Laboratorio Generale
Centro Regionale di Riferimento per il Controllo di Qualità
AOU Careggi - Firenze

misura della HbA_{1C}

e screening Hb

Tiziana Biagioli

Azienda
Ospedaliero
Universitaria
Careggi

VEQ HbA_{1C}

- I° Ciclo anno 2002
- Materiali in uso Ciclo 2018: Polymed, Emolisati di origine umana, liofilizzati con l'aggiunta di stabilizzanti.
- Alla VEQ ciclo 2018 hanno partecipato 326 laboratori del territorio Nazionale
- Nel 2016 il programma è stato accreditato

MODALITA' DI ESECUZIONE
HbA1c

- ✓ **8 Campioni per ciclo**
  (invio delle risposte per fax, posta, internet)

- ✓ **Avviso in tempo reale**
  - mancata risposta
  - avviso aberranti

- ✓ **Elaborazioni**
  - elaborati in tempo reale
  - elaborati imprecisione/inesattezza
  - elaborati per strumento/kit

HbA1c Ciclo 2018

	HbA1c mmol/mole	Hb g/dL
1	46	≈12.0
2	71	
3	34	
4	59	
5	50	
6	36	
7	79	
8	52	

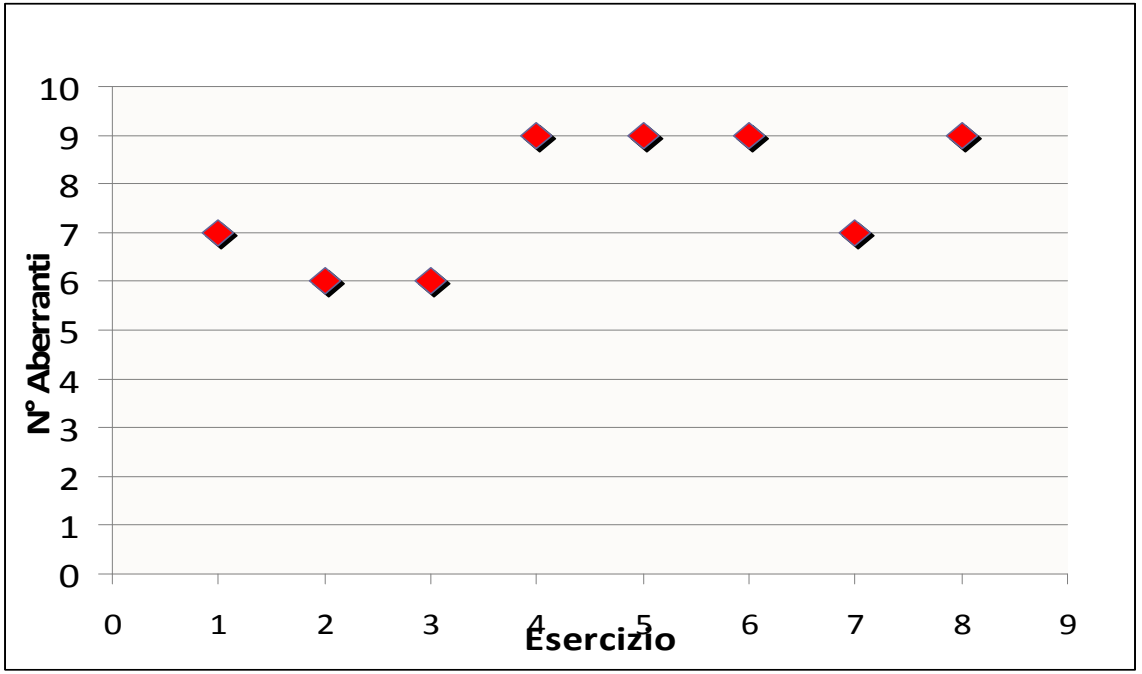
VEQ HbA1c Lab. Partecipanti Ciclo 2018

Tipologia	Specifiche	N°	2015	2016	2017	2018
HPLC	Bio-Rad D10 A1c	12	71%	70%	69%	67%
	Bio-Rad Variant Dual kit	23				
	Bio-Rad Variant II HbA1c program	3				
	Bio-Rad Variant Turbo	7				
	Menarini HA 8160	14				
	Menarini HA 8180	17				
	Menarini HB 9210 Premier	1				
	Tosoh serie G7	22				
	Tosoh serie G8	96				
	Altri HPLC	19				
Elettroforesi	Sebia Capillarys	37	9%	8%	12%	12%
Immunochimica	Abbott	7	16%	17%	17%	18%
	Beckman	5				
	Roche	20				
	Siemens	8				
	Altri immunochimici	14				
Altri	Nycocard Reader II	2	4%	5%	3%	3%
	Altri	5				

33 diversi metodi

Azienda
Ospedaliero
Universitaria
Careggi

HbA1c Ciclo 2018 : risultati aberranti

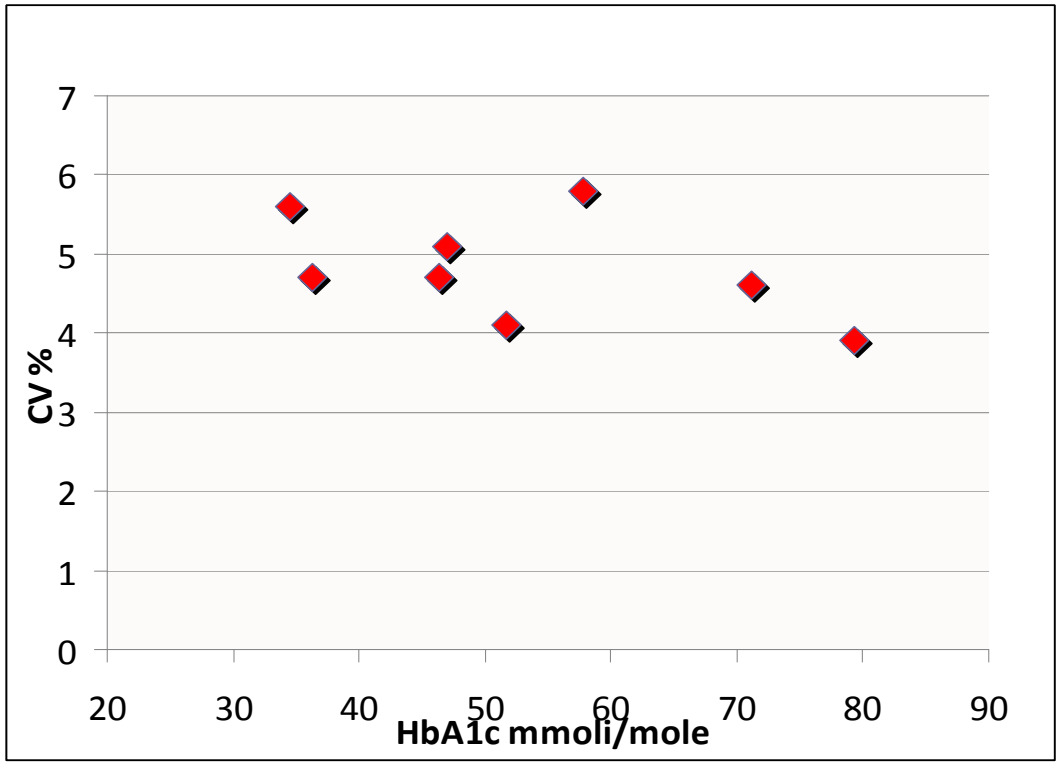


Aberranti %							
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	**2018**
IFCC mmol/mole	2.8	2.7	1.5	2.8	2.6	2.7	**2.6**

HbA1c Ciclo 2018

	N° risultati	Valore medio (%)	C.V
BIORAD 10	109	103.8	5.1
Capillarys Sebia	213	98.8	2.7
G7 TOSOH	130	98.6	4.0
G8 TOSOH	653	99.3	2.5
MENARINI HA 8180	73	98.3	2.3
MENARINI HA 8160	121	100.1	3.0
ROCHE COBAS 6000	109	97.3	4.5
TOSOH 723 GX	14	N.D	N.D
VARIANT II TURBO	48	104.6	4.5
VARIANT II	202	102.7	4.4

HbA1c Ciclo 2018



VARIABILITA' TOTALE	
2012	5.60 %
2013	6.35 %
2014	5.40 %
2015	6.15 %
2016	5.65 %
2017	**5.25 %**
2018	**4.81 %**

ADA 2010

SID/AMD 2010

World Health Organization

Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus

Abbreviated Report of a WHO Consultation

WHO/NMH/CHP/CPM/11.1

Recommendation

HbA1c 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 HbA1c of 6.5% is recommended as the cut point for diagnosing diabetes. A value of less than 6.5% does not exclude diabetes diagnosed using glucose tests.

Quality of evidence assessed by GRADE: moderate

Strength of recommendation based on GRADE criteria: conditional

HbA1c Ciclo 2018: l'esercizio n° 5

Metodo	N°	OUT	mmoli/mole	CV %
Tosoh serie G8	84	0	46.98	2.7
Tosoh serie G7	18	0	47.07	4.4
Menarini HA 8160	14	1	46.54	2.9
Menarini HA 8180	10	0	45.7	3.3
Bio-Rad Variant II Dual kit	23	2	46.14	5.8
Bio-Rad D10 A1c	12	0	48.42	6.3
Sebia Capillarys HbA_{1C}	38	1	45.2	3.2
Roche tina-quant su Cobas	14	1	46.24	3.3
Tosoh HLC-723 GX	10	0	46.20	5.1
Biorad Variant II turbo	9	0	48.61	3.2
Bio-Rad D10 A1c	14	0	49.1	5.3
Siemens Dimension	8	0	50.74	7.1
TUTTI 2018	**284**	**9**		**5.1**
TUTTI 2017	304	7		5.3
TUTTI 2016	297	5		6.7
TUTTI 2015	307	6		7.0
TUTTI 2014	303	7		5.3
TUTTI 2013	302	9		6.5

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

Valore atteso: 46.93 mmoli/mole

Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinchim

Performance of glycated hemoglobin (HbA_{1c}) methods evaluated with EQAS studies using fresh blood samples: Still space for improvements

Andrea Mosca [a,*], Renata Paleari [a], Anna Carobene [b], Cas Weykamp [c,d], Ferruccio Ceriotti [b]

[a] Centro per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Dip. di Fisiopatologia medico-chirurgica e dei trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy
[b] Laboratorio di Standardizzazione, Servizio Medicina di Laboratorio, Ospedale San Raffaele, Milano, Italy
[c] Department of Clinical Chemistry, Location Queen Beatrix Hospital, Winterswijk, The Netherlands
[d] European Reference Laboratory, Location Queen Beatrix Hospital, Winterswijk, The Netherlands

Facendo seguito allo studio EQA promosso da SIBioC, nel 2017 a 150 partecipanti sono stati distribuiti, in aggiunta ai campioni liofili, due campioni di sangue fresco con titolo assegnato col metodo di riferimento IFCC.

I laboratori partecipanti sono stati selezionati sulla base della frequenza delle sedute analitiche (>3/settimana)

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
HbA1c valore assegnato IFCC - Ciclo 2018

REGIONE TOSCANA
Centro n. 00131

Analita: *HbA1c IFCC*	**mmol/mol**
Risultato atteso: 58.8	

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	128	3	59.08	5.6	3.3	60.00
Tuo Metodo HbA1c IF	7					

Campione	1 *(Scad. 15/10/2018)*
Tuo risultato	61.0

	Diff. S	Diff. %
Tutti	0.58	3.25
Tuo Metodo HbA1c IFCC		
Scostamento da Valore Assegnato		3.74

Risultati ricevuti Tuo Metodo HbA1c IFCC
60.0 - 59.0 - 61.0 - 61.0 - 60.0 - 61.0 - 56.0

N. risultati numerici	128
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	

Riepilogo x Metodo HbA1c IFCC risultati numerici (> 7 Centri)				
Metodo HbA1c IFCC	N.	Out	M.	C.V.
TOSOH G8	38	1	60.32	3.0
Bio-Rad Variant series	21	1	60.95	2.7

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
HbA1c valore assegnato IFCC - Ciclo 2018

REGIONE TOSCANA
Centro n. 00131

Analita: *HbA1c IFCC*	**mmol/mol**
Risultato atteso: 42.7	

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	130	5	43.54	4.7	2.1	44.00
Tuo Metodo HbA1c IF	7					

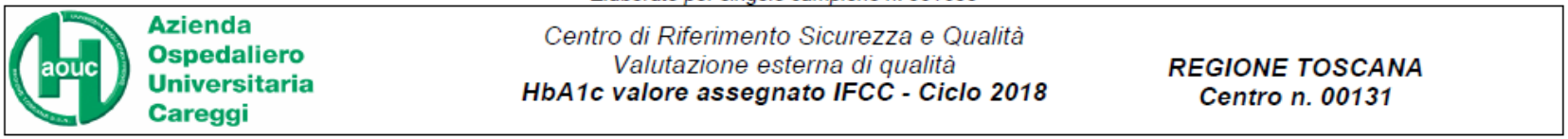
Campione	2 *(Scad. 15/10/2018)*
Tuo risultato	44.0

	Diff. S	Diff. %
Tutti	0.22	1.06
Tuo Metodo HbA1c IFCC		
Scostamento da Valore Assegnato		3.04

Risultati ricevuti Tuo Metodo HbA1c IFCC
44.0 - 44.0 - 44.0 - 45.0 - 44.0 - 44.0 - 42.0

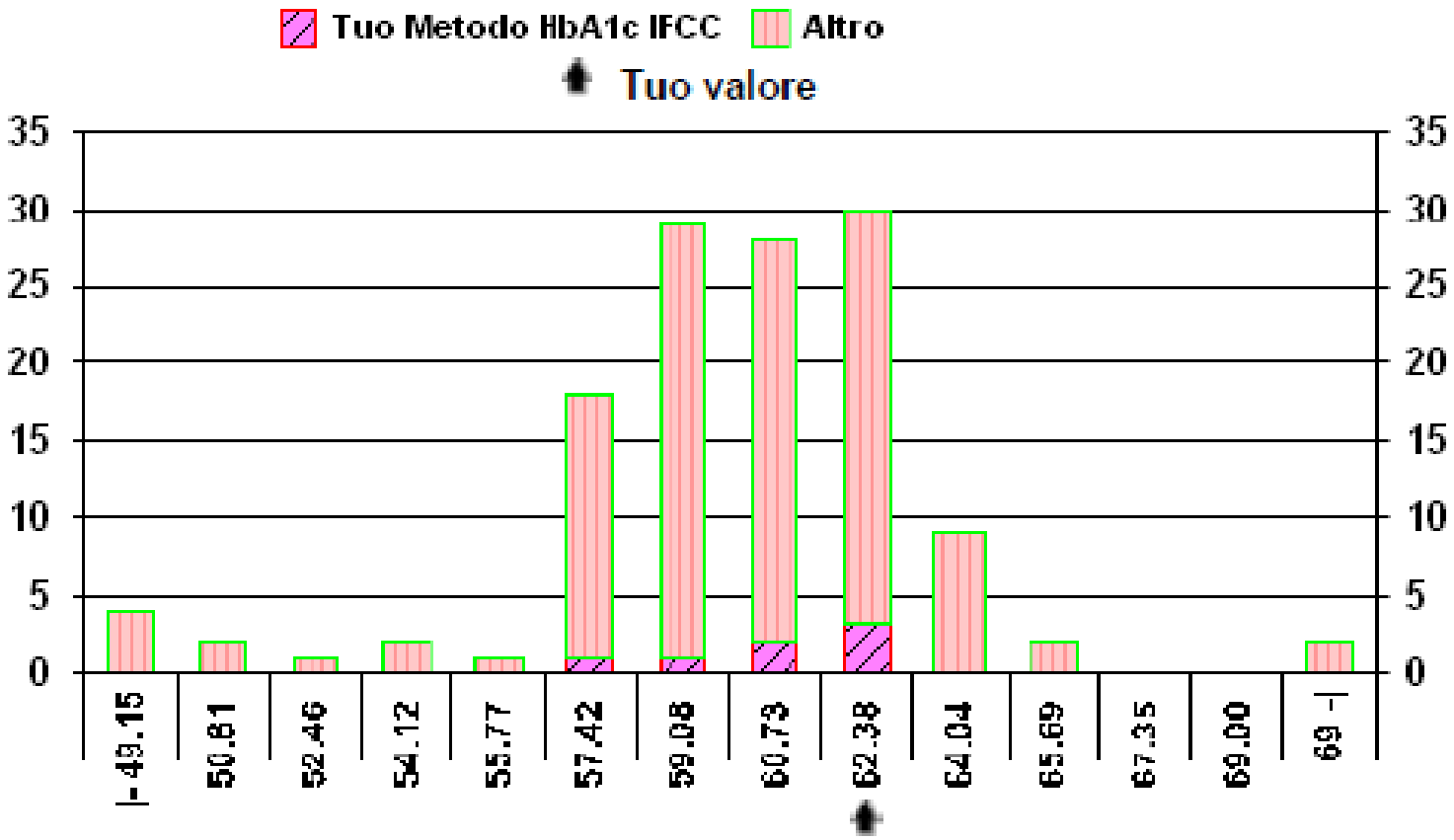
N. risultati numerici	130
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	

Riepilogo x Metodo HbA1c IFCC risultati numerici (> 7 Centri)				
Metodo HbA1c IFCC	N.	Out	M.	C.V.
TOSOH G8	38	1	44.68	3.9
Bio-Rad Variant series	22	0	43.32	4.9



Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
HbA1c valore assegnato IFCC - Ciclo 2018

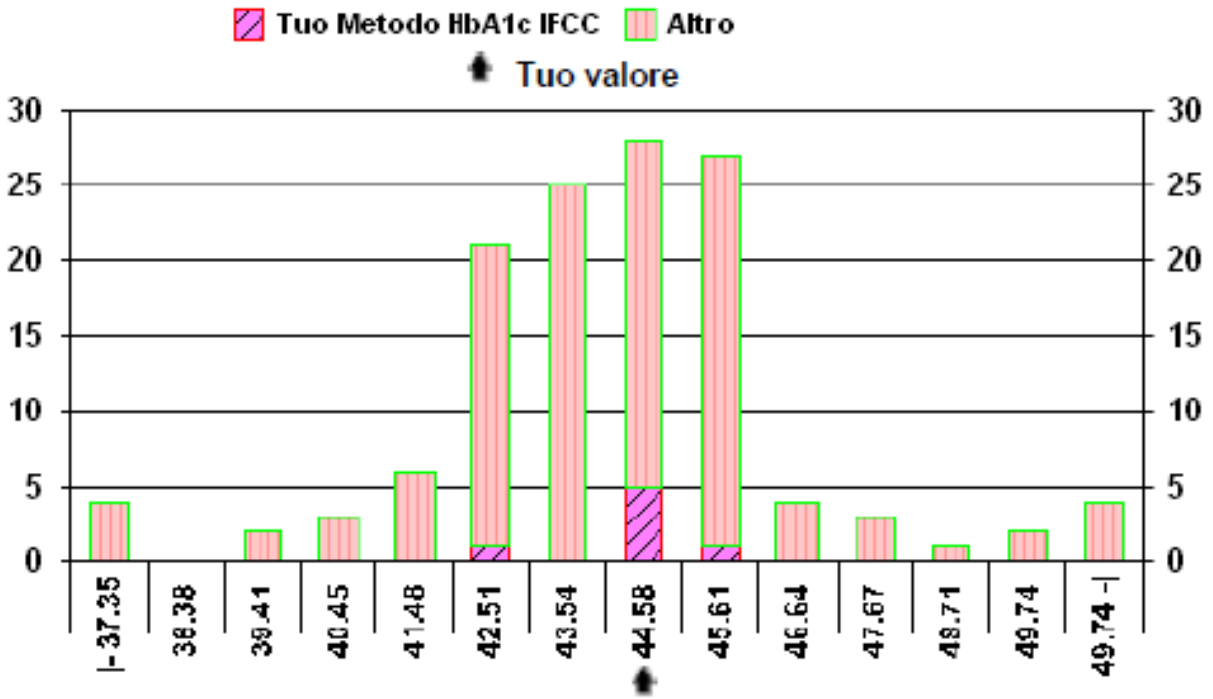
REGIONE TOSCANA
Centro n. 00131

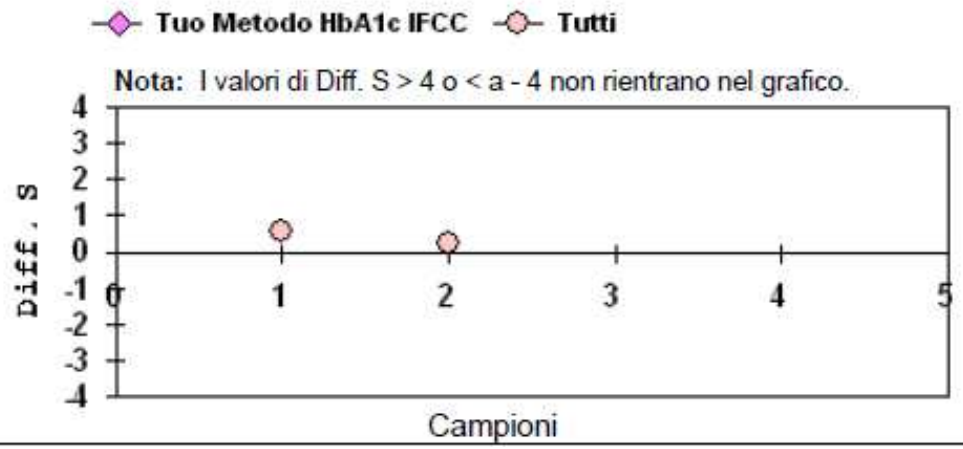


Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

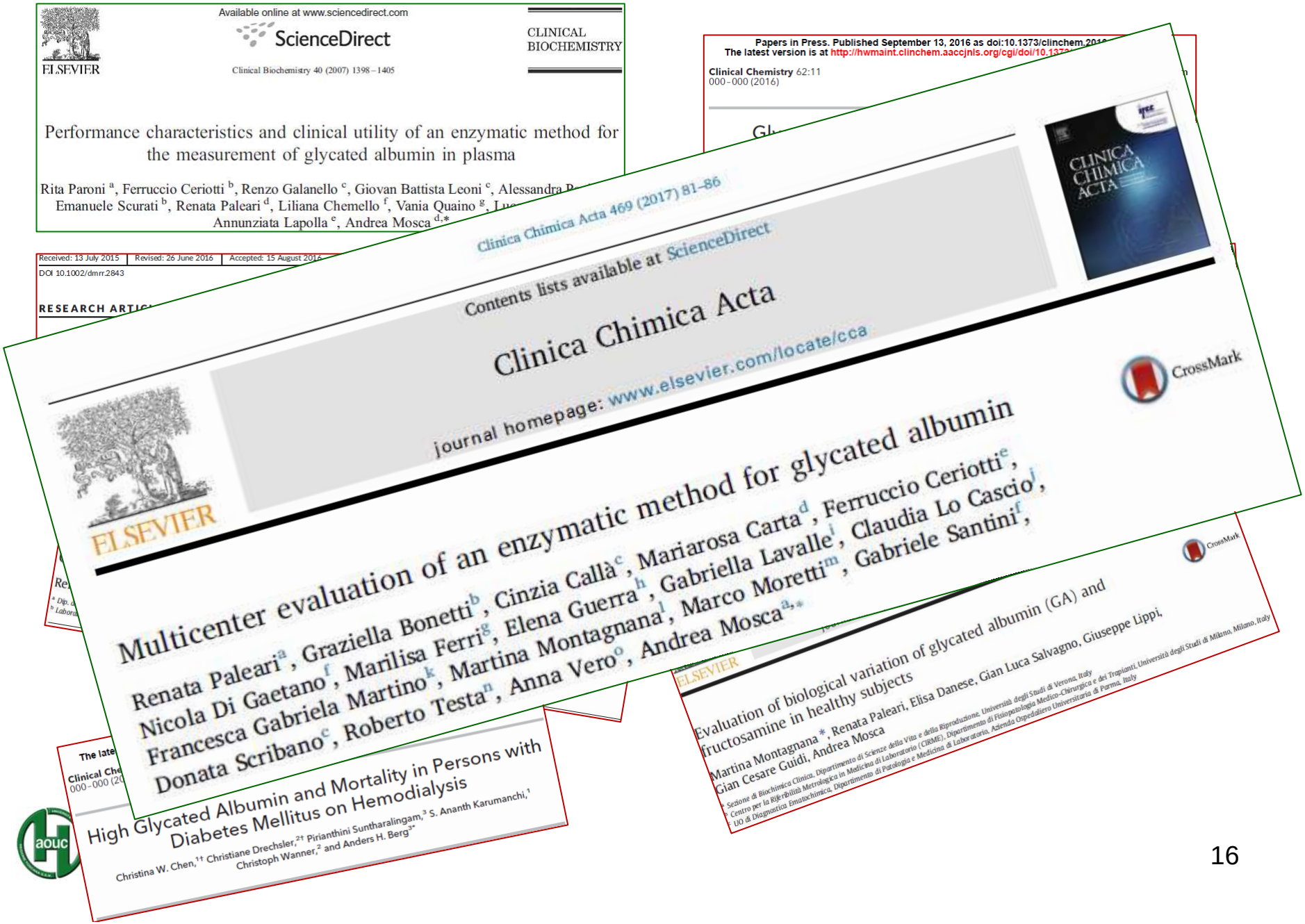
Centro di Riferimento Sicurezza e Qualità
Valutazione esterna di qualità
HbA1c valore assegnato IFCC - Ciclo 2018

REGIONE TOSCANA
Centro n. 00131





HbA1c : non più il solo marcatore di controllo glicemico



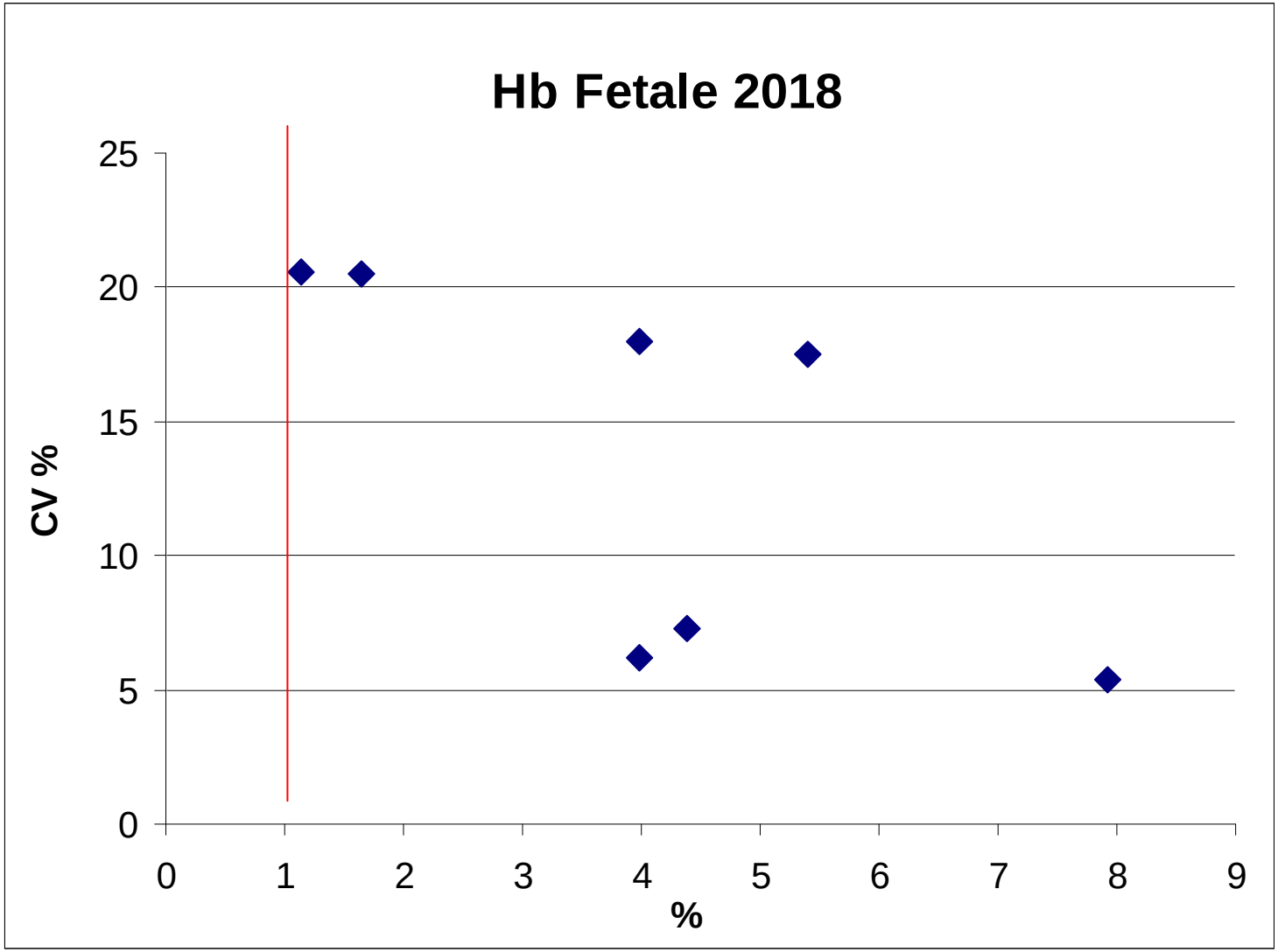
VEQ Screening Hb 2018

- I° Ciclo anno 2003
- Materiali in uso Ciclo 2018: Polymed, Emolisati di origine umana, liofilizzati con l'aggiunta di stabilizzanti
- Alla VEQ ciclo 2018 hanno partecipato 116 laboratori del territorio Nazionale

VEQ Screening Hb 2018

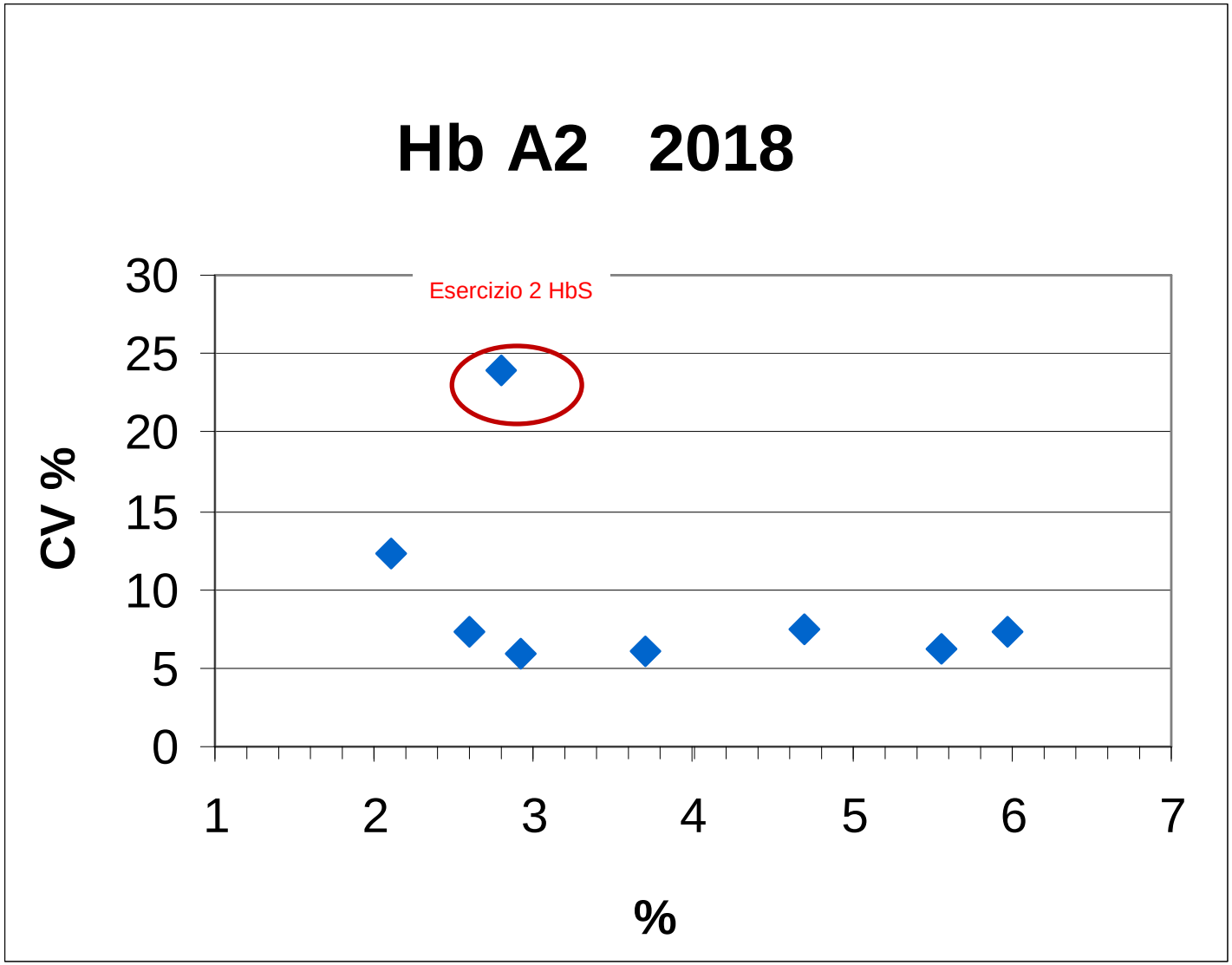
	N°	%
Tosoh	48	38
BioRad	38	29
Menarini	13	11
altri HPLC	4	2
Sebia	25	20
Metodi dedicati	**128**	**100%**
Altri/Non dichiarato	0	0%
Elettroforesi su agarosio	0	0%

VEQ Screening Hb 2018



VARIABILITA' TOTALE **17%**

VEQ Screening Hb 2018



VARIABILITA' TOTALE **7.5%**

VEQ Screening Hb: l'esercizio n°2

Analita: *HbA2*	%
Risultato atteso: .	

	N.	Out	Media	C.V.	S.D.	Med.na
Tutti	110	2	2.78	24.02	0.67	2.90
Tuo Metodo	30	1	1.90	19.68	0.37	1.80

Campione	2 *(Scad. 23/03/2018)*
Tuo risultato	1.9

	Diff. S	Diff. %
Tutti	-1.32	-31.66
Tuo Metodo	0.00	0.00

Valutazione errore totale							
1	2	3	4	5	6	7	8
O	O						

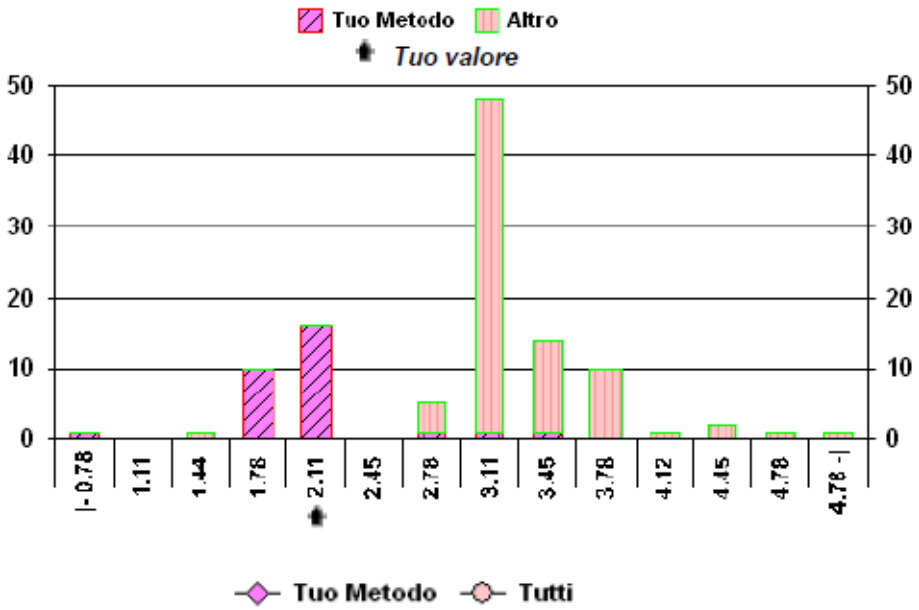
O = Interno X = Esterno rispetto ai L.A *L.A. camp. corrente: 12*

N. risultati numerici	110
N. risultati semiquantitativi/qualitativi	

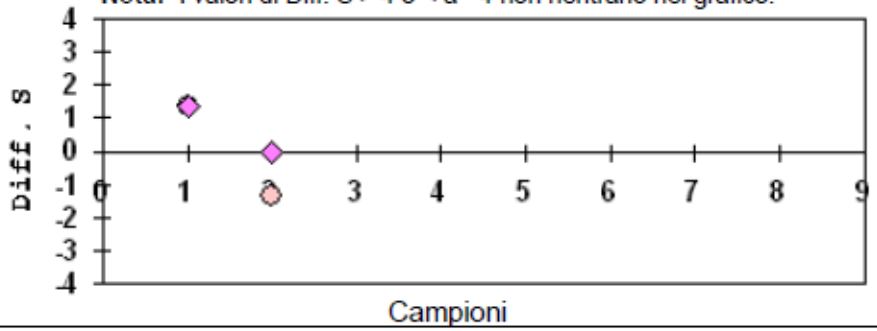
Riepilogo x Metodo risultati numerici (> 7 Centri)					
Metodo	N.	Out	M.	C.V.	u_x
HPLC TOSOH G8	37	0	3.08	6.10	0.04
BIORAD VARIANT II DUAL KIT	30	1	1.90	19.68	0.09
SEBIA CAPILLARYS HEMOGLOBIN	21	0	2.89	1.86	0.01
HPLC	11	0	3.46	12.40	0.16*

** u_x non trascurabile*

Tuo Metodo
BIORAD VARIANT II DUAL KIT

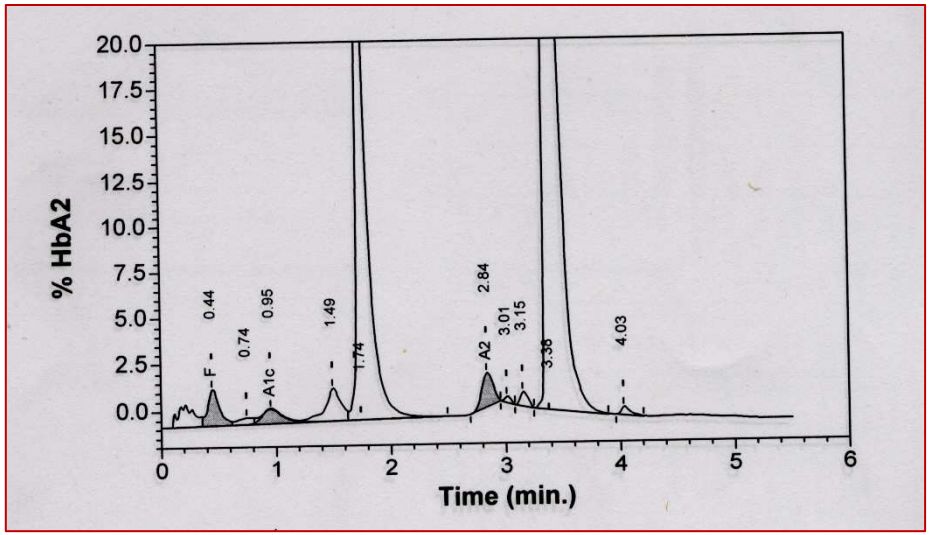


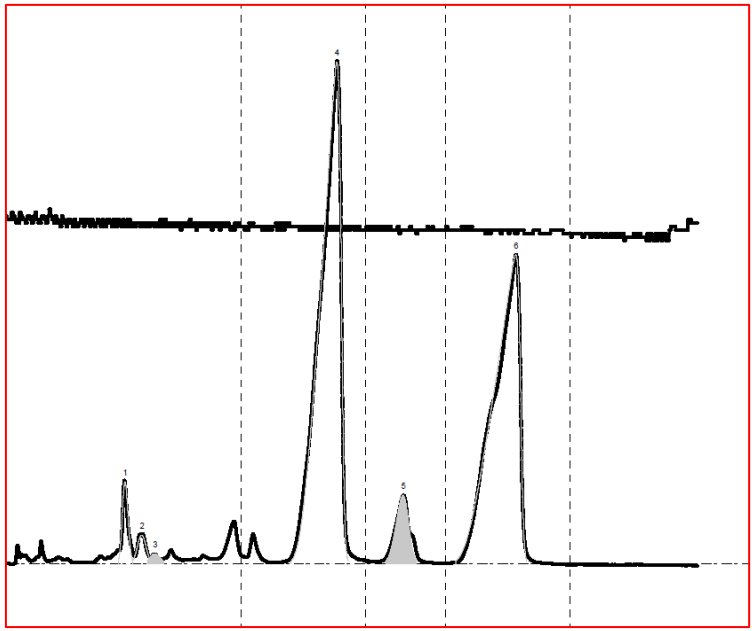
Nota: I valori di Diff. S > 4 o < a - 4 non rientrano nel grafico.

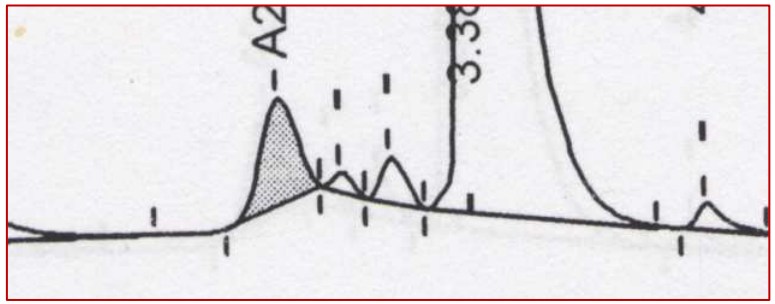


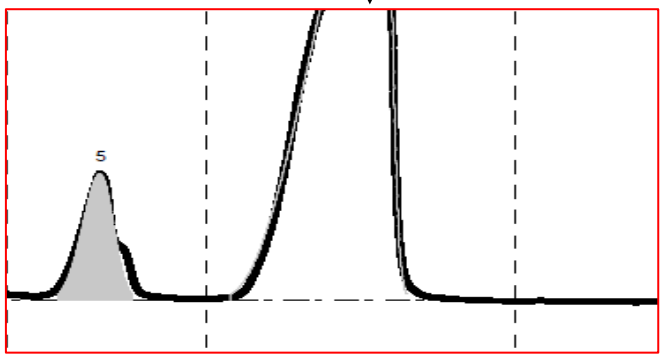
VEQ Screening Hb: l'esercizio n°2

Quanto è accurata la misura della Hb A_2 in presenza di HbS?









VEQ Screening Hb: l'esercizio n°2

Materiale: sangue

Assetto Emoglobinico (HPLC)

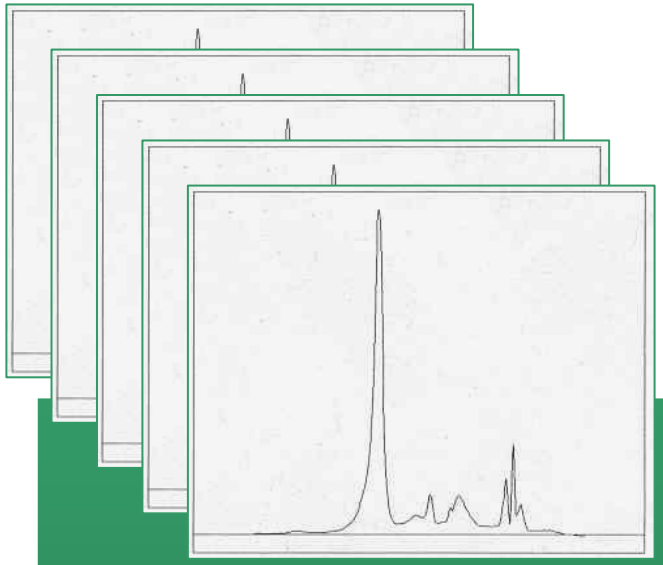
Banda Anomala	*		%	assente (HPLC)
	Presenza di Hb variante presumibilmente costituita da HbS (42%)			
Hb A2	**5.0**	>	%	2.0 - 3.3 (HPLC)
	valore leggermente sovrastimato per incompleta separazione della HbS glicata dalla HbA2			
Emoglobina fetale	**1.0**		%	inferiore a 1.0 (HPLC)

Materiale: sangue

Assetto emoglobinico (HPLC)

Banda Anomala	*		%	assente (HPLC)
	Presenza di Hb variante presumibilmente costituita da HbS (37%)			
Hb A2	**3.6**	>	%	2.0 - 3.3 (HPLC)
Emoglobina fetale	**1.4**		%	inferiore a 1.0 (HPLC)

La sovrastima della Hb A2 potrebbe indirizzare verso una diagnosi di doppia eterozigosi HbS/ beta talassemia.



Valutazione dei risultati del programma

“Elettroforesi delle sieroproteine: Interpretazione dei tracciati”

V.E.Q. in ELETTROFORESI

- Attivato come programma sperimentale a ottobre 2012
- Nel 2018 inviati 8 esercizi

IL RAZIONALE

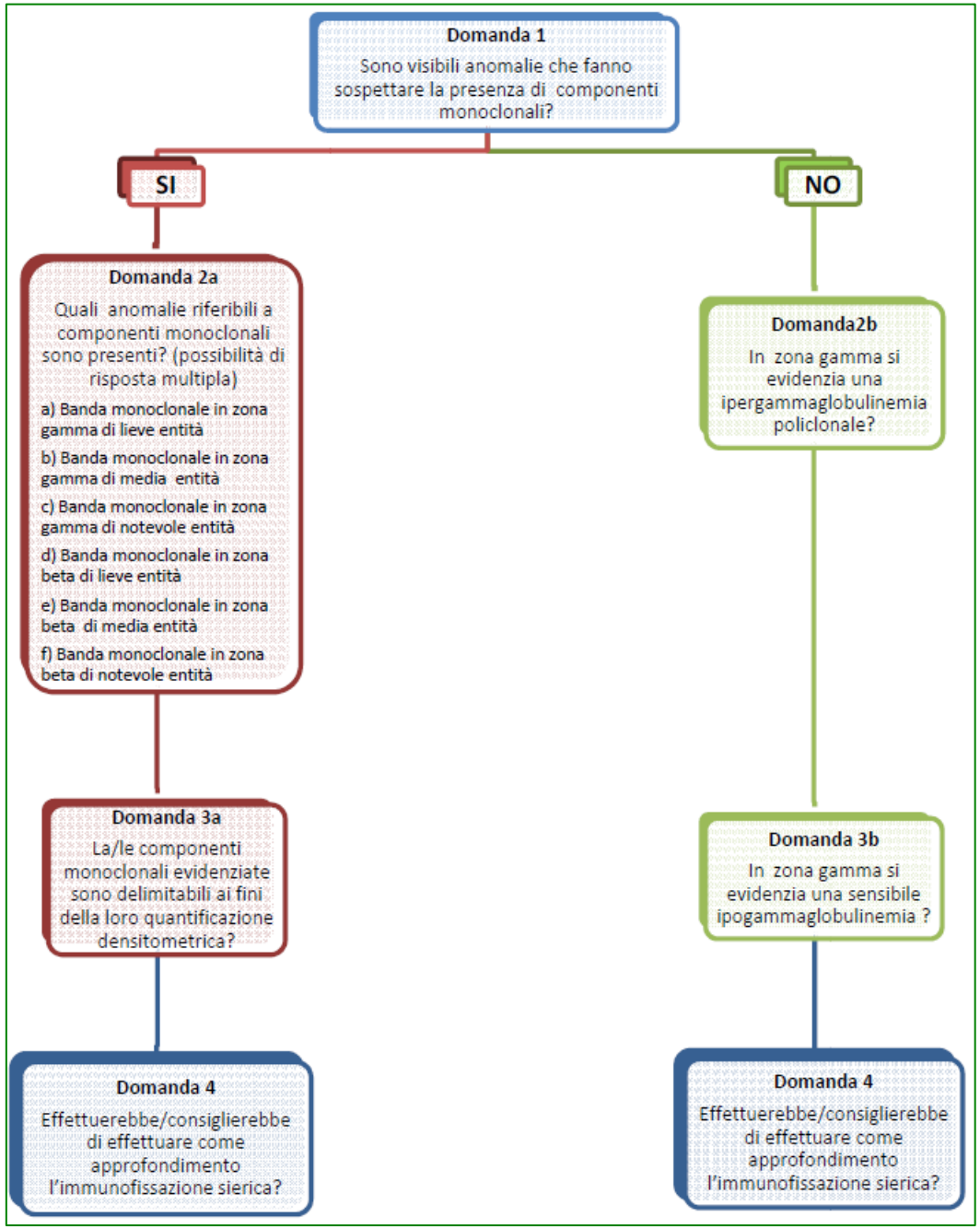
L'elettroforesi sieroproteica (in agarosio o in capillare) è l'unica tecnica che permette di evidenziare l'omogeneità molecolare delle immunoglobuline e quindi di rilevare la presenza di una componente monoclonale (CM). Inoltre la misura accurata di una CM, parametro cardine per l'inquadramento diagnostico e il follow-up dei pazienti con gammopatia monoclonale, può essere effettuata solo in elettroforesi, qualora la risoluzione del tracciato lo consenta.

Basandosi quindi sulla appropriatezza della richiesta, il programma è volto alla valutazione dell'interpretazione dei tracciati di elettroforesi sieroproteica solo per quanto riguarda le gammopatie monoclonali.

V.E.Q. in ELETTROFORESI

Il programma, che non prevede l'invio di materiale, presenta per ogni esercizio un tracciato elettroforetico, accompagnato da una tabella con i dati percentuali delle 6frazioni e le proteine totali in mg/dL, che deve essere interpretato rispondendo a 4 domande chiuse (opzioni di risposta SI/NO) dopo aver selezionato il grafico in base alla tecnica in uso nel laboratorio (elettroforesi capillare / gel di agarosio)

NB: le definizioni proposte nelle risposte non sono da intendersi come modalità di refertazione del dato, in quanto il tipo di refertazione dipende dal modello organizzativo in essere nel laboratorio per quanto riguarda gli esami di approfondimento.


Domanda 1
Sono visibili anomalie che fanno sospettare la presenza di componenti monoclonali?
SI
NO
Domanda 2a
Quali anomalie riferibili a componenti monoclonali sono presenti? (possibilità di risposta multipla)
a) Banda monoclonale in zona gamma di lieve entità
b) Banda monoclonale in zona gamma di media entità
c) Banda monoclonale in zona gamma di notevole entità
d) Banda monoclonale in zona beta di lieve entità
e) Banda monoclonale in zona beta di media entità
f) Banda monoclonale in zona beta di notevole entità
Domanda2b
In zona gamma si evidenzia una ipergammaglobulinemia policlonale?
Domanda 3a
La/le componenti monoclonali evidenziate sono delimitabili ai fini della loro quantificazione densitometrica?
Domanda 3b
In zona gamma si evidenzia una sensibile ipogammaglobulinemia ?
Domanda 4
Effettuerebbe/consiglierebbe di effettuare come approfondimento l'immunofissazione sierica?
Domanda 4
Effettuerebbe/consiglierebbe di effettuare come approfondimento l'immunofissazione sierica?

Domanda 2a

Quali anomalie riferibili a componenti monoclonali sono presenti? (possibilità di risposta multipla)

a) Banda monoclonale in zona gamma di lieve entità

b) Banda monoclonale in zona gamma di media entità

c) Banda monoclonale in zona gamma di notevole entità

d) Banda monoclonale in zona beta di lieve entità

e) Banda monoclonale in zona beta di media entità

f) Banda monoclonale in zona beta di notevole entità

La domanda 2a è l'unica che prevede una risposta multipla, qualora fossero presenti più CM.

Riguardo alla valutazione dell'entità della CM, si precisa che va selezionato:

LIEVE se la CM è approssimativamente inferiore a 5 g/L,
MEDIA se è approssimativamente compresa tra 5 e 25 g/L
NOTEVOLE se è approssimativamente superiore a 25 g/L.

Riepilogo 2018

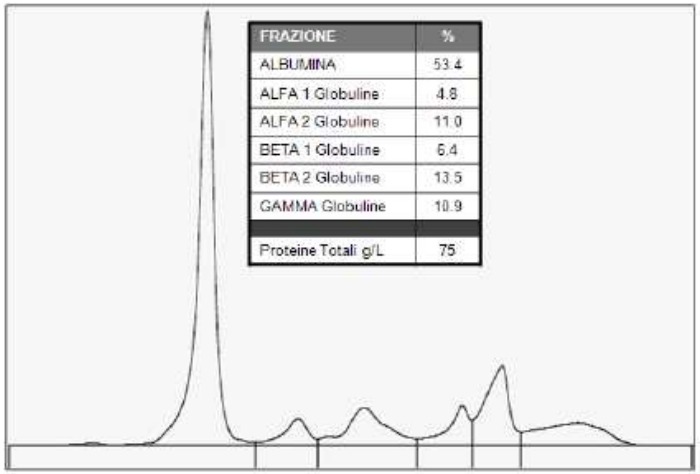
Es.	N° Risposte	Sintesi	OUT	Domanda		
				N°1 (CM?)	N°3 (CM del?)	N°4 (IFE?)
1	209	"Normale"	Ag	1	n.a.	2
			Cap	7	n.a.	9
2	212	CM di notevole entità in gamma	Ag	5	17	3
			Cap	1	14	1
3	209	CM di notevole entità in gamma	Ag	0	1	0
			Cap	0	1	0
4	209	CM di media entità in beta	Ag	18	13	8
			Cap	4	32	4
5	203	Ipogammaglobulinemia**	Ag	1	n.a.	13
			Cap	5	n.a.	26
6	207	Ipergammaglobulinemia policlonale	Ag	1	n.a.	9
			Cap	9	n.a.	22
7	209	CM di lieve entità in beta2	Ag	33	6	8
			Cap	8	41	6
8	228	2CM di media entità in gamma	Ag	2	18	1
			Cap	2	18	1

Riepilogo 2018

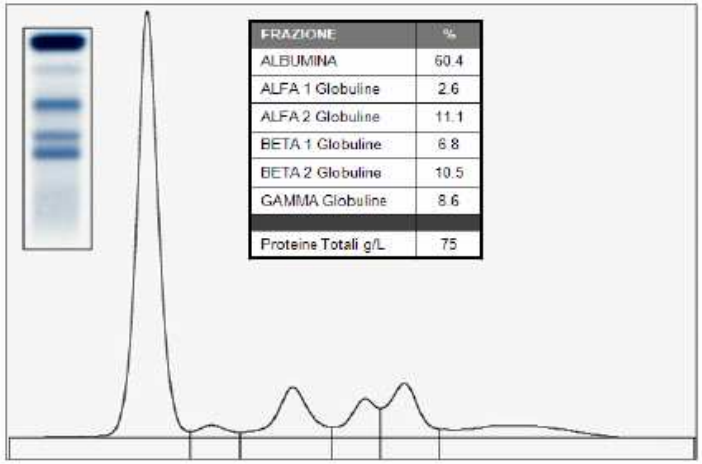
Domanda	Totale Agarosio	Totale Capillare	TOTALE		TOTALE				
	N°2018	N°2018	N° 2018	% 2018	% 2017	% 2016	% 2015	% 2014	% 2013
N°1 (sono presenti CM?)	61 (4%)	36 (2%)	**97**	**6%**	4%	9%	3%	4%	8%
N°3 (la CM è delimitabile?)	55 (3%)	106 (8%)	**161**	**9%**	7%	7%	15%	23%	26%
N°4 (è appropriata IFE?)	44 (3%)	69 (5%)	**113**	**7%**	7%	6%	8%	9%	17%
TUTTE	**160 (9%)**	**211 (13%)**	**371**	**22%**	17%	22%	8%	9%	16%

Esercizio N° 4

CAPILLARE



AGAROSIO

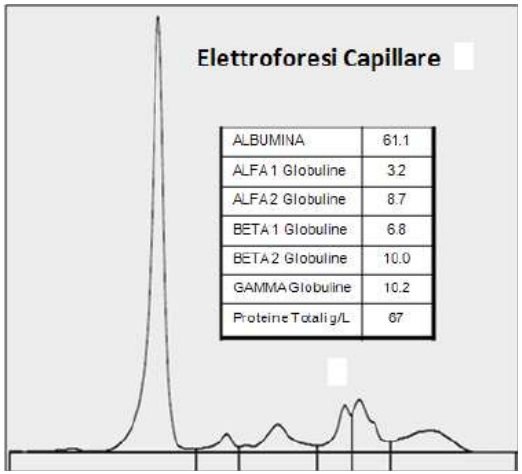


Es.	N° Risposte	Sintesi	Errate	N°1 (CM?)	N°3 (CM del?)	N°4 (IFE?)
4	209	**Componente di media entità in beta2**	Ag	**18**	**13**	**8**
			Cap	**4**	**32**	**4**

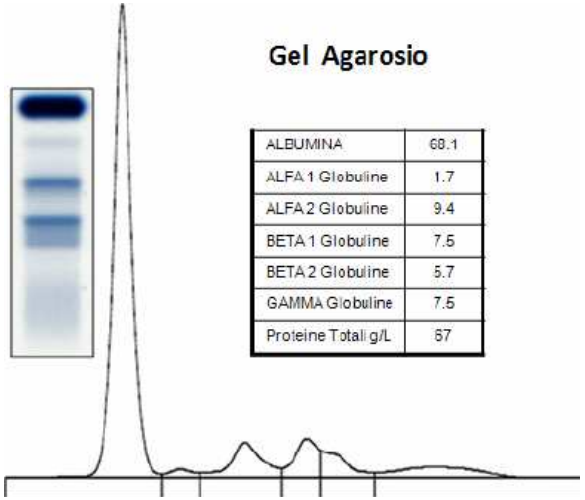
Commento relativo al Campione n° 4 Ciclo 2018 della VEQ 'ELETTROFORESI'

"Il tracciato evidenzia un'alterazione suggestiva della presenza di una componente monoclonale di media entità (tra 5 e 25 g/L) della zona beta2, non separata dal complemento e quindi non delimitabile ai fini della sua quantificazione. Opportuna l'esecuzione della immunofissazione, per confermarne la natura immunoglobulinica e attribuire la classe della catena pesante e di quella leggera."

CONFERMA: "L'immunofissazione ha evidenziato una componente monoclonale di tipo IgM montante catene leggere di tipo Kappa. La quantificazione della componente monoclonale è stata eseguita mediante misura nefelometrica delle IgM (10.0 g/L)."



Esercizio N° 7



Es.	N° Risposte	Sintesi	OUT	N°1 (CM?)	N°3 (CM del?)	N°4 (IFE?)
7	209	Componente di lieve entità in beta	Ag	33	6	8
			Cap	8	41	6

Commento relativo al Campione n° 7 Ciclo 2018 della VEQ 'ELETTROFORESI'

CAPILLARE:"Il tracciato evidenzia un'alterazione suggestiva della presenza di una componente monoclonale di lieve entità (inferiore a 5 g/L) della zona beta2, non sufficientemente separata dal complemento per poter essere delimitabile ai fini della sua quantificazione. Opportuna l'esecuzione della immunofissazione, per confermarne la natura immunoglobulinica e attribuire la classe della catena pesante e di quella leggera."

AGAROSIO:"Il tracciato evidenzia un'alterazione suggestiva della presenza di una componente monoclonale di lieve entità (inferiore a 5 g/L) della zona beta più evidente nell'immagine del gel rispetto al tracciato, non separata dal complemento e quindi non delimitabile ai fini della sua quantificazione. Opportuna l'esecuzione della immunofissazione, per confermarne la natura immunoglobulinica e attribuire la classe della catena pesante e di quella leggera."

CONFERMA: "L'immunofissazione ha evidenziato una componente monoclonale di tipo IgA montante catene leggere di tipo Kappa. La quantificazione della componente monoclonale è stata eseguita col metodo immunonefelometrico (4.7 g/L) ."