

## 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 Mosca<sup>1</sup> (coordinatore), Maria Teresa Branca<sup>2</sup>, Mariarosa Carta<sup>3</sup>, Maria Ludovica Genna<sup>4</sup>, Carlo B. Giorda<sup>5</sup>, Rosangela Ghidelli<sup>6</sup>, Germana Ghislandi<sup>7</sup>, Dario Iafusco<sup>8</sup>, Annunziata Lapolla<sup>9</sup>, Vera Buondonno Lombardi<sup>10</sup>, Carlo Augusto Lovagnini Scher<sup>11</sup>, Maurizio Marra<sup>12</sup>, Gerardo Medea<sup>13</sup>, Franco Meschi<sup>14</sup>, Andrea Pizzini<sup>15</sup>, Francesco Rossi<sup>16</sup>, Raffaele Scalpone<sup>17</sup>, Gianni Tofini<sup>18</sup>, Mariella Trovati<sup>19</sup>, Martina Zaninotto<sup>20</sup>

<sup>1</sup>Delegato SIBioC, Università degli Studi di Milano

<sup>2</sup>Delegato Operatori Sanitari di Diabetologia Italiani (OSDI), ASL Lecce

<sup>3</sup>Delegato Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL), ULSS6 Vicenza

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

<sup>5</sup>Delegato Associazione Medici Diabetologi (AMD), ASL Torino 5, Torino

<sup>6</sup>Delegato OSDI, Azienda Ospedaliera S. Anna, Como

<sup>7</sup>Delegato Associazione Italiana Diabetici (FAND), Milano

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

<sup>9</sup>Delegato Società Italiana di Diabetologia (SID), Università degli Studi di Padova

<sup>10</sup>Presidente FAND, Milano

<sup>11</sup>Delegato AMD, ASL 3, Monza (MI)

<sup>12</sup>Delegato SIMeL, INRCA IRCCS, Ancona

<sup>13</sup>Delegato Società Italiana di Medicina Generale (SIMG), Azienda Ospedaliera di Brescia

<sup>14</sup>Delegato SIEDP/ISPED, IRCCS S. Raffaele, Milano

<sup>15</sup>Delegato Federazione Italiana Medici di Famiglia (FIMMG), ASL Torino 2, Torino

<sup>16</sup>Delegato AIPaCMeM, Azienda Ospedaliera RN Cardarelli, Napoli

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

<sup>18</sup>Delegato AID, Ospedale INI, Grottaferrata (Roma)

<sup>19</sup>Delegato SID, Università degli Studi di Torino

<sup>20</sup>Delegato SIBioC, Azienda Ospedaliera di Padova

### ABSTRACT

**Recommendations for the implementation of the international standardization of glycated hemoglobin measurement in Italy.** This document is issued by SIBioC and a number of other National Scientific Societies and Associations in order to promote a coordinated plan for implementing the standardization of glycated hemoglobin measurement in Italy, according to the recommendations by the IFCC. Change of reporting HbA<sub>1c</sub> results, new units, how to relate old and new units, timeline for changes and definition of the analytical goals are the main issues discussed.

### PREMESSA

La misura dell'emoglobina glicata (HbA<sub>1c</sub>) è molto utilizzata in pazienti con diabete mellito soprattutto al fine di monitorare il controllo glicico-metabolico a medio-lungo termine (1,2). Tale prassi è il risultato di diversi studi clinici randomizzati, i più importanti dei quali sono il "Diabetes Control and Complication Trial" (DCCT) e l'"UK Prospective Diabetes Study" (UKPDS) (3,4), i quali hanno provato che vi è una stretta correlazione tra il grado di controllo glicemico, valutato in base ad una serie di misure di HbA<sub>1c</sub>, ed il rischio dello sviluppo e della progressione delle complicanze croniche del diabete.

Affinché il dato dell'HbA<sub>1c</sub> sia universalmente utilizzabile, occorre che le misure siano standardizzate ed in quest'ottica dal 1995 la IFCC ha promosso le attività di un

gruppo di studio che affrontasse il problema (IFCC WGHbA<sub>1c</sub>). In seguito alle attività del WGHbA<sub>1c</sub> è ora disponibile un metodo di riferimento (5), sono stati prodotti e resi disponibili due materiali primari di riferimento (6), è stata implementata una rete internazionale di laboratori di riferimento (7) e sono state definite le equazioni generali ("master equations") per convertire i risultati ottenuti con il sistema di riferimento IFCC nei risultati allineati al sistema del "National Glycohemoglobin Standardization Program" (NGSP) (8). Tutti i produttori di sistemi/reagenti sono stati coinvolti nell'allineamento al sistema di riferimento IFCC e presto saranno disponibili materiali secondari di riferimento, prodotti in collaborazione con l'"Institute for Reference Materials and Measurements" (IRMM).

Per cercare di adottare una strategia comune nell'implementazione del nuovo sistema di riferimento, nel maggio del 2007 un gruppo di esperti rappresentativi delle principali Società Scientifiche direttamente coinvolte nella tematica [American Diabetes Association (ADA), European Association for the Study of Diabetes (EASD), International Diabetes Federation (IDF) ed IFCC] ha preso posizioni precise sulla standardizzazione, sulle unità di misura da adottare e sull'eventualità di riportare, accanto al dato dell'HbA<sub>1c</sub>, un valore di glicemia media stimata, sulla base dei risultati di uno studio clinico allora in corso [A<sub>1c</sub>-Derived Average Glucose (ADAG)]. Le conclusioni della riunione hanno portato alla pubblicazione di un documento di consenso (9), i cui principali punti sono i seguenti:

- 1) Tutti i risultati delle misure dell'HbA<sub>1c</sub> dovranno essere standardizzati su scala mondiale, includendo il sistema di riferimento e le modalità di refertazione.
- 2) Il nuovo sistema di riferimento IFCC rappresenta l'unico strumento per implementare la standardizzazione della misurazione dell'HbA<sub>1c</sub>.
- 3) I risultati dell'HbA<sub>1c</sub> dovranno essere riportati in tutto il mondo utilizzando le unità di misura IFCC (mmol/mol) e le unità derivate NGSP (%), utilizzando la equazione generale IFCC-NGSP per effettuare la conversione.
- 4) Accanto al risultato dell'HbA<sub>1c</sub> potrà essere riportato un dato di glicemia media, calcolato a partire dal dato dell'HbA<sub>1c</sub>, quando saranno validati i criteri di accettabilità dello studio clinico ADAG.
- 5) Tutti i valori di HbA<sub>1c</sub> riportati in qualità di traguardi di controllo glicemico che compariranno nelle linee guida cliniche dovranno essere espressi in unità IFCC (mmol/mol), in unità NGSP (%) ed in termini di glicemia media stimata ["estimated Average Glucose" (eAG)].

Successivamente alla pubblicazione di questo documento, si è tenuto un secondo incontro tra esponenti della IFCC ed i rappresentanti delle aziende del diagnostico. In tale incontro sono state concordate ulteriori implementazioni temporali, successivamente pubblicate (10), e che possono essere così riassunte:

- a) Tutti i produttori di diagnostici si allineeranno al sistema di riferimento IFCC entro il 31 dicembre 2009.
- b) Il nome dell'esame sarà "HbA<sub>1c</sub>" (non "A<sub>1c</sub>", come in uso soprattutto negli Stati Uniti).
- c) Tutti gli strumenti che saranno introdotti sul mercato dopo 01.01.2011 esprimeranno il risultato della misura in unità IFCC (mmol/mol) ed in unità derivate, allineate al sistema NGSP, cioè in %.
- d) I sistemi analitici non riporteranno, unitamente al risultato della misura dell'HbA<sub>1c</sub>, il valore della eAG, calcolabile sulla base dei risultati dello studio ADAG, lasciando ai professionisti di laboratorio la possibilità di refertare anche questo dato attraverso l'utilizzo dei sistemi informatici di laboratorio.
- e) I materiali di controllo usati nelle VEQ dovranno essere commutabili ed avere un valore di HbA<sub>1c</sub> assegnato mediante il metodo di riferimento IFCC. Nei programmi di VEQ dovrà anche essere chiaramente definito il limite per l'errore totale accettabile.

- f) Il WGHbA<sub>1c</sub> sarà a disposizione dei produttori di diagnostici per essere di supporto nella fase di allineamento al sistema di riferimento IFCC.

Rimane ora da affrontare l'implementazione a livello degli utilizzatori finali (laboratori analisi, centri per la cura del diabete, medici di medicina generale e pazienti) di questo nuovo sistema di riferimento. A tal scopo è stato costituito un gruppo di lavoro, che ha ritenuto necessario definire una serie di obiettivi che sono riportati in questo documento, proponendo per ognuno di essi alcune raccomandazioni.

## 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<sub>1c</sub>;
- b) esprimere una posizione in merito alla possibilità di refertare, insieme al valore della HbA<sub>1c</sub>, anche quello di eAG calcolato tramite l'equazione dello studio ADAG;
- c) decidere quali unità di misura adottare per la refertazione dell'HbA<sub>1c</sub>;
- 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 accettabile per la misura della HbA<sub>1c</sub>

La definizione del traguardo relativo all'errore totale per un esame di laboratorio può essere effettuata sulla base dei dati di variabilità biologica, sullo stato dell'arte dei metodi in uso per la misura e sulla base di criteri di utilità clinica. Scegliendo questo ultimo approccio, si possono proporre raccomandazioni di medicina basata sull'evidenza, partendo dagli esiti ("outcomes") dello studio DCCT, nel quale i pazienti in cattivo controllo glicemico presentavano tipicamente valori di HbA<sub>1c</sub> >8%, mentre nei pazienti in buon controllo glicemico i valori erano <7% (3). Considerando tali traguardi, si arriva a concludere che il traguardo per l'errore totale della misura dell'HbA<sub>1c</sub> non dovrebbe superare  $\pm 0,5\%$  di HbA<sub>1c</sub> in valore assoluto. Infatti, per classificare correttamente un individuo che abbia un valore "vero" di HbA<sub>1c</sub> pari a 7,5%, l'errore della misura non deve superare lo 0,5% come valore assoluto (pari ad un errore totale relativo di 6,7%), al fine di evitare che tale individuo, sulla base del valore della sua HbA<sub>1c</sub>, sia indifferentemente classificato come un paziente con scarso controllo glicemico (HbA<sub>1c</sub> >8,0%) oppure come un paziente diabetico ben controllato (<7,0%).

Poiché l'errore totale di una singola misura deriva dalla somma tra l'imprecisione e lo scostamento (bias) dal valore vero (11), ne deriva che diverse combinazioni di imprecisione e scostamento possono soddisfare tale limite (ad es. CV = 3,0% e bias = 1,8% oppure CV = 1,0% e bias = 5,1%). Viene tuttavia condivisa la raccomandazione che l'imprecisione sia contenuta, possibilmente entro il limite del 2% (12).

### 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.

### Refertazione della glicemia media calcolata in base al valore di $HbA_{1c}$

Concettualmente, poter convertire un valore di  $HbA_{1c}$  in un equivalente di glicemia media potrebbe migliorare la comprensione e l'interpretazione del risultato stesso dell' $HbA_{1c}$ . Uno studio clinico recentemente concluso ha proposto di introdurre come parametro una glicemia media stimata sulla base del risultato di  $HbA_{1c}$ , coniano l'acronimo eAG ("estimated Average Glucose") (13). Si ritiene, tuttavia, che tale studio soffra di una serie di limitazioni, quali la mancata inclusione di adolescenti, donne in gravidanza e pazienti nefropatici, oltre a soggetti di origine asiatica. Inoltre, i limiti fiduciarri della eAG sarebbero così ampi da rendere l'utilizzo di tale dato di scarso valore clinico. Infine, a differenza di altri parametri di laboratorio calcolati (ad es. la velocità di filtrazione glomerulare calcolata in base a concentrazioni di creatinina sierica, sesso ed età del soggetto, oppure il LDL colesterolo calcolato da colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi), la semplice trasformazione dell' $HbA_{1c}$  in eAG attraverso un'equazione che non include altri parametri ma solo fattori numerici non aggiunge alcuna informazione supplementare al dato dell' $HbA_{1c}$ , che possa essere di utile supporto alla clinica.

### 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.

### Unità di misura e nuovi numeri per $HbA_{1c}$

Il metodo di riferimento IFCC permette di misurare direttamente e specificatamente la porzione dell'emoglobina che è glicata, in particolare gli esapeptidi terminali delle catene  $\beta$  dell'emoglobina. Come conseguenza della precisa definizione dell'analita, è stata proposta l'introduzione di una nuova unità di misura (mmol/mol) essendo la precedente (%) non allineata con il Sistema Internazionale di misura (SI) (14). L'adozione del nuovo sistema di riferimento IFCC, oltre a comportare un cambio di unità di misura, comporta quindi nuovi intervalli di

riferimento, quando confrontati con quelli attualmente in uso:

- intervallo di riferimento (soggetti non diabetici) (risultati allineati al DCCT): 4,0-6,0%;
- intervallo di riferimento (soggetti non diabetici) (risultati allineati all'IFCC): 20-42 mmol/mol.

La relazione tra i due modi di espressione del risultato è la seguente:  $HbA_{1c}$  "allineata DCCT" (%) =  $0,0915 \times HbA_{1c}$  "allineata IFCC" (mmol/mol) + 2,15 (8). La relazione tra i valori della  $HbA_{1c}$ , quando espressi nelle relative unità di misura, viene esemplificata nella Tabella 1.

L'aspetto rilevante che va sottolineato è che la standardizzazione secondo il sistema di riferimento IFCC riduce l'incertezza del risultato finale, perchè la successiva trasformazione del risultato con l'equazione prima menzionata introduce una ulteriore incertezza, che è stata anche calcolata (15) e successivamente dimostrata (16). Ad esempio, se un campione misurato col sistema IFCC presenta un valore di  $HbA_{1c}$  pari a 53 mmol/mol ed a tale valore si associa una incertezza di 0,42 mmol/mol (pari allo 0,8%), la successiva trasformazione in unità NGSP/DCCT aumenterà l'incertezza a 0,47 mmol/mol (pari allo 0,9%). L'aumento dell'incertezza è piccolo, ma non trascurabile.

Un ulteriore vantaggio che deriva dall'utilizzo delle unità di misura in mmol/mol è che si ottiene una amplificazione numerica di circa 10 volte e che quindi piccoli cambiamenti dell' $HbA_{1c}$  dovrebbero risultare maggiormente identificabili.

### 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 riportata 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.

**Tabella 1**

Corrispondenza tra i valori della  $HbA_{1c}$  allineati secondo il sistema NGSP usato nello studio DCCT ed i valori standardizzati IFCC

Valori attuali (allineati al DCCT) %	Valori nuovi (allineati all'IFCC) mmol/mol
4	20
5	31
6	42
7	53
8	64
9	75
10	86

## Fasi e tempistica

### Raccomandazione 4

A partire dal 01.01.2010 i risultati dell'HbA<sub>1c</sub> 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<sub>1c</sub> saranno refertati solamente in unità IFCC (mmol/mol).

### Campagna di informazione

Allo scopo di garantire che il passaggio al nuovo sistema di riferimento IFCC avvenga in maniera sincrona ed uniforme su tutto il territorio nazionale è necessario avviare una campagna informativa rivolta a tutti i soggetti interessati (medici di laboratorio, medici di medicina generale, diabetologi e pazienti diabetici, ma anche tutti i medici specialisti in qualche misura coinvolti nella gestione del paziente diabetico). Tale campagna sarà gestita in modo sinergico da tutte le Società Scientifiche o Associazioni coinvolte nella stesura del presente documento e con tutti i mezzi informativi oggi disponibili secondo i modi, i tempi e le disponibilità di ciascuna di esse, ma coerentemente con la tempistica di passaggio al nuovo sistema di riferimento IFCC (es. comunicazioni ai soci, relazioni ai congressi, articoli su riviste, testi "ad hoc").

Gli Autori del presente documento si rendono disponibile, se necessario, a produrre materiale specifico per supportare i soggetti coinvolti nel programma di divulgazione/informazione. Materiale specifico sarà prodotto per l'uso da parte dei soggetti diabetici.

### CONCLUSIONI

I professionisti di laboratorio potranno chiedere alle ditte produttrici di kit diagnostici le evidenze dell'allineamento dei loro sistemi analitici al sistema di riferimento IFCC, per verificare anche a livello di produzione l'allineamento del metodo al sistema di riferimento e la relativa incertezza. Essi potranno verificare e monitorare il loro allineamento mediante la costante partecipazione a programmi di VEQ che utilizzino materiali di controllo commutabili e con titolo assegnato dal metodo di riferimento, utilizzando il limite dell'errore totale prima definito quale traguardo analitico.

Si auspica che l'adozione delle raccomandazioni riportate nel presente documento, unitamente ad una adeguata opera di sorveglianza, possa contribuire significativamente a ridurre la variabilità interlaboratorio nella misura della HbA<sub>1c</sub>, fornendo quindi un miglior servizio per la cura dei pazienti.

### RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Dott.ssa Renata Paleari (Università degli Studi di Milano), la Dott.ssa Paola Massucco (Università degli Studi di Torino) e la Dott.ssa Antonella Radice (Azienda Ospedaliera "S. Carlo", Milano), per il contributo dato alla prima riunione del gruppo GLAD. Si

ringrazia il Prof. Mauro Panteghini (Università degli Studi di Milano) per le indicazioni fornite su come calcolare l'errore totale accettabile per la misura della HbA<sub>1c</sub>.

### BIBLIOGRAFIA

1. Sacks DB, Brun DE, Goldstein DE, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48:436-72.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(Suppl 1):S15-35.
3. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
4. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837-53.
5. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA<sub>1c</sub> in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
6. Finke A, Kobold U, Hoelzel W, et al. Preparation of a candidate primary reference material for the international standardisation of HbA<sub>1c</sub> determinations. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:299-308.
7. Weykamp C, John WG, Mosca A, et al. The IFCC reference measurement system for HbA<sub>1c</sub>: a 6-year progress report. *Clin Chem* 2008;54:240-8.
8. Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, et al. IFCC reference system for measurement of hemoglobin A<sub>1c</sub> in human blood and the national standardization schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. *Clin Chem* 2004;50:166-74.
9. Consensus statement. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A<sub>1c</sub> measurement. *Diabetes Care* 2007;30:2399-400.
10. Report. Implementation of standardization of HbA<sub>1c</sub> measurement. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:573-4.
11. Ottomano C, Ceriotti F, Galeazzi M, et al. Linee guida per gestione dei programmi di Controllo di Qualità Interno. *Biochim Clin* 2008;32:102-21.
12. Goodall I, Colman PG, Schneider HG, et al. Desirable performance standards for HbA<sub>1c</sub> analysis - precision, accuracy and standardisation. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1083-97.
13. Nathan DM, Kuenen J, Borg R, et al. for the A<sub>1c</sub>-Derived Average Glucose Study Group. Translating the A<sub>1c</sub> assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008;31:1-6.
14. Nordin G, Dybkaer R. Recommendation for term and measurement unit for "HbA<sub>1c</sub>". *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1081-2.
15. Geistanger A, Arends S, Berding C, et al. Statistical methods for monitoring the relationship between the IFCC reference measurement procedure for hemoglobin A<sub>1c</sub> and the designated comparison methods in the United States, Japan, and Sweden. *Clin Chem* 2008;54:1379-85.
16. Linters-Westra E, Slingerland RJ. Hemoglobin A<sub>1c</sub> determination in the A<sub>1c</sub>-Derived Average Glucose (ADAG) study. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1617-23.