

**ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ELEKTROTECHNICKÁ**

KATEDRA MATERIÁLŮ A TECHNOLOGIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**Metody a technologie pro měření a vyhodnocení úrovně
glukózy v krvi se zaměřením na flexibilní substráty**

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta elektrotechnická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jakub ŠKARDA**
Osobní číslo: **E18B0159P**
Studijní program: **B2612 Elektrotechnika a informatika**
Studijní obor: **Komerční elektrotechnika**
Téma práce: **Metody a technologie pro měření a vyhodnocení úrovně glukózy
v krvi se zaměřením na flexibilní substráty**
Zadávací katedra: **Katedra materiálů a technologií**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s metodami pro měření a vyhodnocení úrovně glukózy v krvi.
2. Zpracujte přehled současných používaných technologií.
3. Proveďte porovnání jednotlivých technologií se zaměřením na flexibilní substráty.



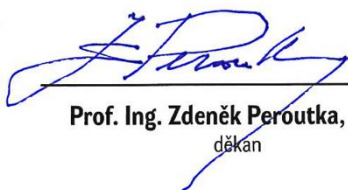
Rozsah bakalářské práce: **30 – 40 stran**
Rozsah grafických prací: **podle doporučení vedoucího**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

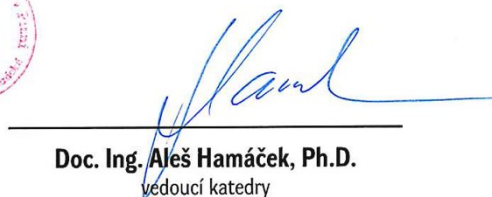
1. BALINT, Richard, Nigel J. CASSIDY a Sarah H. CARTMELL, 2014. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. Acta Biomaterialia [online]. B.m.: Acta Materialia Inc., 10(6), 2341?2353. ISSN 18787568. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2014.02.015
2. STOPPA, Matteo a Alessandro CHIOLERIO. Wearable electronics and smart textiles: A critical review. Sensors (Switzerland) [online]. 2014, 14(7), 11957-11992. ISSN 14248220. [cit. 16.10.2017] [Dostupné z: doi:10.3390/s140711957

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. David Michal**
Katedra materiálů a technologií

Datum zadání bakalářské práce: **9. října 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **27. května 2021**


Prof. Ing. Zdeněk Peroutka, Ph.D.
děkan




Doc. Ing. Aleš Hamáček, Ph.D.
vedoucí katedry

V Plzni dne 9. října 2020

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá metodami a technologiemi pro určení koncentrace glukózy v krvi. Zvýšená pozornost je věnována novým neinvazivním sensorům založeným na flexibilních substrátech. Nejdříve jsou popsány principy současně využívaných invazivních a minimálně invazivních metod. Zahrnuta je také charakterizace komerčně dostupných technologií a jejich zhodnocení. Následně jsou popsány potenciálně aplikovatelné metody neinvazivního charakteru. Závěr práce je věnován nově vznikajícím flexibilním sensorům, které zastupují slibné neinvazivní metody. Tyto senzory jsou zhodnoceny a porovnány s nejnovějšími komerčně rozšířenými minimálně invazivními senzory.

Klíčová slova

Diabetes mellitus, selfmonitoring glykemie, osobní glukometry, CGM, FGM, neinvazivní senzory glukózy, flexibilní substráty

Abstract

Presented bachelor thesis deals with methods and technologies for determining the blood glucose level. Increased attention is dedicated to new non-invasive sensors based on flexible substrates. At first, the principles of currently used invasive and minimally invasive methods are described. In this part, the characterization of commercially available technologies and their evaluation is also included. Thereafter, potentially applicable methods for non-invasive glucose monitoring are described. The final part of the work is devoted to the newly emerging flexible sensors, which represent promising non-invasive methods. These sensors are evaluated and compared with the latest commercially widespread minimally invasive sensors.

Key words

Diabetes mellitus, self-monitoring of glycemia, personal glucose meters, CGM, FGM, non-invasive glucose sensors, flexible substrates

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, s použitím odborné literatury a pramenů uvedených v seznamu, který je součástí této bakalářské práce.

Dále prohlašuji, že veškerý software použitý při řešení této bakalářské práce, je legální.



.....
podpis

V Plzni dne 24. 5. 2021

Jakub Škarda

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval vedoucímu bakalářské práce Ing. Davidu Michalovi za cenné profesionální rady, věcné připomínky, metodické vedení a čas strávený nad danou problematikou.

Obsah

OBSAH	8
ÚVOD	9
SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK	10
1 ONEMOCNĚNÍ DIABETES MELLITUS	12
1.1 ZÁKLADNÍ POPIS	12
1.2 KLASIFIKACE	12
1.2.1 DM 1. typu.....	13
1.2.2 DM 2. typu.....	14
1.2.3 Gestační DM.....	15
1.3 DIAGNOSTIKA A KOMPENZACE DM	15
1.3.1 Určení diagnózy.....	15
1.3.2 Kompenzace.....	16
1.4 LÉČBA.....	17
1.4.1 Dieta	17
1.4.2 Pohybová aktivita	18
1.4.3 Farmakologická léčba	18
1.4.4 Selfmonitoring glykemie a kontinuální monitorování glukózy.....	19
2 HISTORIE MONITORINGU DM	21
2.1 PRVOTNÍ ZPŮSOBY MĚŘENÍ GLUKÓZY	21
2.2 GLUKOMETRY PRO SELFMONITORING	22
2.3 CGM SYSTÉMY	24
3 METODY A TECHNOLOGIE PRO MĚŘENÍ A VYHODNOCOVÁNÍ GLUKÓZY V KRVI ...26	
3.1 INVAZIVNÍ METODY	26
3.1.1 Osobní glukometry pro selfmonitoring	26
3.1.2 CGM systémy.....	29
3.1.3 FGM	33
3.1.4 Přesnost	35
3.2 NEINVAZIVNÍ METODY	38
3.2.1 Optické metody.....	38
3.2.2 Mikrovlnné metody.....	39
3.2.3 Elektrochemické metody.....	40
4 TECHNOLOGIE VYUŽÍVAJÍCÍ FLEXIBILNÍ SUBSTRÁTY	43
4.1 FLEXIBILNÍ TŘÍELEKTRODOVÝ ELEKTROCHEMICKÝ SENZOR NA BÁZI NANOSTRUKTUR A ZLATA	43
4.2 FLEXIBILNÍ ELEKTROCHEMICKÝ SENZOR NA BÁZI GRAFENO-OXIDOVÉHO KOMPOZITU	45
4.3 NEINVAZIVNÍ FLEXIBILNÍ SENZOR GLUKÓZY SCHOPNÝ EXTRAHOVAT INTERSTICIÁLNÍ TEKUTINU	47
4.4 ULTRATENKÝ FLEXIBILNÍ ELEKTROCHEMICKÝ SENZOR	48
4.5 KONTAKTNÍ ČOČKY PRO SNÍMÁNÍ KONCENTRACE GLUKÓZY A PODÁVÁNÍ LÉČIV	49
4.6 POROVNÁNÍ VÝŠE ZMÍNĚNÝCH TECHNOLOGIÍ S AKTUÁLNĚ DOSTUPNÝMI TECHNOLOGIEMI A JEJICH ZHODNOCENÍ.....	51
ZÁVĚR	54
SEZNAM LITERATURY A INFORMAČNÍCH ZDROJŮ	56
PŘÍLOHY	1

Úvod

Cukrovka neboli diabetes mellitus (DM) komplikuje život několika milionům lidí na světě. Samotné onemocnění přímo způsobuje „pouze“ zvýšení koncentrace glukózy v krvi (hyperglykémii), které však následně (dle doby trvání a míry) vede k různým akutním či pozdním komplikacím, do nichž se řadí například poškození cév a nervů, očního pozadí nebo selhání vnitřních orgánů, především ledvin. Součástí léčby a zároveň prevencí před akutními komplikacemi (jakým je například hypoglykemie, tj. nízká a života ohrožující hladina krevního cukru) je sledování zmíněné koncentrace samotným pacientem, nazývané selfmonitoring. A právě představením aktuálních i nově vznikajících technologií a metod určených pro selfmonitoring se zabývá tato práce.

Jelikož lze tuto nemoc v současné době považovat za celosvětovou pandemii postihující různé věkové i sociální skupiny, je nezbytné pro selfmonitoring najít optimální metodu a následně zařízení, jež by pacientovi zajistilo přesný a spolehlivý přehled o jeho glykémii. Zároveň by zařízení mělo co nejvíce vyhovovat životnímu stylu pacienta bez značných omezení. Nalezením vhodné technologie by se nejen zkvalitnil život milionům lidí na světě, ale zároveň by se rapidně snížil počet vynaložených finančních prostředků na případnou léčbu.

Pro porozumění problematice měření či vyhodnocení úrovně glukózy v krvi je velmi důležité se nejprve seznámit se samotnou nemocí, jejími příčinami a způsoby léčby. Z toho důvodu je úvodní část této práce věnována právě tomuto tématu. Následně jsou představeny prvotní metody a technologie, které uvádějí hlavní vývojové pokroky vyhodnocování úrovně glukózy, na nichž se zakládá dodnes. Třetí část se zabývá jednotlivými principy invazivních i neinvazivních metod, jejich výhodami a nevýhodami. Současně jsou v této sekci porovnány některé technologie dostupné na českém trhu a je zde definováno hodnocení přesnosti zařízení. Poslední kapitola je věnována nadějným nově vznikajícím neinvazivním sensorům glukózy na flexibilních substrátech, které by pro pacienta znamenaly pohodlnější užívání, a především lepší spolehlivost. Jednotlivá řešení jsou následně porovnána se současně dostupnými systémy a zhodnocena.

Seznam symbolů a zkratk

Ag	Stříbro
BMI.....	Index tělesné hmotnosti
C ₁₀ H ₁₀ Fe	Ferrocen
CE.....	Conformité européenne
CGM.....	Kontinuální monitorování glukózy
Cu ₂ O	Oxid měďný
CuSO ₄	Síran měďnatý
ČR.....	Česká republika
DM.....	Diabetes mellitus
EU.....	Evropská unie
F	Faradayova konstanta = 96 485,34 C mol ⁻¹
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv Spojených států amerických
FGM	Okamžité monitorování glukózy
GDH	Glukózodehydrogenáza
GHz.....	Gigahertz
GOx	Glukózooxidáza
HbA _{1c}	Glykovaný hemoglobin
ISO.....	Mezinárodní organizace pro normalizaci
JIP	Jednotka intenzivní péče
Kč	Korun českých
LADA.....	Latent Autoimmune Diabetes in Adults
m.....	Metr
MARD	Mean absolute relative difference
MHz.....	Megahertz
mm.....	Milimetr
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
mV	Milivolt
n	Počet molů činidla
NFC	Near field communication
nm.....	Nanometr
oGTT	Orální glukózový toleranční test
PC	Osobní počítač

PET	Polyethyltereftalát
PQQ-GDH	Chinoprotein glukózodehydrogenázy
Pt.....	Platina
Q	Náboj (C)
SnCl ₂	Chlorid cínatý
SÚKL.....	Státní ústav pro kontrolu léčiv
USA	Spojené státy americké
WHO.....	Světová zdravotnická organizace
z	Počet vyměňovaných elektronů

1 Onemocnění diabetes mellitus

Chronické onemocnění diabetes mellitus (DM), mezi veřejností známý jako úplavice cukrová neboli cukrovka, se ukazuje být velkým problémem nejen ve vyspělém světě [1]. V České republice patří DM mezi poměrně častá onemocnění. K roku 2018 byl v ČR registrován více jak 1 milion osob s touto diagnózou, což představuje oproti předešlému roku nárůst diabetiků o 40 tisíc [2]. Podle odhadů Světové zdravotnické organizace (WHO) bylo v roce 2012 2,2 miliónů úmrtí zapříčiněno vysokou hladinou glukózy v krvi a v roce 2016 WHO připisuje příčinu úmrtí u 1,6 miliónu lidí přímo diabetu. Podíl počtu jedinců postižených DM k celkové populaci stoupá rychleji v zemích s nízkými a středními příjmy. Přičemž celosvětově se počet diabetiků k roku 2014 v porovnání s rokem 1980 téměř zčtyřnásobil na 422 milionů. Největším nebezpečím v případě DM jsou pozdní následky, které se projevují při nedostatečné léčbě. Těmito následky jsou např. poškození srdce, cév, nervů, ledvin nebo očí. [3] V roce 2010 byla publikována metaanalýza zaměřená na výpočet rizika cévních chorob v závislosti na koncentraci glukózy v krvi na lačno. Metaanalýza je tvořena ze 102 relevantních studií a je sestavena podle pohlaví, věku, závislosti na tabáku, systolického krevního tlaku a BMI. Závěr této studie uvádí, že pacientům s onemocněním diabetes mellitus hrozí bez ohledu na jiné rizikové faktory dvojnásobné riziko cévních chorob. [4]

1.1 Základní popis

Diabetes mellitus je onemocnění, které se projevuje především hyperglykemií. Jedná se tedy o metabolické onemocnění sacharidů, jež vzniká a rozvíjí se vlivem absolutního nebo relativního nedostatku inzulínu. Při dlouholetém působení způsobuje DM poškození mnoha orgánů, a proto cukrovku řadíme i do tzv. chronických onemocnění. Následky DM jsou zejména mikrovaskulární komplikace, kam patří onemocnění sítnice, ledvin a periferních nervů nebo makrovaskulární komplikace, do kterých řadíme např. aterosklerózu. [5]

1.2 Klasifikace

Hyperglykemie je u DM způsobená dvěma hlavními mechanismy, ve nichž je hlavním činitelem inzulín. Podle toho, zda se jedná o poruchu tvorby, případně poruchu sekrece inzulínu nebo o tzv. inzulínovou rezistenci, rozlišujeme dva nejrozšířenější typy diabetu: DM 1. typu a DM 2. typu. Hojně rozšířeným dalším typem je také gestační neboli těhotenský

DM, jenž samovolně odezní po porodu. Mezi méně časté typy pak patří monogenní DM (MODY) nebo sekundární DM způsobený jinou chorobou. [5]

1.2.1 DM 1. typu

Diabetes 1. typu je autoimunitním onemocněním, jehož příčina vzniku zatím není známa. Dochází při něm k zánětu (inzulitidě) neboli k poškozování a případnému zničení B-buněk Langerhansových ostrůvků, které se nacházejí v pankreatu. Následkem poruchy B-buněk je absolutní nedostatek sekrece inzulinu. Pacienti v koncovém stadiu tohoto typu DM jsou zcela odkázáni vnějšímu přívodu inzulinu. [5]

V rámci DM 1. typu rozlišujeme ještě další dva podtypy. Více rozšířený, tzv. typický podtyp, je diagnostikován u dětí či dospívajících a pacient je poměrně záhy závislý na exogenním přísunu inzulinu v důsledku relativně rychlého zničení B-buněk. Druhým, méně častým podtypem, je diabetes LADA, který se objevuje až v dospělosti. Průběh tohoto podtypu je pomalý a na začátku bývá zaměňován s DM 2. typu. Charakteristickými symptomy DM 1. typu přímo zapříčiněnými hyperglykemií jsou polyurie, nykturie, polydipsie a žízeň. Dále většinou dochází k hubnutí, vyčerpanosti a poruše zrakové ostrosti. Nastat může také diabetické ketoacidotické kóma, které je způsobeno značným nedostatkem inzulinu a dehydratací. [5]

Prokázanými rizikovými faktory DM 1. typu jsou např. genetika, kde při výskytu určitých genů roste pravděpodobnost onemocnění. Dále mírně roste pravděpodobnost v případě, že je DM 1. typu přítomen u otce, matky nebo sourozenců. Geografie hraje také podstatnou roli – čím blíže pólům od rovníku, tím větší riziko. Potvrzené je také vyšší postižení kavkazské rasy nežli rasy černošské. [6]

1.2.2 DM 2. typu

Diabetes 2. typu se u populace objevuje mnohem častěji a jeho výskyt je zapříčiněn kombinací dvou mechanismů. První příčinou je postupná zvyšující se odolnost tkání (tuková tkáň, svaly, játra) vůči inzulínu, tzv. inzulínová rezistence, která vyžaduje vyšší sekreci inzulínu. Druhou příčinou je částečná, později i úplná porucha B-buněk, které nejsou schopny dlouhodobě uspokojit vyšší potřebu inzulínu, způsobenou právě inzulínovou rezistencí. V tomto případě dochází tedy k relativnímu nedostatku inzulínu. [5]

Příznaky větší části pacientů trpících DM 2. typu jsou spíše nevýrazné. Mezi ně patří například únava, častější žízeň a močení. U některých nemocných můžou symptomy chybět úplně, a tak se stává, že jsou pacienti diagnostikováni opožděně, anebo vůbec. [5] Na onemocnění pak upozorní až závažnější komplikace, jako jsou různá zánětlivá onemocnění, porucha zraku, ischemická choroba srdeční, ischemická choroba dolních končetin nebo mozková mrtvice. [6]

Nejvýraznějším a nejdůležitějším rizikovým faktorem diabetu 2. typu je obezita. Je dokázáno, že každý 1 kg nadváhy nebo obezity navíc zvyšuje riziko rozvoje DM 2. typu až o 9 % a samotná obezita zvyšuje riziko rozvoje 20krát až 80krát. Další okolností, která je úzce spjatá minimálně s nadváhou a podněcuje riziko onemocnění, je nedostatečná nebo nízká pohybová aktivita a sedavý způsob života. Pravděpodobnost výskytu zvyšuje také věk nad 45 let, kouření, zvýšená hladina cholesterolu a hypertenze. Stejně jako u DM 1. typu, také i u DM 2. typu zvětšuje riziko diabetu rodinná anamnéza, navíc také anamnéza těhotenského diabetu. [6]

1.2.3 Gestační DM

Gestační diabetes, jak už z názvu vyplývá, vzniká v průběhu těhotenství. Projevuje se zhruba u 3–4 % těhotných žen. Po porodu sice sám ustoupí, ale ženám, co prodělaly gestační DM, hrozí větší riziko onemocnění DM 1. nebo 2. typu. Rizikovou skupinou pro těhotenský diabetes jsou ženy, které trpí nadváhou, respektive obezitou, příliš se nepohybují nebo jsou starší 25 let anebo mají DM 2. typu v rodině. Vlivem tohoto typu diabetu dochází k ovlivnění vývoje plodu, jež se nazývá diabetická fetopatie, která způsobuje například hypertrofii (nadměrný růst) a plicní nezralost plodu. [5]

1.3 Diagnostika a kompenzace DM

K určení diagnózy a kompenzaci diabetu nebo také ke zjištění výskytu či průběhu přidružených chorob a komplikací slouží především laboratorní a fyzikální vyšetření [5].

1.3.1 Určení diagnózy

Jelikož DM může být často asymptomatický, obecně se diagnóza určuje při nálezů hyperglykemie v žilní plazmě za vytyčených předpokladů. Pro posouzení glykemie rozlišujeme glykemie nalačno, náhodnou glykemie a glykemie 2 hodiny po orálním glukózovém tolerančním testu (oGTT). [5] U náhodné glykemie, která je brána bez ohledu na denní dobu nebo na přísun potravy, lze vyloučit DM při koncentraci glukózy v plazmě menší než 5,6 mmol/l. V případě nálezů obvyklých symptomů a glykemie vyšší nebo rovné 11,0 mmol/l je u pacienta DM diagnostikován. V „šedém“ intervalu od 5,6 do 11,0 mmol/l je nutno provést vyšetření glykemie nalačno, která lze vyšetřit pouze za předpokladu, že pacient alespoň 8 hodin před odběrem krve nejedl a zároveň nepil slazené nápoje. Také by neměl kouřit a příliš se fyzicky namáhat. U glykemie nalačno můžeme opět diabetes vyloučit, pokud je koncentrace glukózy v plazmě menší než 5,6 mmol/l. Pokud jsou hodnoty větší než 5,6 mmol/l a menší než 7,7 mmol/l jedná se o tzv. hraniční glykemie nalačno, která určuje prediabetes (glykemie je nad normou, ale nenabývá hodnot pro diagnostiku DM), je zapotřebí provést oGTT. Při opakovaném zjištění hodnot větších než 7,7 mmol/l se stanovuje diagnóza DM. Dalším způsobem rozpoznání nemoci je oGTT. Pacient požije 75 gramů glukózy a přesně ve 120. minutě mu je odečtena glykemie v plazmě. Cukrovka je vyloučena (pod podmínkou obvyklé koncentrace glukózy nalačno) v případě, že jsou hodnoty menší než 7,8 mmol/l. V intervalu od 7,8 do 11,0 mmol/l je zjištěna porušená glukózová tolerance a je diagnostikován prediabetes. O DM se jedná, pokud jsou hodnoty alespoň 11,0 mmol/l

nebo vyšší. [6] Další metodou, která je spíše využívána pro diagnostiku prediabetu, předpovězení vzniku nebo k nastavení a kontrole léčby diabetu, je analýza glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}). HbA_{1c} vzniká v krvi spojením hemoglobinu a glukózy, tzv. glykací. Vzhledem k tomu, že červené krvinky v lidském těle přežívají 8 až 12 týdnů, měřením HbA_{1c} získáme přehled o průměrné hladině krevního cukru. Interpretace hladiny HbA_{1c} je následná: V normě jsou hodnoty menší nebo rovné 38 mmol/mol. O prediabetes se jedná v rozmezí 39 až 47 mmol/mol, pro diabetes jsou typické hodnoty větší nebo rovné 48 mmol/mol a při kompenzovaném diabetu se doporučuje udržovat HbA_{1c} menší nebo rovnou 53 mmol/mol. [7]

1.3.2 Kompenzace

Cílem kompenzace DM je prevence před mikrovaskulárními a makrovaskulárními komplikacemi diabetu. Hledisko při posuzování kompenzace je stejné pro oba hlavní typy diabetu (DM 1. a 2. typu), ovšem k jednotlivým pacientům by mělo být přihlíženo individuálně dle jejich věku a jiných diagnóz. Při kompenzaci nejde zdaleka jen o udržování glykemie ve stanovených mezích, ale také o normalizaci krevního tlaku, lipidémie (poruchy lipidového metabolismu), udržování optimálních hodnot BMI (viz Tab. č.1) a stravu. [8]

Jak už bylo zmíněno v předchozí části, hlavním prostředkem pro nastavení kompenzace DM je HbA_{1c}, který nám nepřímou udává dlouhodobý průměr glykemie. Přímé měření glykemie představuje její takřka okamžitý stav, tudíž se používá spíše pro krátkodobou kompenzaci. Glykemie se buď stanovuje z žilní krve v laboratoři anebo z krve kapilární pomocí osobních glukometrů pro tzv. selfmonitoring, u něhož je výhodou možnost častého a snazšího opakování. [5] Udržování normálních hodnot systolického a diastolického krevního tlaku má při kompenzaci DM stejný význam jako udržování glykemie. U DM 1. typu může vysoký krevní tlak indikovat např. diabetickou nefropatii (chronické onemocnění ledvin), kdežto u 2. typu je hypertenze většinou již indikována při odhalení DM. Doporučené hodnoty by se tedy měly udržovat pod hladinou 130/80 mmHg. Co se týče obezity či nadváhy, je důležité, aby nemocný shazoval svoji váhu pomalu a postupně maximálně o 1 kg za měsíc a zároveň aby si svoji doporučenou váhu poté nadále udržoval. [8]

1.4 Léčba

K léčbě DM by se mělo přistupovat individuálně, především dle věku a jiných komplikací pacienta. Terapie se skládá zejména z fyzické aktivity, předepsané diety a farmakoterapie. Jejím záměrem je udržet glykémii na vyhovující úrovni a co nejvíce snížit riziko akutních i chronických přidružených nemocí diabetu. Velmi důležité je tedy optimálně kompenzovat hypertenzi, dyslipidémii a obezitu. Léčba mladých pacientů, u kterých se počítá s dlouhodobým trváním DM, je více striktní a má být co nejúčinnější. Oproti tomu u starších pacientů, které by např. hypoglykemie mohla značně ohrozit, se volí spíše mírnější postup. Nesmírně důležitá je také edukace pacientů a jejich součinnost. Pacienti by tedy měli dodržovat předepsanou dietu a řídit se doporučeními ošetřujícího lékaře, jinak může být léčba neúčinná, či dokonce kontraproduktivní. [5]

1.4.1 Dieta

V případě DM 1. typu se dieta v zásadě rovná plánovanému příjmu potravy v optimálním množství proto, aby se podávaná dávka inzulínu co nejvíce blížila skutečnému požadovanému množství. Pacientovi je omezena konzumace volných cukrů, jinak mu však žádné potraviny v adekvátním množství omezeny nejsou. [5]

U DM 2. typu dieta spočívá v omezeném příjmu kalorií a jejím hlavním cílem je zhubnutí nebo alespoň udržení váhy. Pacient by měl jíst pětkrát denně po menších porcích a měl by se vyhnout potravinám slazeným běžnými cukry, kalorickým sladidlům, červenému masu a uzeninám. Naopak se doporučuje nízkosacharidová strava, zelenina a potraviny bohaté na živiny. [5]

1.4.2 Pohybová aktivita

Pravidelný pohyb dle pacientových možností je při terapii diabetu velmi přínosný a může vést např. ke snížení inzulínové rezistence. Dle různých studií fyzická aktivita významně přispívá také k prevenci DM 2. typu. U pacientů s DM 1. typu je pohybová aktivita prospěšná mimo jiné pro vyrovnaní inzulínové kompenzace, avšak pacient by si měl při větší zátěži svůj inzulínový režim vhodně upravit. Vhodné jsou aerobní aktivity, jako jsou jízda na kole, běh či plavání, ovšem i rychlejší chůze je velmi prospěšná. Fyzická zátěž by měla trvat alespoň 30 minut a měla by být praktikována nejméně třikrát až čtyřikrát týdně. [5]

1.4.3 Farmakologická léčba

Jedinou farmakologickou možností léčby DM 1. typu je léčba inzulínem, která má za úkol nahradit fyziologickou sekreci inzulínu [6]. Léčba by měla začít co nejdříve po stanovení diagnózy a dávky inzulínu by měly být nejprve takové, aby došlo k pozvolnému snížení glykemie. V případě hodně vysoké glykemie, tedy horšího stavu, je nezbytné pacienta hospitalizovat a podávat mu inzulín nepřetržitě intravenózní cestou. Po stabilizaci pacientových hodnot glykemií se postupuje k intenzivní inzulínové léčbě, která sestává obvykle z jedné dlouhodobě působící dávky inzulínu a z dávek působících krátkodobě, podávaných před hlavními jídly. Velmi důležité ovšem je, že dávkování a výběr typu inzulínu by měl být u každého pacienta individuální, zejména dle povahy diabetu a způsobu života nemocného. Inzulín lze podávat jednorázovými nebo znovupoužitelnými aplikátory, tzv. inzulínovými pery. Po určité době, kdy už má osoba trpící DM 1. typu určité zkušenosti se svojí léčbou, je možná terapie pomocí inzulínové pumpy. [9]

DM 2. typu se léčí zejména perorálními antidiabetiky a až při jejich nepostačující účinnosti se aplikuje inzulín. Hlavním užívaným medikamentem je metamorfin, od kterého se upouští jen v případě kontraindikací nebo jeho intolerance. V případě, že má metamorfin na pacienta nižší účinnost, dají se k léčbě přidat také jiná antidiabetika. [5]

1.4.4 Selfmonitoring glykemie a kontinuální monitorování glukózy

Selfmonitoring glykemie jako takový spočívá v náhodném, ale zejména systematickém měření glykemií (tzv. glykemický profil) samotným pacientem, který si tak za předpokladu, že podstupuje inzulinoterapii, upravuje dávky inzulínu. V Tab. 1 jsou uvedeny cílové hodnoty glykemie v kapilární krvi nalačno a po jídle pro dospělé pacienty. Ty jsou pro selfmonitoring diabetu klíčové, avšak pro osoby s velkým kardiovaskulárním rizikem nebo děti se liší. Každý pacient by tedy měl být obeznámen se svými cílovými hodnotami a zároveň by si je měl pamatovat. K selfmonitoringu se používají osobní glukometry spolu s testovacími jednorázovými proužky. Pacienti, kteří podstupují intenzivní inzulinovou léčbu (pacienti aplikující několik dávek inzulínu denně nebo pacienti s inzulinovou pumpou), by si měli měřit glykemii minimálně třikrát až čtyřikrát denně. Optimálně by však v případě tzv. velkého glykemického profilu mělo probíhat měření vždy před veškerými hlavními jídly a po nich, dále před spaním a ve 3 hodiny ráno. V případě tzv. malého glykemického profilu se jedná pouze o měření glykemie před hlavními jídly a před spaním. Sledování glykemie je také velmi podstatné při onemocnění jinou chorobou, kdy může docházet k větším výkyvům. [10] Aby selfmonitoring dával smysl a byl co možná nejvíce užitečný, měl by mít pacient pevně určeno, kdy se má měřit a jakým způsobem výsledky měření zaznamenávat. [6]

Systém kontinuálního monitorování glukózy (CGM) je dalším způsobem pro přesnější kompenzaci diabetu. Díky tomu, že v reálném čase sleduje úroveň glukózy, je systém schopný určovat trend vývoje a předvídat tak blížící se nízké či vysoké hodnoty a pacienta upozornit. Systém je také vybaven alarmem pro případy, že by došlo k překročení intervalu výchozích hodnot. Běžně používané CGM zařízení určené pro selfmonitoring sestává ze snímače, vysílače a přijímače. Snímač je zaveden pod kůži, aby mohl měřit koncentraci glukózy v intersticiální tekutině (intersticiální tekutina je obsažená ve všech tkáních, vyplňuje mezibuněčný prostor a její funkcí je přenos živin). Na snímač je připojen vysílač, jenž je umístěn na povrchu pokožky. Ten má na starosti bezdrátové vysílání zjištěných koncentrací glukózy k přijímači. Přijímačem může být jak samotná inzulinová pumpa, tak speciální či chytré zařízení (např. mobilní telefon). Zpravidla se pacient ani tak nevyhne používání osobního glukometru, kterým je zapotřebí každý den zařízení CGM kalibrovat, avšak na trhu jsou už i varianty bezkalibrační. Hodnoty změřené pomocí CGM by se měly lišit od referenční hodnoty určené v laboratoři z plazmy o méně než 15 %. Podobně jako

systém CGM funguje tzv. systém okamžitého monitorování glukózy (FGM), který se liší absencí alarmů a způsobem zjišťování dat a trendů, které pacient zjistí pouze po přiblížení přijímače ke snímači. FGM je oproti CGM výhodnější z hlediska méně časté potřeby kalibrace, která je u tohoto systému dle České diabetologické společnosti potřeba pouze každé dva týdny (dle výrobce není potřeba vůbec [11]). V některých případech může být FGM lepší volbou než CGM, jelikož FGM nedisponuje aktivními alarmy, které mohou mít u citlivějších pacientů špatný vliv na psychiku. Všeobecně je ovšem technologie CGM více uznávaná, protože představuje kvalitnější, ale hlavně bezpečnější způsob kompenzace diabetu. [12]

Tab. 1 Důležité cíle léčby dospělého pacienta DM 1. nebo 2. typu [9][13]

	Cílová hodnota
<i>HbA_{1c} (mmol/mol)</i>	< 45
<i>Glykemie v žilní plazmě nalačno (mmol/l)</i>	≤ 6,0
<i>Hodnoty glykemie v kapilární krvi – nalačno (mmol/l)</i>	4,0–6,0
<i>Hodnoty glykemie v kapilární krvi – postprandiální (mmol/l)</i>	5,0–7,5
<i>Krevní tlak (mmHg)</i>	< 130/80
<i>Celkový cholesterol (mmol/l)</i>	< 4,5
<i>BMI</i>	19–25
<i>Obvod pasu: ženy (cm) / muži (cm)</i>	< 80 / < 94

2 Historie monitoringu DM

2.1 Prvotní způsoby měření glukózy

Úplně prvním způsobem, kterým se diagnostikoval diabetes, bylo vyšetření moči na přítomnost glukózy. Takto se rozpoznávala cukrovka již ve středověku, jelikož moč diabetika má sladkou vůni či chuť. Teprve až v 19. století se objevily první propracované metody. Jednou z prvních takovýchto metod byl kvalitativní test moči, který spočíval v redukci glukózy pomocí síranu měďnatého (CuSO_4). Výsledkem redukce bylo zbarvení moči díky vzniklému oxidu měďnému (Cu_2O). V roce 1850 byl vyvinut Julesem Maumenem první diagnostický proužek na bázi ovčí vlny s chloridem cínatým (SnCl_2). V případě detekce cukru v moči se proužek zbarvil do černa. Následně až do začátku druhé poloviny 20. století bylo k monitorování DM skrz moč používáno měděné činidlo, které významně vylepšil v roce 1908 Stanley Benedict. Na něj roku 1945 navázali lékaři Compton a Treener, kteří svojí vylepšenou tabletou měděného činidla (Clinitest) odstranili hlavní nevýhodu „Benedictova činidla“, jež spočívala v potřebě dostatečného tepla, aby došlo ke správnému zbarvení. Potřebné teplo bylo v tomto případě dodáno rychlou reakcí tablety s malým množstvím moči. Během reakce došlo k oxidaci glukózy v moči a redukci CuSO_4 , což způsobovalo dle koncentrace glukózy zbarvení přípravku do odstínů modré, zelené, žluté či oranžové. [14]

Velké vylepšení v rozpoznávání glukózy v moči přinesla suchá činidla obsahující enzym glukózooxidázy (GOx). V roce 1957 byla představena nová metoda Clinstix využívající právě GOx společně s peroxidázou a orthotolidinem. Tyto tři látky byly nanášeny na proužek tvrdého papíru. Postup použití Clinstixu byl následovný: testovací proužek se namočil do vzorku moči a ten se následně přibližně po 1 minutě vybarvil do modré barvy, jež indikovala výskyt glukózy v moči. [15] Postupně se však přicházelo na to, že testování glukózy v moči není tou správnou cestou, jelikož výsledky byly snadno ovlivnitelné příjmem tekutin, koncentrací moči a některými léky [16].

Dále ani negativní výsledek testu nevyklučuje hypoglykémii či mírnou hyperglykémii a pozitivní výsledek nastává pouze po překročení renální meze (až po jejím překročení se začíná vylučovat glukóza do moči), která se může u jedinců lišit. Zásadní nevýhodou testování glukózy v moči je také to, že úroveň glukózy v moči neodráží aktuální úroveň

glukózy v krvi, ale její průměrnou hodnotu. [16] V důsledku všech těchto nevýhod se ustoupilo od testování moči a přistoupilo se spíše přímo k vyšetření krve [14].

Prvním sofistikovaným způsobem měření glukózy v krvi byly papírové proužky vynalezené Ernestem Adamsem roku 1963. Vynález pojmenoval Dextrostix a jeho princip spočíval v nanesení krve na testovací proužek, který se podle koncentrace glukózy zbarvil do různých odstínů modré barvy. Obarvené proužky se poté porovnávaly s výchozím grafem koncentrací. [17] Proužek byl ošetřen suchými činidly GOx a peroxidázy, jeho povrch pokrývala polopropustná membrána zajišťující zachytávání krvinek, ale naopak propouštění glukózy [14]. Hlavní nevýhodou této metody bylo poskytování pouze přibližných hodnot hladiny glukózy a nesourodá interpretace, jež byla ovlivňována subjektivním vnímáním barev a světelnými podmínkami. Roku 1970 navázal na Dextrostix Anton H. Clemens, který vynalezl přístroj – Ames Reflectance Meter (ARM), který je považován za první glukometr. [17] ARM detekoval světlo odražené z testovacích proužků Dextrostix pomocí fotočlánku, jenž převedl světlo na elektrický signál a ten byl poté zobrazován pohyblivými ručičkami na třech analogových stupnicích (0–4, 4–10, 10–55 mmol/l). Přístroj významně zlepšil užívání Dextrostixu, avšak musel se udržovat přesný postup, aby nedocházelo k nepřesnostem měření. Kalibraci ARM zajišťoval referenční proužek. Pro náročnější obsluhu, svoji váhu přesahující 1 kg a vysokou cenu byl využíván především v ordinacích, i když byl napájen bateriemi. [14]

2.2 Glukometry pro selfmonitoring

Glukometry doporučené pro selfmonitoring se začaly používat až v 70. a 80. letech minulého století. Mezi ty úplně první patřily například Dextrometr od společnosti Ames, Reflomat od společnosti Boehringer Mannheim či Glucose Tester z Královské australské dětské nemocnice. Tyto glukometry fungovaly na stejném principu jako ARM, ale byly znatelně menší, daly se snáze přenášet a také na dřívější dobu vykazovaly poměrně uspokojivou přesnost. [18] Později se u těchto prvotních glukometrů objevily různé technické nedostatky jako nedostačující životnost nabíjecích baterií nebo nepřesný časovač, který způsoboval nepřesnosti v měření. V roce 1987 byl pod názvem ExacTech společností MediSense uveden na trh první glukometr na bázi biosenzoru, který vykazoval dostatečnou správnost a přesnost měřených hodnot. Přístroj byl tvořen amperometrickou enzymovou elektrodou, která se skládala z GOx a ferrocenu ($C_{10}H_{10}Fe$) zajišťujícího přenos elektronů.

Díky redoxní reakci krevní glukózy s elektrodou byl generován elektrický proud, jenž byl následně detekován amperometrickým senzorem. ExacTech přišel v té době s velmi originálním provedením ve formě pera nebo karty tvarově podobné té platební. V 80. letech 20. století začaly glukometry disponovat novými užitečnými funkcemi, které usnadňovaly diabetikům jejich použití a obecně zefektivňovaly monitoring. Některé modely byly například opatřeny výstražnými signály, které upozorňovaly na vysoké, či nízké hodnoty nebo nízký stav baterie. Obecně se glukometry začaly zmenšovat a byly opatřovány pamětí pro ukládání a načítání změřených hodnot, včetně data a času. Ovšem i testovací proužky se dočkaly jistého vylepšení, například se zmenšil potřebný objem krve a na některých proužcích byl dokonce otisknut čárový kód zajišťující autokalibraci. [14]

Glukóza se díky úspěchu testovacích proužků, reflektometrů a biosenzorů uchytila jako hlavní sledovaná látka pro selfmonitoring či primární péči. Avšak i přes to měly tyto technologie stále svá úskalí. Hlavním problémem byl ale stále velký vliv obsluhy, respektive uživatele systému na výsledky měření (kalibrace, údržba zařízení, dostatečný objem vzorku krve atd.), na jejichž základě pak mohla být stanovena špatná léčba vedoucí k nežádoucím komplikacím. Proto se hlavní výrobci v dalším desetiletí zaměřili na omezení tohoto vlivu či případně na jeho úplnou eliminaci, aby zajistili pacientům co nejmenší riziko nepřesností. Úspěšný systém uvedla na trh v roce 1992 společnost Johnson & Johnson pod názvem OneTouch II, který díky jednoduchosti a novým funkcím lépe motivoval pacienty k léčbě. Jednalo se o reflektometr, u něhož nebylo zapotřebí hlídat přesnou dobu setrvání krve na testovacích proužcích a následně je před měřením otřít. OneTouch II navíc disponoval pamětí pro uložení 250 naměřených hodnot, byl předkalibrovaný a vyhodnocení zvládl za 45 s. S podobným trendem nových funkcí poté přišla i firma Boehringer Mannheim s řadou glukometrů Accutrend. Nicméně i vývoj biosenzorů šel kupředu a úprav se dočkaly především jejich elektrody z hlediska citlivosti. Mezi ty více úspěšné systémy patřily glukometry AccuChek Advantage (1996) od společnosti Roche nebo zařízení Companion II (1994) či pozdější model Precision QID (1998) od výrobce MediSense. [14]

2.3 CGM systémy

Na rozhraní 20. a 21. století došlo v tomto odvětví k velkému zlomu, jelikož na trh vstoupily CGM systémy, které způsobily revoluci v monitoringu glykemie. Úplně první prodávané zařízení tohoto typu byl Guardian RT od společnosti Medtronic MiniMed. Systém nepřetržitě měřil a ukládal koncentraci glukózy v intersticiální tekutině, jako tomu je i dnes, ale na rozdíl od moderních CGM systémů byl doporučen pouze jako doplněk ke standardním glukometrům pouze pro pacienty s DM 1. typu. Zařízení totiž nevykazovalo dostatečnou přesnost a chyběly mu klinické testy pro jeho použití u dětí, u pacientů trpících jiným typem DM nebo u jiných etnických skupin. [19] Guardian RT se skládal ze senzoru glukózy zavedeného pod kůži, dále z přijímací části na baterky a z tzv. Com-Station, což byla základna pro přijímací část, s jejíž pomocí se naměřená data přenesla do PC. Senzor posílal přes propojovací kabel data do přijímače každých 10 sekund, ten poté po každých 5 minutách uložil zprůměrovanou hodnotu. Princip senzoru byl založen na generaci elektrického proudu způsobené interakcí platinové mikroelektrody potažené GOx s glukózou v intersticiální tekutině. [20] Všechna zařízení CGM měla na počátku problémy v podobě nepřesností a časových prodlev, avšak během posledních dvou dekad došlo k podstatným vylepšením a zmírněním výše uvedených nedostatků [19]. CGM systémy tak dnes představují velmi užitečný nástroj v rámci selfmonitoringu.

Tab. 2 Vývoj technologií selfmonitoringu pro měření glukózy v krvi [14][19]

Vývojové/technologické milníky	Rok	Zařízení	Společnost
První testovací proužek využívající reakci GOx	1957	Clinistix	Ames
Upravený testovací proužek pro zjištění hladiny glukózy v krvi	1964	Dextrostix	Ames
Reflexní fotometrie využívající testovací proužky Dextrostix	1970	ARM	Ames
Reflexní fotometr s analogovou stupnicí napájený ze sítě	1973	Eyestone	Ames
Vatou otíratelné testovací proužky vyžadující menší objem krve	1974	Reflomat	Boehringer Mannheim
Digitální displej, zavedení standardu kalibrace pro plnou krev	1980	Dextrometer	Ames
Automatické načasování reflexní fotometrie	1980	Glucochek/Glucoscan	Lifescan
Vylepšený časovač se zvukovým alarmem	1981	Glucometer I	Ames
Ukládání kalibrace a alarm vysokých/nízkých hodnot glykemie	1981	Glucometer I	Ames
Ukládání výsledků měření do paměti přístroje	1986	Glucometer M	Ames
Testovací proužky nepotřebující otírání, automatický časovač měření, celý proces trvající 45 sekund	1987	OneTouch	Lifescan
První biosenzor s amperometrickou enzymovou elektrodou	1987	ExacTech	Medisense
Absence kalibrace, paměť pro 250 výsledků	1992	OneTouch II	Johnson & Johnson
Stahování naměřených hodnot do PC	1997	Glucometer Esprit	Bayer
První CGM zařízení uvedené na trh	1999	Guardian RT	Medtronic MiniMed
Kalibrace systému pro plazmu	2001	OneTouch Ultra	Johnson & Johnson
Uzpůsobení přístroje pro zrakově postižené osoby	2002	AccuChek Voicemate	Roche
Systém využívající coulometrii	2003	Freestyle Freedom	Abbott
Sloučení 10 testovacích proužků do jednoho přípravku „Autodisc“	2003	Ascensia Breeze	Bayer
Bubnový přípravek pro 17 testovacích proužků	2005	AccuCheck Compact	Roche
„Mluvicí“ glukometr pro zrakově postižené	2008	SensoCard Plus	BBI

3 Metody a technologie pro měření a vyhodnocování glukózy v krvi

Měření a vyhodnocování glukózy v krvi se u diabetu využívá především ve dvou případech, a to pro diagnózu DM a pro takzvaný selfmonitoring, dle kterého se následně určuje míra inzulínoterapie a předchází se tak hypoglykemiím i hyperglykemiím. Přístroj, který je nejčastěji používán k selfmonitoringu, se nazývá osobní glukometr a využívají jej jak samotní pacienti, tak i odborný personál v nemocnicích. Současně se rozšiřují i relativně nové kontinuální systémy CGM a FGM. CGM je spíše využíváno k léčbě pacientů s DM 1. typu, neznámá to však, že by pro pacienty s jinými typy DM nebyl tento způsob monitorování prospěšný. CGM například významně pomáhá rozklíčovat příčiny výkyvů glykemií, a zlepšuje tak léčbu DM. [12]

3.1 Invazivní metody

3.1.1 Osobní glukometry pro selfmonitoring

Osobní glukometry jsou dnes nejpoužívanější technologií pro kontrolu hladin glukózy. Jedná se o malá přenosná zařízení vyhodnocující koncentraci krevní glukózy ze vzorku krve odebraného nejčastěji z prstu a naneseného na testovacím proužku. [21] Osobní glukometry lze dělit dle principů stanovení koncentrace glukózy v krvi. Dělíme je tedy na reflektanční glukometry (reflektanční fotometrie) a na elektrochemické glukometry využívající amperometrie či coulometrie [22]. Amperometrie je elektrochemická metoda, která za stálého napětí mezi dvěma elektrodami (referenční a indikační) sleduje procházející proud úměrný koncentraci sledované látky. Coulometrie, vychází z Faradayových zákonů a určuje koncentraci dle velikosti prošlého náboje elektrodou, jež je přímo úměrná množství látky dle vztahu:

$$Q = z n F \quad (1)$$

Bez ohledu na princip detekce glukózy většina z těchto systémů potřebuje ke splnění své funkce testovací proužky. Ty jsou impregnovány různými enzymy, např. GOx nebo glukózodehydrogenázou (GDH) či chinoprotein glukózodehydrogenázou (PQQ-GDH), z nichž každý má své klady a zápory. [22] Metody využívající GOx poskytují vysokou rozlišitelnost a nehrozí zde vzájemná reakce s jinými cukry. Na druhou stranu při použití

tohoto enzymu jsou výsledky glukometrů ovlivnitelné koncentrací kyslíku v krvi, což je třeba brát v potaz ve vysokých nadmořských výškách, na JIP a v případech hypoxie (nedostatku kyslíku v těle). Metody s GDH sice nejsou ovlivnitelné koncentrací kyslíku, ale dochází zde ke vzájemné reakci s jinými cukry, proto se také u těchto glukometrů musí dát pozor na nadhodnocení glykemie. Během enzymatických reakcí je glukóza přeměňována na elektrony nebo na volné radikály (např. peroxid vodíku – H_2O_2), ty jsou pak měřeny amperometrickou metodou pomocí elektrody nebo metodou reflektanční fotometrie. [23] Současné osobní glukometry na trhu potřebují malé množství krve v řádech jednotek či desetin μl , z níž dokážou zpravidla za méně než minutu určit koncentraci glukózy. Dále vykazují přijatelnou přesnost, správnost a korelaci s referenčním standardem. [22] Ale vždy by měl být kladen důraz na správnou interpretaci výsledků měření dle pacientova stavu, na dodržování postupů a měly by být minimalizovány nežádoucí vlivy prostředí [17]. Téměř každé zařízení již disponuje alespoň ukládáním dat, některá je i zpracovávají a lepší z nich nabízí užitečné dodatečné funkce, jako je záznam dávek inzulínu, příjmu sacharidů nebo zvýšené fyzické aktivity. Naopak hlavní nevýhodou osobních glukometrů je, že zjišťují pouze okamžitou glykemii. Mimo to při každém měření si pacient musí prostřednictvím lancety odebrat kapku kapilární krve, což kvůli četnosti a způsobené bolesti může vést k jeho demotivaci. [21]

3.1.1.1 Kalibrace dle metody analýzy

Běžně užívané referenční laboratorní analýzy obvykle vyhodnocují glukózu z plazmy, proto je doporučeno, aby i osobní glukometry udávaly výsledky měření z plazmy. Dle metody analýzy osobního glukometru toho však nemůžeme bez jistých úprav docílit. Proto aby se naměřené hodnoty podobaly co nejvíce hodnotám získaným z laboratoří a daly se s nimi srovnávat, zavádí se matematický offset a kalibrace. Způsob, jakým výsledky měření upravíme, závisí na metodě analýzy vzorku plné krve. Některé glukometry zpracovávají přesně daný objem plné krve, rozkládají vnější membránu buněk a ze vzniklého lyzátu (tekutiny uvnitř buněk) určují množství glukózy. V tomto případě se nastavuje fixní offset a u některých přístrojů se i udělá kalibrace dle skutečného hematokritu (poměru mezi objemem červených krvinek a plné krve), jelikož hematokrit snižuje hodnotu naměřené glykemie. Jiné glukometry oddělují buněčnou část krve od plazmy pomocí absorpčních polštářků a ta je pak enzymatickými činidly analyzována. Tento typ glukometru je pouze kalibrován a má na trhu znatelně větší zastoupení. [17]

3.1.1.2 Technologie na trhu

Dle SÚKL (Státního ústavu pro kontrolu léčiv) a jejich Registru zdravotnických prostředků je v ČR registrováno okolo 60 typů osobních glukometrů od více jak 20 výrobců (viz Příloha A) [24]. Aby mohla být tato zařízení uvedena na evropský trh a zároveň byla registrována v ČR, musí získat označení CE (Conformité Européenne) ustanovující nutnost splnění normy ISO 15197:2013. V nedávno zveřejněné nezávislé německé studii hodnotící přesnost 18 osobních glukometrů dostupných v EU bylo zjištěno, že přibližně 20 % ze schválených osobních glukometrů nespĺňuje kritéria normy (všechny alespoň spadají do zón A či B Parkesovy chybové mřížky). Příčinami může být například to, že zařízení nejsou testována jednotnou nezávislou organizací, ale jsou testována pouze před vstupem na trh, nikoliv však během jejich prodeje. Nejpřesnějším osobním glukometrem neboli zařízením, které dosáhlo nejmenší odchylky od referenční metody měření alespoň v 95 % případů, byl vyhodnocen ContourNext One od společnosti Ascensia Diabetes Care s odchylkou $\pm 7,7\%$ ($\pm 0,43$ mmol/l), tento model ale bohužel není nabízený v ČR. Nejlépe hodnocený osobní glukometr registrovaný v ČR je podle německé studie FreeStyle Freedom Lite vykazující minimální odchylku $\pm 11,1\%$ ($0,62$ mmol/l). Naopak největší odchylku od referenční metody má glukometr eBsensor od společnosti Visgeneer s minimální odchylkou $\pm 19,7\%$ ($\pm 1,09$ mmol/l). Výsledky glukometrů registrovaných v ČR jsou uvedeny v Tab. 3. Studie zároveň zjistila, že pouze 3 z 18 testovaných glukometrů by splnily přísnější kritérium maximální odchylky $\pm 10\%$ ($\pm 0,56$ mmol/l), a žádný by ale nebyl schopný měřit s odchylkou $\pm 5\%$ ($\pm 0,28$ mmol/l). [25]

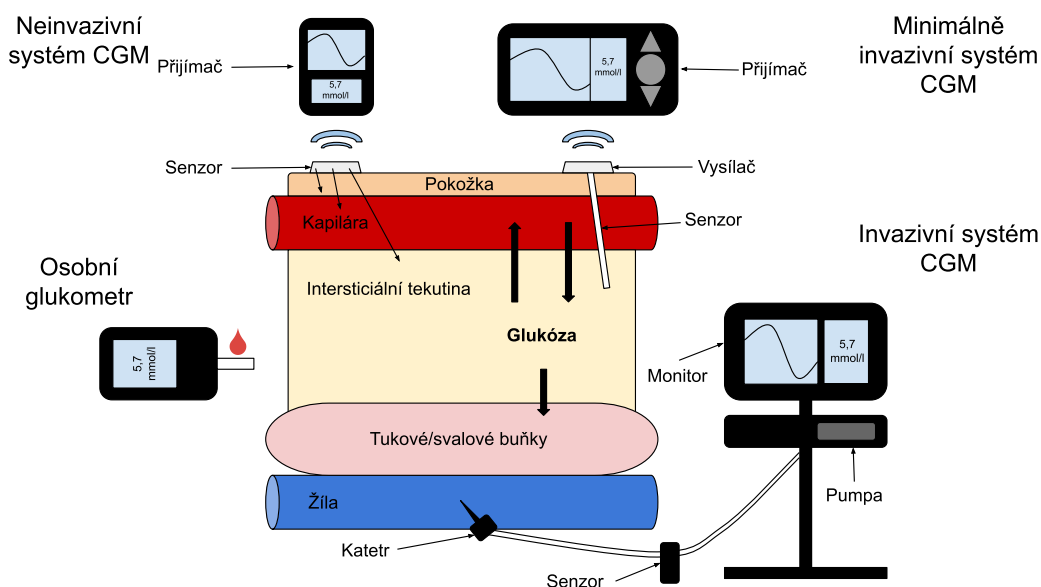
Tab. 3 Výsledky porovnání osobních glukometrů registrovaných v ČR s referenční metodou [24][25]

Název osobního glukometru	$\pm 15\%$ (%)	$\pm 10\%$ (%)	$\pm 5\%$ (%)	Minimální odchylka od referenční metody vyskytující se u 95 % naměřených hodnot (%)	Relativní odchylka (%)
ABRA	91,0	71,0	36,5	$\pm 16,8$	-2,9
eBsensor	89,0	73,5	45,5	$\pm 19,7$	3,9
FreeStyle Freedom Lite	99,5	91,5	46,5	$\pm 11,1$	-6,6
GL50 evo	97,5	86,5	59,5	$\pm 13,4$	1,7
GLUNEO SET	93,0	77,5	35,0	$\pm 16,2$	-0,6
OneTouch Verio Flex	99,0	93,5	58,5	$\pm 11,9$	4,2

3.1.2 CGM systémy

CGM systémy jsou relativně nová zařízení, která však už nyní používá několik milionů lidí po celém světě [26]. Tato technologie je určena pro pacientovu domácí léčbu, respektive selfmonitoring, a tak v některých případech může nahrazovat osobní glukometry. Je totiž prokázáno, že monitorování glykemie v reálném čase pomáhá při léčbě DM ke snížení rizika výskytu hypoglykemie [19] či hyperglykemie [27], tím přispívá ke zkvalitnění a prodloužení pacientova života. Jak již bylo v předešlých částech zmíněno, většina CGM zařízení měří glukózu v intersticiální tekutině, proto je třeba si uvědomit, že výsledky neboli hodnoty měření se mohou lišit od jiných používaných technologií [26] a je zapotřebí s touto odlišností při hodnocení výsledků počítat. Díky novým technologiím a vědeckým posunům jsou dnešní systémy CGM relativně přesné (o něco méně přesné než osobní glukometry) [28], malé a nenápadné.

Senzory CGM lze rozdělit dle jejich aplikace na invazivní, minimálně invazivní a neinvazivní (neinvazivní typ spadá do části věnované neinvazivním metodám). Rozdíly mezi jednotlivými typy senzorů jsou schematicky zobrazeny na Obr. 4. Invazivní systémy měří glykemie ve venózní krvi, hodí se tedy pro užití v nemocnicích (např. na JIP), protože koncentrace glukózy v žilách není ovlivňována horší cirkulací krve [26]. Naopak se tyto přístroje nehodí pro domácí selfmonitoring, kvůli nutnosti zavedení katétru odborným personálem, velikosti zařízení a také proto, že krev je analyzována mimo tělní oběh [29].



Obr. 1 Schematicky zobrazené principy funkce různých systémů CGM a osobního glukometru dle [26]

Minimálně invazivní CGM systémy jsou často označovány pouze jako CGM zařízení, jelikož jsou hlavním zástupcem této technologie a způsobily velký pokrok v domácím selfmonitoringu. Celý systém se skládá ze senzoru zavedeného v podkožní tukové tkáni (zajišťuje měření koncentrace glukózy v podkožní intersticiální tekutině, k aplikaci není nutný odborný personál [19]), z vysílače přímo připojeného na senzor a přijímače zobrazujícího výsledky měření [30]. Sensory mohou být buď jehlového typu, ty využívají amperometrickou metodu měření a jsou nejvíce rozšířené, nebo existují implantované senzory, jež jsou založené na principu fluorescence [26]. V posledních letech se objevuje i úplně nová technologie senzorů na bázi mikrožehel v podobě náplastí [31].

Jehlové amperometrické senzory jsou principiálně velmi podobné sensorům použitým u osobních glukometrů, jelikož jsou také převážně na bázi enzymů [31] produkujících například H_2O_2 (v případě GOx), jemuž je přímo úměrná koncentrace glukózy a následně generovaný proud. Nejnovější technologie ovšem začínají nahrazovat enzymy nanoelektrodami z uhlíkových nanotrubic zajišťujícími selektivní detekci glukózy [32][33]. Implantované senzory jsou navrženy tak, aby odstranily některé nevýhody tradičních výše zmíněných senzorů například, tím že je jejich princip založen na fluorescenci, je zabráněno interferenci s jinými látkami a měření není tímto způsobem ovlivňováno [34].

Další výhodou tkívá v tom, že vysílač není fyzicky spojený se senzorem a je možné jej jednoduše odejmout [35] (kdykoli pacient potřebuje), aniž by se senzor musel zbytečně vyhodit (tak je tomu u jehlových senzorů). Jehlové senzory běžně vydrží zavedené 7 až 14 dní [36], oproti tomu ty implantované mají životnost až 180 dní [35]. Na druhou stranu i tento typ senzorů má své určité nevýhody a jednou z nich je zavádění, které musí být provedeno proškoleným zdravotníkem při lokální anestezii [34]. Obal implantovaného senzoru je tvořen akrylátovým sklem (polymethylmethakrylátem), na nějž je naroubovaný neinfekční fluorescenční polymer indikující glukózu [36]. Aby se zabránilo vzniku infekce a zarůstání senzoru, je obal ještě navíc opatřen speciálním kroužkem napuštěným glukokortikoidy [34]. Jakmile dojde k interakci glukózy s obalem, zvýší se intenzita fluorescence a ta je následně měřená optickým prvkem senzoru [36]. Prostřednictvím elektromagnetické indukce dodává vysílač energii senzoru, ten naopak posílá data o intenzitě fluorescence vysílači, kde jsou hodnoty převedeny na koncentraci glukózy a dále přeneseny přes Bluetooth do chytrého zařízení [31]. Technologie mikrojehel sestává z náplasti osazené poli mikrojehel pokovených kovy (např. Pt a Ag [37]) [38]. Dle kovu jsou pole rozdělena na pracovní a referenční elektrody [37]. Elektrody jsou poté nastaveny tak, aby byly citlivé na glukózu. Mikrojuhly narušují pouze nejsvrchnější část pokožky, čímž extrahují kožní intersticiální tekutinu [31], z níž je pak pomocí enzymové reakce určena koncentrace glukózy. Výhodou této metody je potenciál zvýšení její přesnosti, protože koncentrace glukózy v kožní intersticiální tekutině je více podobná koncentraci glukózy v krvi nežli koncentraci glukózy v podkožní intersticiální tekutině a zároveň v ní také dochází k menšímu fyziologickému zpoždění [37]. Kromě toho je také pacientova bolest zanedbatelná, a to díky minimálnímu narušení tkáně [39]. Bohužel na trhu zatím není dostupné žádné zařízení tohoto typu [39][40].

3.1.2.1 Úskalí používání

Aktuálně komerčně dostupné CGM přístroje doporučené k selfmonitoringu jsou výhradně minimálně invazivní a převážně jehlové nebo implantovatelné. I přes značné vylepšení jejich provedení a výkonnosti mají tyto systémy určité technické a fyziologické slabiny, kam spadá kupříkladu životnost senzoru [11], jež je limitována jeho znečištěním a biokompatibilitou s tkání [30], časová prodleva mezi glykemií a koncentrací glukózy v intersticiu (5–13 minut [11]) nebo přesnost [31]. Pozitivem je, že v poslední době dochází ke zlepšení biokompatibility a omezování biologického znečištění senzorů pomocí

polymerních potahů [40], díky nimž je zabráněno zanícení a obrůstání (hojení) tkáně okolo senzoru. Zlepšuje se tak stabilita i přesnost CGM systémů a hlavně jejich životnost [40]. Dalšími překážkami v užívání kontinuálních monitorů k selfmonitoringu je cena těchto zařízení a jejich jednorázových komponentů, neboť jsou často hrazeny pojišťovny jen zčásti [28], eventuálně pacient nesplňuje stanovené podmínky a nemá tak nárok na žádné proplacení [11]. Je třeba také brát v potaz různé sociální a psychické nepohodlí pacientů. Sociální problémy jsou spíše spojeny s mladšími pacienty, u nichž je běžné, že se často obávají názorů svých vrstevníků, nechťejí být odlišní a vyčlenění z kolektivu [41]. Psychické nepohodlí bývá způsobeno obavami či stresem z udržení normálních hodnot glykemie nebo také únavou z alarmů hlásících překročení nastaveného intervalu [31].

3.1.2.2 Kalibrace

Kalibrace kontinuálních monitorů glukózy se liší dle zařízení. Některá vyžadují kalibraci minimálně dvakrát denně [27], jiná například jednou za dva týdny [42]. Vždy jsou ale kalibrovány prostřednictvím osobních glukometrů [27][42]. V důsledku toho je nezbytné, aby kalibrační osobní glukometr byl co nejpřesnější [26] a nedocházelo tak k přenášení a zvětšování chyby měření. Trendem a snahou je přirozeně co nejvíce používání přístroje pacientovi zjednodušit a zpříjemnit, proto jsou některé nejnovější systémy již kalibrovány z výroby [27] a pozdější kalibraci nevyžadují.

3.1.2.3 Technologie na trhu

Registrovaných CGM systémů je v ČR osm [24]. Všechny dostupné kontinuální senzory, vyjma Eversense XL, jež se implantuje, jsou jehlového typu. Přesnost senzorů CGM je obvykle hodnocena na základě průměrné absolutní chyby mezi hodnotami naměřenými sledovaným zařízením a hodnotami získanými referenční metodou [43]. Zkráceně se tento ukazatel nazývá MARD (Mean absolute relative difference). Dle obsahu slovinské publikace z minulého roku [27] se jako nejlepší technologie na trhu zdají být zařízení Dexcom G6 a Eversense XL. Dexcom G6 ve studii [27] ukázal, že má navrch zejména životností senzoru činící 10 dnů, jako jediný je továrně kalibrován (nepotřebuje dodatečnou kalibraci) a má nejmenší ukazatel MARD. Eversense XL má sice o něco vyšší ukazatel MARD a je zapotřebí jej kalibrovat 2krát denně, ale jelikož je implantovaný, disponuje bezkonkurenční životností schválenou v USA na 90 dní a v EU na 180 dní [27].

Tab. 4 Registrované CGM systémy v ČR [24]

Název osobního glukometru	Název výrobce
<i>S7 EasySense Disposable CGM System</i>	<i>MEDTRUM TECHNOLOGIES Inc.</i>
<i>DEXCOM G4 PLATINUM</i>	<i>Dexcom, Inc.</i>
<i>DEXCOM G5 MOBILE</i>	<i>Dexcom, Inc.</i>
<i>DEXCOM G6</i>	<i>Dexcom, Inc.</i>
<i>MiniLink Guardian</i>	<i>Medtronic MiniMed</i>
<i>Guardian Sensor 3</i>	<i>Medtronic MiniMed</i>
<i>Medtronic Enlite</i>	<i>Medtronic MiniMed</i>
<i>Eversense XL</i>	<i>Senseonics, Inc.</i>

Tab. 5 Specifikace aktuálně nejvíce používaných zařízení v ČR [11]

Název CGM systému	Hmotnost vč. vysílače (g)	Hloubka zavedení (mm)	Deklarovaná životnost senzoru	Počet kalibrací za den	MARD (%)
<i>Dexcom G5</i>	11	13	7 dnů	2	9,0–9,5
<i>Dexcom G6</i>	12	13	10 dnů	Není potřeba	9,0
<i>Guardian Sensor 3</i>	12	9	7 dnů	Dle místa zavedení 2–4	8,7–10,5
<i>Medtronic Enlite</i>	12	9	6 dnů	2	13,6

3.1.3 FGM

Okamžitá monitorovací zařízení glukózy představují určitý mezistupeň mezi osobními glukometry a CGM přístroji. FGM systémy stejně jako ty kontinuální měří koncentraci glukózy v intersticiální tekutině, ale odlišují se v principu zpracování dat [21]. Senzor FGM sice pravidelně zaznamenává hladinu glukózy, ale tyto hodnoty okamžitě neodesílá přijímači [44]. Data jsou ukládána a po nějaké době zase postupně přepisována [11]. Proto, aby se pacient hodnoty dozvěděl, musí „přejet“ čtečkou přes senzor, který využitím rádiové bezdrátové komunikace data do zařízení přenesou (např. NFC) [11].

3.1.3.1 Technologie na trhu

Na evropském trhu jsou dostupná jediná dvě zařízení FGM od stejné firmy Abbott Diabetes Care Ltd. Jedná se o zařízení FreeStyle Libre a jeho nástupce FreeStyle Libre 2. [21] Bohužel v ČR je zatím dostupný pouze starší systém [45]. Freestyle Libre se skládá ze čtečky a továrně předkalibrovaného senzoru, jenž se aplikuje zezadu, v horní části paže [44]. Elektrochemický senzor tříelektrodového typu s životností 14 dnů využívá metodu amperometrie. Pracovní elektroda je vyrobena z GOx a je propojena s osmiem majícím roli mediátoru. Molekuly glukózy obsažené v intersticiální tekutině oxidují s GOx, čímž dojde k přenesení uvolněných elektronů z enzymu k molekulám mediátoru a poté k jejich proudění na snímací povrch. [40] Provozní potenciál 40 mV zajišťuje stříbro-oxidový článek [40][45]. Frekvence, s jakou zařízení ukládá data o glukóze, činí 15 minut, když chce ovšem pacient zjistit aktuální hodnotu glukózy, je zařízení schopno změřit koncentraci každou minutu (po přiložení čtečky). Přijímač neboli čtečka zobrazuje uživateli vývoj hodnot za předchozích 8 hodin, zároveň také tato data analyzuje a na jejich základě software předpovídá rychlost i směr budoucích změn. [44] Přenos dat mezi senzorem a čtečkou je u tohoto přístroje zajištěn technologií NFC [40], což je bezkontaktní radiová komunikace na velmi krátkou vzdálenost (do 4 cm). Jelikož čtečka a senzor spolu nepřetržitě nekomunikují, nedisponuje FreeStyle Libre alarmy před rizikovými hladinami glukózy [31], a tak pacient není upozorňován na nebezpečné noční hypoglykemie. Freestyle Libre 2 je způsobem detekce glukózy, velikostí, tvarem a životností stejný jako předešlá verze. Systém stále funguje dle principu okamžitého monitorování, ale díky technologii Bluetooth již nabízí možnost aktivovat hypoglykemické či hyperglykemické alarmy, jejichž absence u předchozí verze byla velkou nevýhodou. Zařízení je tak více konkurenceschopné systémům CGM. Díky vylepšenému algoritmu, určujícímu koncentraci glukózy, byla u této nové verze vylepšena přesnost senzoru ve spodní části dynamického rozsahu (hypoglykemickém pásmu). Krok kupředu představuje i možnost nahrazení čtečky chytrým telefonem s nainstalovanou aplikací FreeStyle LibreLink. [43]

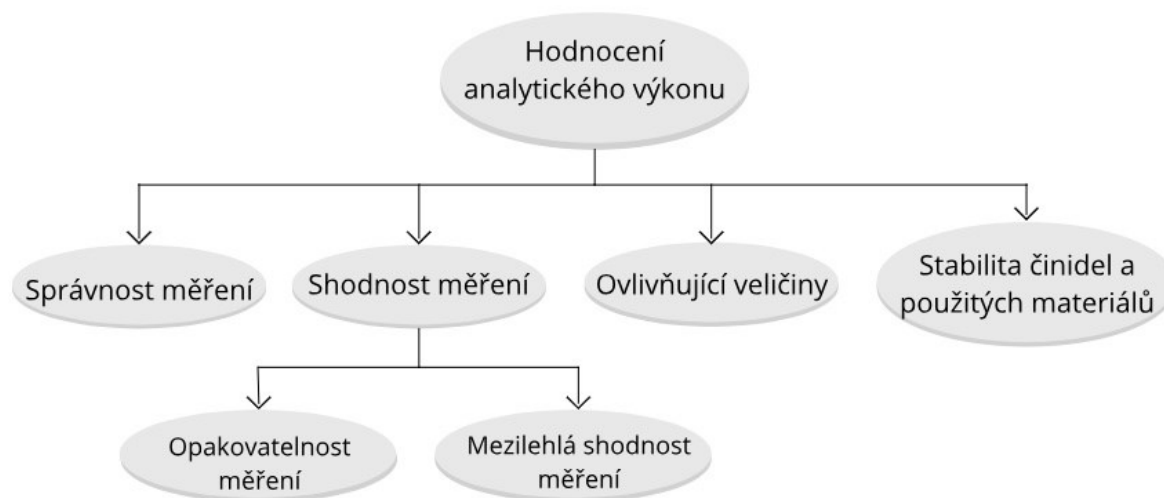
Pro starší zařízení FreeStyle Libre byl v klinické studii vyhodnocen celkový ukazatel MARD 13,2 % [46]. Dle studie od S. Alva a kolektivu byl u systému FreeStyle Libre 2 vyhodnocen celkový ukazatel MARD u dospělých pacientů 9,2 % a 9,7 % u dětí ve věku od 6 do 17 let [43]. Porovnáním těchto výsledků lze vyhodnotit, že nový systém má až o 4 % menší MARD a došlo u něj ke zvýšení přesnosti. Zároveň je nutné toto porovnání brát s rezervou, jelikož studie používaly jiné referenční metody a celkový koncept studie byl

odlišný. Optimální by samozřejmě bylo porovnat oba senzory v jediné studii, ale takováto publikace zatím bohužel nebyla zveřejněna.

3.1.4 Přesnost

Aby byla léčba DM efektivní a nikoliv kontraproduktivní, je zapotřebí klást důraz na přesnost měření glykemie. Kritéria přesnosti osobních glukometrů a obecně všech zařízení pro selfmonitoring jsou v Evropské unii určena normou ISO 15197 (v USA agenturou FDA). Tato norma stanovuje požadavky na spolehlivost, bezpečnost a postup pro celkové ohodnocení analytické výkonnosti. Zařízení by měla být testována vyškoleným personálem v laboratorních standardizovaných podmínkách, při nichž jsou minimalizovány nežádoucí vlivy prostředí. Zároveň ale norma také vyžaduje hodnocení výsledků získaných přímo od pacientů, aby se ukázalo, zda je systém snadno obsluhovatelný a zda jsou dány jasné pokyny k použití. Výše zmíněná analytická výkonnost zařízení zahrnuje ohodnocení shodnosti a správnosti měření, stabilitu činidel a posouzení ovlivnitelnosti interferujících látek. [47]

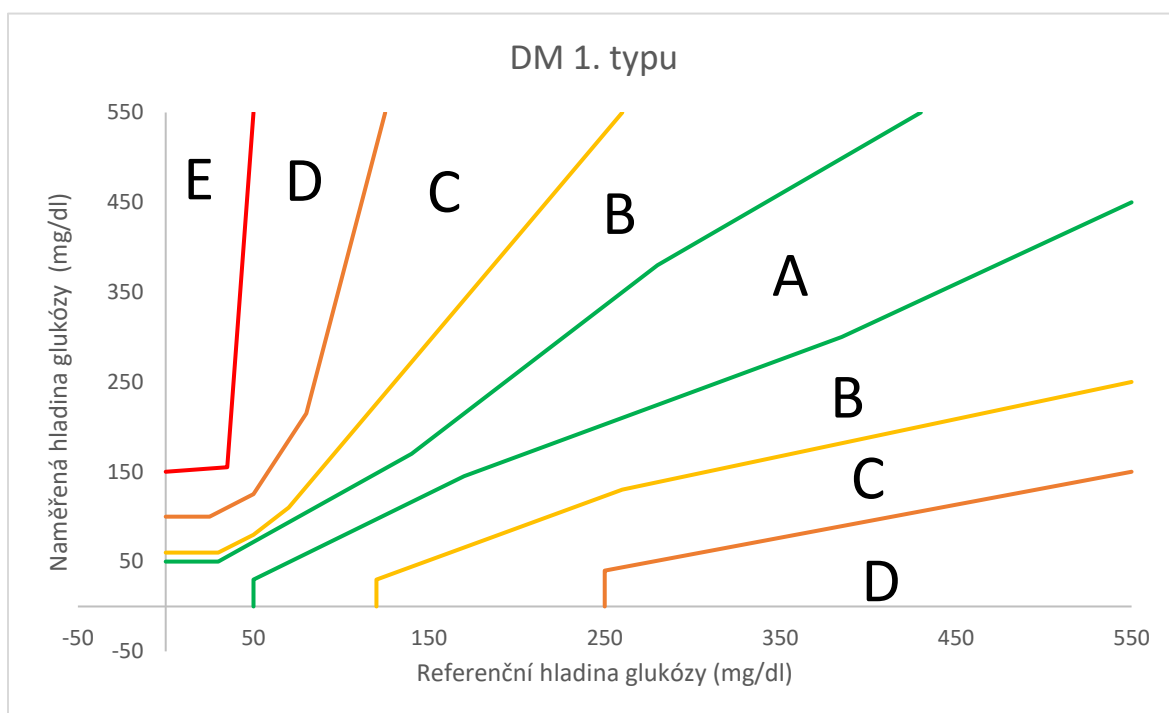
Shodnost neboli opakovatelnost měření spočívá v opětovném měření stejného vzorku během krátké doby, která určuje míru shody mezi těmito měřeními. Měření se provádí zvlášť v oblastech hyperglykemie, hypoglykemie a normoglykemie, přičemž v každé oblasti musí být hodnoceno minimálně pět vzorků venózní krve s přesně určenou glykemií. [47] Správnost výsledků změřených pomocí osobních glukometrů (nebo jiného zařízení pro vyhodnocení úrovně glukózy v krvi) představuje shodu naměřené hodnoty s reálnou hodnotou koncentrace glukózy. V praxi se správnost měření přístroje definuje porovnáním s běžně používanou klinickou laboratorní metodou. Při stanovení správnosti je třeba myslet na to, že kupříkladu glukometry analyzují vzorky z plné krve a glukóza je v ní nestabilní. Je tedy zapotřebí dostatečně rychlé zpracování vzorku laboratorní analýzou (obvykle do 30 minut) od momentu získání hodnot z glukometru. [17]



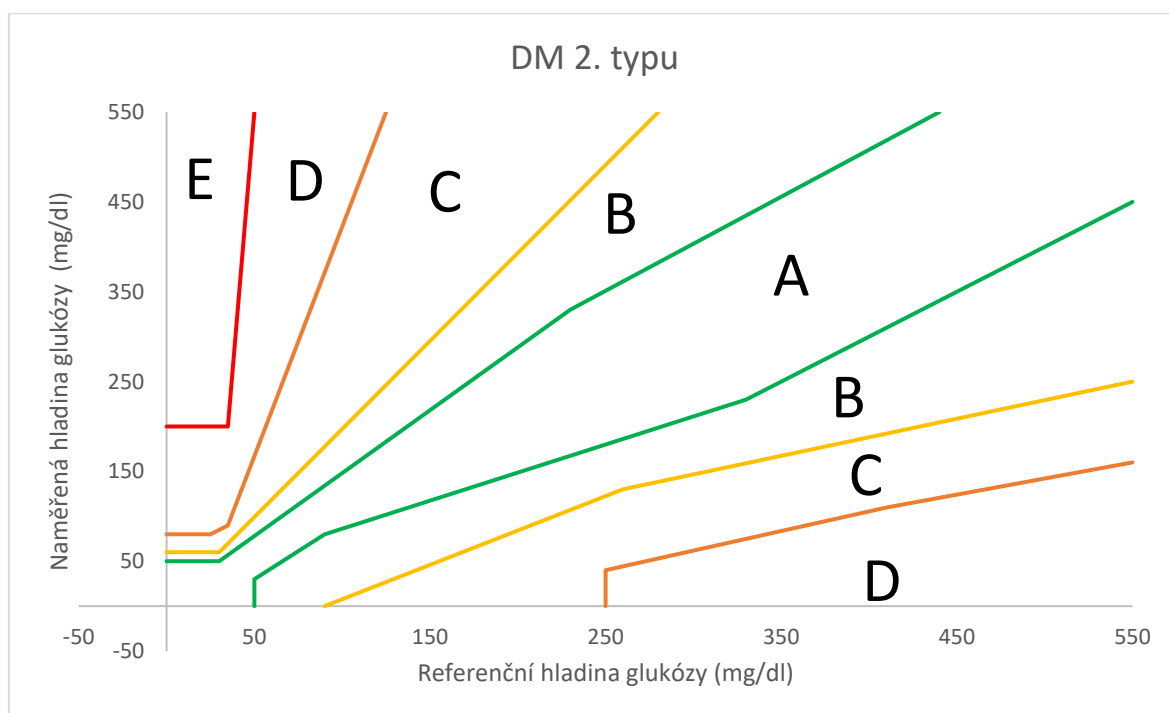
Obr. 2 Ohodnocení analytické výkonnosti selfmonitoringového zařízení dle normy ISO 15197: 2013 podle [47]

Potenciální interference ovlivňující výsledky u osobních glukometrů lze rozdělit do čtyř skupin. První skupinou jsou vlivy okolního prostředí, kam spadá např. teplota či vlhkost vzduchu a nadmořská výška. Dalšími případy ovlivňujícími měření jsou léky nebo různé fyziologické procesy, nicméně nejpodstatnějším zdrojem chyb jsou dovednosti a disciplinovanost uživatele. Mezi to nejdůležitější, na co by si měl dát diabetik pozor, je správná kalibrace, postup měření, skladování měřidla i příslušenství a správné nastavení data a času (dle data a času lze odhalit např. příčiny výkyvů glykemie). [17]

Aby došlo ke shodě s nejnovější verzí normy ISO 15197:2013, musí mít 95 % výsledků porovnávaných s referenční metodou odchylku maximálně $\pm 15\%$ ($\pm 0,83$ mmol/l) a 99 % výsledků musí spadat do zón A a B speciální chybové mřížky [47]. Norma ISO 15197:2013 využívá Parkesovu chybovou mřížku, přesněji řečeno její přísnější verzi, původně určenou pro pacienty s DM 1. typu. Graf je rozdělen na pět oblastí podle rizika, jaké by představovala pro pacienta chyba v měření (viz Obr. 3 a Obr. 4). Pokud hodnoty spadají do oblasti A, považuje se měření za přesné a nehrozí zde možnost špatně zvolené léčby. [48] Spadají-li hodnoty do oblasti B, nepřesnost zařízení nepředstavuje žádné nebo jen malé riziko pro správné stanovení klinického závěru. V oblasti C už je naopak pravděpodobné ovlivnění klinického závěru a výsledky nacházející se v oblasti D a E již značně ohrožují pacientovo zdraví. [47]



Obr. 3 Parkesova chybová mřížka původně určená pro DM 1. typu, kterou se dnes řídí norma ISO 15197:2013 (1 mmol/l = 18,02 mg/dl), zdroj dat: [48]



Obr. 4 Parkesova chybová mřížka určená pro DM 2. typu (1 mmol/l = 18,02 mg/dl), zdroj dat: [48]

3.2 Neinvazivní metody

Neinvazivní metody, jak už je patrné z názvu, vyhodnocují hladinu glukózy bez porušení tkáně. Tyto metody mají velký potenciál zlepšit léčbu diabetu. Pacienti by díky absenci bolesti mohli být zodpovědnější a celkově by k léčbě mohli lépe přistupovat.

Neinvazivní technologie jsou konstruovány především jako „wearables“ CGM systémy (wearables – nositelná elektronika) a zakládají se na analýze vnějších tělesných tekutin (např. potu, slz nebo slin), intersticiální tekutiny [40] nebo i krve [49]. Hlavní metody lze rozdělit na optické, mikrovlnné a elektrochemické. I když je většina těchto metod na dobré cestě, pro jejich vstup na trh je nezbytné, aby překonaly problémy v podobě nepřesností, stability a spolehlivosti [50].

3.2.1 Optické metody

Obecně tyto metody určují koncentraci glukózy zpracováním odraženého nebo proniklého světla do tkáně (nejčastěji pokožka) [51]. Glukóza se detekuje pomocí variabilních frekvencí světla, přičemž se využívá toho, že glukóza dle koncentrace interaguje se světlem [31]. Nejčastější typy senzorů využívané těmito metodami jsou infračervené, ultrazvukové a fluorescenční. Jednotlivé metody se liší vlnovou délkou, na které následně závisí hloubka průniku světla. [52] Spojitost mezi skutečnou hladinou glukózy a odraženým/proniklým světlem se často kvůli množství podkožního tuku u jedinců liší, proto aby se docílilo co možná nejvyšší přesnosti, je možné onu spojitost odvodit pomocí diferenciálních rovnic [51].

3.2.1.1 Blízká infračervená spektroskopie

Tato metoda využívá elektromagnetické záření o vlnových délkách 750 – 2500 nm, zvané infračervené záření [53]. Po dopadu infračerveného záření na tkáň se částí světla absorbují, odrazí anebo se po střetu s molekulou glukózy rozptýlí. Princip určení hladiny glukózy je tedy u této metody založen na intenzitě odraženého světla, jež je glukóze úměrná. [54]

3.2.1.2 Tepelná emisní spektroskopie

Tepelná emisní spektroskopie staví na souvislosti mezi hladinou glukózy v krvi a tepelnou kapacitou tkáně, která při zvýšení koncentrace glukózy klesá, což způsobí zvýšení teploty tkání. Lidské tělo přirozeně vyzařuje infračervené světlo, jež je ovlivněno právě teplotou. [49] Koncentrace glukózy je tedy hodnocena dle rozptylu infračerveného světla [31].

3.2.1.3 Fotoakustická spektroskopie

Hlavními dvěma prvky systému, který je založen na této metodě, jsou světelný zdroj a ultrazvukový měnič. Světelný zdroj nejprve osvítlí tkáň zářením o určité vlnové délce. Tkáň se absorpcí záření zahřeje, což má za následek zvětšení objemu tkáně, které ústí v generaci ultrazvukových tlakových vln. Nakonec ultrazvukový měnič tyto vlny detekuje. [31] Určení koncentrace glukózy je provedeno dle změny špičkové hodnoty ultrazvukových tlakových vln [53].

3.2.1.4 Fluorescenční metoda

Analytem fluorescenčních senzorů jsou obvykle slzy nebo pot [50]. Sensory jsou zejména z fluorescenčních nanostruktur a zakládají se na fluorescenčním rezonančním přenosu energie. Zjednodušeně lze princip těchto senzorů popsat tak, že jakmile dojde k interakci fluorescenční nanostruktury s glukózou, dochází k fluorescenci, jejíž intenzita je závislá právě na koncentraci glukózy. [55]

3.2.2 Mikrovlnné metody

Do mikrovln spadají elektromagnetické vlny o vlnových délkách od 1 mm do 1 m (300 GHz – 300 MHz). Oproti optickým metodám pronikají mikrovlny hlouběji do tkáně a tím pádem dokážou lépe stanovit hladinu glukózy. Sensory založené na mikrovlnách uplatňují souvislost mezi přenosem, respektive odrazem či absorpcí mikrovln a relativní permitivitou tkáně. [50]

Mikrovlnné metody lze dále rozdělit na čtyři techniky: reflexní, přenosovou, techniku rezonanční poruchy a radarovou techniku [56].

Cílem reflexní techniky je vyhodnocení parametru odrazu – S_{11} (S-parametry se používají pro popis vysokofrekvenčních obvodů [57]), aby bylo možné zjistit změny v amplitudě a fázi signálu. Dle změn signálu se následně vyhodnotí úroveň glukózy. Měření pomocí této techniky se provádí v širokém frekvenčním pásmu a využívá se při něm síťový analyzátor. Přenosové techniky jsou podobné těm reflexním, pouze místo parametru odrazu vyhodnocují více S-parametrů, dle kterých je pak vypočtena komplexní konstanta šíření. [56] U techniky rezonanční poruchy se pomocí mikrovlnné antény měří změna rezonanční frekvence, která koreluje se změnou koncentrace glukózy (čím vyšší hladina glukózy, tím nižší rezonanční frekvence [49]). Tkáň se musí přiložit na anténu, proto je výhodné měřit změnu rezonance v prstu. Senzory tohoto typu je třeba individuálně kalibrovat. [52] Senzory radarové techniky vysílají elektromagnetické vlny do tkáně a následně vyhodnocují odražený signál. Přijímač ho zpracuje a získá z něj data o rychlosti, poloze, velikosti objektu a jeho složení. [56] Tato data jsou dále zpracována konvenčními metodami zpracování signálů [49].

3.2.3 Elektrochemické metody

3.2.3.1 Impedanční spektroskopie

Tento způsob analýzy koncentrace glukózy se zakládá na měření impedance tkáně při referenčním střídavém proudu. Dle koncentrace glukózy se mění potenciál červených krvinek a tyto změny se pak promítají do impedančního spektra. [58]

3.2.3.2 Stanovení úrovně glukózy z intersticiální tekutiny

I přestože se intersticiální tekutina nachází uvnitř tkáně, lze ji například pomocí reverzní iontoforézy neinvazivně extrahovat na povrch [59]. Reverzní iontoforéza je metoda, při níž se za stálého malého proudu pomocí dvou elektrod přiložených na pokožce extrahuje intersticiální tekutina. Z ní je poté pomocí enzymu GOx detekována glukóza. [31] Dle [56] je na reverzní iontoforézu upřena značná pozornost díky její slibné vysoké přesnosti měření. Senzory fungující dle principu reverzní iontoforézy jsou zejména ve formě náplastí nebo dočasného tetování s flexibilními elektrodami [40].

3.2.3.3 Stanovení úrovně glukózy ze slz

Názor na korelaci glukózy obsažené v slzách s glukózou v krvi se často liší. Některé publikace považují korelaci za dobrou [40][49][50], jiné ji ovšem nepovažují za dostatečnou [31][39]. I přesto nadále pokračuje výzkum v tomto odvětví. Prodleva glukózy vůči té krevní je zhruba 10–15 minut [42][40] a její koncentrace v slzách je přibližně 10krát menší [42]. Aby byla koncentrace dobře určena, je zapotřebí velmi citlivého senzoru. Nejpopulárnějšími zařízeními tohoto typu jsou senzory ve formě kontaktních čoček [50]. Kontaktní čočky osazené senzorem nejvíce využívají k detekci glukózy konvenční amperometrickou metodu s enzymem GOx [42]. Data ze senzoru jsou odesílána bezdrátově do chytrých zařízení [50]. Napájení senzoru je řešeno buď vysokofrekvenční indukci, solárními články nebo biopalivovými články [42]. Forma kontaktních čoček je výhodná, jelikož senzor je ve stálém kontaktu s analytem, a to umožňuje nepřetržité měření [50]. Navíc se kontaktní čočky běžně vyměňují po 24 hodinách, a tak je bezpečně zajištěna spolehlivost senzoru [42]. Na druhou stranu pro uvedení na trh mají zatím tyto technologie řadu nevyřešených úskalí. Nejzávažnější překážky bránící v úspěchu těchto technologií souvisí s pohodlím užívání a zdravotní nezávadností. Do těchto překážek patří například propustnost světla skrze čočku [31][50] nebo nepříjemné až škodlivé zahřívání senzoru, způsobené přenosem energie [52][50]. Dle publikací [40] a [49] jsou nejnovější technologie na slibné cestě a již teď se dají z hlediska přesnosti porovnat s konvenčními zařízeními na trhu.

3.2.3.4 Stanovení úrovně glukózy z potu

Aktuálně jsou senzory vyhodnocující hladinu glukózy z potu nejvíce studovaným neinvazivním řešením [50]. Jednou z příčin velkého zájmu o tento typ technologie může být to, že pot je velmi dostupná tělní tekutina, která je vylučována po celém těle. Glukóza obsažená v potu navíc dobře koreluje s krevní glukózou, avšak stále je zapotřebí zjistit její přesné vztahy s jednotlivými složkami potu. [42] Stejně jako tomu bylo u slz, tak i v potu je velmi nízká koncentrace glukózy, a tak je nezbytné pro tuto metodu aplikovat velmi citlivé senzory [40]. Přírozená sekrece potu je často pro měření nedostačující [40][42]. Některé systémy vyžadují stimulaci sekrece potu prostřednictvím zvýšené fyzické aktivity [50][39], toto řešení je ale po delší dobu pro diabetiky nevhodné. Proto jiné systémy shromažďují pot pomocí zahřívání tkáně, tlakové energetické stimulace [50] nebo iontoforézy [42][50][59][39]. Negativními faktory, které zatím ovlivňují spolehlivost zařízení vyhodnocujících glukózu z potu, je ovlivnitelnost analytu vnějším prostředím a zejména

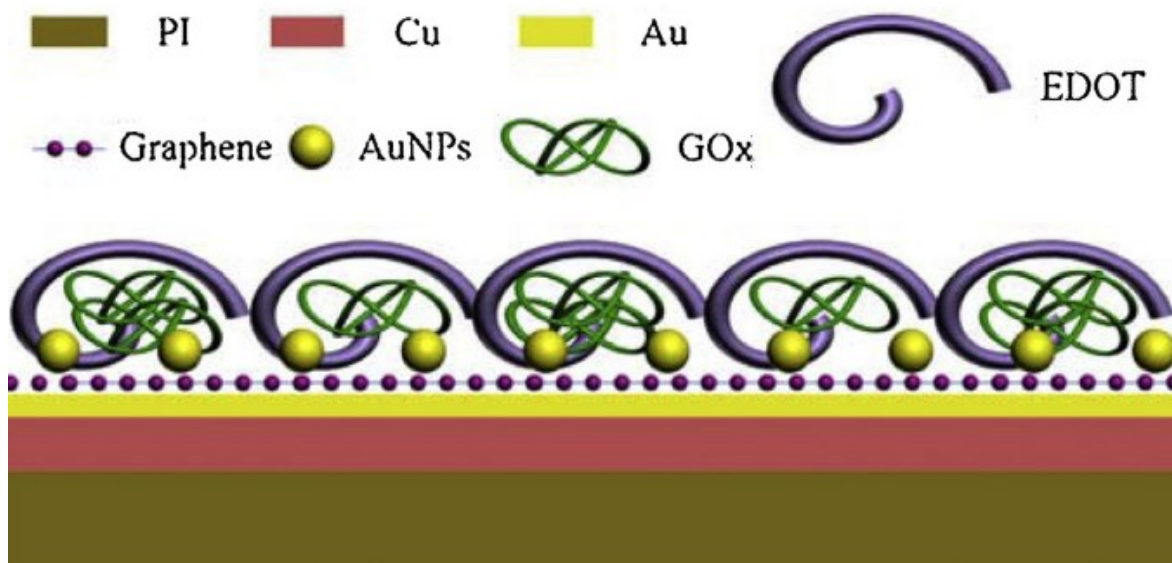
jeho kontaminace [40]. Měření tedy ovlivňuje teplota a vlhkost [40], dále ho ale ovlivňuje i kolísání pH pokožky, které narušuje enzymatické reakce na elektrodách senzoru [42]. Pro potlačení těchto interferencí jsou některé systémy vybaveny kromě glukózového senzoru také jinými senzory (např. pH senzor a teplotní senzor), dle nichž se poté kontinuálně glukózový senzor kalibruje [40][42]. Konstrukce senzorů bývá ve formě flexibilních nalepovacích náplastí nebo náramků [42][50][39]. Nejnovější technologie jsou na bázi nanomateriálů (např. grafenu nebo uhlíkových nanotrubic) a flexibilních substrátů, díky čemuž mají elektrody mnohem větší reakční plochu a lépe zachycují pot [40]. Jako výhody senzorů určujících koncentraci glukózy z potu lze považovat menší zdravotní riziko (v porovnání např. se senzory analyzujícími slzy), pohodlnost a jednoduchost jejich používání [50].

4 Technologie využívající flexibilní substráty

V této části budou představeny nově vznikající zařízení založená na flexibilních substrátech. Výhoda integrace senzorů na flexibilní substráty spočívá v pohodlné nositelnosti těchto zařízení, která spěje k bezproblémovému, neomezujícímu, neinvazivnímu, ale hlavně kontinuálnímu monitorování glukózy. Flexibilní substráty zároveň umožňují zakomponovat k senzorům jiná zařízení a vytvořit tak například komplexní nositelné zařízení monitorující lidské zdraví [60].

4.1 Flexibilní tříelektrodový elektrochemický senzor na bázi nanostruktur a zlata

Publikace [61] představuje flexibilní elektrochemický senzor amperometrického typu využívající kompozitní nanostruktury pro pracovní elektrodu, díky kterým zařízení dokáže určit i velmi malé koncentrace glukózy, hodí se proto pro neinvazivní transdermální monitoring. Je tedy zamýšleno integrovat senzor do extrakčního čipu intersticiální tekutiny a vytvořit tak flexibilní nositelné zařízení. Jako substrát byl použit flexibilní materiál polyimid, což umožňuje senzoru i přes značný ohyb nadále přesně a spolehlivě měřit, jelikož je tak zařízení stabilněji v kontaktu s pokožkou. Povrch pracovní elektrody (ta na níž dochází k tížené chemické reakci) byl upraven nanočásticemi grafenu a zlata (Obr. 5). Protože grafen má výbornou elektrickou vodivost a zároveň velkou povrchovou plochu, lépe se rozprostřela elektrochemicky aktivní místa a celkově se zlepšila elektroaktivita elektrody. Tato strategie zajistila právě lepší detekci glukózy při nízkých hladinách. Po nanesení grafenu inkoustovým tiskem byla elektroda elektrolyticky opatřena nanočásticemi zlata, které zde napomáhají rychlejšímu přenosu elektronů, čímž se zvýšila citlivost senzoru až čtyřikrát. Specifická detekce pro glukózu je zprostředkována enzymem GOx, jenž se nanáší na předchozí dvě vrstvy elektrochemickou polymerací. [61]

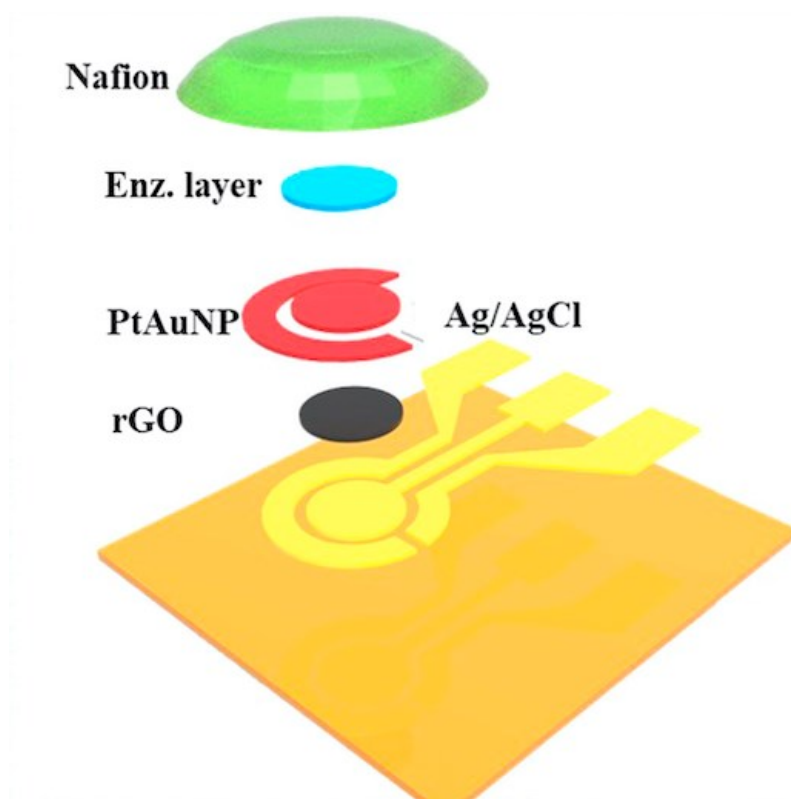


Obr. 5 Složení pracovní elektrody [61]

Senzor funguje na potenciálu o 0,2 V a výsledky jeho testování ukazují, že je senzor schopen lineárně měřit v rozsahu 0–40 mg/dl (0–2,22 mmol/l) s detekčním limitem 0,3 mg/dl (0,0166 mmol/l). Na základě těchto poznatků je možné považovat senzor za vhodný k případné detekci hypoglykemií. Senzor vykazuje zároveň dobrou opakovatelnost, selektivitu a odezvu na změnu koncentrace glukózy, která je menší než jedna vteřina. Důležité je z této publikace také vyzdvihnout inkoustový tisk grafenu, jelikož tato technologie velmi zjednodušila aplikaci nanostruktury a lépe se s ní docílilo požadovaného tvaru elektrody. [61]

4.2 Flexibilní elektrochemický senzor na bázi grafeno-oxidového kompozitu

Výzkumný tým jihokorejské univerzity Kwnagwoon představil v roce 2018 slibný flexibilní elektrochemický senzor vyhodnocující úroveň glukózy z potu. Vzhledem k tomu, že jsou elektrody integrovány na flexibilním polyimidovém substrátu dokáže senzor spolehlivě měřit i při mechanické deformaci. Pracovní elektroda tohoto senzoru se zakládá na redukovaném grafen-oxidu a elektrochemicky nanesených nanočástic slitiny zlata a platiny (Obr. 6). Tyto vrstvy, stejně jako tomu bylo u předchozího senzoru, zlepšují elektroaktivitu elektrody, tudíž je senzor schopen detekovat i nízké koncentrace glukózy. K přímému rozpoznávání glukózy byl v tomto případě použit enzymový kompozit chitosan-GOx. Nejsvrchnější vrstva elektrody je tvořená membránou z materiálu zvaného Nafion. Membrána zachytává nežádoucí molekuly, které by mohly negativně ovlivňovat měření, a zároveň napomáhá enzymatické reakci. Za účelem lepšího sběru potu a lepšího kontaktu s pokožkou je senzor součástí vodotěsné náplasti. [62]



Obr. 6 Složení pracovní elektrody [62]

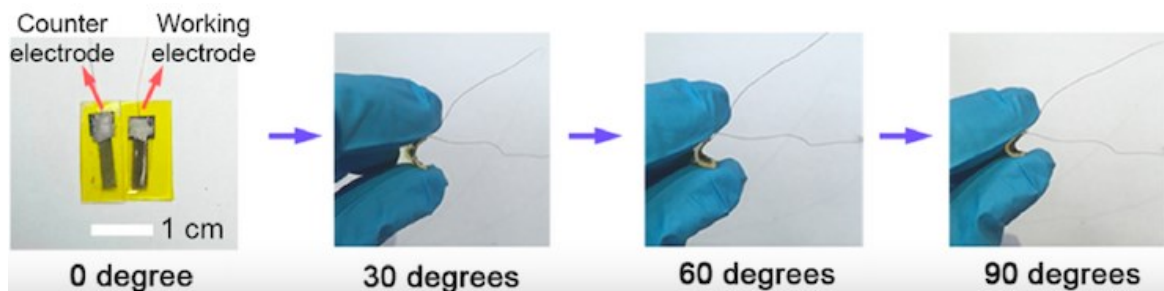
Optimální reakce změny proudu na změnu koncentrace glukózy byla dle pokusů stanovena na 0,35 V. Míra stability dosáhla během 8denního testování více jak 85 %,

přičemž směrodatná odchylka byla v rozsahu 4,8–8,6 %. Stabilita a opakovatelnost senzoru je tedy přijatelná. Dále má navrhované zařízení dle publikace krátkou dobu odezvy (12 s) a vykazuje citlivost $82 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ pro změnu koncentrace glukózy o 1 mmol/l. Lineární odezva senzoru byla naměřena v rozsahu 0,1–2,3 mmol/l (1,8–41,4 mg/dl). Amperometrický senzor lze tedy dle výsledku experimentu použít ke stanovení hladiny glukózy v potu, a je tak vhodný pro implementaci do nositelného zařízení. Mezi hlavní přednosti navrhovaného senzoru patří určitě neinvazivnost, ale také jeho relativně snadná výroba, která by umožňovala případnou masovou produkci. Zároveň by také tím, že je senzor ve formě náplasti na jedno použití, představoval pro potenciální uživatele příjemný komfort. [62]

4.3 Neinvasivní flexibilní senzor glukózy schopný extrahovat intersticiální tekutinu

Odborný článek [60] popisuje dvouelektrodový glukózový senzor na bázi grafenu a uhlíkových nanotrubic. Jedná se o zařízení které, jako první svého druhu, pomocí dvou elektrod nejprve extrahuje intersticiální tekutinu reverzní iontoforézou a stejnými elektrodami následně amperometricky detekuje glukózu v analytu. Zařízení je tedy schopno semikontinuálního monitoringu. Obě elektrody (pracovní a pomocná) jsou z textilního grafeno-uhlíkového nanotrubicového kompozitu. Zjednodušeně popsáno, byl kompozit vyroben nanosením uhlíkových nanotrubic a grafenu na niklovou textilií (textilie s povlakem z niklu), která byla nakonec zbavena kovu leptáním. Kompozit pro pracovní elektrodu byl následně doplněn o GOx a kompozit pro pomocnou elektrodu byl elektrochemicky obohacen o stříbro a chlorid stříbrný. Složení pracovní elektrody bylo zvoleno díky společné dobré schopnosti detekovat koncentrace glukózy a také pro možnost začlenění grafenu a uhlíkových nanotrubic do textilních elektrod. Díky textilnímu základu elektrod a jejich integraci s flexibilním substrátem (polydimethylsiloxanem) je systém vysoce flexibilní a lépe tak přilne k pokožce. Pro účinnou extrakci intersticiální tekutiny reverzní iontoforézu alternuje přiložené napětí od 2 do 5 V s proudovou hustotou 2 mA/cm², a to po dobu 5 minut. [60]

Výsledky experimentálních měření prováděných na prasečí kůži, myších a následně i na člověku jsou velmi konzistentní (výsledky byly porovnávány s komerčním dostupným osobním glukometrem). Senzor vykazuje také dobrou přesnost a citlivost o $14,45 \pm 2,97$ $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ pro změnu koncentrace glukózy o 1 mmol/l. V rámci návrhu senzoru byla navíc provedena zkouška stability senzoru, při níž bylo zjištěno, že i po 30 dnech si senzor udržoval 87,4 % proudové odezvy. Zároveň se také zkoušel vliv ohybu senzoru na proudovou odezvu (Obr. 7). Po 50 cyklech ohnutí o 60° si systém udržel 96 % původní proudové odezvy a ani ohyb o 90° ji znatelně nesnížil. Hlavním přínosem tohoto senzoru je již zmíněné sloučení dvou funkcí (funkce senzorická a extrakční) do jediného zařízení, což by mohlo vést k případnému zjednodušení budoucí výroby. Na druhou stranu úskalím stále zůstává složitý proces výroby grafeno-uhlíkových nanotrubicových kompozitních textilií. [60]

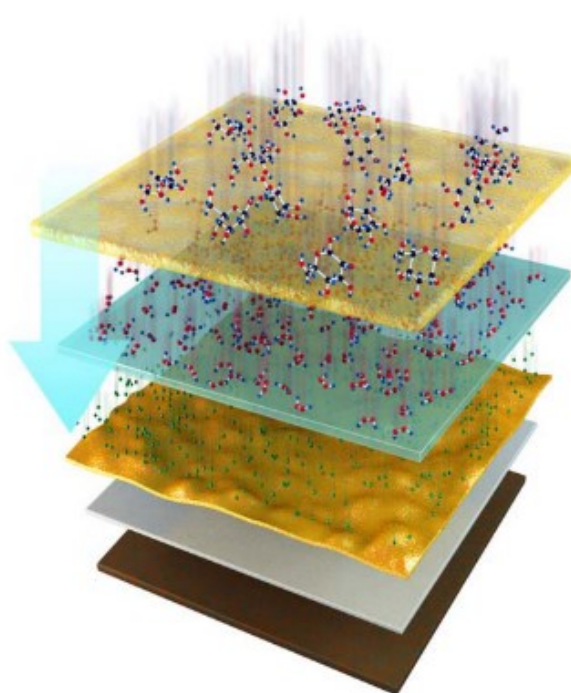


Obr. 7 Dvouelektrodový senzor v různých stavech ohybu [60]

4.4 Ultratenký flexibilní elektrochemický senzor

V roce 2017 vyšel ve vědeckém časopise Science Advances článek skupiny čínských vědců prezentující ultratenký ($\sim 3 \mu\text{m}$) flexibilní elektrochemický senzor vyhodnocující glukózu z intersticiální tekutiny. Celý systém je složen z flexibilní biokompatibilní papírové baterie a samotného senzoru glukózy. Pomocí baterie je nejprve zajištěna extrakce intersticiální tekutiny reverzní iontoforézou, následně je článek odňat a na jeho místo je přichycen senzor, jenž se díky své konstrukci snadno přizpůsobí pokožce a lépe tak měří koncentraci glukózy. Senzor je tvořen více vrstvami. Nejsvrchnější vrstva je z polymethylmethakrylátu (80 nm), na ní je vrstva polyimidu (1,6 μm), následuje nanostrukturovaný povlak zlata (100 nm) s elektrochemicky nanesenou vrstvou pařížské modře (51,8 nm) a jako poslední je senzor doplněn o vrstvu GOx ($\sim 1 \mu\text{m}$). Lepších elektrochemických vlastností a vyšší citlivosti bylo dosaženo nanostrukturami zlata, které byly nanášeny ve formě „písečných dun“. Tento vzor zároveň zachoval mechanickou odolnost senzoru i přes jeho ultratenký design. [63]

Klinickou studií na lidech byla dokázána výborná korelace naměřených hodnot senzorem s hodnotami z osobního glukometru i v porovnání s výsledky z krevních testů. Senzor charakterizuje vysoká citlivost o 130,4 $\mu\text{A}/(\text{mmol}/\text{l})$ a dobrá selektivita. Zásluhou perfektní přilnavosti a skvělému přizpůsobení se senzoru k pokožce se zlepšuje kontakt s glukózou, čímž je docíleno zlepšení přesnosti měření. Další výhodou zařízení je jeho stálost. Senzor může být skladován až 2 měsíce při pokojové teplotě, aniž by došlo ke změně jeho vlastností. Nicméně hlavním úskalím senzoru je ovlivnitelnost odezvy teplotou či pH pokožky. Vzniklé chyby by však mohly být kompenzovány například pomocí doplňujících senzorů. Dle závěrů publikace je systém vhodný pro potenciální kontinuální monitorování glukózy. [63]



Obr. 8 Znárodnění více vrstev senzoru ve směru šipky: GOx, pařížská modř, nanostruktury zlata, polyimid, polymethylmethakrylát [63]

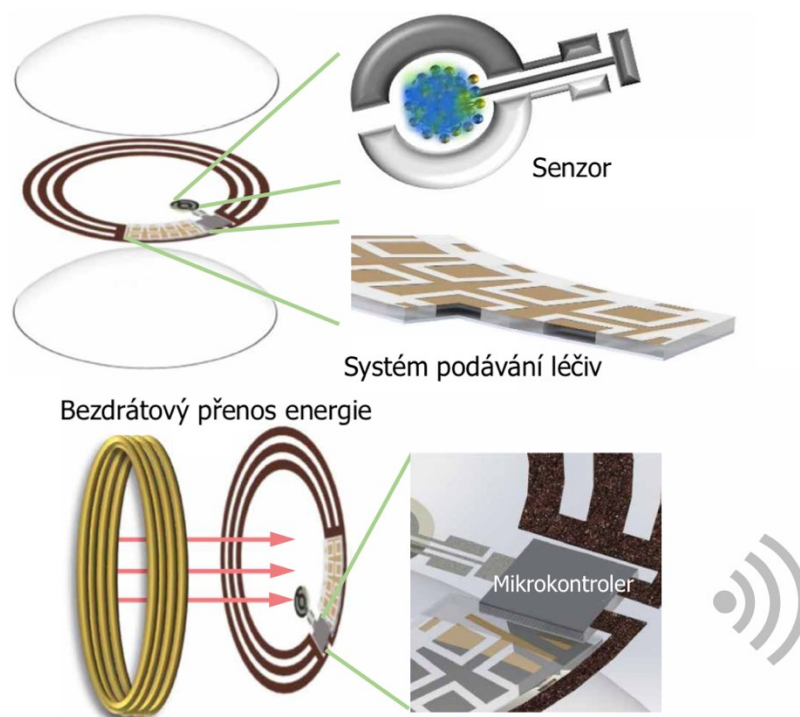
4.5 Kontaktní čočky pro snímání koncentrace glukózy a podávání léčiv

Článek [64] prezentuje dálkově ovládané chytré kontaktní čočky pro neinvazivní kontinuální monitorování glukózy v slzách a řízené podávání léčiv k léčbě retinopatie (diabetické onemocnění sítnice). Výzkum navrhovaného zařízení byl financován z vědeckého fondu společnosti Samsung. Úplným základem představované technologie je biokompatibilní silikonový hydrogel, ve kterém jsou integrovány ultratenké flexibilní elektrické obvody a mikrokontroler. Struktura kontaktní čočky tedy zahrnuje elektrochemický kontinuální senzor, systém elektricky řízeného podávání léčiv, systém pro bezdrátový přenos energie, již zmíněný mikrokontroler s jednotkou pro správu napájení a radiový komunikační modul. Jako substrát amperometrického tříelektrodeového senzoru glukózy byl použit polyethylentereftalát (PET). Základ pracovní a pomocné elektrody tvoří platina. Za účelem dosažení vysoké citlivosti senzoru byla pracovní elektroda potažena GOx, hovězím sérovým albuminem, chitosanem a polyvinylalkoholem, který zároveň zlepšil jeho ohebnost. [64]

Referenční elektroda potažená stříbrem a chloridem stříbrným dodává senzoru konstantní napětí, čímž přispívá ke zvýšení přesnosti vyhodnocování glukózy. Energie je do

zařízení dodávána bezdrátově na vzdálenost 1 cm prostřednictvím rezonančně indukční vazby. V praxi by mohlo být dodávání energie řešeno například speciálními brýlemi nebo chytrým telefonem. Tato řešení se však prozatím jeví jako nepraktická. [64]

Senzor vykazuje dobrou stabilitu. Po dobu jeho skladování, konkrétně 63 dnů, si systém zachoval své vlastnosti s odchylkou menší než 2 %. Při hodnocení selektivity zařízení byla pozorována pouze zanedbatelná změna proudu po přidání interferujících látek. Korelace mezi krevní glukózou a glukózou vyhodnocenou ze slz kontaktními čočkami je přítomna, avšak je třeba zařízení ještě lépe kalibrovat. Bezpečnost užívání byla hodnocena na zvířatech po dobu 5 dní. Výsledná analýza neprokázala žádné výrazné poškození a během jejich nošení nedošlo k žádné infekci oka. Během 30 minut užívání kontaktní čočky došlo pouze k mírnému zvýšení teploty, i přesto by měl být případný škodlivý vliv důkladně prozkoumán. Propustnost světla chytrých kontaktních čoček je srovnatelná s klasickými komerčně dostupnými kontaktními čočkami. Výhodou navrhované technologie je určitě unikátní elektricky řízené podávání léků, kterým se toto zařízení může pyšnit jako první, a také fakt, že dle zatím provedených testů není prokázáno, že by bylo užívání zařízení zdraví škodlivé. Pro praktické využití je však nezbytné zjednodušit způsob napájení a vylepšit přesnost zařízení lepší kalibrací. [64]



Obr. 9 Struktura chytré kontaktní čočky [64]

4.6 Porovnání výše zmíněných technologií s aktuálně dostupnými technologiemi a jejich zhodnocení

Výše zmíněné technologie jsou zamýšlené ke kontinuálnímu nebo alespoň semikontinuálnímu vyhodnocování glukózy [60]–[64], a proto se nabízí je porovnat s aktuálními komerčně dostupnými CGM systémy. Nespornou výhodou uvedených nově vyvíjených CGM zařízení je samozřejmě jejich neinvazivnost, tím pádem i výborná biokompatibilita. I přestože jsou stávající CGM zařízení minimálně invazivní a vydrží zavedená již poměrně dlouhou dobu, může bolest spojená s jejich aplikací stále některé pacienty odrazovat nebo celkově negativně ovlivnit jejich přístup k léčbě. S tím je také spojená praktičnost každodenního užívání. Nové neinvazivní flexibilní technologie jsou koncipované jako „wearables“ ve formě dočasného tetování [59][63][65][66], náplasti [59][62][67] či kontaktní čočky [59][64][65][68]. Vyvíjená zařízení jsou tak zpravidla lehce aplikovatelná a v případě potřeby zároveň snadno odnímatelná, čímž minimálně omezují uživatele při běžných aktivitách. Dále, aby byly neinvazivní flexibilní technologie dostatečně konkurenceschopné vůči nynějším CGM zařízením, měly by detekovat hypoglykémii a hyperglykémii, čehož by například tříelektrodový elektrochemický senzor na bázi nanostruktur a zlata [61] a ultratenký flexibilní elektrochemický senzor [63] mohly potenciálně docílit. Co se týče přesnosti, byly tyto senzory –

- *senzor glukózy extrahující intersticiální tekutinu* [60],
- *elektrochemický senzor na bázi grafeno-oxidového kompozitu* [62],
- *ultratenký flexibilní elektrochemický senzor* [63],

porovnávány s komerčně dostupným osobním glukometrem, s nímž byly vyhodnocené hodnoty koncentrací velmi srovnatelné. Všechny představené senzory vykazují vysokou nebo alespoň uspokojivou přesnost vyhodnocování úrovně glukózy [60]–[64]. Lze tedy usoudit, že neinvazivní flexibilní vyvíjené technologie mají velmi dobrý potenciál přesně vyhodnocovat koncentraci glukózy, avšak stále je třeba ověřit přesnost těchto zařízení porovnáním s laboratorní referenční metodou.

Nejvyužívanějšími substráty pro flexibilní neinvazivní senzory glukózy jsou polymerní materiály jako polyimid [32][54]–[56][58][59], PET [64]–[66] nebo polydimethylsiloxan [60][66]. Využití těchto materiálů je výhodné pro jejich nízkou hmotnost, nenákladnost, dobrou flexibilitu a roztažitelnost, díky které se optimálně přizpůsobí kupříkladu pokožce

[65][66]. Zásadou těchto vlastností dokážou senzory udržet nepřetržitý kontakt s analytem a zachovat si své senzorycké vlastnosti i při určitém mechanickém namáhání [39]. Zároveň je tak zajištěno pohodlí jejich užívání [59]. Pro lepší detekci glukózy se u nových zařízení hojně využívají nanomateriály, zejména grafen [40][60]–[62]. Navzdory tomu zatím nejsou taková zařízení komerčně dostupná (alespoň ne v ČR [24]). Proto aby flexibilní neinvazivní senzory nahradily nynější selfmonitoringové přístroje, je zapotřebí překonání určitých nedostatků. Za prvé je velmi důležité určit a ověřit různé závislosti koncentrace glukózy v analyzovaných tekutinách (slzy, pot a extrahovaná intersticiální tekutina) s vnějšími vlivy a různými interferujícími látkami [65]. U senzorů připevněných na pokožku (analyzujících pot či extrahovanou intersticiální tekutinu) je již známo, že jejich měření je často ovlivňováno vlhkostí, pH a teplotou pokožky [40][42], proto se jako možné řešení nabízí přidat k senzoru glukózy i jiné senzory [40][62], které by glukózový senzor kontinuálně kalibrovaly dle ovlivňujících faktorů. Dalším úskalím, jež ještě musí flexibilní navrhované senzory překonat, je nalezení optimálního zdroje napájení. Ten by měl být též flexibilní a odolný vůči mechanickému namáhání. Nabízí se tak implementace flexibilních solárních nebo palivových článků či piezoelektrických anebo termoelektrických zařízení [66]. Úplně nakonec je také potřeba navrhované flexibilní senzory zkompletovat a zakomponovat do nositelného zařízení. V následující Tab. 6 je znázorněno porovnání senzorů založených na nových technologiích s Dexcomem G6 (nejrozšířenější CGM systémem v ČR), dle zvolených kritérií. Tato kritéria jsou přesnost, životnost, komfort a cena, protože na nich nejvíce závisí budoucí úspěch zařízení. Hodnocení ceny je pouze orientační, na základě odhadu ceny použitých materiálů (např. grafen je spolu s nanotrubicemi poměrně drahý [69]). Cena G6 je podle stránek českého distributora 1811,25 Kč za senzor na 10 dní a 4260,75 Kč za vysílač, který vydrží 3 měsíce [70].

Tab. 6 Porovnání nových neinvazivních technologií se CGM systémem Dexcom G6 (+ představuje kladné hodnocení, – záporné hodnocení)

<i>Zařízení</i>	<i>Přesnost</i>	<i>Životnost</i>	<i>Komfort</i>	<i>Cena</i>
<i>Neinvazivní senzor glukózy analyzující intersticiální tekutinu</i>	+	+	+	-
<i>Neinvazivní senzor glukózy analyzující pot</i>	+	-	+	-
<i>Neinvazivní senzor analyzující slzy</i>	-	-	-	+
Dexcom G6	+	-	-	-
* Zařízení vykazují dobrou přesnost, nejsou-li ovlivněna pH či teplotou pokožky.				

Závěr

Nejstarší používanou technologií na trhu jsou osobní glukometry, které se zakládají převážně na elektrochemické či fotometrické metodě. Osobní glukometry lze kategorizovat jako nejdostupnější a zatím nejspolehlivější způsob selfmonitoringu. Nicméně tato zařízení vyhodnocují koncentraci glukózy přímo z krve, a i přesto, že je potřeba jen malý objem vzorku, způsobuje tato technika u některých pacientů nepříjemnou bolest a následnou demotivaci k léčbě. Mimo to poskytují osobní glukometry informace pouze o okamžité glykemii, a nejsou tak schopny pacienta varovat před rizikovým vývojem hladiny glukózy v krvi. Z těchto důvodů se výrobci tohoto odvětví zaměřují na kontinuální měření glukózy v intersticiální tekutině pomocí CGM a FGM zařízení. Tyto systémy jsou vybaveny elektrochemickým jehlovým nebo fluorescenčním implantovaným senzorem. Výhodou CGM a FGM systémů, kromě kontinuálního monitorování a upozornění na rizikové hladiny glykemie, je jejich minimální invazivnost. Naopak nevýhodami zatím zůstávají nutnost kalibrace osobním glukometrem a životnost senzorů. Na trhu jsou již však zařízení, která tato úskalí z části eliminují. V blízké budoucnosti je tak možné očekávat překonání těchto překážek úplně.

Neinvazivních metod vyhodnocování glykemie je poměrně velké množství, ale žádná z nich není zatím součástí prodávaného zařízení. Obecně lze metody rozdělit na optické, mikrovlnné a elektrochemické. Nejslibnější se zdají být metody elektrochemické, a to pro svou snazší konstrukci v podobě „wearable“ zařízení. Elektrochemické senzory analyzují glukózu obsaženou v potu, slzách či intersticiální tekutině. Protože je v těchto analytech koncentrace glukózy nízká, musejí být senzory velmi citlivé. Toho je možné docílit různými nanomateriály, kupříkladu grafenem. Přesto je pro jejich implementaci do komerčního zařízení ještě nutné zcela ověřit korelaci s krevní glukózou a eliminovat různé interference vnějšího prostředí.

Využití flexibilních substrátů u neinvazivních senzorů glukózy velmi napomáhá jejich funkčnosti. Hlavními zástupci jsou polymerní materiály, konkrétně polyimid nebo PET. Díky flexibilitě jsou senzory v neustálém kontaktu s analytem, a i přes mechanické namáhání si udrží své detekční vlastnosti. Technologie tak mohou být koncipované ve formě dočasného tetování, náplasti nebo kontaktní čočky. Obecně se nová zařízení tohoto druhu prokazují dobrou korelací s krevní glukózou, citlivostí a dostatečnou přesností.

Vytvoření komerčního neinvazivního zařízení je zcela jistě na dobré cestě. Flexibilní materiály spolu s nanomateriály hrají ve vývoji úspěšné technologie důležitou roli. Oba materiály totiž napomáhají pohodlnému, přesnému a relativně spolehlivému měření koncentrace glukózy. Přesnost by se navíc dala ještě navýšit přidáním jiných senzorů. Stále je ovšem nutné nalézt vhodný zdroj napájení. Dále je také pro úspěch zařízení klíčové, aby na pacienta negativně nepůsobilo, co nejméně ho omezovalo a jeho výroba byla cenově přijatelná pro masovou výrobu.

Seznam literatury a informačních zdrojů

- [1] J. Rybka, *Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění*, č. 1. 2007.
- [2] „Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR".
<https://www.uzis.cz/index.php?pg=vystupy--knihovna&id=275> (viděno led. 25, 2021).
- [3] WHO, „Diabetes", 2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (viděno lis. 27, 2020).
- [4] N. Sarwar *et al.*, „Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: A collaborative meta-analysis of 102 prospective studies", *Lancet*, roč. 375, č. 9733, s. 2215–2222, 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)60484-9.
- [5] R. Češka a kolektiv, *Interna*, 1. Praha, CZ: Triton, 2010.
- [6] J. Prof. MUDr. Perušičová DrSc., *Diabetes mellitus v kostce II.: Druhé aktualizované vydání*, 2. Praha, CZ: Maxdorf, 2016.
- [7] N. Čapková, M. Lustigová, J. Kratěnová, a K. Žejglicová, *Zdravotní stav české populace: výsledky studie EHES 2014*. 2016.
- [8] J. Pecová, „Kompenzace diabetu mellitu – cíle terapie", *Interní medicína pro praxi*, roč. 6, č. 5, s. 244–246, 2005.
- [9] J. Škrha, Z. Šumník, T. Pelikánová, a M. Kvapil, „Doporučený postup péče o diabetes mellitus 1. typu", *Diabetol. Metab. Endokrinol. Vyziv.*, roč. 19, č. 4, s. 156–159, 2016.
- [10] K. Štechová, „Selfmonitoring a jeho význam v moderní léčbě diabetu", roč. 13, č. 3, s. 106–110, 2017.
- [11] M. Krčma, „Porovnání přínosu FGM a CGM pro jednotlivé klinické situace u pacientů s diabetes mellitus 1. typu", roč. 21, č. 1, s. 29–32, 2019.
- [12] B. Friedecký *et al.*, „Diabetes mellitus - Laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů", *Klin. Biochem. a Metab.*, roč. 24, č. 1, s. 32–47, 2019.
- [13] J. A. N. Škrha, T. Pelikánová, a M. Kvapil, „Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu", *Diabetol. Metab. Endokrinol. Vyziv.*, roč. 20, č. 3, s. 142–150, 2017.
- [14] S. F. Clarke a J. R. Foster, „A history of blood glucose meters and their role in self-monitoring of diabetes mellitus", *Br. J. Biomed. Sci.*, roč. 69, č. 2, s. 83–93, 2012, doi: 10.1080/09674845.2012.12002443.
- [15] A. H. FREE, E. C. ADAMS, M. L. KERCHER, H. M. FREE, a M. H. COOK, „Simple specific test for urine glucose.", *Clin. Chem.*, roč. 3, č. 3, s. 163–168, 1957, doi: 10.1093/clinchem/3.3.163.

- [16] D. E. Goldstein *et al.*, „Tests of glycemia in diabetes“, *Diabetes Care*, roč. 27, č. 7, s. 1761–1773, čvc. 2004, doi: 10.2337/diacare.27.7.1761.
- [17] K. Tonyushkina a J. H. Nichols, „Glucose meters: A review of technical challenges to obtaining accurate results“, *J. Diabetes Sci. Technol.*, roč. 3, č. 4, s. 971–980, 2009, doi: 10.1177/193229680900300446.
- [18] A. C. Thai, P. P. B. Yeo, K. F. Lui, a J. S. Cheah, „The laboratory evaluation of home blood glucose monitoring instruments“, *Singapore Med. J.*, roč. 22, č. 5, s. 275–279, 1981.
- [19] D. Olczuk a R. Priefer, „A history of continuous glucose monitors (CGMs) in self-monitoring of diabetes mellitus“, *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.*, roč. 12, č. 2, s. 181–187, 2018, doi: 10.1016/j.dsx.2017.09.005.
- [20] H. G. Piper *et al.*, „Real-time continuous glucose monitoring in pediatric patients during and after cardiac surgery“, *Pediatrics*, roč. 118, č. 3, s. 1176–1184, 2006, doi: 10.1542/peds.2006-0347.
- [21] B. G. Alhogbi, „History of glucose monitoring: past, present, future“, *J. Chem. Inf. Model.*, roč. 53, č. 9, s. 21–25, 2017, [Online]. Dostupné z: <http://www.elsevier.com/locate/scp>.
- [22] A. L. Galant, R. C. Kaufman, a J. D. Wilson, „Glucose: Detection and analysis“, *Food Chem.*, roč. 188, s. 149–160, 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.04.071.
- [23] K. Khadilkar, T. Bandgar, A. Lila, N. Shah, a V. Shivane, „Current concepts in blood glucose monitoring“, *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, roč. 17, č. 9, s. 643, 2013, doi: 10.4103/2230-8210.123556.
- [24] „Registr zdravotnických prostředků“.
<https://eregpublicsecure.ksrzis.cz/Registr/RZPRO> (viděno bře. 25, 2021).
- [25] S. Pleus *et al.*, „System accuracy evaluation of 18 CE-marked current-generation blood glucose monitoring systems based on en ISO 15197:2015“, *BMJ Open Diabetes Res. Care*, roč. 8, č. 1, s. 1–10, 2020, doi: 10.1136/bmjdr-2019-001067.
- [26] G. Freckmann *et al.*, „Standardization process of continuous glucose monitoring: Traceability and performance“, *Clin. Chim. Acta*, roč. 515, č. September 2020, s. 5–12, 2021, doi: 10.1016/j.cca.2020.12.025.
- [27] K. Dovc a T. Battelino, „Evolution of Diabetes Technology“, *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, roč. 49, č. 1, s. 1–18, 2020, doi: 10.1016/j.ecl.2019.10.009.
- [28] Z. Prof. MUDr. Šumník Ph.D., „Léčba diabetu v době „ chytrých “ technologií“, s. 559–562, 2017.
- [29] P. D. Salinas a C. E. Mendez, „Glucose Management Technologies for the Critically Ill“, *J. Diabetes Sci. Technol.*, roč. 13, č. 4, s. 682–690, 2019, doi: 10.1177/1932296818822838.

- [30] O. Didyuk, N. Econom, A. Guardia, K. Livingston, a U. Klueh, „Continuous Glucose Monitoring Devices: Past, Present, and Future Focus on the History and Evolution of Technological Innovation", *J. Diabetes Sci. Technol.*, 2020, doi: 10.1177/1932296819899394.
- [31] P. Avari, M. Reddy, a N. Oliver, „Is it possible to constantly and accurately monitor blood sugar levels, in people with Type 1 diabetes, with a discrete device (non-invasive or invasive)?", *Diabet. Med.*, roč. 37, č. 4, s. 532–544, 2020, doi: 10.1111/dme.13942.
- [32] K. J. Cash a H. A. Clark, „Nanosensors and nanomaterials for monitoring glucose in diabetes", roč. 16, č. 12, s. 584–593, 2011, doi: 10.1016/j.molmed.2010.08.002.Nanosensors.
- [33] J. H. Kim, S. A. Jun, Y. Kwon, S. Ha, B. I. Sang, a J. Kim, „Enhanced electrochemical sensitivity of enzyme precipitate coating (EPC)-based glucose oxidase biosensors with increased free CNT loadings", *Bioelectrochemistry*, roč. 101, s. 114–119, 2015, doi: 10.1016/j.bioelechem.2014.08.017.
- [34] A. Szadkowska *et al.*, „Experts opinion: Implantable continuous glucose monitoring system-innovation in the management of diabetes", *Clin. Diabetol.*, roč. 8, č. 6, s. 318–328, 2019, doi: 10.5603/DK.2019.0030.
- [35] Senseonics Inc., „Uživatelská příručka Eversense XL", 2018, [Online]. Dostupné z: www.sukl.cz.
- [36] R. Aronson, A. Abitbol, a K. S. Tweden, „First assessment of the performance of an implantable continuous glucose monitoring system through 180 days in a primarily adolescent population with type 1 diabetes", *Diabetes, Obes. Metab.*, roč. 21, č. 7, s. 1689–1694, 2019, doi: 10.1111/dom.13726.
- [37] S. Sharma *et al.*, „A pilot study in humans of microneedle sensor arrays for continuous glucose monitoring", *Anal. Methods*, roč. 10, č. 18, s. 2088–2095, 2018, doi: 10.1039/c8ay00264a.
- [38] P. P. Samant a M. R. Prausnitz, „Mechanisms of sampling interstitial fluid from skin using a microneedle patch", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, roč. 115, č. 18, s. 4583–4588, 2018, doi: 10.1073/pnas.1716772115.
- [39] J. Min, J. R. Sempionatto, H. Teymourian, J. Wang, a W. Gao, „Wearable electrochemical biosensors in North America", *Biosens. Bioelectron.*, roč. 172, č. May 2020, s. 112750, 2021, doi: 10.1016/j.bios.2020.112750.
- [40] H. Teymourian, A. Barfidokht, a J. Wang, „Electrochemical glucose sensors in diabetes management: An updated review (2010-2020)", *Chem. Soc. Rev.*, roč. 49, č. 21, s. 7671–7709, 2020, doi: 10.1039/d0cs00304b.
- [41] M. L. Tanenbaum, S. J. Hanes, K. M. Miller, D. Naranjo, R. Bensen, a K. K. Hood, „Diabetes device use in adults with type 1 diabetes: Barriers to uptake and potential intervention targets", *Diabetes Care*, roč. 40, č. 2, s. 181–187, 2017, doi: 10.2337/dc16-1536.

- [42] D. Bruen, C. Delaney, L. Florea, a D. Diamond, „Glucose sensing for diabetes monitoring: Recent developments", *Sensors (Switzerland)*, roč. 17, č. 8, 2017, doi: 10.3390/s17081866.
- [43] S. Alva *et al.*, „Accuracy of a 14-Day Factory-Calibrated Continuous Glucose Monitoring System With Advanced Algorithm in Pediatric and Adult Population With Diabetes", *J. Diabetes Sci. Technol.*, 2020, doi: 10.1177/1932296820958754.
- [44] T. Haak, H. Hanaire, R. Ajjan, N. Hermanns, J. P. Riveline, a G. Rayman, „Flash Glucose-Sensing Technology as a Replacement for Blood Glucose Monitoring for the Management of Insulin-Treated Type 2 Diabetes: a Multicenter, Open-Label Randomized Controlled Trial", *Diabetes Ther.*, roč. 8, č. 1, s. 55–73, 2017, doi: 10.1007/s13300-016-0223-6.
- [45] Abbott Laboratories s.r.o., „FreeStyle Libre - Produkty".
<https://www.freestylelibre.cz> (viděno dub. 10, 2021).
- [46] A. F. Ólafsdóttir *et al.*, „A Clinical Trial of the Accuracy and Treatment Experience of the Flash Glucose Monitor FreeStyle Libre in Adults with Type 1 Diabetes", *Diabetes Technol. Ther.*, roč. 19, č. 3, s. 164–172, 2017, doi: 10.1089/dia.2016.0392.
- [47] G. Freckmann, C. Schmid, A. Baumstark, M. Rutschmann, C. Haug, a L. Heinemann, „Analytical performance requirements for systems for self-monitoring of blood glucose with focus on system accuracy: Relevant differences among ISO 15197:2003, ISO 15197:2013, and current FDA recommendations", *J. Diabetes Sci. Technol.*, roč. 9, č. 4, s. 885–894, 2015, doi: 10.1177/1932296815580160.
- [48] A. Pfützner, D. C. Klonoff, S. Pardo, a J. L. Parkes, „Technical aspects of the Parkes error grid", *J. Diabetes Sci. Technol.*, roč. 7, č. 5, s. 1275–1281, 2013, doi: 10.1177/193229681300700517.
- [49] A. S. Bolla a R. Priefer, „Blood glucose monitoring- an overview of current and future non-invasive devices", *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.*, roč. 14, č. 5, s. 739–751, 2020, doi: 10.1016/j.dsx.2020.05.016.
- [50] L. Tang, S. J. Chang, C. J. Chen, a J. T. Liu, „Non-invasive blood glucose monitoring technology: A review", *Sensors (Switzerland)*, roč. 20, č. 23, s. 1–32, 2020, doi: 10.3390/s20236925.
- [51] X. Z. Zhang, J. Xiao, B. W. K. Ling, C. K. Li, a K. F. Tsang, „Accurate, wearable, wireless and pinless blood glucose measurement system modeled by a set of fractional differential equations", *J. Chem. Inf. Model.*, roč. 53, č. 9, s. 1689–1699, 2013.
- [52] S. A. Siddiqui, Y. Zhang, J. Lloret, H. Song, a Z. Obradovic, „Pain-Free Blood Glucose Monitoring Using Wearable Sensors: Recent Advancements and Future Prospects", *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, roč. 11, s. 21–35, 2018, doi: 10.1109/RBME.2018.2822301.

- [53] J. Yadav, A. Rani, V. Singh, a B. M. Murari, „Prospects and limitations of non-invasive blood glucose monitoring using near-infrared spectroscopy“, *Biomed. Signal Process. Control*, roč. 18, s. 214–227, 2015, doi: 10.1016/j.bspc.2015.01.005.
- [54] A. T. Priyoti, S. J. Jim, S. Hossain, S. Mahmud, S. Salvin, a A. Bhattacharjee, „Non-invasive blood glucose measurement using near infra-red spectroscopy“, *IEEE Reg. 10 Humanit. Technol. Conf. R10-HTC*, roč. 2019-Novem, s. 1139–1142, 2019, doi: 10.1109/R10-HTC47129.2019.9042473.
- [55] T. T. Wei, H. Y. Tsai, C. C. Yang, W. T. Hsiao, a K. C. Huang, „Noninvasive glucose evaluation by human skin oxygen saturation level“, *Conf. Rec. - IEEE Instrum. Meas. Technol. Conf.*, roč. 2016-July, 2016, doi: 10.1109/I2MTC.2016.7520571.
- [56] W. V. Gonzales, A. T. Mobashsher, a A. Abbosh, *The progress of glucose monitoring—A review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors*, roč. 19, č. 4. 2019.
- [57] T. Procházka a Z. Bartoň, „S-parametry“, *Elektrorevue*, 2002.
<http://www.elektrorevue.cz/clanky/02029/index.html> (viděno dub. 15, 2021).
- [58] S. K. Vashist, „Non-invasive glucose monitoring technology in diabetes management: A review“, *Anal. Chim. Acta*, roč. 750, s. 16–27, 2012, doi: 10.1016/j.aca.2012.03.043.
- [59] J. Kim, A. S. Campbell, B. E. F. de Ávila, a J. Wang, „Wearable biosensors for healthcare monitoring“, *Nat. Biotechnol.*, roč. 37, č. 4, s. 389–406, 2019, doi: 10.1038/s41587-019-0045-y.
- [60] Y. Yao *et al.*, „Integration of interstitial fluid extraction and glucose detection in one device for wearable non-invasive blood glucose sensors“, *Biosens. Bioelectron.*, roč. 179, č. December 2020, s. 113078, 2021, doi: 10.1016/j.bios.2021.113078.
- [61] Z. Pu, R. Wang, J. Wu, H. Yu, K. Xu, a D. Li, „A flexible electrochemical glucose sensor with composite nanostructured surface of the working electrode“, *Sensors Actuators, B Chem.*, roč. 230, s. 801–809, 2016, doi: 10.1016/j.snb.2016.02.115.
- [62] X. Xuan, H. S. Yoon, a J. Y. Park, „A wearable electrochemical glucose sensor based on simple and low-cost fabrication supported micro-patterned reduced graphene oxide nanocomposite electrode on flexible substrate“, *Biosens. Bioelectron.*, roč. 109, č. January, s. 75–82, 2018, doi: 10.1016/j.bios.2018.02.054.
- [63] Y. Chen *et al.*, „Skin-like biosensor system via electrochemical channels for noninvasive blood glucose monitoring“, *Sci. Adv.*, roč. 3, č. 12, s. 1–7, 2017, doi: 10.1126/sciadv.1701629.
- [64] D. H. Keum *et al.*, „Wireless smart contact lens for diabetic diagnosis and therapy“, *Sci. Adv.*, roč. 6, č. 17, s. 1–13, 2020, doi: 10.1126/sciadv.aba3252.

- [65] B. Hassan, A. Refaei, C. Fayomi, a M. Boukadoum, „Perspectives on non-invasive glucose sensing using flexible hybrid-printed electronics systems", *Proc. - IEEE Int. Symp. Circuits Syst.*, roč. 2019-May, č. c, s. 14–18, 2019, doi: 10.1109/ISCAS.2019.8702818.
- [66] Y. Yang a W. Gao, „Wearable and flexible electronics for continuous molecular monitoring", *Chem. Soc. Rev.*, roč. 48, č. 6, s. 1465–1491, 2019, doi: 10.1039/c7cs00730b.
- [67] S. Szunerits *et al.*, „The impact of chemical engineering and technological advances on managing diabetes: present and future concepts", *Chem. Soc. Rev.*, roč. 50, s. 2102–2146, 2021, doi: 10.1039/c9cs00886a.
- [68] S. Arata, G. Xu, S. Murakami, C. D. Bui, T. Doike, a M. Matsunaga, „Supply-Modulated OOK CMOS TX in 65nm CMOS for Glasses- Free , Self-Powered , and Fuel-Cell-Embedded Continuous Glucose Monitoring Contact Lens", 2018.
- [69] D. A. Gkika *et al.*, „Price tag in nanomaterials?", *J. Nanoparticle Res.*, roč. 19, č. 5, 2017, doi: 10.1007/s11051-017-3875-x.
- [70] „A. IMPORT.CZ spol. s.r.o.- distributor zařízení Dexcom G6 v ČR".
<https://eshop.aimport.cz/kat/kontinualni-monitorace-dexcom-g6> (viděno kvě. 24, 2021).

Přílohy

Příloha A – Registrované osobní glukometry v ČR [24]

<i>Název osobního glukometru</i>	<i>Název výrobce</i>
<i>FreeStyle Lite</i>	<i>Abbott Diabetes Care Ltd.</i>
<i>FreeStyle Freedom Lite</i>	<i>Abbott Diabetes Care Ltd</i>
<i>FreeStyle Optium</i>	<i>Abbott Diabetes Care Ltd.</i>
<i>FreeStyle Optium Neo</i>	<i>Abbott Diabetes Care Ltd.</i>
<i>GlucoDr AGM-2200</i>	<i>All Medicus Co.,Ltd.</i>
<i>iHealth GLUCO+ BG5S</i>	<i>Andon Health Co.,Ltd.</i>
<i>CONTOUR PLUS</i>	<i>Ascensia Diabetes Care Holdings AG</i>
<i>CONTOUR PLUS ONE</i>	<i>Ascensia Diabetes Care Holdings AG</i>
<i>Beurer GL 42</i>	<i>BEURER</i>
<i>Beurer GL 50 evo</i>	<i>BEURER</i>
<i>Beurer GL 50</i>	<i>BEURER</i>
<i>Beurer GL 44</i>	<i>BEURER</i>
<i>G-425-3</i>	<i>Bioland Technology (Shenzhen) Ltd.</i>
<i>Mylife Unio</i>	<i>BIONIME Corporation</i>
<i>Rightest Max Plus</i>	<i>BIONIME Corporation</i>
<i>Mylife Pura</i>	<i>BIONIME GmbH</i>
<i>ABRA</i>	<i>DIAGNOSIS S.A.</i>
<i>FORA Diamond MINI, DM30a/DM30b</i>	<i>Fora Care Suisse AG</i>
<i>FORA Diamond Prima, DM10</i>	<i>Fora Care Suisse AG</i>
<i>Safe AQ Angel</i>	<i>Changsha Sinocare Inc.</i>
<i>iHealth GLUCO BG5</i>	<i>iHealthLabs Europe SARL</i>
<i>iHealth ALIGN BG1</i>	<i>iHealthLabs Europe SARL</i>
<i>EasyGluco</i>	<i>Infopia Co., Ltd.</i>
<i>GlucoLab</i>	<i>Infopia Co., Ltd.</i>
<i>GLUNEO SET</i>	<i>Infopia Co., Ltd.</i>
<i>Mylife Aveo</i>	<i>i-SENS, Inc.</i>
<i>OneTouch Verio</i>	<i>LifeScan Europe A Division of Cilag GmbH International</i>

<i>OneTouch Select Plus</i>	<i>LifeScan Europe A Division of Cilag GmbH International</i>
<i>OneTouch Verio Flex</i>	<i>LifeScan Europe A Division of Cilag GmbH International</i>
<i>OneTouch Select Plus Flex</i>	<i>LifeScan Europe A Division of Cilag GmbH International</i>
<i>OneTouch Ultra Plus Flex</i>	<i>LifeScan Europe A Division of Cilag GmbH International</i>
<i>OneTouch Verio Reflect</i>	<i>LifeScan Europe GmbH</i>
<i>Wellion Galileo</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Galileo Compact</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Calla Mini</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Calla Light</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Galileo glu/chol</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Galileo glu/ket</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Luna duo</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>Wellion Calla Dialog</i>	<i>MED TRUST Handelsges.m.b.H</i>
<i>VERI-Q 1002</i>	<i>MiCoBioMed Co., Ltd.</i>
<i>VERI-Q 2001</i>	<i>MiCoBioMed Co., Ltd.</i>
<i>GlucoLab Auto-coding</i>	<i>OSANG Healthcare Co., Ltd.</i>
<i>EasyGluco Auto-coding</i>	<i>OSANG Healthcare Co., Ltd.</i>
<i>ELEMENT AUTO-CODING SET</i>	<i>OSANG Healthcare Co., Ltd.</i>
<i>GLUNEO SET</i>	<i>OSANG Healthcare Co., Ltd.</i>
<i>Gmate STEP</i>	<i>Philosys Co., Ltd</i>
<i>Accu-Chek Preforma</i>	<i>Roche Diabetes Care GmbH</i>
<i>Accu-Chek Preforma Nano</i>	<i>Roche Diabetes Care GmbH</i>
<i>Accu-Chek Instant</i>	<i>Roche Diabetes Care GmbH</i>
<i>Accutrend Plus</i>	<i>Roche Diagnostics GmbH</i>
<i>SD-Check GOLD</i>	<i>SD Biosensor, Inc.</i>
<i>SD-Check Codefree</i>	<i>SD Biosensor, Inc.</i>
<i>SD-Gluco Navii NFC</i>	<i>SD Biosensor, Inc.</i>
<i>SD-Gluco Navii GDH</i>	<i>SD Biosensor, Inc.</i>
<i>STANDARD™ CodeFree® Plus</i>	<i>SD Biosensor, Inc.</i>
<i>Dálkový ovladač DANA Diabecare R s vestavěným glukometrem</i>	<i>SOOIL Development Co., Ltd.</i>

<i>TD-4116 Next</i>	<i>TaiDoc Technology Corp.</i>
<i>Medisign MM1000</i>	<i>Tianjin Empecs Medical Device Co., Ltd.</i>
<i>Diawin Medisign</i>	<i>Tianjin Empecs Medical Device Co., Ltd.</i>
<i>Diawin Medisign G83</i>	<i>Tianjin Empecs Medical Device Co., Ltd.</i>
<i>eBsensor</i>	<i>VISGENEER INC.</i>