

Ruolo del point of care nella gestione del diabete mellito

Stefano Rapi e Alessandra Fanelli

Laboratorio Generale Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

ABSTRACT

Role of Point of Care Testing in the management of diabetes mellitus

Portable meters are not recommended in the diagnostic phase but they are very important in achieving and maintaining glycemic control in diabetic patients. Use of glucometer devices are unquestionable in self monitoring and patient's bedside in hospitals and clinics. Performance of modern device are consistent with technical and analytical requirements but operator's adequate education is mandatory in order to obtain clinically significant results. New technologies, non invasive and minimally invasive, studied for glucose testing may produce interesting improvements. More questioned is the utility of portable devices for microalbuminuria and glycated haemoglobin determination.

RIASSUNTO

I glucometri portatili, sconsigliati in fase diagnostica nel trattamento della patologia diabetica, giocano un ruolo fondamentale nel monitoraggio ed il controllo della terapia in tutti i tipi di diabete mellito. L'utilità dei glucometri è univocamente riconosciuta sia come strumenti per l'autoderminazione che per esecuzione dell'analisi al letto del paziente. Le prestazioni degli strumenti portatili oggi disponibili si rivelano potenzialmente consistenti con le richieste cliniche ma restano aperte tutte le problematiche legate alla formazione ed alle capacità operative degli utilizzatori. Le nuove strategie di campionamento non invasive studiate per questo analita stanno producendo delle metodiche che a breve termine potranno avere delle interessanti ripercussioni. Molto più difficile da definire resta la reale utilità dei dispositivi portatili per la determinazione della microalbuminuria e dell'emoglobina glicata.

INTRODUZIONE

La malattia diabetica è in costante aumento nelle società industrializzate costituendo un importante problema sanitario e sociale per la frequenza con cui essa si accompagna a complicanze croniche spesso causa di invalidità. Nel mondo sono stati stimati in oltre 176 milioni i malati di diabete nel 2000, e le proiezioni parlano di circa 370 milioni di malati per il 2030 (1). Nel nostro Paese, secondo i dati riportati dall'Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare, circa l'8% degli uomini ed il 6% delle donne risultano affetti dal diabete (2); le stime complessive parlano di circa 2.000.000 di soggetti e lo pongono tra le prime cinque cause di morte, al secondo posto tra le cause di cecità ed al primo posto tra le cause di gangrena degli arti, facendone uno dei maggiori problemi sanitari che assorbe circa il 10% del costo totale della spesa sanitaria (3,4). Poiché, inoltre, per ogni diabetico diagnosticato ne esiste uno a cui non è stata fatta diagnosi di tale malattia, risultano assolutamente necessari sia una diagnosi precoce che un corretto monitoraggio della patologia.

Nel presente articolo verrà esaminato il ruolo delle tecnologie del Point Of Care Testing (POCT) per il monitoraggio della glicemia da sangue capillare, della

microalbuminuria e della emoglobina glicata nella gestione domiciliare ed ospedaliera del paziente diabetico.

LINEE GUIDA PER LA CLASSIFICAZIONE E DIAGNOSI DEL DIABETE MELLITO

La recente classificazione proposta dall'American Diabetes Association (ADA) (5) prevede due tipi principali di diabete. Il diabete Tipo 1 si riscontra soprattutto nella popolazione giovanile, è responsabile del 5-10% dei casi, ed è dovuto ad una distruzione, su base autoimmune o idiopatica, delle cellule β del pancreas con perdita completa della secrezione di insulina (6). Il diabete Tipo 2, riscontrabile nel 90-95 % della popolazione diabetica, compare in età più avanzata e può andare da forme con prevalente insulino-resistenza con relativa deficienza di insulina, a difetti prevalentemente secretori con insulino-resistenza (7). Vi sono poi il diabete gestazionale e le forme di diabete secondario a distruzione pancreatica, difetti genetici o endocrinopatie. Nel diabete tipo 1 l'approccio terapeutico si basa principalmente sul trattamento insulinico accompagnato da una corretta alimentazione ed un costante esercizio fisico. In alcuni soggetti con diabete di tipo 2, il trattamento insulinico può essere evitato e la patologia può essere tenuta sotto

controllo, anche per lunghi periodi, con terapie orali, perdita di peso, dieta nutrizionale e regolare programma di attività fisica.

I criteri per la diagnosi del diabete mellito sono stati recentemente revisionati dal comitato di esperti dell'ADA (8) al fine di ottenere una diagnosi più precoce e, conseguentemente, una prevenzione più efficace delle complicanze. La diagnosi di diabete si basa sulla presenza di uno dei tre dei seguenti criteri:

- la presenza dei classici sintomi del diabete (poliuria, polidipsia e perdita di peso) e una glicemia plasmatica random > 220 mg/dL

- glicemia plasmatica a digiuno > 126 mg/dL

- valori di glicemia plasmatica dopo due ore > 200 mg/dL durante un test da carico orale di glucosio di 75 g. La curva da carico di glucosio (OGTT) per la diagnosi di diabete deve essere comunque riservata solo a quelle situazioni particolari nelle quali la diagnosi risulta difficile o ambigua.

MONITORAGGIO DELLA GLICEMIA DA SANGUE CAPILLARE

Metodiche analitiche invasive

Gli approcci analitici più utilizzati per la misura del glucosio sono rappresentati dai metodi enzimatici basati sull'impiego dell'esochinasi, della glucosio ossidasi e della glucosio deidrogenasi. Le metodiche si avvalgono quasi sempre della catalisi enzimatica sia per una iniziale fosforilazione del glucosio con formazione di glucosio 6 fosfato che per una successiva ossidazione del composto ad opera di un agente riducente (glucosio ossidasi o perossidasi). Le differenze più importanti fra i diversi metodi restano legate alle metodiche di rilevamento e di misurazione del segnale, che possono essere basate sulla formazione di composti colorati misurati per rifrattometria o sulla registrazione potenziometrica/amperometrica legata alla reazione di ossidoriduzione.

Negli strumenti POCT, una goccia di sangue capillare viene applicata nella zona apposita della striscia reattiva, che generalmente è un tamponcino impregnato di glucosio ossidasi (GOD), perossidasi ed un precursore cromogenico. Alcuni glucometri hanno una membrana porosa che separa gli eritrociti così che l'analisi viene eseguita su plasma. Nei riflettometri, la striscia reattiva si trova sopra uno o due diodi luminosi che proiettano una luce verso l'alto che, quando incontra l'area di reazione, viene in parte assorbita e in parte rifratta. Tanto più scura è la striscia e tanto minore sarà la percentuale di luce rifratta. Questa viene riflessa su un sensore al silicio che analizza la luce rifratta a intervalli di un secondo. Il sistema legge i valori e attende che questi siano giunti a livello di equilibrio (tre valori consecutivi uguali) per riportarli sul display. Nei potenziometri, la reazione di ossidoriduzione provoca una differenza di potenziale proporziona-

le alla concentrazione glicemica. I glucometri più recenti sono costituiti da un biosensore elettrochimico che utilizza la glucosio deidrogenasi al posto della glucosio ossidasi, e che quindi non dipendono dalla disponibilità di ossigeno. Infatti, significative sottostime della glicemia sono state segnalate con le strisce a GOD in casi di prelievi da pazienti in stato ipossiemico od in stato di shock, disidratazione o patologia vascolare periferica (9). Esistono infine strisce reattive a GOD che utilizzano ferricianuro al posto dell'ossigeno per l'ossidazione del glucosio ad acido gluconico. E' stato segnalato che in tali sistemi l'ipossiemia produce una interferenza positiva nella concentrazione misurata di glucosio.

La maggior parte dei glucometri analizza un range di glicemia da 30 a 600 mg/dL.

La concentrazione di glucosio su sangue capillare è paragonabile a quella su sangue arterioso, che a digiuno è superiore di 2-3 mg/dL (0.11- 0.17 mmol/L) rispetto a quella su sangue venoso. Dopo un carico glucidico le concentrazioni di glucosio nel sangue capillare possono essere maggiori anche del 15% rispetto a quelle nel sangue venoso a causa dell'assorbimento periferico del glucosio dopo il pasto. Inoltre, a seconda del sistema impiegato, se l'ematokrito è < 20-25% o > 60-65% la stima della concentrazione del glucosio nel sangue capillare può essere inaccurata. Con l'ematokrito basso aumenta la frazione di plasma rispetto a quella degli elementi corpuscolati, quindi si può osservare un aumento della concentrazione del glucosio capillare anche del 10% rispetto al caso dell'ematokrito normale. Viceversa, nel caso di soggetti politemici la diminuzione relativa della frazione plasmatica può causare una sottostima del glucosio capillare anche del 15%. E' quindi raccomandabile che almeno una volta l'anno la glicemia misurata su sangue capillare con le strisce reattive venga confrontata con quella misurata su plasma con prelievo simultaneo, al fine di assicurarsi che il glucometro funzioni correttamente.

Metodiche analitiche non invasive

Un capitolo innovativo è costituito dalle metodiche non invasive e da quelle a minima invasività per la misurazione della glicemia. Esse si avvalgono di strategie analitiche estremamente varie, alcune basate sull'estrazione di minime quantità di fluidi ed altre che sfruttano metodi spettroscopici per ottenere un segnale correlato alla concentrazione del glucosio nella regione corporea attraversata (10).

Le metodiche a minima invasività sfruttano i più diversi siti corporei (polpastrelli, lobi auricolari, regione interdigitale, avambraccio) per l'estrazione dei fluidi corporei (micro quantità di sangue, fluidi interstiziali ed oculari, sudore) e possono essere differenziate come cutanee, sottocutanee, epidermiche e combinate dermiche

ed epidermiche. La tecnica più avanzata, già commercializzata in alcuni apparecchi, sfrutta l'impianto di sistemi elettrochimici per ottenere una microdialisi sottocutanea, che induce un'estrazione di fluidi (iontoforesi) sui quali è possibile determinare la concentrazione del glucosio (11).

Le tecniche ottiche sfruttano sia tecniche spettroscopiche (Vicino IR / IR / Raman / Fotoacustica) che cambiamenti di scatter e di polarizzazione del segnale (12-14). Si basano sul principio che una radiazione luminosa focalizzata all'interno dell'organismo viene modificata dalle interazioni con il tessuto attraversato producendo una specifica impronta digitale. La trasmissione della luce alle diverse lunghezze d'onda dipenderà dalla composizione chimica (acqua, emoglobina, melanina, acidi grassi, glucosio) e dalle caratteristiche (composizione e colore della pelle, delle ossa, del sangue, del tessuto) della regione attraversata dalla radiazione luminosa. La concentrazione del glucosio viene determinata analizzando i cambiamenti di lunghezza d'onda, di polarizzazione o di intensità del segnale ottico, e le concentrazioni ottenute, con i diversi metodi, dipendono dal sito utilizzato per la determinazione (15). Il rapporto con la concentrazione ematica del glucosio dipende infatti dalla percentuale di sangue capillare e di fluidi interstiziali ed intra cellulari nella regione analizzata. Per esempio, nella regione toracica dove i rapporti tra i diversi fluidi corporei possono essere approssimati come 63% intracellulari e 37% extracellulari (27% interstiziale, 10% plasma) si otterrà, per un valore di glicemia di 100 mg/dl, una media di glucosio tissutale di 38 mg/dl ottenuto per il 26% dal valore ematico, per il 58% dal fluido interstiziale e per il 16% dal fluido intracellulare.

Una delle maggiori problematiche legate all'uso di queste tecniche deriva dalle variazioni fisiologiche e patologiche delle regioni corporee interessate. La lettura dell'impronta digitale deve infatti essere messa a punto in una determinata regione corporea, che rimane soggetta a tutti i normali processi di crescita ed invecchiamento e nella quale il rapporto tra i diversi fluidi resta funzione della circolazione ematica. Altre questioni aperte dalla sperimentazione di queste nuove strategie sono di ordine clinico e riguardano prima l'elaborazione degli intervalli di riferimento per la concentrazione di glucosio tissutale, quindi la sua variabilità in corso di trattamento terapeutico. Gli strumenti già presenti sul mercato non sono ancora in grado di sostituire completamente quelli tradizionali per il dosaggio della glicemia, ma alcuni modelli di analizzatori portatili in continuo, basati su tecniche a minima invasività, sono già stati approvati dalla FDA americana come metodi integrativi per ridurre il numero giornaliero di prelievi e sono reperibili anche in Italia (Glucos Watch Biographer Cygnus, e Continuos Glucose Monitoring System, Mini Med).

Ruolo dei glucometri portatili

Controllo domiciliare della glicemia

La determinazione domiciliare della glicemia mediante glucometri costituisce il più importante parametro di controllo metabolico che può essere fatto direttamente dal paziente, in base al quale, secondo le indicazioni del medico curante, egli può sia aggiustare la propria terapia insulinica, che prevenire ipo o iperglicemie (16). È stato infatti dimostrato che un accurato autocontrollo glicemico può ridurre significativamente lo sviluppo di complicanze microvascolari sia nei diabetici di tipo 1 che di tipo 2. Nel caso dei diabetici di tipo 1 e 2 in terapia insulinica intensiva, il monitoraggio domiciliare della glicemia è raccomandato per 3 o 4 volte al giorno in condizioni routinarie, e in numero maggiore in condizioni di squilibrio glicemico o malattie intercorrenti. In caso di trattamento con terapia insulinica convenzionale è consigliato un numero di controlli quotidiani pari al numero delle iniezioni di routine. Nei pazienti con diabete di tipo 2 in terapia con ipoglicemizzanti orali è consigliato un numero di controlli pari ad un profilo glicemico settimanale su 4 punti di routine.

Il mercato legato al monitoraggio della patologia diabetica ha portato numerose Ditte ad impegnarsi in questo settore con conseguente moltiplicazione dei brevetti, degli strumenti e dei metodi di misura disponibili. Il sito della l'American Diabetes Association (17) riporta le informazioni relative a 30 dispositivi portatili approvati dalla Food and Drug Administration (FDA) commercializzati da 10 Ditte diverse. Il mercato italiano risulta poco meno disperso, dato che il sito del Progetto Diabete riporta le informazioni relative a 17 strumenti commercializzati da 7 Ditte (18). Siamo di fronte ad un numero elevato di dispositivi analitici, molti dei quali gestiti da soggetti assolutamente digiuni di qualunque concetto di variabilità e controllo degli strumenti (19).

Al fine di ridurre gli errori operativi, negli ultimi anni, sono stati apportati numerosi miglioramenti tecnologici quali l'avvio automatico della reazione quando la striscia ed il campione sono nel glucometro, impiego di minimi volumi di sangue, segnali di allarme per volumi di sangue inadeguati, blocchi strumentali in seguito alla mancata esecuzione del controllo di qualità, lettori di barcode per reagenti e controlli e capacità di conservare in memoria centinaia di risultati che possono essere rivalutati successivamente. Malgrado ciò è dimostrato che la qualità analitica media delle misure ottenute dai pazienti attraverso i glucometri portatili è generalmente inferiore a quella raggiunta sugli stessi strumenti da personale tecnico. In un recente studio sono state verificate le capacità operative di un gruppo di pazienti diabetici confrontando i dati ottenuti con l'autodeterminazione rispetto a quelli ottenuti da un laboratorio di riferimento. Lo studio ha evidenziato un coefficiente di variazione per i

valori della glicemia inferiore al 10% nella metà dei pazienti, errori compresi tra il 10 e il 20% nel 33% dei soggetti, e valori maggiori del 20% per il 16% dei soggetti. Il lavoro individuava nell'errata disposizione del campione e nell'errato tempo di reazione le principali cause di errore. Un altro dato evidenziato dallo studio è quello relativo all'uso delle strisce per il Controllo di Qualità, che risultavano utilizzate giornalmente da poco più del 10% dei soggetti ed un uso diffuso di materiale di controllo dopo la data di scadenza (20).

Numerosi goal analitici sono stati proposti per valutare le performances dei glucometri portatili. La mancanza di consenso sui goal analitici dei glucometri portatili riflette la mancanza di criteri oggettivi di valutazione.

Il documento ADA del 1987 raccomandava un goal analitico per l'errore totale < 10% per concentrazioni di glucosio fra 30 e 400 mg/dL. Inoltre, veniva proposto che i valori differissero non più del 15% da quelli ottenuti da un laboratorio di riferimento. Nel 1996 è stata pubblicata la revisione delle raccomandazioni che suggeriva un errore analitico < 5% rispetto al valore di riferimento. I goal analitici proposti dal CLIA nel 1988 sono meno stringenti: i risultati dei glucometri devono essere entro il 10% del valore target o +/- 6 mg/dL, qualunque sia il valore di glicemia. Le linee guida NCCLS pubblicate nel 2002 propongono una discrepanza < 20% fra glucometri e laboratorio di riferimento quando la glicemia è > 75 mg/dL, e una discrepanza non superiore a 15 mg/dL quando la glicemia è < 75 mg/dL. Lo standard internazionale ISO DIS 15197 raccomanda una variabilità di 20 mg/dL ad una concentrazione di glucosio di 100 mg/dL, e del 20% per concentrazioni superiori di glucosio. Il documento WHO infine raccomanda una deviazione del 10% rispetto al valore di riferimento..

I fattori che principalmente giocano un ruolo nella variabilità analitica dei glucometri portatili sono: 1) le condizioni operative ambientali (umidità, presenza di polveri) e le ridotte possibilità di intervento. E' dimostrato che la pressione atmosferica e l'umidità inducono variazioni sulla strumentazione (21), e anche se i valori ottenuti possono risultare affetti da un errore analitico consistente, non è pensabile che un paziente diabetico rinunci al monitoraggio della terapia in alta quota; 2) le condizioni operative umane (stanchezza, mancanza di attenzione, necessità di avere una risposta nel minor tempo possibile) e capacità operative del singolo soggetto; 3) il materiale di partenza (sangue intero, plasma); 4) carenza di controllo di qualità.

Controllo della glicemia in ambiente ospedaliero

Oltre che in ambito domiciliare, i glucometri portatili sono impiegati nei reparti di degenza al letto del paziente, per mantenere il controllo glicemico in situazioni acute o croniche. Diversi studi dimostrano che l'utilizzo della tecnologia POCT migliora sensibilmente l'outcome

del paziente in ambiente ospedaliero ed i motivi possono essere facilmente intuiti: 1) i risultati sono rapidamente disponibili per decisioni terapeutiche immediate che possono ridurre il tempo della degenza; 2) la maggiore soddisfazione del paziente che non deve sottoporsi a ripetuti prelievi venosi; 3) l'impatto positivo sul flusso di lavoro del laboratorio centrale. Inoltre, nel caso di una nuova diagnosi di diabete, il fatto di avere il glucometro al letto del paziente consente al personale infermieristico di istruire il paziente stesso all'autocontrollo della glicemia mentre questi è ancora ricoverato. L'educazione degli utilizzatori risulta infatti un punto chiave per una corretta utilizzazione di ogni tecnologia

In ospedale le misure della glicemia possono essere eseguite solo da personale adeguatamente istruito. Secondo le raccomandazioni ADA occorre che: 1) sia adeguatamente definita una chiara responsabilità amministrativa per la procedura; 2) sia disponibile un manuale operativo; 3) sia stato definito un programma di addestramento per il personale che deve fare il test; 4) siano state definite delle procedure per il controllo di qualità; 5) sia garantito un adeguato servizio di manutenzione della strumentazione.

Esistono pochi e discordanti studi circa il costo della glicemia capillare a letto del malato rispetto a quella eseguita nel laboratorio centrale. In uno studio eseguito al Massachusetts General Hospital (22) il costo/test variava notevolmente da un reparto all'altro in rapporto al volume di analisi effettuate, ma nei reparti con il maggior numero di richieste il costo medio risultava più elevato per il POCT che nel laboratorio di riferimento. Una recente revisione della letteratura sugli studi effettuati per valutare il costo del POCT rispetto al laboratorio centrale in un periodo di 10 anni conclude che circa il 50% degli studi affermano che il POCT riduce i costi, mentre il rimanente 50% afferma che il POCT è più costoso (22).

MICROALBUMINURIA

I pazienti diabetici possono presentare una funzione renale normale o con vari gradi di alterazione in rapporto al tipo e alla durata della malattia. Circa il 33% dei pazienti con diabete sviluppa complicanze renali compresa l'insufficienza renale cronica che richiede, come intervento terapeutico, la dialisi o il trapianto di rene, terapie costose e che possono significativamente alterare la qualità di vita del paziente. La più precoce evidenza di disfunzione renale in un paziente diabetico è la presenza di piccole quantità di albumina nell'urine. La microalbuminuria è definita come l'escrezione minimale di albumina nelle urine compresa tra 30 e 300 mg nelle 24 ore in almeno due o tre campioni di urina raccolti separatamente. La microalbuminuria può essere definita anche in termini di albumina/creatinina ratio (30-300 mg per gram), che

è stato dimostrato avere un maggiore potere diagnostico. I pazienti con diabete del tipo 1 e 2 che presentano microalbuminuria persistente hanno una probabilità 20 volte maggiore di sviluppare la nefropatia diabetica rispetto ai soggetti con albuminuria normale (22). In questi pazienti, la diagnosi rapida e il precoce trattamento terapeutico con gli ACE-inibitori possono ritardare o prevenire l'inizio e la progressione della nefropatia diabetica. Per questo motivo, tutti i pazienti diabetici devono cominciare a ricercare l'eventuale presenza di microalbuminuria al momento della diagnosi di diabete e ripeterla a distanza di un anno.

La ricerca dell'albumina nelle urine per rivelare l'eventuale microalbuminuria viene effettuata nei laboratori centrali con metodiche nefelometriche o immunochimiche quantitative. Due Ditte hanno recentemente introdotto tecnologie POCT che utilizzano metodiche immunochimiche per la misura dell'albumina e test colorimetrici per la creatinina. I risultati sono in genere disponibili in 6-7 minuti senza alcuna diluizione del campione, preparazione dei reagenti o calibrazione con materiali appositi. Non ci sono ancora studi circa i vantaggi delle tecnologie POCT per il dosaggio della microalbuminuria rispetto alle metodiche standard del laboratorio di riferimento.

EMOGLOBINA GLICATA

Nei soggetti normali, una piccola percentuale dell'emoglobina A va incontro a reazione di glicazione con produzione delle glicemoglobine A1a, A1b e A1c. Di queste, la maggior parte è rappresentata dall'emoglobina A1c. Nei pazienti diabetici iperglicemici, il livello di HbA1c risulta elevato e riflette il livello glicemico medio nei 2-3 mesi precedenti. Una serie di studi clinici hanno dimostrato che la misura dell'emoglobina glicata è utile come indice retrospettivo del controllo glicometabolico nei soggetti diabetici e come indice di rischio per lo sviluppo delle complicanze del diabete. La misura dell'HbA1c è quindi usata routinariamente per monitorare l'efficacia della terapia lungo-termine del diabete e per valutare la compliance del paziente con il regime terapeutico.

Recentemente è disponibile un apparecchio POCT per la misura dell'emoglobina glicata in grado di analizzare anche la glicemia e la microalbuminuria. Il sistema trova il suo utilizzo negli studi medici in quanto permette la rapida valutazione e aggiustamento della terapia diabetica senza dover aspettare i risultati dal laboratorio di riferimento e senza dover richiamare il paziente per eventuali modifiche terapeutiche. Comunque, non esistono studi clinici che documentino questi vantaggi, in parte perché le tecnologie sono nuove, e in parte perché è difficile eseguire studi controllati su pazienti ambulatoriali.

BIBLIOGRAFIA

1. <http://www.progettodiabete.org> Stime e proiezioni sulla diffusione del diabete nel mondo.
2. Pilotto L, Gaggioli A, Lo Noce C, Dima F, Palmieri L, Uguccioni M, Pede S, Giampaoli S, Vanuzzo D. Gruppo di Ricerca dell'Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare. Diabetes in Italy: a public health problem. *Ital Heart J.* 2004;5(6 Suppl):480-486.
3. Giampaoli S, Vanuzzo D et al. I fattori di rischio cardiovascolare in Italia: una lettura in riferimento al Piano Sanitario Nazionale 1998-2000. *Giornale Italiano Cardiologia* 1999;29(12):1463-72
4. <http://www.portalemedico.it> Diabete Mellito Epidemiologia.
5. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of the diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997;20: 1183-1201.
6. Castano L, Eisenbarth GS. Type I diabetes. A Chronic autoimmune disease, mouse and rat. *Ann Rev Immunol* 1990;8:647-79
7. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37: 1595-1607.
8. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:S5-S20.
9. Mosca A, Iapolla A. Diagnosi e sorveglianza del diabete mellito: aggiornamenti sul ruolo del laboratorio. *Biochim Clin* 2002;26:457-467.
10. Roe JN, Smoller BR. Bloodless glucose measurements. *Crit Rev Ther Drug Carrier Sys* 1998;5 (3):199-241.
11. Siegel A., Guy RH, Delgado-Charro MB. Non invasive glucose monitoring by reverse iontophoresis in vivo: application of the standard concept. *Clin Chem* 2004;50:1383-1390.
12. Larin KV, Eleidrisi MS, Motamedi M, Esenaliev RO. Noninvasive blood glucose monitoring with optical coherence tomography. *Diabetes Care* 2002;25(12):2263-2267.
13. Demers J, Kane MP, Bakst G, Busch RS, Hamilton RA. Accuracy of home blood glucose monitors using forearm blood samples: FreeStyle versus One Touch Ultra. *Am J Health Syst Pharm.* 2003; 60 (11):1130-1135
14. Gutman S, Bernhardt P, Pinkos A, Moxei Mims M, Knott T et al. Regulatory aspect of non invasive measurements. *Diabetes Technol Ther.* 2002; 4(6):779-781.
15. Malchoff CD, Shoukry K, Landau JI, Buchert JM. A novel non-invasive blood glucose monitoring. *Diabetes Care* 2002; 25 (12): 2268-2275.
16. William E Winter. A Rosetta Stone for insulin treatment: self-monitoring of blood glucose. *Clinical Chemistry* 2004; 50: 984-987.
17. <http://www.diabetes.org/home.jsp>
18. <http://www.Publinet.it/diabete/clinica>: Strumenti per la determinazione della glicemia.
19. Tate PF, Clements CA, Walters JE. Accuracy of home blood glucose monitors. *Diabetes Care.* 1992; 15(4):536-538.
20. Alto WA, Meyer D, Scneid J, Bryson P, Kinding J. Assuring the accuracy of home glucose monitoring. *J Am Board Farm Pract.* 2002;15:1-6.
21. Fink KS, Christensen DB, Ellsworth A. Effect of high altitude on blood glucose meter performance. *Diabetes Technol Ther.* 2002;4(5):627-35.
22. Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski K. Point of care testing. *AACC Press* 1999; 319-337.