

Standardizzazione dell'HbA_{1c} in Italia e nel mondo: un problema risolto?

Andrea Mosca

Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME)
Dip. di Scienze e Tecnologie Biomediche
Università degli Studi di Milano



UNIVERSITA' CATTOLICA DEL SACRO CUORE
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA "A.GEMELLI" ROMA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA DI LABORATORIO
Prof.ssa Cecilia ZUPPI

con il patrocinio
Società Italiana di Biochimica Clinica
e di Biologia Molecolare Clinica – SIBioC

**EMOGLOBINA GLICATA: STATO
DELL'ARTE**

25 MAGGIO 2010

Sede: Aula 616 (VI piano)
Policlinico Universitario "A. Gemelli"
Largo A. Gemelli, 8 - 00168 ROMA

Ringraziamenti

- **GDS SIBioC-SIMeL Diabete**
- **GDL GLAD**
- **Divisione Scientifica IFCC**
- **IFCC Working Group on HbA_{1c} standardization**

International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes

THE INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE*

relied on distributions of glucose levels, rather than on the relationship of glucose levels with complications, to diagnose di-

Clinical Chemistry 55:9
1612–1614 (2009)

Perspectives

The Diagnosis of Diabetes Is Changing: How Implementation of Hemoglobin A_{1c} Will Impact Clinical Laboratories

David B. Sacks^{1*}

HbA_{1c}: diagnosi del diabete

For the diagnosis of diabetes:

- The A1C assay is an accurate, precise measure of chronic glycemic levels and correlates well with the risk of diabetes complications.
- The A1C assay has several advantages over laboratory measures of glucose.
- Diabetes should be diagnosed when A1C is $\geq 6.5\%$. Diagnosis should be confirmed with a repeat A1C test. Confirmation is not required in symptomatic subjects with plasma glucose levels >200 mg/dl (>11.1 mmol/l).
- If A1C testing is not possible, previously recommended diagnostic methods (e.g., FPG or 2HPG, with confirmation) are acceptable.
- A1C testing is indicated in children in whom diabetes is suspected but the classic symptoms and a casual plasma glucose >200 mg/dl (>11.1 mmol/l) are not found.

HbA_{1c} $\geq 6,5$ %

- in due occasioni ripetute (a distanza di pochi giorni)
- misura fatta in laboratorio
- ripetizione non necessaria se in presenza di sintomi

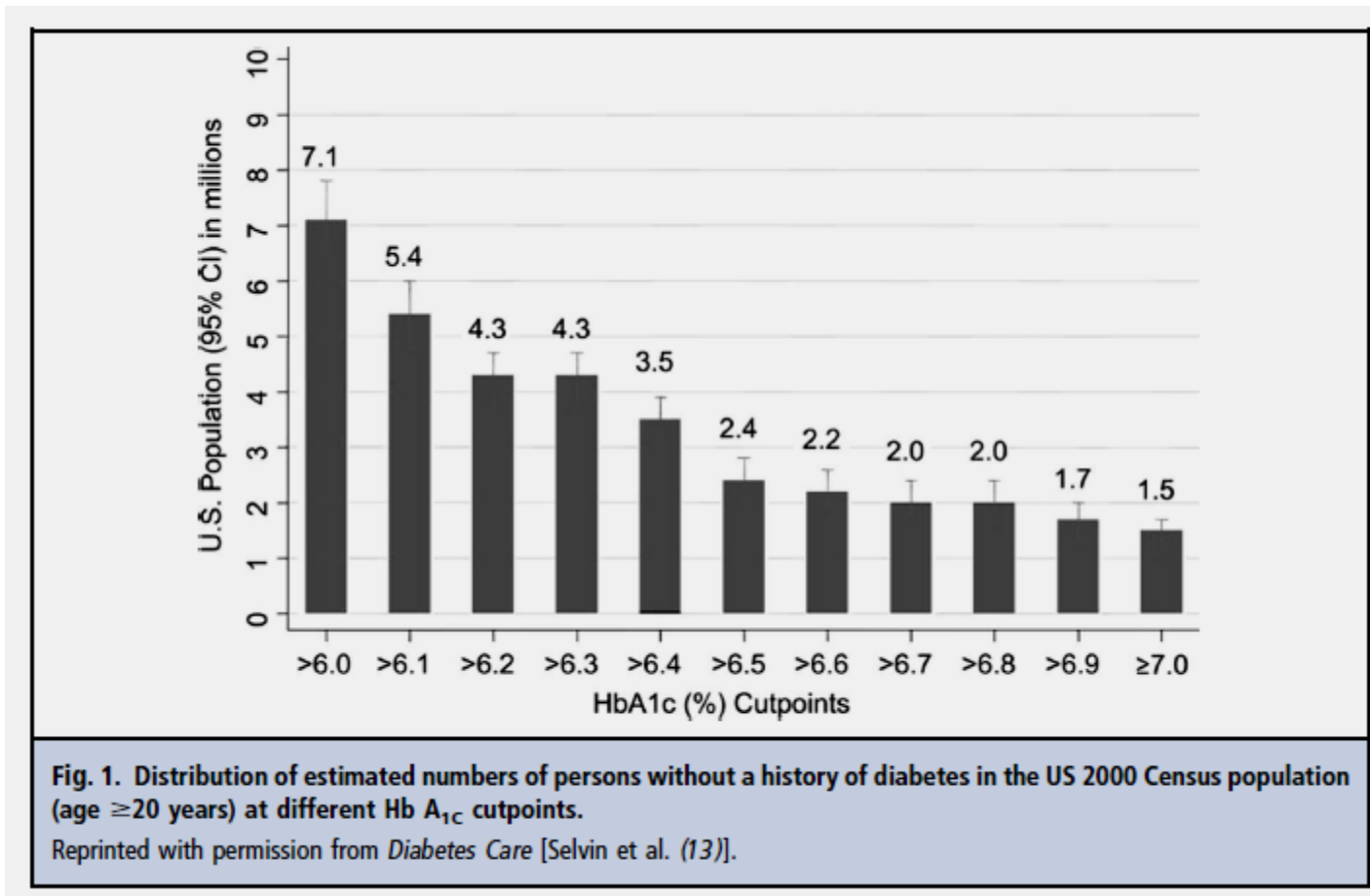
Interferenze nella misura dell'HbA_{1c} nel sangue

<i>Fattore</i>	<i>metodica</i>	<i>interferenza</i>	<i>soluzioni</i>
Aumento dei globuli bianchi	immunochimiche	↑	Lisante per GB
Carenza di ferro	tutte	↑	Ripetere esame dopo terapia
Emoglobinopatie	tutte	variabile (pre-analitica analitica)	Usare metodiche alternative (non-RBC) Usare intervalli di riferimento appropriati
Età del soggetto	tutte	↑	nd
Frazione labile	(variabile)	↑	Eliminazione o separazione
HIV, abacavir	tutte	↓	Usare metodiche alternative (non-RBC)
Insufficienza renale	tutte	variabile	Separazione emoglobina carbamilata (correzione per vita RBC)
Invecchiamento del campione	HPLC	variabile	Separazione glutationil-emoglobina
Ipertrigliceridemia	immunochimiche	↑	nd
Processi emolitici	tutte	↓	Usare metodiche alternative (non-RBC)
Razza del soggetto	tutte	variabile	Le differenze sono generalmente piccole ($\leq 0,4\%$) per richiedere un cambiamento dei target per soggetti di differenti etnie.
Variabilità stagionale	tutte	variabile	Discreto effetto (fino a circa il 7%) di tipo ciclico, con periodo semestrale. Pochi dati in letteratura.

Few Point-of-Care Hemoglobin A_{1c} Assay Methods Meet Clinical Needs

David E. Bruns¹ and James C. Boyd^{1*}

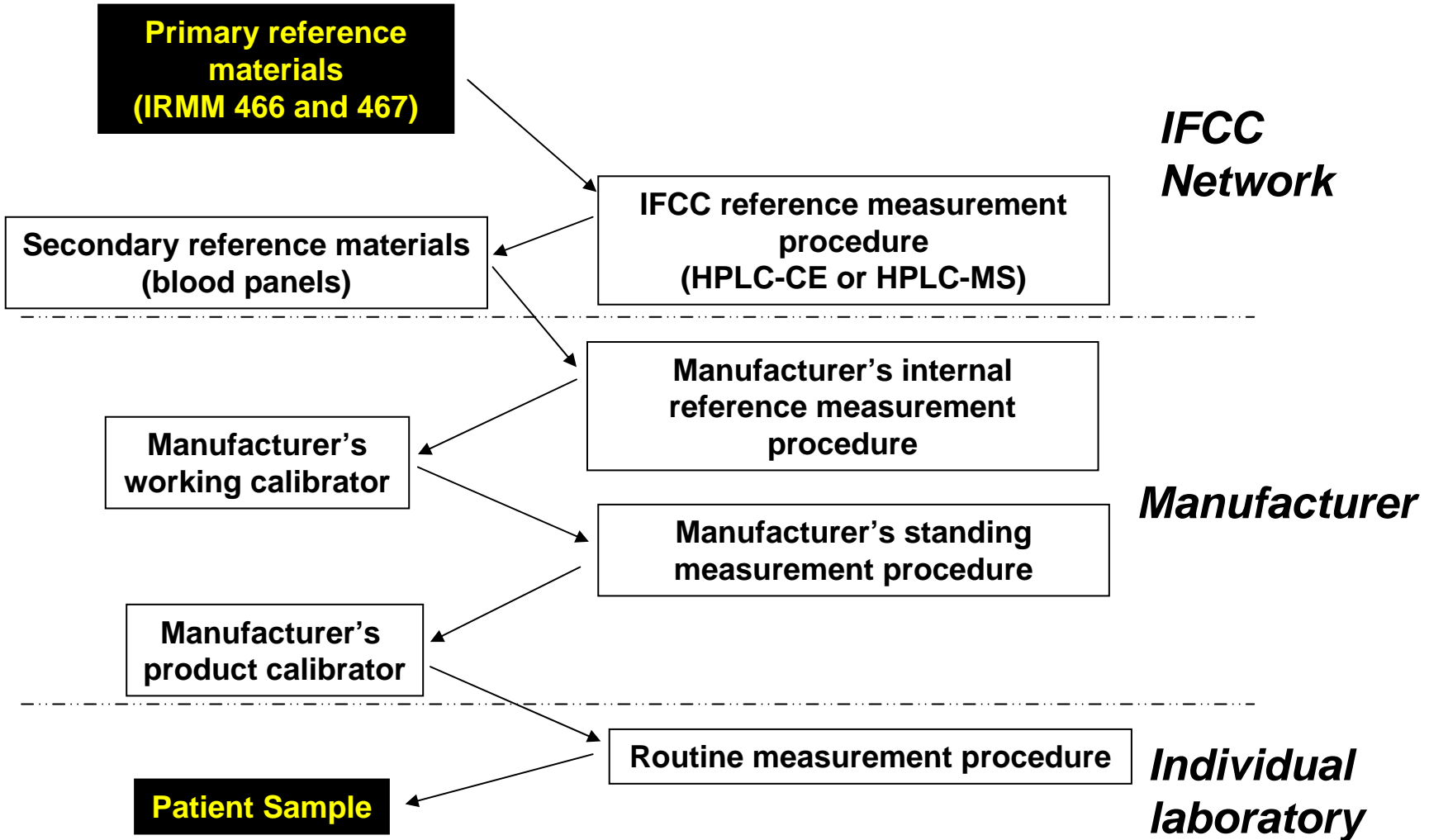
Quale limite per il bias?



0,1 % di inesattezza farebbe sbagliare la diagnosi a 200.000 negli USA

IFCC Reference System for HbA_{1c}

- * Definition of the analyte
- * Preparation of pure HbA₀ and HbA_{1c}
- * Development of reference method
- * Installation of a Reference Lab Network
- Preparation of secondary ref. Material



IFCC reference method HbA_{1c}

The Analytical Challenge

Proteolytic cleavage of β -chain (146 amino acids)

HbA₀-peptide



HbA_{1c}-peptide



**CERTIFIED REFERENCE MATERIAL
IRMM/IFCC– 466**

CERTIFICATE OF ANALYSIS

HAEMOGLOBIN ISOLATED FROM WHOLE BLOOD		
	Amount-of-substance fraction	
	Certified value ¹⁾ [mmol/mol]	Uncertainty ²⁾ [mmol/mol]
HbA1c/(HbA0 + HbA1c) ³⁾	934	22
<p>1) The certified value was calculated from the average of the results for the amount-of-substance fraction of HbA0 versus HbA0 plus HbA1c for three accepted datasets and converted into amount-of-substance fraction HbA1c (1000 mmol/mol – HbA0 mmol/mol). Measurements were carried out using the IFCC reference measurement procedure and were further confirmed by other methods. The certified value, expressed as mmol HbA1c per mol HbA1c plus HbA0, is traceable to the SI.</p> <p>2) The certified uncertainty is the expanded uncertainty estimated in accordance with the Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM) with a coverage factor $k = 2$, corresponding to a level of confidence of about 95 %.</p> <p>3) HbA1c is defined as the beta-N-(1-deoxyfructos-1-yl) haemoglobin. HbA0 haemoglobin.</p>		

**CERTIFIED REFERENCE MATERIAL
IRMM/IFCC– 467**

CERTIFICATE OF ANALYSIS

HAEMOGLOBIN ISOLATED FROM WHOLE BLOOD	
	Amount-of-substance fraction
	Certified value ¹⁾ [mmol/mol]
HbA0/(HbA1c + HbA0) ²⁾	> 976
<p>1) The certified value was calculated from the average of the results for the amount-of-substance fraction of HbA1c for two accepted datasets and converted into amount-of-substance fraction HbA0 (1000 – HbA1c mmol/mol). Measurements were carried out using the IFCC reference measurement procedure and were further confirmed by other methods. The certified value, expressed as mmol HbA0 per mol HbA1c plus HbA0, is traceable to the SI. With a 95 % probability, the true value of the material is above this level.</p> <p>2) HbA1c is defined as the beta-N-(1-deoxyfructos-1-yl) haemoglobin. HbA0 is defined as the non-glycated haemoglobin.</p>	

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

Andrea Mosca¹ (coordinatore), Maria Teresa Branca², Mariarosa Carta³, Maria Ludovica Genna⁴, Carlo B. Giorda⁵, Rosangela Ghidelli⁶, Germana Ghislandi⁷, Dario Iafusco⁸, Annunziata Lapolla⁹, Vera Buondonno Lombardi¹⁰, Carlo Augusto Lovagnini Scher¹¹, Maurizio Marra¹², Gerardo Medea¹³, Franco Meschi¹⁴, Andrea Pizzini¹⁵, Francesco Rossi¹⁶, Raffaele Scalpone¹⁷, Gianni Tofini¹⁸, Mariella Trovati¹⁹, Martina Zaninotto²⁰

¹Delegato SIBioC, Università degli Studi di Milano

²Delegato Operatori Sanitari di Diabetologia Italiani (OSDI), ASL Lecce

³Delegato Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL), ULSS6 Vicenza

⁴Delegato Associazione Italiana Patologia Clinica e Medicina Molecolare (AIPaCMeM), Azienda Ospedaliera RN Cardarelli, Napoli

⁵Delegato Associazione Medici Diabetologi (AMD), ASL Torino 5, Torino

⁶Delegato OSDI, Azienda Ospedaliera S. Anna, Como

⁷Delegato Associazione Italiana Diabetici (FAND), Milano

⁸Delegato Società Italiana di Endocrinologia e di Diabetologia Pediatrica (SIEDP/ISPED), II Università di Napoli, Napoli

⁹Delegato Società Italiana di Diabetologia (SID), Università degli Studi di Padova

¹⁰Presidente FAND, Milano

¹¹Delegato AMD, ASL 3, Monza (MI)

¹²Delegato SIMeL, INRCA IRCCS, Ancona

¹³Delegato Società Italiana di Medicina Generale (SIMG), Azienda Ospedaliera di Brescia

¹⁴Delegato SIEDP/ISPED, IRCCS S. Raffaele, Milano

¹⁵Delegato Federazione Italiana Medici di Famiglia (FIMMG), ASL Torino 2, Torino

¹⁶Delegato AIPaCMeM, Azienda Ospedaliera RN Cardarelli, Napoli

¹⁷Presidente Associazione Italiana per la Difesa dei Diabetici (AID), Ospedale INI, Grottaferrata (Roma)

¹⁸Delegato AID, Ospedale INI, Grottaferrata (Roma)

¹⁹Delegato SID, Università degli Studi di Torino

²⁰Delegato SIBioC, Azienda Ospedaliera di Padova

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

OBIETTIVI DEL GRUPPO DI LAVORO

I principali obiettivi del gruppo di lavoro GLAD sono stati i seguenti:

- a) definire l'errore totale accettabile per la misura della HbA_{1c};
- b) esprimere una posizione in merito alla possibilità di refertare, insieme al valore della HbA_{1c}, anche quello di eAG calcolato tramite l'equazione dello studio ADAG;
- c) decidere quali unità di misura adottare per la refertazione dell'HbA_{1c};
- d) decidere le fasi e la tempistica del processo di implementazione della standardizzazione a livello nazionale;
- e) definire le strategie per avviare la campagna di informazione.

Errore totale ammissibile

evitare errori di classificazione

HbA_{1c}

**valori decisionali: 7 %
8 %**

un pz. con 7,5 % deve differenziarsi da uno con 7 % e da uno con 8 %

ETa = 0,5/7,5 = 6,7 %

traguardi di imprecisione (ETa = 6,7 %)

Et_a < 1,65 x imprecisione + bias

CVa %	Bias %	Bias %	CVa %
1,0	5,1	1,0	3,5
2,0	3,4	2,0	2,8
3,0	1,8	3,0	2,2
4,0	0,1	4,0	1,6

I metodi sono standardizzati?

- IFCC Monitoring Program
 - 24 misure all'anno
 - 12 batch di pool di sangue congelato, ognuno analizzato in duplicato in cieco nell'arco dell'anno, con titolo assegnato dal metodo di riferimento IFCC
- elaborazioni da parte del coordinatore della Network
 - riproducibilità
 - scostamento (bias) dal valore target
 - linearità

Certificate

Traceability of Manufacturers to the IFCC Reference Measurement Procedure for HbA1c

This certifies that [redacted] using [redacted], uses calibrators supplied by the IFCC Network to get traceable to the IFCC Reference Measurement Procedure and participates in the Monitoring Programme to demonstrate traceability. In the Monitoring Programme of 2009 the following performance was seen:

Deviation from IFCC-target	at 30 mmol HbA1c/mol Hb :	1.7
	at 60 mmol HbA1c/mol Hb :	0.0
	at 90 mmol HbA1c/mol Hb :	-1.8
Reproducibility, coefficient of variation		2.40
Linearity, correlation coefficient		0.9970

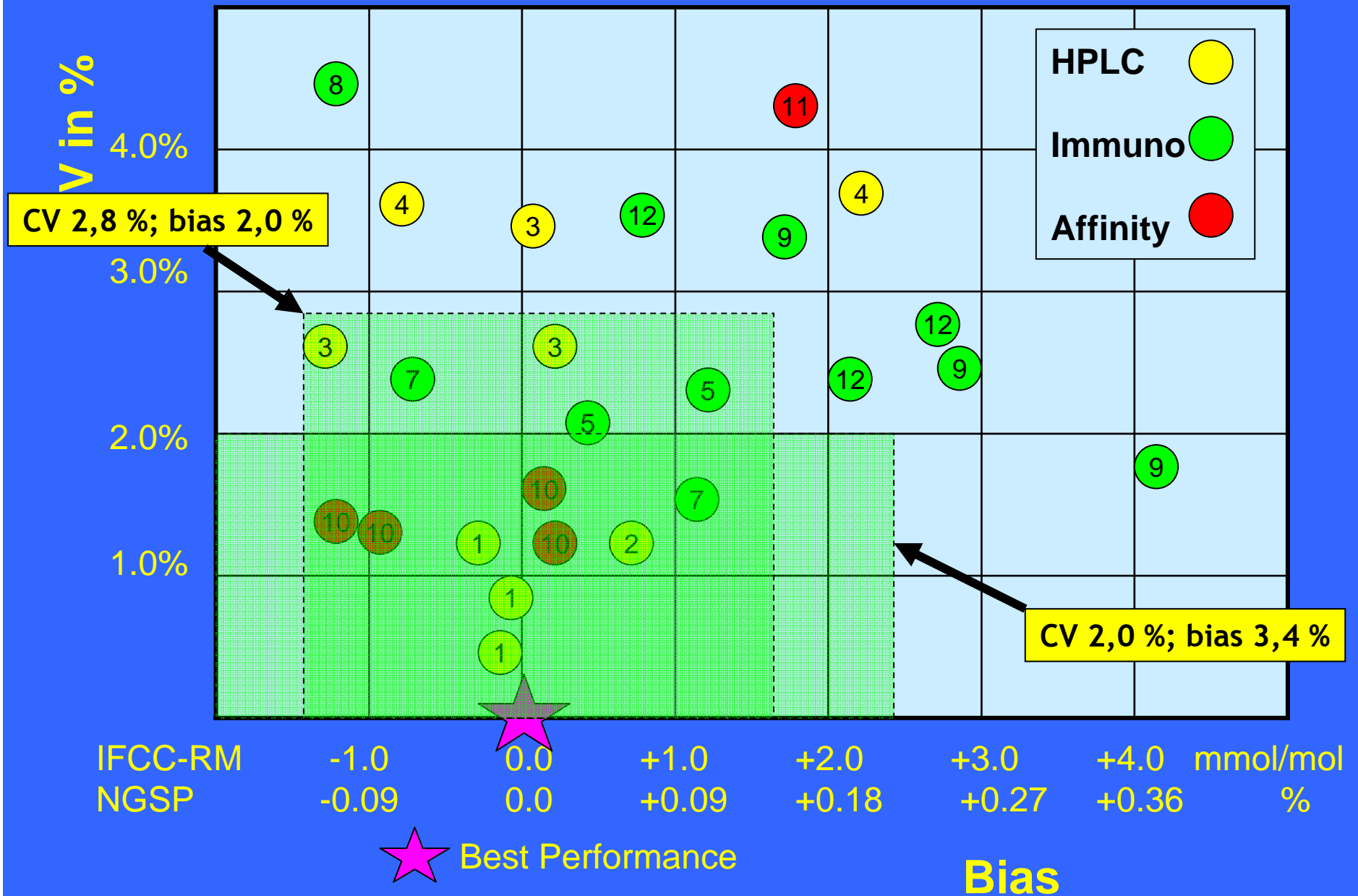
Date of issue: 18 December 2009

Certification expires: 31 December 2010

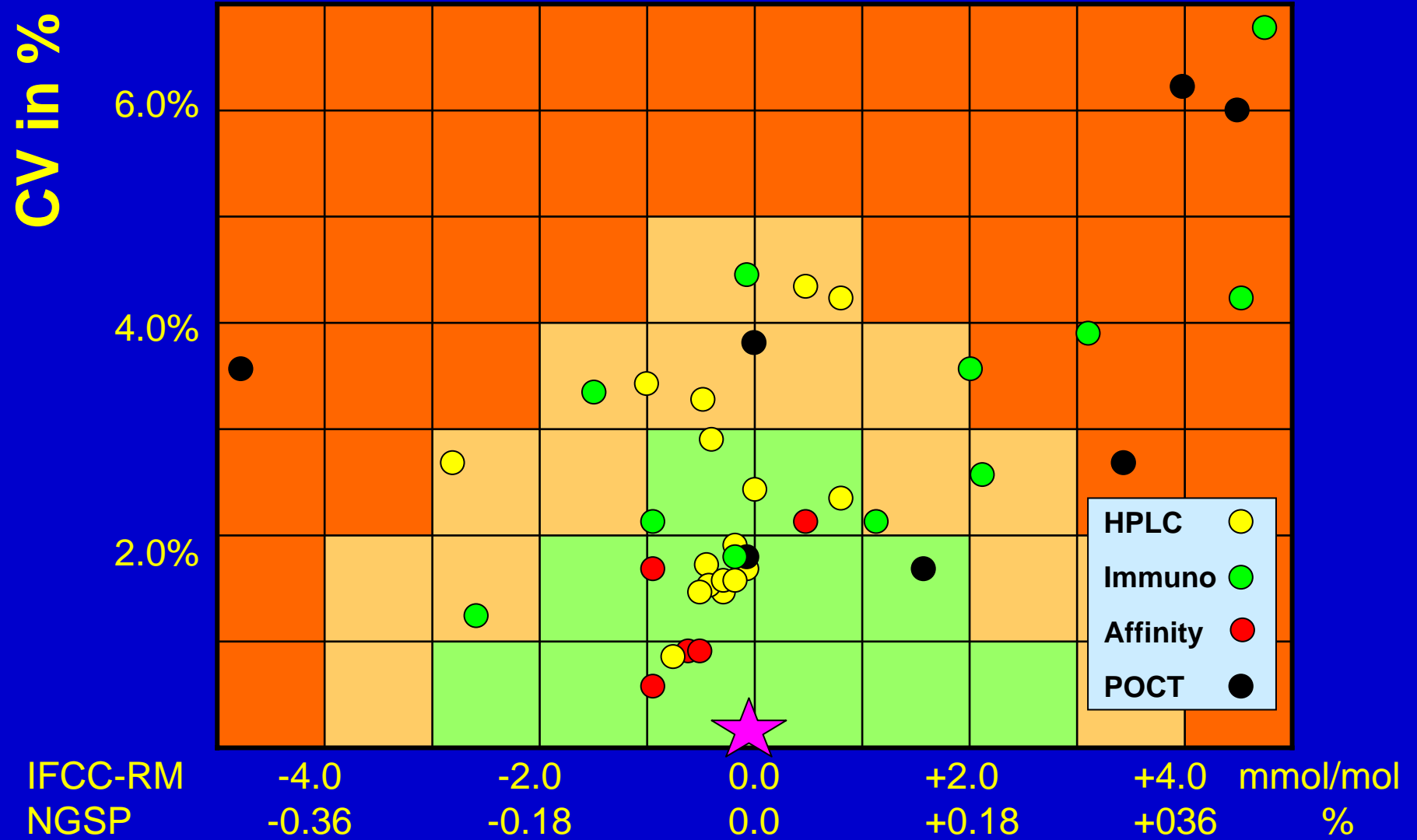


IFCC Network Coordinator

Monitoring Programme Manufacturers 2007



Monitoring Programme Manufacturers 2009



I laboratori sono standardizzati?

1. Se usano un “buon metodo”
2. Se lo implementano e lo usano correttamente
3. Se sono in grado di provare il loro allineamento al sistema di riferimento

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

Raccomandazione 1

1. Il traguardo dell'errore totale è $\pm 6,7\%$ (espresso in termini di frazione percentuale sul valore assoluto di HbA_{1c}).
2. L'imprecisione del metodo (CV), valutata sul lungo periodo, deve essere contenuta entro il 2%.
3. La partecipazione a programmi di VEQ, nei quali vengono utilizzati materiali commutabili e con valori di HbA_{1c} assegnati mediante il metodo di riferimento IFCC, rappresenta il modo corretto per poter valutare quanto le misure effettuate rispondano ai requisiti di errore totale sopra definiti.

Sistemi di VEQ per l'HbA_{1c}

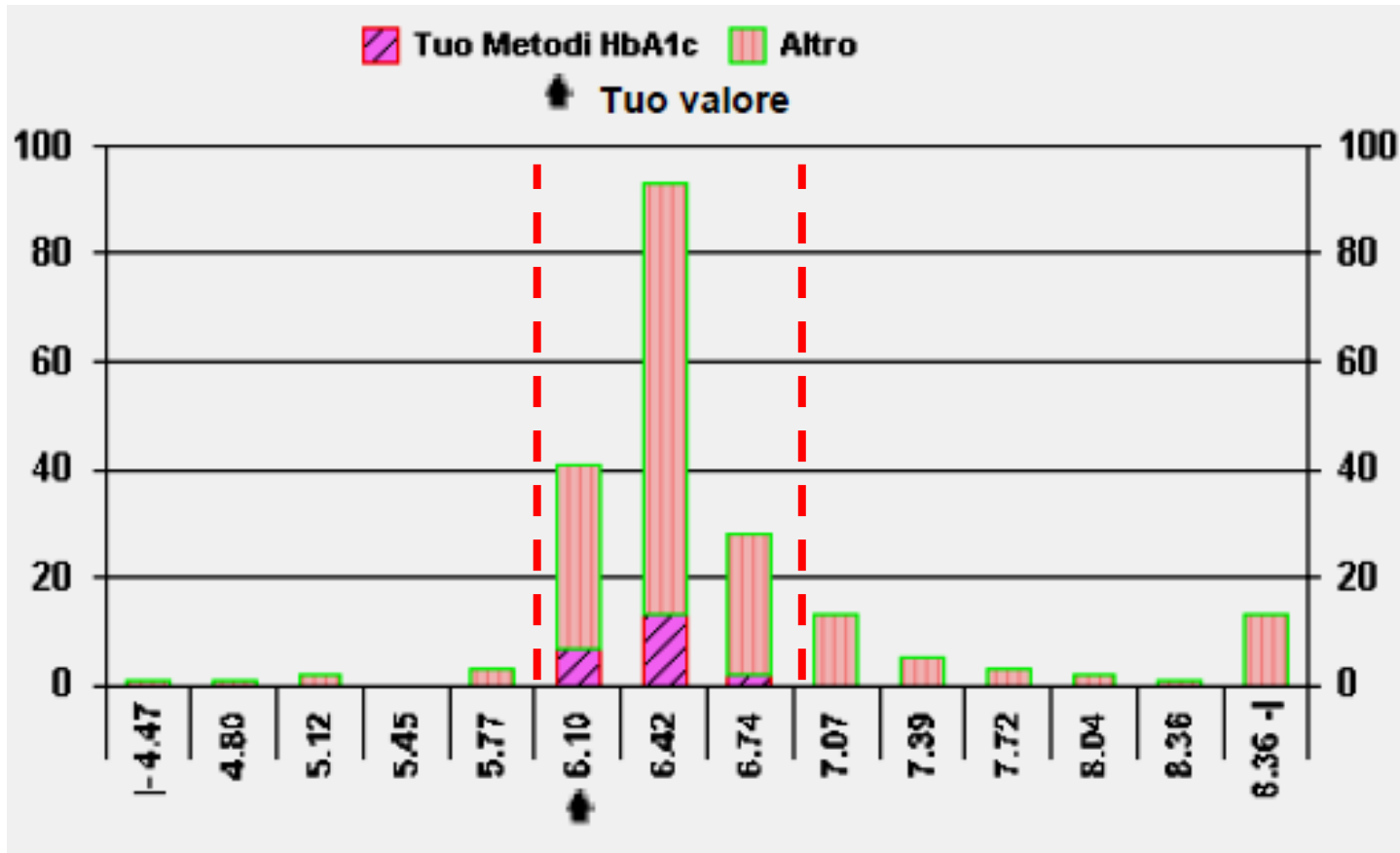
1. VEQ intersocietaria (www.glicata.org)
2. VEQ H. Careggi
3. VEQ CRB Castelfranco Veneto
4. VEQ H. S. Orsola (BO)
5. UK NEQAS
6. ...

VEQ Careggi 2009

(dati campione n. 4)

tipologia	specifiche	N	f, %	
HPLC	Alfabiotech HS8	1	0.5	70.0
	Bio-Rad D10 A1c	6	2.9	
	Bio-Rad Micromat II	1	0.5	
	Bio-Rad Variant Dual kit	3	1.4	
	Bio-Rad Variant II Dual kit	22	10.6	
	Bio-Rad Variant II HbA1c program	4	1.9	
	Menarini HA 8140	7	3.4	
	Menarini HA 8160	18	8.7	
	Tosoh A1c 2.2	9	4.3	
	Tosoh G7	69	33.3	
minicolonnine	Far scam..ionico	5	2.4	
immunochimiche	Bayer DCA 2000	2	1.0	23.2
	Beckman Synchron LX20/CX	5	2.4	
	Dade Dimension	10	4.8	
	Minias Imm.turb. su Hitachi	2	1.0	
	Nycocard Reader II	11	5.3	
	Olympus	2	1.0	
	Olympus(cod.OSR) su strumento	6	2.9	
	PACE MDQ BECKMAN	1	0.5	
	Roche su Integra	5	2.4	
	Roche tina-quant su strum Cobas	1	0.5	
	Roche tina-quant su strum. Hitachi	2	1.0	
	Roche tina-quant su strum. Modular	1	0.5	
affinità (?)	Abbott Architect	1	0.5	3.4
	Abbott Axsym	6	2.9	
vari	Konelab	2	1.0	3.4
	Quantex su ILAB 600	1	0.5	
	Altri Metodi	4	1.9	
totale		207	100	

campione 4, HbA_{1c} = 6,4 %



limiti ET (Careggi: < 5,0 %): 6,08 - 6,72

limiti ET (GLAD: < 6,7 %): 5,97 - 6,83



Birmingham Quality

UKNEQAS for Glycated Haemoglobins

Distribution : 333

Date : 31-Jan-2010

Analyte : HbA1c [DCCT] (%)

Laboratory :

Page 6 of 8

Spec. Pool Pool description / Treatments / Additions

333A 475 Diabetic donor volunteer
 333B 476 Diabetic donor volunteer
 333C 475 Diabetic donor volunteer

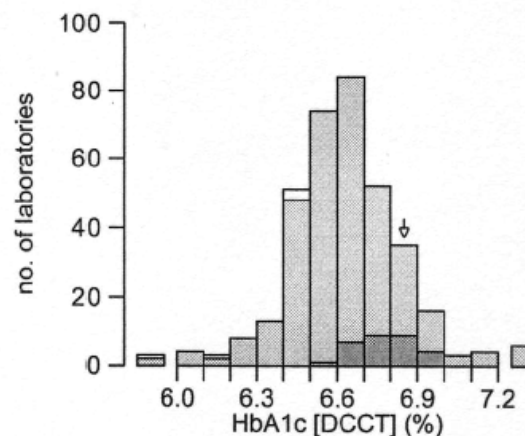
- All methods
- Analytical
- Tosoh G8 [4TO8]

Your A score is 65 ● ↔
 Your B score is +2.3 ● ↔
 Your C score is 1.3 ● ↔

The A limit is 200
 The B limit is +/- 5.0
 The C limit is 5.0

Specimen : 333A

	n	Mean	SD	CV(%)
Analytical	351	6.68	0.18	2.7
Axis Shield Afinion	7	6.40	0.30	4.6
Bayer DCA 2000	62	6.69	0.26	3.9
BioRad D-10	7	6.74	0.19	2.8
BioRad Variant (II)	32	6.70	0.16	2.4
Menarini HA 8140	7	6.86	0.32	4.7
Menarini HA 8160	107	6.60	0.10	1.5
Primus	8	6.62	0.11	1.7
Roche Integra	7	7.03	0.19	2.7
Siemens DCA Vantage [4TE8]	25	6.68	0.16	2.4
Tosoh G7	47	6.74	0.15	2.2
Tosoh G8 [4TO8]	30	6.83	0.12	1.7



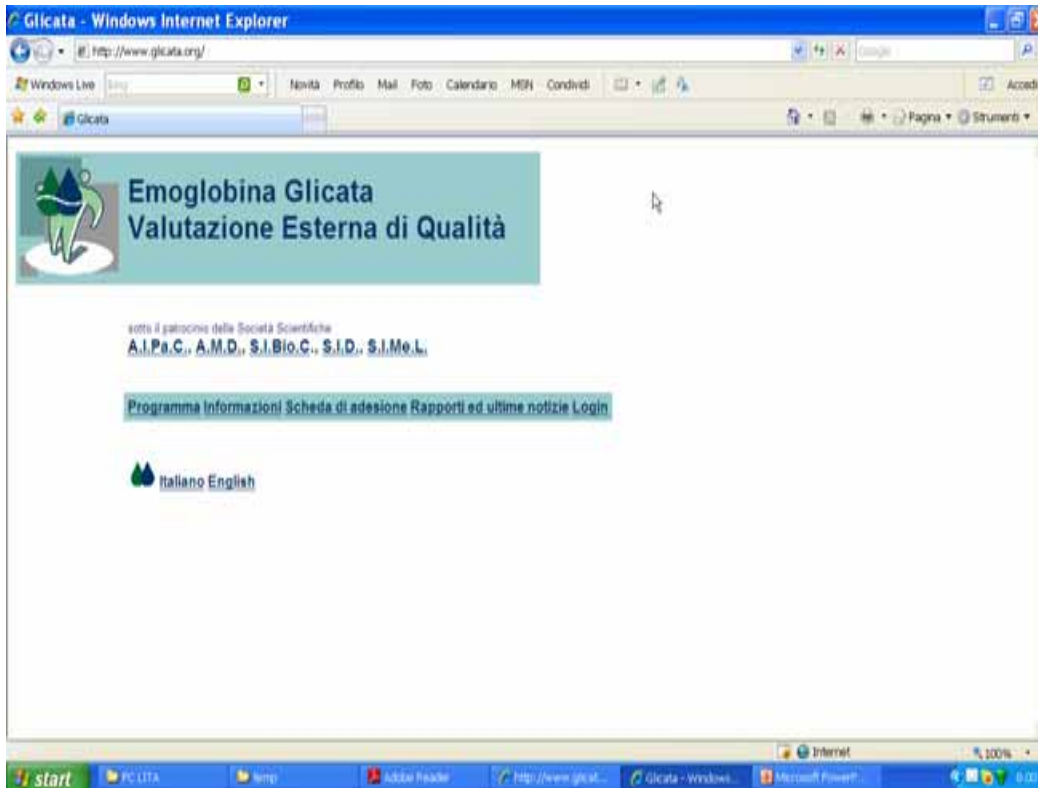
Your result 6.9

Target value (GLTM) 6.68

Your specimen:
 %bias +3.2 ▲
 transformed bias +93
 Accuracy Index 93

2ndary IFCC value 49.1
 DCCT comp. value 6.64

ALTM 6.68
 (for information only)



www.glicata.org

(dal 1999)

I traguardi per l'errore totale sulle singole misure sono:

ottimale:	< 2,6 %
desiderabile:	< 5,2 %
minimo:	< 7,8 %

ET ≤ 6,7 %

- **revisione criteri**
- **commutabilità**
- **valore assegnato dal metodo di riferimento**

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

Raccomandazione 2

La refertazione della eAG sulla base dell'HbA_{1c}, attraverso l'equazione proposta a conclusione dello studio ADAG, è soggetta a troppe limitazioni perchè se ne possa consigliare l'utilizzo sistematico.

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

Raccomandazione 3

1. L'HbA_{1c} deve essere misurata con metodi calibrati al sistema di riferimento IFCC.
2. Il risultato deve essere riportato in mmol/mol ed in unità % derivate, usando l'equazione di conversione sopra riportata.
3. Nel referto di laboratorio, per comodità degli utilizzatori, il valore di HbA_{1c} sarà espresso, per un periodo limitato di tempo, mediante le unità convenzionali (%) seguite dalle unità IFCC (mmol/mol). Successivamente, le unità convenzionali saranno abbandonate.

Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia

Documento prodotto dal Gruppo di Lavoro GLAD (Gruppo di Lavoro A1c Delegati)

Raccomandazione 4

A partire dal 01.01.2010 i risultati dell'HbA_{1c} saranno espressi sia in unità allineate al sistema DCCT (%), che in unità standardizzate IFCC (mmol/mol). A partire dal 01.01.2012 i risultati dell'HbA_{1c} saranno refertati solamente in unità IFCC (mmol/mol).



SOCIETA'

- Chi Siamo
- Statuto
- Regolamento
- I Presidenti
- Consiglio Direttivo
Composizione
- Riassunti Verbali Riunioni
- Le Divisioni e Commissioni
- Gruppi di Studio
- Sezioni Regionali
- Consulta delle Sez. Regionali

Risultati Elezioni del Consiglio Direttivo 2010-2011

Verbale Assemblea Generale Soci SIBioC

COMUNICAZIONI e INFORMAZIONI

- Comunicazioni dal Presidente
- Comunicazioni dal Segretario
- Lettere al Direttivo

Candidatura SIBioC "Milano" EUROMEDLAB 2013

dovranno pervenire almeno cinque mesi prima della data delle elezioni previste in occasione del 42° Congresso Nazionale SIBioC (Roma, 5-8 ottobre 2010).

Vi preghiamo pertanto di inviare le candidature (allegando curriculum vitae) **entro e non oltre il 5 maggio p.v.**

a segreteria@sibioc.it, oggetto **CANDIDATURE CONSIGLIO DIRETTIVO SIBIOC 2011-2012**

Certi di una Vostra attiva partecipazione,
grazie,
Segreteria SIBioC

25-03-2010

Emostasi: un equilibrio instabile
Parma, 22 Aprile 2010
Programma

Medicina di laboratorio e sport
Parma, 23 Aprile 2010
Programma

24-03-2010

Comunicazione GdS Diabete - Refertazione dell'HbA1c standardizzata

Documento

AREA SOCI

- Come iscriversi
- Rinnova la quota associativa
- Scheda Personale
- Elenco Soci

NOME UTENTE:

PASSWORD:

ACCEDI

Non ricordi o non possiedi la password, clicca qui

SERVIZI

- Linee Guida
- Documenti Ufficiali
- Documenti NCCLS
- Registro Europeo
- Casi Clinici
- Concorsi
- Siti di comune interesse
- Download Materiale

ECM

esame	materiale	risultato	unità	note
Emoglobina glicata <i>metodica HPLC</i>	sangue	7,0	%	Intervallo di riferimento: 4,0 - 5,6 Livello decisionale per la diagnosi di diabete: 6,5
		53	mmol/mol	Intervallo di riferimento: 20 - 38 Livello decisionale per la diagnosi di diabete: 48

**Gruppo di lavoro per la implementazione della standardizzazione internazionale
dell'emoglobina glicata (HbA_{1c})**

Riunione del 26 maggio 2010

Hotel Michelangelo, sala Della Rovere, via Scarlatti 33, Milano

Agenda

- ore 11:00 Informazioni generali ed inizio dei lavori (partecipanti, afferenze, obiettivo)
- ore 11:15 Il processo di standardizzazione internazionale di standardizzazione dell'emoglobina glicata: quali step per l'implementazione delle raccomandazioni in Italia
- ore 11:45 Stato dell'arte delle misure dell'HbA_{1c}, dal produttore di diagnostici all'utilizzatore finale. Ruolo dei programmi di Valutazione Esterna di Qualità. Uso corretto del Controllo Interno di Qualità.
- ore 12:15 Discussione
(tutti)
- ore 13:00 *intervallo*
- ore 14:00 Proposta operativa per la redazione di un documento di consenso (raccomandazione)
- ore 15:00 Chiusura dei lavori

Conclusioni

- **Il controllo delle fasi pre-analitica ed analitica richiede aggiornamento permanente**
- **La standardizzazione IFCC sviluppa sistemi di riferimento adeguati e robusti anche per analiti di classe B (eterogenei)**
- **La standardizzazione è un processo collaborativo lungo che coinvolge diversi livelli di responsabilità e di azioni concertate di tipo trasversale**
- **Occorre monitorare l'implementazione delle raccomandazioni**