

# Internet Electronic Journal\*

# Nanociencia et Moletrónica

Julio 2006, Vol.4, N°2, pp 681-694

## **Nanotechnologie, Nanosensoren und ihre Anwendung bei der Glukosemessung bei Patienten mit Diabetes mellitus**

**A. Thomas**

DIA REAL GmbH Dresden  
Zwickauer Str. 97, D-01187 Dresden

recibido: 3 de Marzo 2006

revisado: 24 de Marzo 2006

publicado: 30 de Julio 2006

Citation of the article:

A. Thomas, Nanotechnologie, Nanosensoren und ihre Anwendung bei der Glukosemessung  
bei Patienten mit Diabetes mellitus, Internet Electron. J. Nanocs. Moletrón. 2006, vol. 4 , No 2, pags.681-694

---

copyright © BUAP 2006

<http://www.revista-nanociencia.ece.buap.mx>

---

## **Nanotechnologie, Nanosensoren und ihre Anwendung bei der Glukosemessung bei Patienten mit Diabetes mellitus**

**A. Thomas**

DIA REAL GmbH Dresden,  
Zwickauer Str. 97, D-01187 Dresden

recibido: 3 de Marzo 2006

revisado: 24 de Marzo 2006

publicado: 30 de Julio 2006

---

*Internet Electron. J. Nanocs. Moletrón. 2006, vol.4 , No2, pags.681-694*

### **Überblick**

Nanotechnologie stellt ein komplexes Forschungsgebiet dar mit weit reichenden technologischen Möglichkeiten. Bezeichnet wird damit jene Technologie, welche gezielt Objekte oder Strukturen mit Abmessungen unterhalb von 100 Nanometern erzeugt und/oder charakteristische Effekte und Phänomene in diesem Abmessungsbereich nutzt. Sie ist zweifelsohne eine der Schlüsseltechnologien des 21. Jahrhunderts. Folglich ist es nicht verwunderlich, dass das Marktvolumen für Nanosensoren, welches im Jahr 2005 ca. 185 Mio. U.S.-Dollar betrug in den kommenden Jahren dramatisch ansteigen wird. So soll der Umsatz der Branche nach einer Analyse der Firma NanoMarkets im Jahr 2008 2,7 Mrd. U.S.-Dollar und im Jahre 2012 schätzungsweise 17,2 Mrd. U.S.-Dollar betragen [1].

Die Nanotechnologie wird zu zahlreichen Anwendungsfeldern von nanotechnologiebasierten Produkten und Verfahren führen, von denen einige bereits beherrscht werden. Betroffen davon sind besonders die Elektronik, die Kommunikationstechnik, die Luft- und Raumfahrtindustrie, die Rüstungsindustrie, die Automobilindustrie, die Energiewirtschaft, die chemische Industrie, das Bauwesen, die Medizin, die Labordiagnostik, aber auch solche Industriezweige wie die Textilindustrie [2].

Im Prinzip lassen sich unterscheiden:

- **Nanotechnik**, also die Technik zur Herstellung der Nanostrukturen
- **Nanobausteine**, wie
  - Nanopartikel
  - Nanostrukturen (z.B. Quantenpunkte)
  - neuartige Moleküle (z.B. Kohlenstoff-Nanotubes, Fullerene)
  - Biomoleküle (z.B. Proteine, DNS, RNS)
- **Nanowerkzeuge**, wie
  - neuartige Mikroskope (Rastertunnelmikroskop, Atomkraftmikroskop)
  - neue Technologien in der Lithographie (z.B. EUV-Lithographie)
  - Selbstorganisationstechnologien (z.B. DNA-Synthese).

Mit diesen Werkzeugen ergeben sich vielfältige, völlig neuartige technologische Möglichkeiten, von denen nachfolgend einige genannt seien.

- Herstellung von Werkstoffen mit neuartigen Eigenschaften, wie:
  - Displays aus organischen Leuchtdioden
  - Nanosolarzellfilme
  - biokompatible Materialien
  - Kohlenstoff-Nanotubes als eines der Schlüsselmaterialien für die Nanotechnologie und Nanoelektronik und auch für den Einsatz in Brennstoffzellen
  - Textilien mit sensorischen Eigenschaften zur Messung von Körperfunktionen (Puls, Herzrate, Herzratenvariabilität, Atmungsfrequenz, u.a.)
  - Materialien mit niedrigem Gewicht und extrem hoher Festigkeit.
- Neuartige Bauelemente der Nanoelektronik, wie:
  - Nanotub-Transistoren
  - photonische Nanokristalle
  - kompakte Datenspeicher aus mit Nanopartikeln erzeugten Magnetschichten
  - sogenannte „Millipedes“ zur Speicherung einzelner Bit's
  - Einzelphotonenquellen und -detektoren.
- Neuartige Bauelemente der Nanomechanik.
- Verfahren zur Oberflächenfunktionalisierung und -veredelung zur Erreichung verbesserter mechanischer, thermischer, elektrischer und chemischer Eigenschaften von Oberflächen mit Produkten, wie:
  - kratzfeste, selbstreinigende Fenster,
  - schmutzabweisende Textilien,

- Antikorrosionsschichten mit Nanopartikeln
- thermochromes Glass zur Regulierung des Lichteinfalls in Räumen, Laborgeräten u.ä.
- neuartige Klebstoffe.
  
- Verfahren zur Erzeugung biokompatibler Materialien und sich daraus ergebenden Produkten der Medizintechnik, wie
  - künstliche Gelenke (z.B. Hüftgelenke) aus biokompatiblen Nanomaterialien
  - nanotechnisch optimierte Hörgeräte-Implantate
  - künstliche Muskelfasern
  - biokompatible Überzüge aus Nanomaterialien über implantierte Geräte zur Steuerung oder Unterstützung physiologischer Funktionen (z.B. Herzschrittmacher)
  - Umhüllung von implantierten Zellen mit physiologischen Steuerungsfunktionen (z.B. insulinproduzierende Zellen) durch Nanomaterialien, um den Schutz dieser vor der Immunabwehr zu gewährleisten.
  
- Nanosensoren als funktionelle Nanopartikel, die als Detektorreagenzien in bioanalytischen, diagnostischen Tests eingesetzt werden (Biochips), wie:
  - Nanoassays für chemische, biochemische, pharmazeutische und genetische Tests
  - Sensoren für die Umweltanalytik
  - Sensoren zur Detektion von biologischen und chemischen Kampfstoffen.
  
- Verfahren der Nanotechnologie zur Genmanipulation von Viren und damit Herstellung von Genfähren, wie:
  - Einbringen von Genabschnitten, um Zellen genetisch zu programmieren (z.B. Umwandlung von Leberzellen in insulinproduzierende Zellen und Nutzung dieser für die Inselzelltransplantation)
  - Einbringen von Wirkstoffen zur gezielten Therapie in Zellen eines pathogenen Gewebes.
  
- Verfahren der Nanotechnologie
  - zur genetischen Manipulation von Viren, um Proteine auszubilden, die eine Anlagerung der biologischen Substanz an Halbleiter, Metalle u.ä. ermöglicht (z.B. zur Herstellung von Biochips)
  - zur enzymgestützten Lithographie zum Beispiel zur Herstellung von DNS-Chips (enzymatische Aktivierung von Oberflächenstrukturen).
  
- Nanosensoren für die medizinische Diagnostik im Organismus und gegebenenfalls der damit im Zusammenhang stehenden Therapie:
  - Sensoren für das kontinuierliche Monitoring von physiologischen Vorgängen (z.B. Messung von Glukose, Laktat, Harnstoff, Fettsäuren, Messung der Hirnaktivität und von autonomen Funktionen)
  - Sensoren zur Steuerung von physiologischen Prozessen im Organismus (z.B. Glukosesensoren zur Steuerung von Insulinpumpen bei Diabetikern)
  - Nanosensoren in der Krebsdiagnostik, welche jeweils spezifische mit einem bestimmten Karzinom verknüpfte Proteine aufspüren können.

- Neuartige therapeutische Ansätze mit Nanopartikeln, z.B. das Einschleusen von superparamagnetischen Nanopartikeln in Tumorzellen, welche in einem elektromagnetischen Wechselfeld vibrieren und mit der dabei entstehenden Wärme die Zelle tötet.

Die dargestellten Nanotechnologien und –Sensoren stellen nur einen Teil der Möglichkeiten dar, was den Wert dieser Entwicklung unterstreicht. Von all diesen Möglichkeiten soll beispielhaft die Messung mit Biosensoren dargestellt werden. Ein spezieller Biosensor wird eingesetzt bei der Messung der Glukosekonzentration bei Patienten mit Diabetes mellitus, einer Erkrankung, die in den hoch entwickelten Industriestaaten mittlerweile in der Größenordnung von 10% der Bevölkerung liegt und deren Kontrolle und Therapie dadurch eine überragende Bedeutung erlangt hat [3,4].

## **Biosensoren**

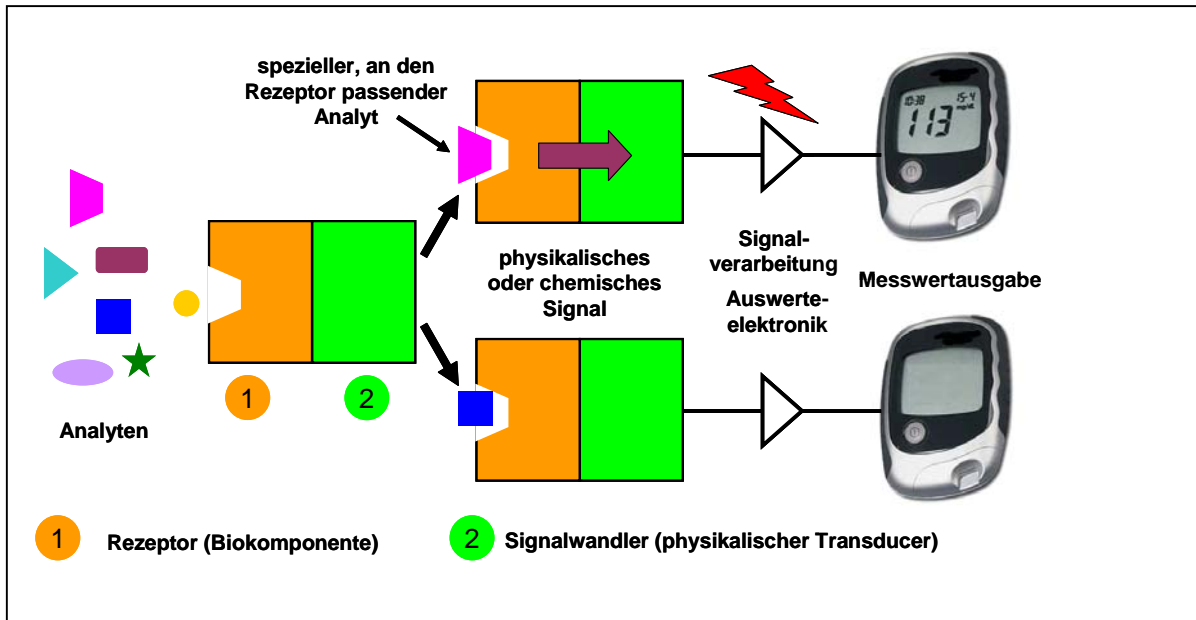
Biosensoren können nicht nur in miniaturisierter Form mittels Nanotechnologie hergestellt werden, sondern lassen prinzipiell auch die Verbindung mit der Nanoelektronik zu. Dazu werden funktionelle Moleküle auf einer kristallinen Matrix, zum Beispiel auf Siliziumwafern präzise fixiert. Sie dienen dort als Matrix für die Abscheidung von Metallen, Halbleitern oder Isolatoren und bilden damit die Grundlage beispielsweise für Speicherzellen und Schalter im Nanometermaßstab oder für Komponenten der Nichtlinearen Optik. Der Vorteil liegt in den damit erreichbaren Dimensionen im Nanometermaßstab [5]

Ein Biosensor ist in der Lage spezifisch bestimmte Moleküle zu erkennen, so ähnlich wie es in der Natur bei den Geschmacks- und Riechorganen der Fall ist. Er besteht im Allgemeinen aus zwei Komponenten, einem biologischen Rezeptor für die spezifische Erkennung der zu analysierenden Stoffe (Analyt) und einem Signalwandler (Transducer), der das gemessene Signal in die interessierende physikalische Messgröße umwandelt [6]. Die Biokomponente bestimmt die Selektivität des Sensors, die entweder auf einer Affinität zum Analyten oder auf der katalytischen Umsetzung des Analyten durch Enzyme beruht [7]. Diese Signalwandlung kann elektrochemisch, optische oder kalorimetrisch erfolgen.

Verschiedene Biokomponenten können innerhalb von Biosensoren mit einem entsprechenden Reaktionsmechanismus eingesetzt werden:

- Enzyme → Reaktion: Katalyse
- Mikroorganismen → Reaktion: Katalyse, Wachstum
- Nukleinsäuren → Reaktion: komplementäre Bindung
- Antikörper → Reaktion: Bindung eines Antigens
- Gewebe → Reaktion: Katalyse.

Typische, mit Biosensoren nachweisbare Analyte sind Glukose, Galaktose, Glutamat, Harnstoff, Urease, Laktat, Antibiotika, Vitamine, diverse Antikörper, verschiedene Proteine, veränderte Zellen usw.



Die meisten in der Literatur beschriebenen Biosensoren beruhen auf einer enzymatischen Katalyse des Analyten. Die Enzyme können aus Mikroorganismen wie Pilzen und Bakterien gewonnen und aufgereinigt werden [8]. Entweder setzt das entsprechende Enzym den Analyten direkt um oder es nutzt dazu ein weiteres Substrat, ein so genanntes Co-Enzym.

### Biosensoren zur Messung der Glukosekonzentration

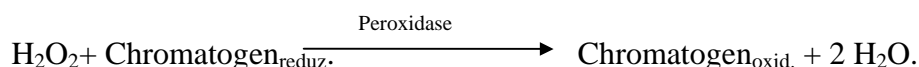
Die wichtigste Messmethode bei der Therapie des Diabetes mellitus ist die Messung der Glukosekonzentration im Blut bzw. auch in der interstitiellen Flüssigkeit. Dies erfolgt mit einem Biosensor, der in miniaturisierter Form mittels Nanotechnologie hergestellt werden kann. Realisiert wird das auf einen Teststreifen, der dem in Abbildung 1 dargestellten Prinzip entspricht. Diese Teststreifen werden eingesetzt zur Blutglukosekontrolle, welche Patienten mit Diabetes mellitus als Maßnahme der Selbstkontrolle einsetzen, um ihre Diabetestherapie selbständig zu überwachen und steuern zu können [9].

Der erste Glukosesensor wurde bereits 1962 von Clark entwickelt [10]. Dieser beruhte wie die heute verwendeten Blutglukoseteststreifen auf der enzymatisch katalysierten biochemischen Umwandlung von Glukose. Einsetzbar ist zum Beispiel das Enzym Glukoseoxidase (GOD), welches als Nanopartikel auf einem Teststreifen immobilisiert wird. Bei der durch die GOD beschleunigten Oxidation von Glukose entstehen die Stoffe Glukonolacton und Wasserstoffperoxid  $H_2O_2$ :



Die Konzentration der entstandenen Reaktionsprodukte entspricht der gemessenen Glukosekonzentration. Diese lassen sich nun auf verschiedene Weise quantitativ erfassen, nämlich reflektometrisch und elektrochemisch. In beiden Fällen ist eine weitere chemische Reaktion nachgeschaltet (Transducer).

Bei der reflektometrischen Methode oxidiert das entstandene  $H_2O_2$  ein reduziertes Chromatogen (Farbstoff) mit Hilfe des Enzyms Peroxidase zu einem Farbkomplex:



Die Verfärbung ist von der in der ersten Reaktion umgewandelten Glukose abhängig und wird fotometrisch ausgewertet.

Bei der elektrochemischen (amperometrischen) Messung wird das Wasserstoffperoxid an einer Elektrode umgewandelt und detektiert:



Die freigesetzten Elektronen und damit der Stromfluss hängen von der Menge der bei der chemischen Reaktion umgewandelten Glukose ab und lassen sich als Blutglukosewert darstellen.

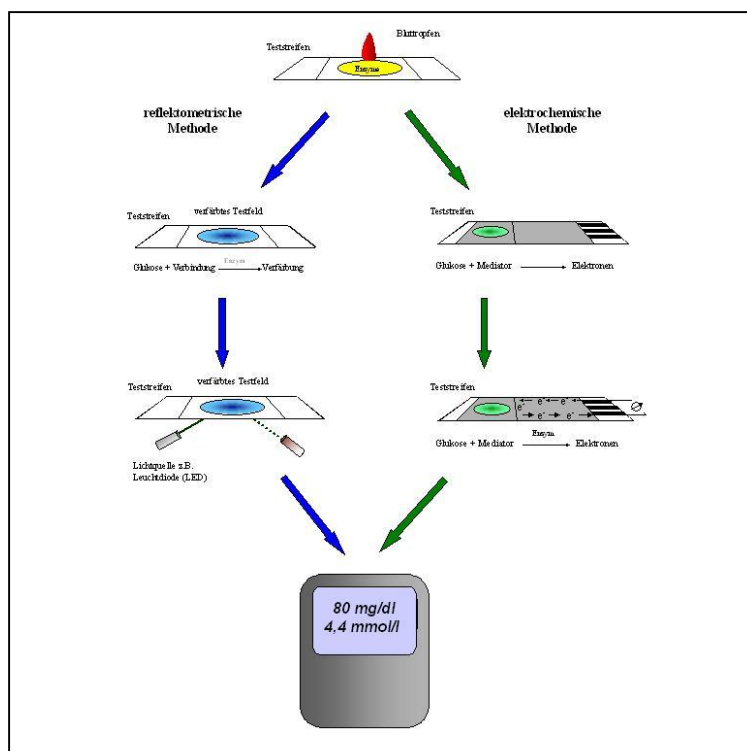
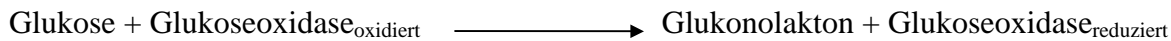


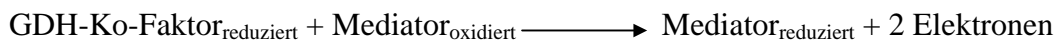
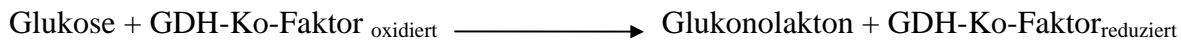
Abb. 2: Vergleich der grundsätzlichen Methoden für die Blutglukosemessung mit Biosensoren [9]

Allerdings kann es, bedingt durch die relativ hohe Spannung, die an die Elektrode angelegt werden muss, zu Nebenreaktionen mit anderen Substanzen des Körpers oder auch mit Medikamenten kommen. Deshalb wird auf den gängigen Teststreifen ein Mediator eingesetzt. Bei der Reaktion der reduzierten Glukoseoxidase mit dem Mediator werden Elektronen frei, die zur Elektrode des Teststreifens fließen.

Als Mediator können verschiedene Stoffe eingesetzt werden, wie z.B. Ferrocen:



Möglich ist auch die biochemische Reaktion mit Hilfe des Enzyms Glukosedehydrogenase (GDH). Bei der Reaktion unterstützt zusätzlich ein Co-Enzym wie z.B. Nicotinamadenindinukleotid (NAD)) die Reaktion:



Bei der Reaktion des reduzierten Co-Enzyms mit einem Mediator werden wiederum Elektronen frei, die an die Elektrode des Teststreifens fließen. Ein wichtiger Vorteil dieser Reaktion ist, dass an die Elektrode nur eine sehr kleine Spannung angelegt werden muss, wodurch Interaktionen mit anderen Substanzen im Blut vermieden werden. Die Spezifik für den Nachweis von Glukose ist folglich besser, wodurch mit sehr geringen Blutmengen gemessen werden kann. Auch ist die Reaktion unabhängig vom Sauerstoff, weshalb es keine Probleme gibt, wenn die Blutglukose zum Beispiel während einer Wanderung im Hochgebirge bestimmt werden muss.

Die auf Basis der enzymatisch katalysierten biochemischen Umwandlung von Glukose beruhende Messung setzt den Kontakt des Biosensors mit dem Analyten, also dem glukosehaltigen Kompartiment voraus. Dabei ergeben sich verschiedene Möglichkeiten:

1. diskontinuierliche Messung der Blutglukose auf einem Teststreifen nach vorheriger Blutentnahme,
2. kontinuierliche Messung der Blutglukose in einem Blutgefäß mit Hilfe eines implantierten Nanosensors,
3. kontinuierliche Messung der Glukose in der interstitiellen Flüssigkeit mit einem minimal-invasiven, in das Unterhautfettgewebe platzierten Glukosesensor.

Muss das Probenmaterial dem Organismus entnommen werden, so ist nur eine diskontinuierliche Messung möglich. Dagegen setzt ein kontinuierliches Monitoring des Glukoseverlaufs im Körper des Patienten einen implantierbaren Biosensor voraus. Je nach dem ob die Implantation über kurze Zeiträume in das Unterhautfettgewebe geschieht oder ob ein Langzeitimplantat zum Beispiel in ein Blutgefäß eingesetzt werden soll, sind unterschiedlich hohe Anforderungen an die Biokompatibilität des Sensors zu stellen. Hier liegt einer der Schwerpunkte der Nanotechnologie in der Entwicklung von biokompatiblen Materialien. Weiterhin betrifft das die Miniaturisierung



der Sensoren. Bisher sind derartigen Systeme noch nicht verfügbar, befinden sich aber in der Entwicklung [11].



Abb. 3: Anwendung von enzymatisch katalysierten biochemischen Sensoren: Blutglukosemessung mit Teststreifen, welche Diabetiker 4-6 mal täglich durchführen

Einen Kompromiss stellt die kontinuierliche Messung von Glukose durch kontinuierliche Probengewinnung von interstitieller Flüssigkeit entweder transkutan (z.B. mittels inverser Elektrophorese), durch Vakuumabsaugung oder mit Hilfe der Mikrodialyse dar, bei der eine Kochsalzlösung durch einen im Unterhautfettgewebe befindlichen, permeablen Katheter fließt und welche die Glukose zu einem extrakorporell befindlichen Sensor befördert.

Als kontinuierlich messende Glukosesensoren sind bisher verfügbar:

- minimal-invasive Biosensoren, bei denen eine miniaturisierte, mit einer Membran bedeckte GOD-Enzymelektrode von den Patienten selbständig unter die Haut geschoben und die Glukosekonzentration über einen Zeitraum von 3 bis 7 Tagen in der interstitiellen Flüssigkeit gemessen wird (CGMS<sup>®</sup> und Guardian<sup>®</sup> RT von Medtronic-MiniMed) [12]
- Systeme mit minimal-invasiver transkutaner Probenentnahme über Elektrophorese (GlucoWatch<sup>®</sup> G2<sup>TM</sup> Biographer von Cygnus) [13] Systeme mit minimal-invasiver Probenentnahme über Mikrodialyse (GlucoDay<sup>®</sup> von Menarini-Diagnostics) [14]

Alle diese Sensoren nutzen die biochemische Umwandlung von Glukose mit Hilfe nanodisperser Glukoseoxidase.



Guardian® RT



GlucoWatch® G2™



GlucoDay®

Abb. 4: Auf dem Markt verfügbare kontinuierlich messende Glukosesensoren

### Biosensoren zur nicht-invasiven Messung der Glukosekonzentration

Ein wesentliches Problem der dargestellten Methoden sowohl der diskontinuierlichen Messung der Blutglukose, als auch der minimal-invasiven kontinuierlichen Glukosemessung in der interstitiellen Flüssigkeit ist, dass diese über die chemische Umwandlung von Glukose erfolgen. Damit verbunden ist der notwendige unmittelbare Kontakt des glukosehaltigen Kompartiments mit dem Biosensor. Die Folge ist, dass sich die Patienten selbständig eine Verletzung zufügen müssen, um diesen Kontakt herzustellen.

Im Gegensatz dazu müsste bei physikalischen Verfahren kein Probenmaterial gewonnen werden, weil dabei die Wechselwirkung von Glukose mit zugeführter Energie (Strahlung, Wärme, elektromagnetische Felder u. a.) für die Messung genutzt wird. Diese Energie stellt unmittelbar die Messsonde dar, die zur Zeit der Messung zerstörungsfrei in einem Gewebavolumen wirksam wird, wodurch die Messung nicht-invasiv erfolgt.

Notwendig ist allerdings eine möglichst spezifische Wechselwirkung der Glukosemoleküle mit der eingestrahlten Energie. Das ist nicht ganz unproblematisch, weil die Glukose im Organismus einerseits nur eine geringe Konzentration besitzt. Andererseits liegen andere körpereigene Substanzen wie zum Beispiel Wasser oder Albumin in deutlich höheren Konzentrationen vor als Glukose. Noch kritischer ist, dass die eingestrahlte Energie (z.B. ein Lichtstrahl) auf eine ausgesprochen komplexe Struktur trifft, wenn sie in die Haut eindringt. Bedingt durch die starke Anisotropie von Haut und Gewebe unterscheidet sich das spektrale Signal je nach Eindringtiefe erheblich, was die genaue Messung der Glukosekonzentration erschwert. Physikalische Methoden kommen folglich an die Grenzen der Messbarkeit von Glukose, während gleichzeitig für die Diabetesbehandlung eine hohe Genauigkeit gefordert wird.

Trotzdem wurde bisher versucht, verschiedene Verfahren zur Messung der Glukosekonzentration zu nutzen und in Messsystemen umzusetzen [15-20] wie:

- Absorptionspektroskopie
- Streulichtmessung
- Polarisierung
- Fluoreszenz
- Raman-Streuung

- Photoakustische Spektroskopie
- Impetanzspektroskopie

Bisher gelang es nur unter idealisierten Bedingungen, z.B. aus Absorptions- oder Streulichtspektren Veränderungen des Glukosegehaltes im Organismus zu monitorieren. Die schlechte Präzision der Messung und die ungenügende Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (trotz teilweise sehr komplexer Kalibration) verhinderte jedoch bisher eine Anwendung unter realen Alltagsbedingungen.

### **Möglichkeiten für neuartige Glukosesensoren durch Übergang zur Nanotechnologie**

Die Nanotechnologie eröffnet völlig neuartige Möglichkeiten für die Entwicklung von Glukose- und Biosensoren. Diese sind insbesondere in der Miniaturisierung begründet, weil derartige Messsysteme leichter zu implantieren sind.

Systeme, denen ein physikalisches Messprinzip zu Grunde liegt haben eine größere Aussicht die erforderliche Genauigkeit und Reproduzierbarkeit zu erreichen, als wenn sie in dem komplexen Gebilde der Haut messen. Bei der Implantation zum Beispiel in ein Blutgefäß ist die Messumgebung wesentlich isotroper. Möglicherweise sind verschiedene bisher gescheiterte Ansätze auf diese Weise erst Erfolg versprechend.

Aber auch Sensoren, bei denen die Messung auf der enzymatisch katalysierten biochemischen Umwandlung von Glukose beruht, bieten Vorteile, die neben der Miniaturisierung besonders in der Herstellung begründet sind. Der Anschluss an mikro- und nanoelektronische Technologien bietet die Möglichkeit einer kostengünstigen Massenfertigung. Da der Preis solcher Sensoren letztendlich dessen Verbreitung bestimmt, ist mit einer Revolutionierung der Diabetestherapie zu rechnen. Weiterhin ist es auch denkbar, dass auf einem Sensorchip neben Enzymen für die Glukosemessung weitere Enzyme zur Messung anderer interessanter Stoffwechselprodukte integriert werden, wie Ketonkörper oder Laktat. Damit lassen die Stoffwechselvorgänge des Organismus komplex überwachen.

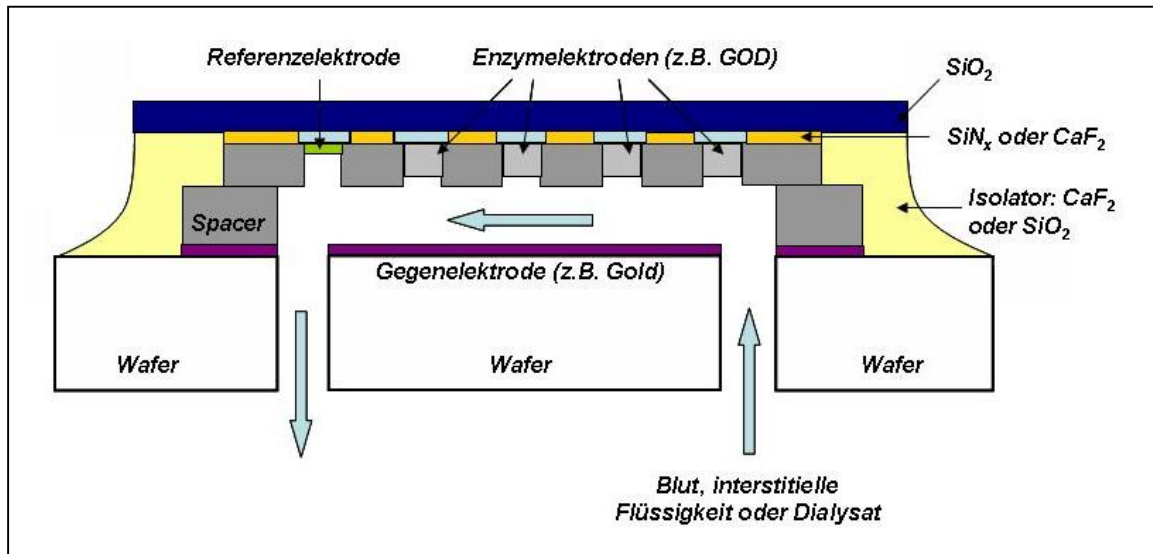


Abb. 5: Möglicher Aufbau eines auf der enzymatisch katalysierten biochemischen Umwandlung von Glukose beruhenden Sensors. Dieser lässt sich auf Basis der Elektroniktechnologie in einem Schaltkreis integrieren und fertigen. Neben dem Enzym Glukoseoxidase könnten auch noch weitere Enzyme zur Überwachung anderer Stoffwechselprodukte des Organismus integriert werden.

## Ausblick

Die Nanotechnologie bietet eine nahezu unübersehbare Anzahl an neuen Möglichkeiten und Verfahren. So wie für die Messung der Glukosekonzentration bei Diabetikern beschrieben wird sie einerseits zu völlig neuartigen Ansätzen in allen wissenschaftlichen Bereichen führen aber andererseits auch bekannte und bisher gescheiterte Projekte wieder Erfolg versprechend werden lassen. Diese neuen Möglichkeiten werden zukünftig alle Lebensbereiche beeinflussen und verändern.

## Literatur

- [1] NanoMarkets: Report: "Nanosensors: A Market Opportunity Analysis". 2004
- [2] Paschen H, Coenen C, Fleischer T, Grünwald R, Oertel D, Revermann C: Nanotechnologie Forschung, Entwicklung, Anwendung Springer Verlag 2004, ISBN: 3-540-21068-7
- [3] Rathmann W et. al.: High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: Target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. Diabetologia Volume 46, Number 2 (2003), 182-189
- [4] Zimmet PZ: Health care transaction model. Diabetologia 1999;42(5), 499-518
- [5] Sára M, Sleytr UB: Zurück zur Natur. Spektrum der Wissenschaft 1999, 95-97

- [6] Thèvenot DR, Toth K, Durst RA, Wilson GS: Elektrochemical biosensors: recommended definitions and classifications. *Biosensors&Bioelectronics* 16 (2001); 121-131
- [7] Ghindilis AL, Makower A, Bauer CG, Bier EF, Scheller FW: Determination of p-aminophenol and catecholamines at picomolar concentrations based on recycling enzyme amplification. *Anal. Chem. Acta* 304 (1994); 25-31
- [8] Kopetzki E, Lehnert K, Buckel P: Enzymes in diagnostics: achievements and possibilities of recombinant DNA technology. *Clinical Chemistry* 40 (1994); 688-704
- [9] Thomas A, Hasche H: *Selbstkontrolle bei Diabetes*, Kirchheim-Verlag Mainz 2003
- [10] Clark LC, Lyons C: Electrode systems for continuous monitoring cardiovascular surgery. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*102 (1962); 28-45
- [11] Renard EM, Shah R, Miller M, Kolopp M, Costalat G, Bringer J: Sustained safety and accuracy of central IV glucose sensors connected to implanted insulin pumps and short-term closed-loop trials in diabetic patients. *Diabetologia* 2003; 46 (Suppl.2): A47
- [12] Fahry LS, Kovatchev BP, Gonder-Frederick LA, Cox DJ, Anderson MS, Clarke WL: First Experience Using the Guardian<sup>®</sup> RT Accuracy of FreeStyle Navigator<sup>™</sup> and MiniMed CGMS<sup>®</sup> during Euglycemia and Induced Hypoglycemia. *Diabetes* 2005; 54 (Suppl.1): A97
- [13] <http://www.glucowatch.com>
- [14] Maran A., Crepaldi C, Tiengo A, Grassi G, Vitali E, Pagano G, Bistoni S, Calabrese G, Santeusanio F, Leonetti F, Ribaud M, Di Mario U, Annuzzi G, Genovese S, Riccardi G, Previti M, Cucinotta D, Giorgino F, Bellomo A, Giorgino R, Poscia A, Varalli M: Continuous Subcutaneous Glucose Monitoring in Diabetic Patients: A multicenter analysis. *Diabetes Care* 2002; 25: 347-352
- [15] March WF, Smith FE, Herbrechtsmeier P, Domschke A, Morris C: Clinical Trial of a Non-Invasive Ocular Glucose Sensor. *Diabetes* 2001; 50 (Suppl.2): A125
- [16] Ok Kyung C, Yoon Ok K, Hiroshi M, Katsuhiko K: Noninvasive Measurement of Glucose by Metabolic Heat Conformation Method. *Clinical Chemistry* 2004; 50:1894-1898
- [17] Hayashi Y, Livshits L, Caduff A, Feldman Yu: Dielectric spectroscopy study of specific glucose reaction on erythrocyte membranes. *J.Phys.D.* 2003; 36: 369–374

- [18] Feldman Yu, Ermolina, I, Hayashi Y: Time Domain Dielectric Spectroscopy Study of Biological Systems.  
IEEE Transactions on Dielectrics and EI. 2003; 10 (5): 728-775
- [19] Hendee S, Way J, Nguyen C, Fleming C: Technical Feasibility of Using NIR Spectroscopy for Continuous Blood Glucose Monitoring.  
Diabetes 2005; 54 (Suppl.1): Appendix
- [20] Kristensen JS: Trans-Cutaneous Fluorescence Lifetime Based Continuous Glucose Reading for Long Term Interrogation.  
Diabetologia 2005; 48 (Suppl. 1): A49