DU CAPTEUR

Shichiri a été le premier à mettre au point un capteur de glucose sous forme d'aiguille miniaturisée (diamètre inférieur à 1 mm) reposant sur un tel principe [16]. Il s'agit d'une anode de platine dont l'extrémité sphérique est recouverte d'une couche de glucose oxydase immobilisée dans de l'acétate de cellulose, puis d'une couche de polyuréthane. La partie tubulaire de l'anode est isolée électriquement et insérée dans une cathode d'argent/argent chloruré. La couche de polyuréthane limite l'accès du glucose à l'enzyme et évite ainsi sa saturation trop rapide.

Plusieurs équipes ont développé des capteurs reposant sur cette géométrie [50-54]. Le capteur peut également se présenter sous forme de canule [55-59]. Dans la majorité des cas, les capteurs sont constitués de deux électrodes, l'électrode de travail étant en platine et celle de référence en argent/argent chloruré [48, 52, 53, 60-63]. D'autres équipes travaillent sur un capteur constitué de deux électrodes de travail et d'une électrode de référence en platine [46, 56, 59, 64, 65]. Le groupe de Fischer a développé un capteur de glucose dont la surface active est la section distale. La glucose oxydase est immobilisée dans du sépharose, puis recouverte d'une couche de polyéthylène perforée et d'une membrane externe de cellulose [66]. Koudelka et al. ont développé un capteur dont la glucose oxydase est immobilisée dans du glutaraldéhyde, le capteur est recouvert d'une membrane de polyuréthane ce qui le rend moins dépendant de la pression en oxygène [67]. En outre, cette même équipe a optimisé le processus de fabrication des capteurs en mettant au point une méthode permettant d'assurer une production de masse des électrodes par microtechnologie. La partie électronique (système de trois électrodes) est produite par séries de 1000 puis sectionnée, la fabrication de chaque capteur est assurée par un circuit de montage [65]. L'équipe de Mastrototaro produit également ses capteurs en masse par cette technique, dans le cadre d'un programme développé par la firme Minimed [56].

L'ensemble de ces capteurs ont été testés *in vivo* chez le rat, le chien, le chat, le porc, le mouton et l'homme. Leur durée de vie peut être de quelques heures à plusieurs mois [46] et leur sensibilité *in vivo* peut aller de 0,2 à 100 p. 100 de la valeur de la sensibilité déterminée *in vitro*. En général, la sensibilité *in vivo* est inférieure à la sensibilité *in vitro* [68].

SITE D'IMPLANTATION D'UN CAPTEUR DE GLUCOSE

Implantation directe du capteur

De telles électrodes à glucose ont été à la base du développement au milieu des années 70, de pancréas artificiel, le glucose étant mesuré de manière continue dans le sang apporté à l'appareil par un cathéter. Actuellement, plusieurs équipes travaillent sur le développement de capteurs implantables directement dans le lit vasculaire [69-72]. Cependant, le développement de ce type de système se heurte à nécessité d'un abord permanent à un vaisseau sanguin. Son implantation nécessite donc une intervention chirurgicale et sa durée de vie doit être suffisamment longue pour éviter d'avoir à le changer trop souvent. Aux risques de thrombose et d'infection s'ajoute le problème du dépôt de protéines et de plaquettes aux abords de la sonde intravasculaire [53].

C'est pourquoi s'est développée une autre approche, visant à mesurer le glucose dans le tissu sous-cutané [61]. Le capteur est alors directement implanté soit au niveau de l'avant-bras soit dans l'abdomen. Cette méthode d'implantation, moins invasive et pratiquement indolore, permet d'envisager de changer plus souvent de capteurs (tous les 5 jours). L'équipe de Fischer a montré chez le chien, par une méthode de prélèvement d'échantillons de fluide interstitiel avec des mèches de coton, que le taux de glucose sous-cutané reflétait la glycémie à l'état stable [73]. Le site intrapéritonéal a également été envisagé. Cependant, les variations du glucose intrapéritonéal présentent une cinétique hétérogène et suivent la glycémie avec un délai trop long pour pouvoir envisager de calibrer le capteur *in vivo* [74,75].

Capteur de glucose implanté dans un système de microdialyse

Un des problèmes majeurs rencontré lors de l'utilisation de capteur ampérométrique implanté dans le corps est la diminution progressive de sa sensibilité. Ce phénomène, réversible, serait dû à une modification transitoire des propriétés intrinsèques du capteur [76]. Une des solutions envisagées par plusieurs équipes est donc de placer le capteur à l'extérieur du corps, l'isolant ainsi de tout matériel biologique [77,78]. Le système de microdialyse est fondée sur le transfert passif d'une substance à travers une membrane de dialyse semi-perméable. Le système, implanté dans le tissu sous-cutané, se compose d'une membrane de dialyse et d'un cathéter à double lumière. Un tampon circule en continu à l'aide d'une pompe péristaltique fonctionnant sur batterie, entre dans la fibre creuse par le tube interne et sort du système, enrichi en glucose, par le tube externe. Au niveau de la membrane de dialyse, le glucose diffuse du liquide interstitiel vers la fibre jusqu'à obtenir un équilibre entre la concentration en glucose dans le tissu sous-cutané et la concentration en glucose dans le liquide de perfusion [77-83]. Faisant également appel à la perfusion d'un liquide, les méthodes de microperfusion utilisent soit une membrane microporeuse [84] soit une canule perfusée avec du liquide, au bout de laquelle se trouve l'extrémité du capteur de glucose [85].

PROBLEMES A RESOUDRE

On a vu dans l'introduction de ce texte que le désir de mesurer en continu la glycémie est ancien, et il convient d'analyser les difficultés qui font qu'un système imaginé il y a près de 20 ans ne soit pas encore arrivé au stade de l'utilisation clinique, même si le système utilisant l'iontophorèse et celui développé par Minimed approchent de l'étape de commercialisation. Concernant ce dernier produit, il faut souligner qu'il ne s'agit pas pour le moment d'une mesure en temps réel de la glycémie, mais d'un enregistrement du courant produit par le capteur, qui est traité a posteriori (comme une mesure ambulatoire de la tension artérielle).

On a vu les difficultés concernant la mesure non invasive de la glycémie par spectroscopie. Concernant la mesure invasive de la glycémie utilisant un capteur de glucose implanté dans le tissu sous-cutané, avant qu'un tel système soit réellement disponible, il faudra avoir montré les points suivants.

1) Que le système fonctionne, c'est-à-dire est réellement capable de donner de manière fiable une estimation continue de la glycémie, et pendant combien de temps, en déterminant la fréquence nécessaire des recalibrations.

2) Que l'implantation du capteur est sans danger. Ceci impose d'évaluer soigneusement le procédé de stérilisation utilisé, la fuite éventuelle de composants du capteur tels que la glucose-oxydase par exemple. Il est clair que les aspects réglementaires de l'utilisation des capteurs en tant qu'implant médical actif, implanté sur une courte durée, mais de manière itérative, conduisant au concept d'implant jetable, devront être considérés. En fait, il faut surtout ici envisager les risques liés à une erreur de mesure par le système, entraînant une action inappropriée de la part du patient.

3) Que le système est acceptable par le patient : ceci sous-entend que l'implantation du capteur et l'utilisation de l'unité électronique de contrôle soit rendue aussi simple que possible, en particulier l'étape de calibration.

4) Enfin, il faudra avoir évalué l'intérêt du système, non seulement du point de vue du diabéologue (par exemple, des essais de quelques mois conçus pour déterminer si l'utilisation du système s'accompagne d'une amélioration du taux d'hémoglobine glyquée ou d'une diminution du nombre d'hypoglycémies), mais aussi du point de vue du patient, en terme d'amélioration de sa qualité de vie. Une analyse des rapports coût/bénéfice et bénéfice/risque est donc indispensable.

BIBLIOGRAPHIE

1. REACH G. Perspective dans le traitement du diabète insulino-dépendant : réflexions sur cinq révolutions. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, 1999, Fa 10-366-W-10.
2. TCHOBRUTSKY G. Relation of diabetic control to the development of microvascular complications. *Diabetologia*, 1978, 15 : 143-152.
3. PIRART J. Diabète et complications dégénératives Présentation d'une étude prospective portant sur 4400 cas observés entre 1947 et 1973. *Diabete Metab*, 1977, 3 : 97-107, 173-182, 245-256.
4. KOENIG RJ, PETERSON CM, JONES RL et al. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1976, 295 : 417-420.
5. TATTERSALL, RB. Self-monitoring of blood glucose — 1978-1984. In : KGMM Albert, LP Krall. *The Diabetes Annual*, Amsterdam, Elsevier Science Publishers BV, 1985 : 162-177.
6. PICKUP JC, KEEN H, PARSONS JA, ALBERTI KG. Continuous subcutaneous insulin infusion : good blood glucose control for up to 4 days. *Diabetologia*, 1979, 166 : 385-389.
7. SELAM JL, SLINGENEYER A, CHAPTAL PA et al. Total implantation of a remotely controlled insulin minipump in a human insulin-dependent diabetic. *Artif Organs*, 1982, 6 : 315-319.
8. ALBISSER AM, LEIBEL BS. The artificial pancreas. *Clin Endocrinol Metab*, 1977, 6 : 457-479.
9. SHICHIRI M, YAMASAKI Y, KAWAMORI R et al. Wearable artificial pancreas with needle-type glucose sensor. *Lancet*, 1982, 2 : 1129-1131.
10. ROSENTHAL RD, PAYNTER LN. A portable non invasive blood glucose meter. *Diabetes*, 1991, 40 (Suppl. 1) : 1244 (abstract).
11. THE DCCT RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993, 329 : 977-986.
12. BOJESTIG M, ARNQVIST HJ, HERMANNSSON G et al. Declining incidence of nephropathy in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1994, 330 : 15-18.
13. THE DCCT RESEARCH GROUP. Epidemiology of severe hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Am J Med*, 1991, 90 : 450-459.
14. GERICH JE, MOKAN M, VENEMAN T et al. Hypoglycemia unawareness. *Endocrine Rev*, 1991, 12 : 356-371.
15. SERVICE FJ, MOLNAR GD, TAYLOR WF. Urine glucose analyses during continuous blood glucose monitoring. *JAMA*, 1972, 222 : 294-298.
16. SHICHIRI M, SAKAKIDA M, NISHIDA K, SHIMODA S. Enhanced, simplified glucose sensors : long-term clinical application of wearable artificial endocrine pancreas. *Artif Organs*, 1998, 22 : 32-42.
17. FISCHER U, ERTLE R, REBRIN K et al. Assessment of subcutaneous glucose concentration : validation of the wick technique as a reference for implanted electrochemical sensors in normal and diabetic dogs. *Diabetologia*, 1987, 30 : 940-945.
18. VELHO G, FROGUEL P, THEVENOT DR, REACH G. In vivo calibration of subcutaneous glucose sensor for determination of subcutaneous glucose kinetics. *Diabetes Nutr Metab*, 1988, 3 : 227-233.
19. BOBBIONI-HARSCH E, ROHNER-JEANRENAUD F, KOUDELKA M et al. Lifespan of subcutaneous glucose sensors and their performances during dynamic glycaemia changes in rats. *J Biomed Eng*, 1993, 15 : 457-463.

20. SCHMIDTKE DW, HELLER A. Accuracy of the one-point in vivo calibration of "wired" glucose oxidase electrodes implanted in jugular veins of rats in periods of rapid rise and decline of the glucose concentration. *Anal Chem*, 1998, *15* : 2149-2155.
21. SCHMIDTKE DW, FREELAND AC, HELLER A, BONNECAZE RT. Measurement and modeling of the transient difference between blood and subcutaneous glucose concentrations in the rat after injection of insulin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, *95* : 294-299.
22. VELHO G, FROGUEL P, THEVENOT DR, REACH G. Strategies for calibrating a subcutaneous glucose sensor. *Biomed Biochim Acta*, 1989, *48* : 957-964.
23. POITOUT V, MOATTI-SIRAT D, REACH G et al. A glucose monitoring system for on line estimation in man of blood glucose concentration using a miniaturized glucose sensor implanted in the subcutaneous tissue, and a wearable control unit. *Diabetologia*, 1993, *36* : 658-665.
24. AUSSEDAT B, DUPIRE-ANGEL M, GIFFORD R et al. Interstitial glucose concentration and glycemia : implications for continuous glucose monitoring. *Am J Physiol* (sous presse).
25. THOMÉ-DURE V, REACH G, GANGNERAU MN et al. Use of a subcutaneous glucose sensor to detect decrease in glucose concentration prior to observation in blood. *Anal Chem*, 1996, *68* : 3822-3826.
26. COX DJ, GONDER-FREDERICK LA, KOVATCHEV BP et al. Understanding error grid analysis. *Diabetes Care*, 1997, *20* : 911-912.
27. SORENSEN JT, COLTON CK, HILLMAN RS, SOELDNER JS. Use of physiologic pharmacokinetic model of glucose homeostasis for assessment of performance requirement for improved insulin therapies. *Diab Care*, 1982, *5* : 148-157.
28. MOATTI-SIRAT D, POITOUT V, THOME V et al. Reduction of acetaminophen interference in glucose sensors by a composite Nafion membrane : demonstration in rats and man. *Diabetologia*, 1994, *37* : 610-616.
29. NISHIDA K, SAKAKIDA M, ICHINOSE K et al. Development of a ferrocene-mediated needle-type glucose sensor covered with newly designed biocompatible membrane, 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine-co-n-butyl methacrylate. *Med Prog Technol*, 1995, *21* : 91-103.
30. PANDEY PC, UPADHYAY S, UPADHYAY B. Peroxyde biosensors and mediated electrochemical regeneration of redox enzymes. *Anal Biochem*, 1997, *252* : 136-142.
31. AUSSEDAT B, THOMÉ-DURET V, REACH G et al. A user-friendly method for calibrating a subcutaneous glucose sensor-based hypoglycaemic alarm. *Biosensors and Bioelectronics*, 1997, *12* : 1061-1111.
32. GLIKFELD P, CULLANDER C, HINZ RS, GUY RH. A new system for in vitro studies of iontophoresis. *Pharm Res*, 1988, *5* : 443-446.
33. RAO G, GLIKFELD P, GUY RH. Reverse iontophoresis : development of a non invasive approach for glucose monitoring. *Pharm Res*, 1991, *10* : 1751-1755.
34. TAMADA JA, BOHANNON NJV, POTTS RO. Measurement of glucose in diabetic subjects using noninvasive transdermal extraction. *Nat Med*, 1995, *1* : 1198-1201.
35. GLIKFELD P, HINZ RS, GUY RH. Noninvasive sampling of biological fluids by iontophoresis. *Pharm Res*, 1989, *6* : 988-990.
36. KLONOFF DC. Noninvasive blood glucose monitoring. *Diabetes Care*, 1997, *20* : 433-437.
37. ITO N, KAYASHIMA S, KIMURA J et al. Transcutaneous blood glucose monitoring system based on ISFET glucose sensor and studies on diabetic patients. *Front Med Biol Eng*, 1995, *6* : 269-280.
38. ITO N, KAYASHIMA S, KIMURA J et al. Development of a transcutaneous blood-constituent monitoring method using a suction effusion fluid collection technique and an ion-sensitive field-effect transistor glucose sensor. *Med Biol Eng Comput*, 1994, *32* : 242-246.
39. JENSEN BM, BJERRING P, CHRISTIANSEN JS, ORSKOV H. Glucose content in human skin : relationship with blood glucose levels. *Scand J Clin Lab Invest*, 1995, *55* : 427-432.
40. HEINEMANN L, SCHMELZEISEN-REDEKER G. Non-invasive continuous glucose monitoring in type I diabetic patient with optical glucose sensors. *Diabetologia*, 1998, *41* : 848-854.
41. HEISE HM. Non-invasive monitoring of metabolites using near infrared spectroscopy : state of the art. *Horm Metab Res*, 1996, *28* : 527-534.
42. RENDELL M, HOVELSON C, O'CONNOR K et al. Determination of blood flow in the finger using near-infrared spectroscopy. *Clin Physiol*, 1998, *18* : 426-434.
43. WILKINS E, ATANASOV P. Glucose monitoring : state of the art and future possibilities. *Med Eng Phys*, 1996, *18* : 273-288.
44. KHOL M, COPE M, ESSENPREIS M, BRCKER D. Influence of glucose concentration on light scattering in tissue-simulating phantoms. *Optics Letters*, 1994, *19* : 2170-2172.
45. CLARK LC, LYONS C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Ann NY Acad Sci*, 1962, *102* : 29-46.
46. UPDIKE SJ, SHULTS MC, RHODES RK et al. Enzymatic glucose sensors : improved long-term performance in vitro and in vivo. *ASAIO J*, 1994, *40* : 157-163.
47. GUILBAULT GG, LUBRANO GJ. An enzyme electrode for amperometric determination of glucose and lactate. *Anal Chim Acta*, 1973, *64* : 439-445.
48. ABEL P, FISCHER U, BRUNSTEIN E, ERTLE R. The GOD-H₂O₂-electrode as an approach to implantable glucose sensors. *Horm Metab Res*, 1988, *20* (Suppl.) : 26-29.
49. BOUTELLE MG, STANDFORD C, FILLENZ M et al. An amperometric enzyme electrode for continuous monitoring of brain glucose in freely moving rat. *Neurosci Lett*, 1987, *72* : 283-288.
50. BINDRA DS, ZHANG Y, WILSON GS et al. Design and in vitro studies of a needle-type glucose sensor for subcutaneous monitoring. *Anal Chem*, 1991, *63* : 1692-1696.
51. MATTHEWS DR, BOWN E, BECK TW et al. An amperometric needle-type glucose sensor tested in rats and man. *Diabete Med*, 1987, *5* : 248-252.
52. MOUSSY F, HARRISON DJ, RAJOTTE RV. A miniaturized nafion-based glucose sensor : in vitro and in vivo evaluation in dogs. *Int J Artif Organs*, 1994, *17* : 88-94.
53. PICKUP J. Developing glucose sensors for in vivo use. *Trends Biotechnol*, 1993, *11* : 285-291.
54. VADGAMA P, SPOORS J, XANG L, BATTERSBY C. The needle glucose electrode : in vitro performance and optimisation for implantation. *Biomed Biochim Acta*, 1989, *48* : 935-942.
55. ABEL P, MULLER A, FISCHER U. Experience with an implantable glucose sensor as a prerequisite of an artificial beta cell. *Biomed Biochim Acta*, 1984, *43* : 577-584.
56. JOHNSON KW, MASTROTOTARO JJ, HOWEY DC et al. In vivo evaluation of an electroenzymatic glucose sensor implanted in subcutaneous tissue. *Biosens Bioelectron*, 1992, *7* : 709-714.
57. KERNER W, KIWI M, LINKE B et al. The function of a hydrogen peroxide-detecting electroenzymatic glucose electrode is markedly impaired in human subcutaneous tissue and plasma. *Biosens Bioelectron*, 1993, *8* : 473-482.
58. PICKUP JC, SHAW GW, CLAREMONT DJ. In vivo molecular sensing in diabetes mellitus : an implantable glucose sensor with direct electron transfer. *Diabetologia*, 1989, *32* : 213-217.
59. WILKINS E, ATANASOV P, MUGGENBURG BA. Integrated implantable device for long-term glucose monitoring. *Biosens Bioelectron*, 1995, *10* : 485-494.
60. QUINN CP, PISHKO MV, SCHMIDTKE DW et al. A Kinetics of glucose delivery to subcutaneous tissue in rats measured with 03-mm amperometric microsensors. *Am J Physiol*, 1995, *269* : E155-E161.
61. SHICHIRI M, YAMASAKI Y, NAO K et al. In vivo characteristics of a needle-type glucose-sensor-measurements of subcutaneous glucose concentrations in human volunteers. *Horm Metab Res*, 1988, *20* (Suppl.) : 17-20.

62. WARD W, WILGUS ES, TROUPE JE. Rapid detection of hyperglycaemia by a subcutaneously-implanted glucose sensor in the rat. *Biosens Bioelectron*, 1994, 9 : 423-428.
63. ZHANG Y, WILSON GS. In vitro and in vivo evaluation of oxygen effects on a glucose oxydase based implantable glucose sensor. *Anal Chim Acta* 1993, 281 : 513-520.
64. ERTEFAI S, GOUGH DA. Physiological preparation for studying the response of subcutaneously implanted glucose and oxygen sensors. *J Biomed Eng*, 1989, 11 : 362-368.
65. KOUDELKA M, GERNET S, DE ROOIJ NF. Planar amperometric enzyme-based glucose microelectrode. *Sensors and Actuators*, 1989, 18 : 157-165.
66. REBRIN K, FISCHER U, WOEDTKE TV et al. Automated feedback control of subcutaneous glucose concentration in diabetic dogs. *Diabetologia*, 1989, 32 : 573-576.
67. KOUDELKA M, ROHNER-JEANRENAUD F, TERRETTAZ J et al. In-vivo behaviour of hypodermically implanted microfabricated glucose sensors. *Biosens Bioelectron*, 1991, 6 : 31-36.
68. GERRITSEN M, JANSEN JA, KROS A et al. Performance of subcutaneously implanted glucose sensors : a review. *J Invest Surg*, 1998, 11 : 163-174.
69. ARMOUR JC, LUCISANO JY, MACKEAN BD, GOUGH DA. Application of chronic intravascular blood glucose sensor in dogs. *Diabetes*, 1990, 39 : 1519-1526.
70. FOGH-ANDERSEN N, D'ORAZIO P. Proposal for standardizing direct-reading biosensors for blood glucose. *Clin Chem*, 1998, 44 : 655-659.
71. LAGER W, LUCADOU IV, NISCHIK H et al. Electroanalytic glucose sensor for long-term in vivo use. *Int J Artif Organs*, 1994, 17 : 183-188.
72. YANG Q, ATANASOV P, WILKINS E. A needle type sensor for monitoring glucose in whole blood. *Biomed Instrum Technol*, 1997, 31 : 54-62.
73. FISCHER U, ERTL R, REBRIN K, FREYSE EJ. Wick technique : reference method for implanted glucose sensors. *Artif Organs*, 1989, 13 : 453-457.
74. KESSLER M, HPER J, VOLKHOLZ HJ et al. A new glucose electrode for tissue measurements. *Hepato gastroenterology*, 1984, 31 : 285-287.
75. VELHO G, FROGUEL P, REACH G. Determination of peritoneal glucose kinetics in rats : implications for the peritoneal implantation of closed-loop insulin delivery systems. *Diabetologia*, 1989, 32 : 331-336.
76. THOME-DURET V, GANGNEREAU MN, ZHANG Y et al. Modification of the sensitivity of glucose sensor implanted into subcutaneous tissue. *Diabetes Metab*, 1996, 22 : 174-178.
77. BOLINDER J, UNGERSTEDT U, ARNER P. Long-term continuous glucose monitoring with microdialysis ambulatory insulin-dependent diabetic patients. *Lancet*, 1993, 342 : 1080-1085.
78. PFEIFFER EF, MEYERHOFF C, BISCHOF F et al. On line continuous monitoring of subcutaneous tissue glucose is feasible by combining portable glucosensor with microdialysis. *Horm Metab Res*, 1993, 25 : 121-124.
79. VERING T, ADAM S, DREWER H et al. Wearable microdialysis system for continuous in vivo monitoring of glucose. *Analyst*, 1998, 123 : 1605-1609.
80. BOLINDER J, HAGSTROM-TOFT E, UNGERSTEDT U, ARNER P. Self-monitoring of blood glucose in type I diabetic patients : comparison with continuous microdialysis measurements of glucose in subcutaneous adipose tissue during ordinary life conditions. *Diabetes Care*, 1997, 20 : 64-70.
81. STERNBERG F, MEYERHOFF C, MENNEL FJ et al. Subcutaneous glucose concentration in humans. Real estimation and continuous monitoring. *Diabetes Care*, 1995, 18 : 1266-1269.
82. MEYERHOFF C, MENNEL FJ, BISCHOF F et al. Combination of microdialysis and glucose sensor for continuous on line measurement of the subcutaneous glucose concentration : theory and practical application. *Horm Metab Res* 1994, 26 : 538-43.
83. BOLINDER J, UNGERSTEDT U, ARNER P. Long-term continuous glucose monitoring with microdialysis in ambulatory insulin-dependent diabetic patients. *Lancet*, 1993, 30 : 1080-1085.
84. SCHAUPP L, ELLMERER M, BRUNNER GA et al. Direct access to interstitial fluid in adipose tissue in humans by use of open-flow microperfusion. *Am J Physiol*, 1999, 276 : E401-408.
85. RIGBY GP, CRUMP P, VADGAMA P. Open flow microperfusion : approach to in vivo glucose monitoring. *Med Biol Eng Comput* 1995, 33 : 231-234.