

# HbA<sub>1c</sub> - Introduzione

Marcello Angius  
Medicina di Laboratorio  
AOB CAGLIARI

 American Diabetes Association. **Diabetes Care**

Il diabete è una malattia metabolica principalmente caratterizzata da elevati livelli di glucosio nel sangue e da complicazioni microvascolari e cardiovascolari che aumentano sostanzialmente la morbilità e la mortalità e riducono la qualità della vita.

## IDF Estimates of Diabetes Prevalence: 2011-2030

1. 2011 - 366 million
2. 2030 - project 552 million



Norfolk and Norwich University Hospitals **NHS**  
NHS Foundation Trust

**UEA**  
University of East Anglia

**HbA<sub>1c</sub> standardisation is essential for diagnosis and monitoring of diabetes**

Garry John

Norfolk and Norwich University Hospital  
& The Norwich Medical School, UEA

UK

## The Cost of Diabetes

Diabetes requires continuous medical care and patient self management in order to prevent short-term complications and decrease the risk of long-term complications

The ADA has estimated that the annual cost of diabetes in the US was approximately \$174 billion in 2007.

Prevention CfDCA. National diabetes fact sheet. 2007. Available from: [http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/ndfs\\_2011.pdf](http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/pdf/ndfs_2011.pdf).

## The Cost of Diabetes

A number of studies have found evidence that better glycaemic control among patients with type 2 diabetes may be associated with lower requirement of health care resources and lower costs

Oglesby et al., found that diabetes-related costs were 16 % and 20 % lower for patients with good control compared with fair and poor control, respectively

Gilmer TP, O'Connor PJ, Rush WA, Crain AL, Whitebird RR, Hanson AM, et al. Predictors of health care costs in adults with diabetes. *Diabetes Care* 2005;28:59 – 64.

Wagner EH, Sandhu N, Newton KM, McCulloch DK, Ramsey SD, Grothaus LC. Effect of improved glycaemic control on health care costs and utilization. *J Am Med Assoc* 2001;285:182 – 9.

Oglesby AK, Secnik K, Barron J, Al-Zakwani I, Lage MJ. The association between diabetes related medical costs and glycaemic control: a retrospective analysis. *Cost Eff Resour Alloc* 2006;4:1.

## HbA<sub>1c</sub> nel sangue

La quantità dipende da:

- Concentrazione del glucosio
- Vita dei globuli rossi

Rappresenta i livelli di glucosio nelle 8-12 settimane precedenti

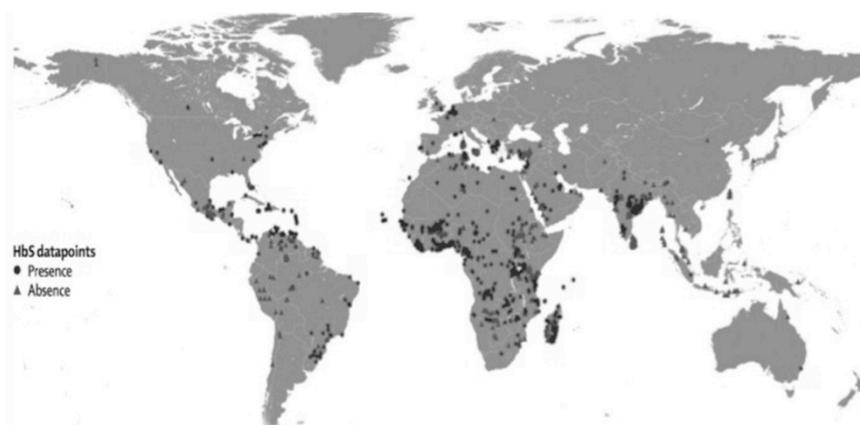
## Valore clinico

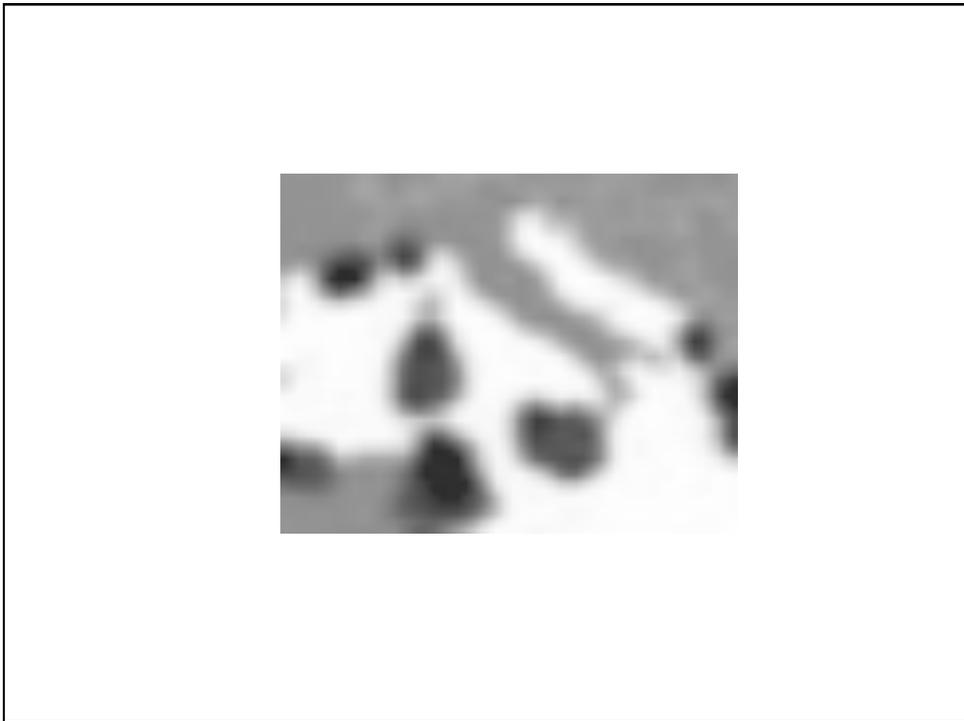
- Monitoraggio a lungo termine del controllo glicemico
- Aggiustamento della terapia
- Valutazione della qualità di cura del diabete
- Misura del rischio di sviluppo delle complicazioni microvascolari
- Screening e diagnosi del diabete

## Fattori determinanti

- Legati alla interpretazione del dato (razza, età, durata di vita dei G.R.)
- Fattori che interferiscono con la misura

## Alleli dell' HbS





Norfolk and Norwich University Hospitals **NHS**  
NHS Foundation Trust

**Further improvements in testing**

**UEA**  
University of East Anglia

**1679: Willis**  
Urine of diabetics had a

**Urine Glucose remained the primary analyte for assessing diabetes until the introduction of Blood Glucose analysis**

**1776: Dobson**  
Isolated a "dry residue" from urine of diabetics which looked and tasted like "brown sugar"



A DOCTOR OF MEDICINE  
MAGDALEN COLLEGE, 1508

- Dalla fine del 1960 alla metà degli anni 1980 le principali metodiche di dosaggio erano elettroforetiche, cromatografiche in mini-colonna, HPLC cromatografiche.

**An abnormal haemoglobin in  
red cells of diabetics**

**Rahbar S**

**Clin Chim Acta 1968; 22: 296-298**



Biochemical and Biophysical Research  
Communications

Volume 36, Issue 5, 22 August 1969, Pages 838–843



**Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes  
mellitus**

Samuel Rahbar<sup>a, b, 1</sup>, Olga Blumenfeld<sup>a, b, 2</sup>, Helen M. Ranney<sup>a, b, 3</sup>

<sup>a</sup> Heredity Unit Department of Medicine and Biochemistry Albert Einstein College of Medicine New York, New York 10461 USA

<sup>b</sup> Unit for Research in Aging Department of Medicine and Biochemistry Albert Einstein College of Medicine New York, New York 10461 USA

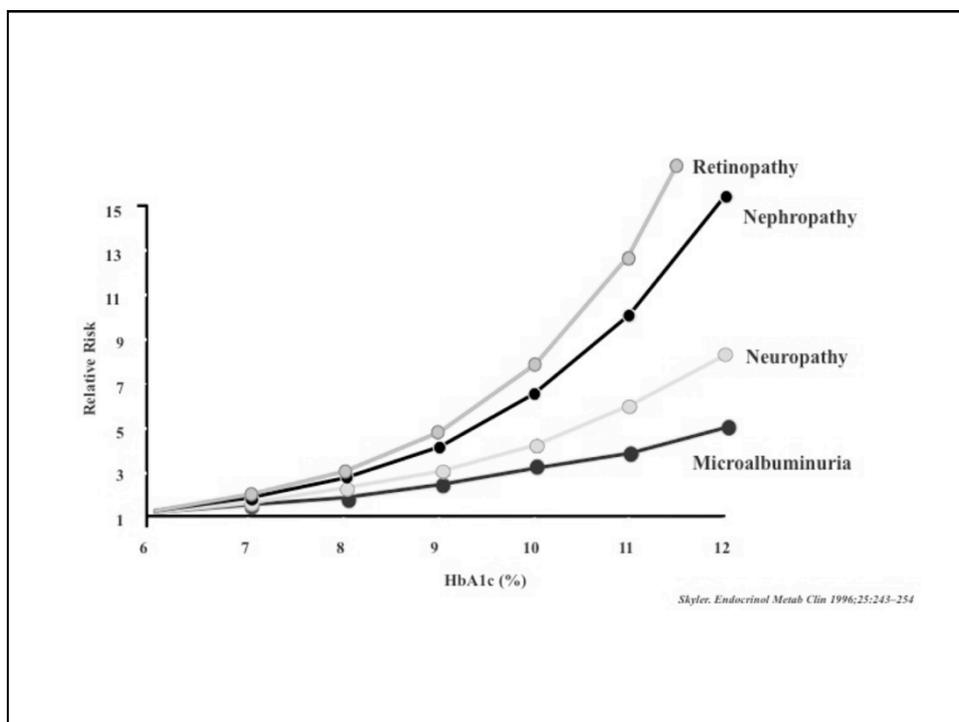
- Il controllo della temperatura è stato uno dei primi criteri per ottenere una migliore precisione anche rispetto all'uso dei calibratori
- In seguito allo sviluppo delle tecnologie le attuali metodiche sono vincolate sia al controllo termostatico della temperatura sia all'uso di calibratori

- Nel corso degli anni sono state proposte altre metodologie: elettro-endosmosi in gel di agar, gel elettroforesi, focalizzazione isoelettrica, elettroforesi capillare, affinity separation, immunoassays

- **Immunoassays:** nel 1991 Dako Diagnostics Ltd. (Ely, UK) ha commercializzato il primo test immunologico in commercio,
- Nel 1992 è stato introdotto il DCA 2000 analizzatore Point of Care per HbA<sub>1c</sub>.

- Dopo l'introduzione di tutte le varie metodiche di dosaggio per HbA<sub>1c</sub> in routine, è diventato subito chiaro che c'era una differenza significativa nei risultati prodotti dai diversi laboratori
- Era evidente che i risultati ottenuti erano diversi a causa della gamma dei metodi utilizzati dai laboratori e per la mancanza di un materiale di riferimento primario.

- Anche se la nuova generazione di metodi per la determinazione di HbA<sub>1c</sub> è ora capace di un grado di precisione che non poteva essere immaginato a metà degli anni 1970, il confronto tra i risultati di diversi laboratori potrebbe essere difficile o quasi impossibile se non si stabilissero criteri univoci di normazione



## HbA<sub>1c</sub>: Perché la standardizzazione è così importante?

### Principi di dosaggio

- HPLC - scambio ionico
- HPLC - alta affinità
- Immunoassay
- Elettroforesi capillare
- 

### Opzioni metodologiche

- >100 metodi
- >20 produttori
- Differenti standards
- Differenti unità di misura
-

- Standardizzazione con calibrazione comune è stata proposta nel 1984 da Peterson et al.,
- Tuttavia, fu solo dopo la pubblicazione dello studio DCCT nel 1993, che la questione della standardizzazione internazionale delle misure di emoglobina glicata è diventato un obiettivo importante

- Il Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) è stato uno studio condotto dal National Institutes of Health (NIH).
- United Kingdom Prospective Diabetes Study

- Nel 1995 la Società del diabete giapponese (JDS) in collaborazione con la Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC) ha sviluppato un sistema nazionale di normalizzazione. Due calibratori sono stati preparati come haemolysates liofilizzati. I valori di HbA<sub>1c</sub> sono assegnati come la media di due cromatografie liquide ad alta pressione più comuni (HPLC), analizzatori Tosoh e Kyoto Daiichi, entrambi i metodi scambio cationico molto precisi.

- L'NGSP è stata costituita nel luglio 1996 per attuare il piano messo a punto dalla American Association for Clinical Chemistry, sottocommissione per la normalizzazione Glycohemoglobine.
- Il piano era quello di stabilire un sistema di laboratori di riferimento che si sostengano a vicenda in una rete che sarebbe stata utilizzata per calibrare e standardizzare i metodi di HbA<sub>1c</sub> commerciali e sistemi analitici.

- Lo schema di standardizzazione svedese utilizza come metodo di "riferimento", l'analisi di HbA<sub>1c</sub> usando Mono S HPLC, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Svezia. Nel 1998 è stata introdotta la standardizzazione comune in tutta la Svezia.

- Una caratteristica comune di questi programmi nazionali è l'assenza di materiali di riferimento e di procedure di misurazione riconosciuti e accettati a livello internazionale per assicurare l'accuratezza e la comparabilità delle misurazioni di HbA<sub>1c</sub> a livello globale.

- Per far fronte a queste carenze, e per raggiungere una standardizzazione internazionale uniforme delle misure di HbA<sub>1c</sub>, la IFCC ha istituito un Gruppo di lavoro sulla normalizzazione HbA<sub>1c</sub> (WG-HbA<sub>1c</sub>) con l'obiettivo di sviluppare un sistema di misurazione di riferimento completo, basato sui concetti di tracciabilità metrologica

- Oltre ai metodi e materiali di riferimento, gli elementi essenziali di un sistema completo di misurazione di riferimento comprendono la definizione del misurando (compresa l'unità) per quanto riguarda l'uso clinico e l'individuazione di laboratori di riferimento che eventualmente collaborano in una rete

IFCC/IUPAC Committee on Nomenclature,  
Properties and Units (C-NPU)



**Proposed the units for reporting HbA<sub>1c</sub>  
should be:**

*Millimole per mole (mmol/mol)*

*mmol HbA<sub>1c</sub> / mol (HbA<sub>0</sub> + HbA<sub>1c</sub>)*

Table

Suggested units and target values for HbA<sub>1c</sub> when measured with methods traceable to the IFCC reference system.<sup>23</sup> A comparison with the current figures is also given. Reprinted with permission from Walter de Gruyter.

	Current <sup>a</sup>	IFCC traceable methods
Reference interval (non-diabetics)	4–6%	20–42 mmol/mol
Target for treatment in diabetics <sup>b</sup>	<7%	<53 mmol/mol
Change of therapy in diabetics <sup>b</sup>	>8%	>64 mmol/mol

<sup>a</sup>refer to methods aligned to the U.S. National Glycohemoglobin Standardization Program.

<sup>b</sup>as recommended by American Diabetes Association.

- L'impatto di entrambe le modifiche proposte dalla IFCC sarebbe quella di modificare in modo significativo i risultati numerici forniti ai medici. Per discutere un approccio comune un primo incontro si è tenuto a Londra nel gennaio 2004 tra l'International Diabetes Federation (IDF), Associazione Europea per lo Studio del Diabete (EASD), l'American Diabetes Association (ADA), la IFCC WG-HbA<sub>1c</sub> e un rappresentante del NGSP . Questo incontro ha suggerito che una via da seguire era di riferire la HbA<sub>1c</sub> in termini di "glicemia media", ed uno studio (Blood Glucose Study media) fu organizzato per indagare questo rapporto.

- Al fine di stabilire il nuovo metodo di riferimento per standardizzare i risultati di HbA<sub>1c</sub>, affinché la determinazione potesse effettivamente indicare la “glicemia media”, un ulteriore incontro si è tenuto a Milano, il 4 maggio 2007, laddove emerse un accordo di consenso .

## **Consensus Statement on the Worldwide Standardization of the Hemoglobin A1C Measurement**

The American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation

1. The HbA<sub>1c</sub> results should be standardized worldwide, including the reference system and results reporting.
2. **The IFCC reference system for HbA<sub>1c</sub> represents the only valid anchor to implement standardization of the measurement.**
3. **The HbA<sub>1c</sub> assay results are to be reported worldwide in IFCC unit (mmol/mol) and derived NGSP unit (%), using the IFCC-NGSP master equation.**
4. If the ongoing "average plasma glucose study" fulfills its *a priori* specified criteria, an HbA<sub>1c</sub>-derived average glucose (ADAG) value will also be reported as an interpretation of the HbA<sub>1c</sub> result.
5. Glycemic goals appearing in clinical guidelines should be expressed in IFCC units, derived NGSP units, and as ADAG.

1. HbA<sub>1c</sub> results standardised worldwide
  - + Reference system and results reporting
2. **IFCC reference system is the only valid anchor for standardisation**
3. **HbA<sub>1c</sub> reported in IFCC (mmol/mol) and derived NGSP (%) units**
4. HbA<sub>1c</sub> conversion tables (IFCC-NGSP) easily accessible
5. Editors to recommend publication in both IFCC and NGSP units
6. Reportable term is HbA<sub>1c</sub>
  - + Other terms (e.g. A1C) may be used in guidelines and educational material
7. Further discussion at IDF meeting in December 2011

**Note:** *Estimated average glucose (eAG) not included in statements. Recognise may add value to consultation process. Local decision on implementation*

Ann Clin Biochem 2010; 47: 290-1

- La sfida ora è quella di attuare tali raccomandazioni a livello globale; questo coinvolgerà clinici, laboratoristi, organizzatori di valutazione della qualità, gruppi di pazienti e produttori che intraprenderanno programmi di formazione su larga scala.
- E' fondamentale che tutte le parti interessate siano consapevoli delle implicazioni e dei benefici di questi cambiamenti.

## E in Italia ?

### Cosa bisogna fare

#### azioni

- definire i limiti di accettabilità del TE
- assicurare/facilitare l'implementazione della riferibilità metrologica
- diffondere correttamente l'informazione (scadenze, modalità)
- abbandonare i metodi che non sono standardizzati al sistema di riferimento IFCC

#### responsabilità

- IFCC-WG HbA1c
- Produttori di diagnostici, IFCC- WG HbA1c network, reference laboratory services (JCTLM)
- Società Scientifiche (altri *stakeholders*)
- Professionisti di laboratorio

## Proposta operativa

- Definire una Commissione di esperti (AIPaC, AMD, SIBioC, SID, SIMeL; includere anche Società di Medici di Base e di Medicina Interna + rappresentanti dei pazienti) per redigere un documento di consenso da pubblicare entro il 2008. Punti oggetto di attenzione:
  - Certificazione di riferibilità metrologica IFCC
  - Scadenze temporali prossime
  - Come convertire unità IFCC a unità NGSP, incertezze associate alla trasformazione
  - Come eventualmente utilizzare i risultati dello studio ADAG (limiti dello studio, intervalli fiduciali di eAG)
  - Quali termini usare in lingua italiana
  - Definire un referto tipico
- Definire materiale informativo di stile omogeneo
- Pianificare interventi omogenei ai principali congressi nazionali, con utilizzo di uguali presentazioni

A. Mosca

30

Nutrition, Metabolism &amp; Cardiovascular Diseases (2011) 21, 467–475

available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/nmcd](http://www.elsevier.com/locate/nmcd)Nutrition,  
Metabolism &  
Cardiovascular Diseases

VIEWPOINT

### The general use of glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes and other categories of glucose intolerance: Still a long way to go

A. Lapolla <sup>a,\*</sup>, A. Mosca <sup>b</sup>, D. Fedele <sup>a</sup><sup>a</sup>Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Cattedra di Malattie del Metabolismo, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy<sup>b</sup>Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

Received 26 July 2010; received in revised form 31 January 2011; accepted 6 February 2011



World Health Organization

## Raccomandation for 2011

**HbA<sub>1c</sub> can be used as a diagnostic test for diabetes** providing that stringent quality assurance tests are in place and assays are standardised to criteria aligned to the international reference values, and there are no conditions present which preclude its accurate measurement.

An HbA<sub>1c</sub> of 48 mmol/mol (6.5%) is recommended as the cut point for diagnosing diabetes. A value of less than 48 mmol/mol (6.5%) does not exclude diabetes diagnosed using glucose tests.

## Linee guida

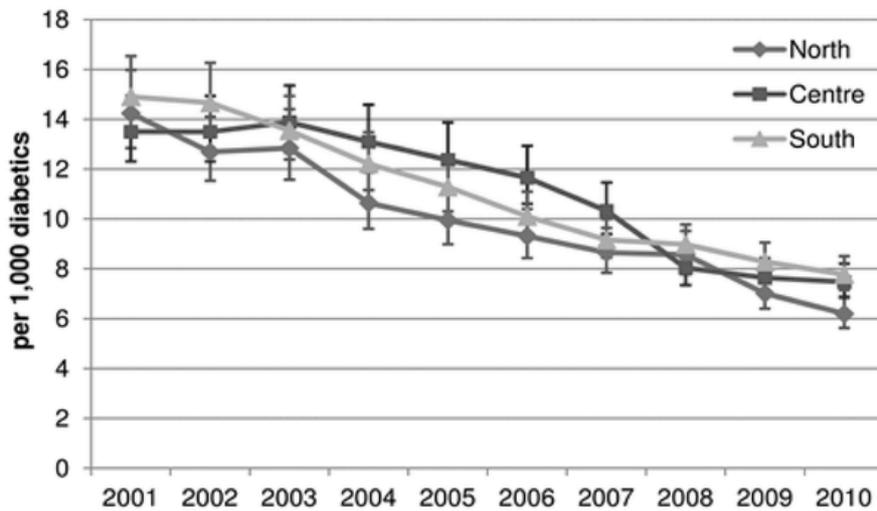
Analytical	Calibration Accuracy Precision Linearity Interferences	IFCC traceable Bias <2 mmol/mol CV<1.5% r = 0.999 No Interference*
Operation	Robustness Throughput Costs	Little downtime Workload dependant Suitable for situation
EQA/PT	Performance	CV <3.5%

*\* No interference of the variants S,C,D,E and carbamylated haemoglobin*

**Una HbA<sub>1c</sub> standardizzata è  
vitale per una buona pratica  
clinica**



Figure 1. Temporal trend in hospitalization rates/1,000 diabetic people for acute diabetic complications, by North, Center and South of Italy, 2001–2010.



Lombardo F, Maggini M, Gruden G, Bruno G (2013) Temporal Trend in Hospitalizations for Acute Diabetic Complications: A Nationwide Study, Italy, 2001–2010. PLoS ONE 8(5): e63675. doi:10.1371/journal.pone.0063675  
<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0063675>