

## Il progetto pilota SIBioC di VEQ della misura dell'emoglobina glicata

Andrea Mosca<sup>1</sup>, Renata Paleari<sup>1</sup>, Anna Carobene<sup>2</sup>, Ferruccio Ceriotti<sup>2</sup> per il Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio Diabete Mellito

<sup>1</sup>Centro per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME), Dipartimento di Fisiopatologia medico-chirurgica e dei trapianti, Università degli Studi di Milano

<sup>2</sup>Laboratorio di Standardizzazione, Servizio Medicina di Laboratorio, Ospedale San Raffaele, Milano

### ABSTRACT

**Pilot SIBioC EQAS project on glycated hemoglobin measurement.** Two fresh blood samples collected with EDTA were distributed by courier in December 2014 to 206 Italian laboratories asking for the determination of their HbA<sub>1c</sub> concentrations. Target HbA<sub>1c</sub> values were assigned by the IFCC reference measurement procedure based on HPLC-capillary electrophoresis. The results, collected from 193 laboratories using analytical systems mainly from five manufacturers (Bio-Rad Laboratories, A. Menarini Diagnostics, Roche Diagnostics, Sebia and Tosoh), showed a global variability (in terms of CV) of 5.3% and 3.8% at HbA<sub>1c</sub> values of 37.4 mmol/mol (sample 1) and 62.0 mmol/mol (sample 2), respectively. Globally, 84% of the participants reported HbA<sub>1c</sub> results within the total allowable error (TE) of 8.6% (sample 1) and 93% for sample 2. These percentages decreased to 70% and 77%, respectively, when using a goal for the allowable TE of 6.0% as criterion. Inter-laboratory CVs, calculated per group of methods, were between 3.3% and 5.0% and between 2.2% and 3.7% for sample 1 and 2, respectively. Tosoh users registered the smaller inter-laboratory CV in sample 1 and Sebia's in sample 2. With regard to trueness, all methods had a mean bias  $\leq 2.8\%$  respect to the target values, with the exception of Tosoh (bias of +6.1% and +5.8%, for samples 1 and 2, respectively).

### INTRODUZIONE

La misura accurata dell'emoglobina glicata (HbA<sub>1c</sub>) nel sangue umano è fondamentale per la sorveglianza del diabete mellito (1, 2) e, a seconda delle raccomandazioni emesse dalle varie società scientifiche, può anche essere utilizzata a fini diagnostici (3). In entrambi i casi sono stati definiti alcuni valori soglia per gli obiettivi glicemici nel trattamento della malattia (53 e 48 mmol/mol) che impongono al professionista di laboratorio di effettuare la misura con la minima inesattezza possibile (4).

Nel 2009, il Gruppo di Studio SIBioC Diabete Mellito, in collaborazione con un Gruppo di Lavoro intersocietario, ha prodotto raccomandazioni che indicano alcune specifiche di qualità analitiche per la misura dell'HbA<sub>1c</sub>, e che espressamente raccomandano di partecipare con regolarità a un programma di VEQ che faccia uso di materiali di provata commutabilità e con valore assegnato dal metodo di riferimento (5). Purtroppo, al momento, sul territorio nazionale non è disponibile alcun tipo di programma con tali caratteristiche. Quelli oggi disponibili impiegano materiali

liofili, di matrice non ben definita, e al momento nessun materiale liofilo si è dimostrato perfettamente commutabile (6).

In uno studio pilota effettuato alla fine del 2013 (7), abbiamo dimostrato tuttavia che è possibile, utilizzando campioni di sangue fresco e un sistema veloce e sicuro di consegna del campione, eseguire una VEQ per l'HbA<sub>1c</sub> che permetta ai partecipanti di analizzare i campioni di sangue intero non trattato entro massimo 4 giorni dalla raccolta.

In questo documento riportiamo i risultati ottenuti in uno studio effettuato nel 2014, che ha riprodotto su scala più ampia lo studio pilota prima citato, coinvolgendo un numero significativo di laboratori italiani, sparsi su tutto il territorio nazionale. Gli obiettivi che lo studio si prefiggeva di raggiungere erano due. Innanzitutto, verificare quale potesse essere il grado di allineamento delle metodiche per l'HbA<sub>1c</sub> in un gruppo rappresentativo di laboratori italiani, valutandone le prestazioni in base ai traguardi per l'errore totale (ET) ricavati con criteri obiettivi. In seconda istanza, ottenere una stima dell'inesattezza delle principali metodiche analitiche,

Corrispondenza a: Andrea Mosca, Dipartimento di Fisiopatologia medico-chirurgica e dei trapianti, Via Fratelli Cervi 93, 20090 Segrate (MI). Tel. 0250330422, Fax 0299987559, E-mail [andrea.mosca@unimi.it](mailto:andrea.mosca@unimi.it)

Ricevuto: 12.06.2015

Revisionato: 09.07.2015

Accettato: 09.07.2015

quando confrontate con il metodo di riferimento IFCC.

## MATERIALI E METODI

### Arruolamento dei partecipanti

La prima campagna di informazione riguardo allo studio era stata effettuata su una base di 207 laboratori di analisi, che avevano risposto a un precedente questionario sulla standardizzazione dell'HbA<sub>1c</sub> (8). Questo gruppo era già ben rappresentativo delle principali metodiche analitiche attualmente in uso ed era ben distribuito su tutto il territorio nazionale. Un'ulteriore campagna di sensibilizzazione allo studio è stata fatta in collaborazione con le principali aziende diagnostiche, al fine di raggiungere una numerosità adeguata e il più possibile bilanciata degli utenti delle diverse metodiche. Subito dopo l'estate 2014 era inviato un promemoria che allertava in merito al possibile arrivo dei campioni verso la fine di novembre. Contemporaneamente i professionisti di laboratorio venivano invitati a tenere ben sotto controllo i loro metodi di analisi raccogliendo con cura i risultati dei programmi di CQI. Nel modulo per la raccolta dei risultati, infatti, veniva anche chiesto di fornire una stima dell'imprecisione della metodica mediante i CV valutati nel mese precedente allo studio, a due diverse concentrazioni di HbA<sub>1c</sub>.

### Preparazione dei materiali e spedizione

Sono state raccolte due donazioni singole di ~250 mL cad (da un soggetto in buono stato di salute e da un soggetto con diabete mellito di tipo 2 ben compensato) in sacche per uso trasfusionale contenenti K<sub>2</sub>EDTA in concentrazione finale di 1,8 g/L. Da ogni sacca sono state preparate aliquote di 500 µL di sangue intero, che sono state spedite mediante corriere il giorno 1 dicembre 2014, con le stesse modalità dello studio pilota precedentemente effettuato (7). La raccolta dei campioni è stata effettuata previo consenso informato, ottemperando alle disposizioni di carattere etico del centro ospedaliero olandese dove questa è stata effettuata. Il materiale biologico è stato conservato a +4 °C durante le operazioni di preparazione, fino al momento della spedizione.

### Assegnazione del valore "target" di HbA<sub>1c</sub>

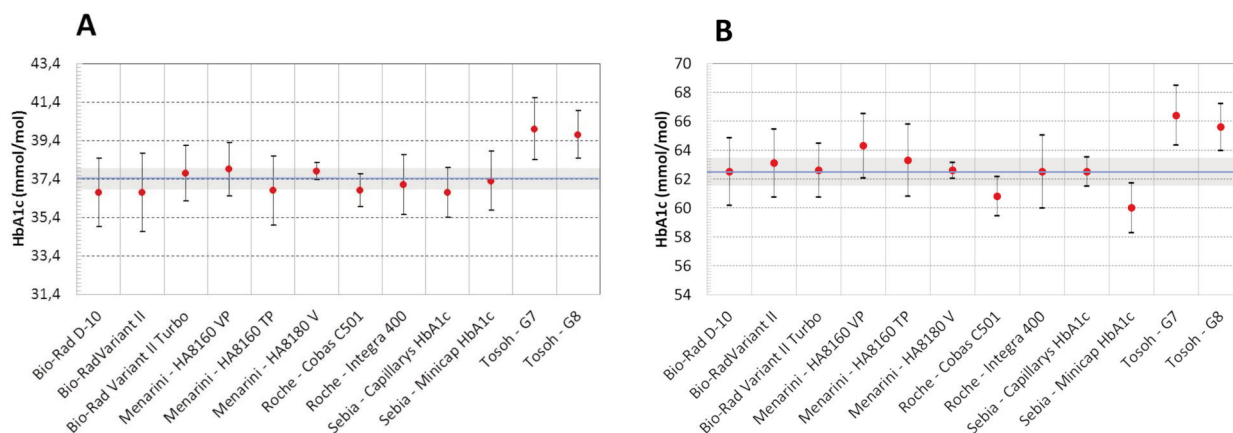
Il valore di HbA<sub>1c</sub> ai campioni è stato assegnato con metodo di riferimento IFCC effettuato nella versione HPLC-elettroforesi capillare (9), su aliquote degli stessi campioni spediti ai partecipanti, presso il laboratorio di riferimento del Centro Interdipartimentale per la Riferibilità Metrologica in Medicina di Laboratorio (CIRME) dell'Università degli Studi di Milano, accreditato secondo gli standard ISO 17025 e ISO 15195 e presente nel "database" del "Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM) (10).

In breve, dopo la rimozione del plasma, il lisato eritrocitario preparato per lisi ipotonica degli eritrociti lavati è stato sottoposto a digestione proteolitica mediante endoproteasi Glu-C, grado sequenza (Roche

Diagnostics, cod. 11047817001). La digestione è stata condotta a 37 °C per 19 ore con un rapporto in peso tra emoglobina ed enzima pari a 100/1 ed è stata effettuata in duplicato per ogni campione. In seguito alla digestione sono generati una serie di peptidi, tra cui gli esapeptidi ammino-terminali glicato e non glicato delle catene β rilasciati, rispettivamente, dall'HbA<sub>1c</sub> e dall'HbA<sub>0</sub>. La miscela di peptidi ottenuta dopo digestione è stata separata in HPLC (Kontron Instruments) in fase inversa, utilizzando una colonna C18 (Shiseido, Capcell Pak UG120, 5 µm, 4,6x150 mm) e come eluente acido trifluoroacetico 0,8% (vol:vol) in gradiente di acetoneitrile. Il picco contenente gli esapeptidi glicato e non glicato è stato raccolto e sottoposto a un'ulteriore separazione in elettroforesi capillare (ProteomeLab PA800, Beckman Coulter), mediante la quale gli esapeptidi sono stati completamente risolti e quantificati. La separazione è stata effettuata a 18 kV per 30 min, in tampone fosfato di sodio 100 mmol/L, pH 2,5, alla temperatura di 25 °C, utilizzando un capillare di silice non rivestito con diametro interno di 75 µm e lunghezza pari a 77 cm (Beckman Coulter, cod. 338473). La concentrazione di HbA<sub>1c</sub> è stata quindi calcolata dal rapporto relativo delle abbondanze dei due esapeptidi, sulla base della curva di calibrazione elaborata dall'analisi dei calibratori. Per la calibrazione del metodo sono state utilizzate miscele di HbA<sub>0</sub> e HbA<sub>1c</sub> altamente purificate (lotto pcal 2012, ERL/MCA Laboratory, Winterswijk, The Netherlands), che sono state sottoposte allo stesso procedimento di digestione e separazione mediante HPLC-elettroforesi capillare seguito per il processamento dei campioni. Ogni frazione separata in HPLC è stata analizzata in triplicato in elettroforesi capillare, per un totale di 6 misure per campione (misure in triplicato delle due aliquote digerite). Per ottenere il valore "target" si è calcolata la media delle 6 misure. Per quanto riguarda l'incertezza, questa è stata calcolata come incertezza tipo composta ("combined standard uncertainty"), tenendo conto dell'imprecisione della misura, dell'incertezza del valore assegnato ai calibratori da parte del coordinatore del "network" IFCC dei laboratori di riferimento per HbA<sub>1c</sub> e di un'incertezza fissa stimata dall'esperienza del laboratorio, secondo la formula  $(CV^2 + uSRM^2 + uS^2)^{1/2}$ , dove CV indica l'incertezza relativa stimata dal dato di ripetibilità della misura, uSRM l'incertezza del valore assegnato ai calibratori (0,52%) e uS l'incertezza fissa (0,29%). Dall'incertezza composta è stata infine calcolata l'incertezza espansa ("expanded uncertainty") usando un fattore di copertura di 2 (pari a un livello di confidenza del 95%).

### Raccolta dei risultati ed elaborazioni

Sono stati calcolati media generale, DS e CV di tutti i risultati, e medie, DS e CV dei singoli gruppi omogenei (risultati ottenuti con sistemi analitici della stessa azienda). Dal calcolo delle medie sono stati esclusi, perché considerati aberranti, i risultati al di fuori delle medie ±3 DS. L'eliminazione degli "outliers" era di tipo iterativo.



**Figura 1.** Distribuzione dei valori medi dei gruppi di metodiche analitiche rispetto al valore assegnato per i materiali di VEQ analizzati. L'area grigia indica l'incertezza attorno al valore bersaglio (linea continua in azzurro) e i valori sono rappresentati come medie  $\pm$  DS. Non sono rappresentati i risultati delle metodiche utilizzate da due o meno laboratori. A) Campione a concentrazione fisiologica di HbA<sub>1c</sub>: valore "target"  $\pm$  incertezza espansa, 37,4 $\pm$ 0,57 mmol/mol. B) Campione a concentrazione patologica di HbA<sub>1c</sub>: valore "target"  $\pm$  incertezza espansa, 62,0 $\pm$ 0,91 mmol/mol.

Per ogni risultato è stato calcolato l'errore della misura come scarto % dal valore "target" ottenuto con metodo di riferimento. L'errore ottenuto è stato confrontato con il massimo ET accettabile (ETa), posto pari a 8,6%, come definito dal Gruppo di Lavoro A<sub>1c</sub> Delegati (GLAD) (5), e anche in base al traguardo di ETa del 6%, come successivamente proposto da Braga e Panteghini (11).

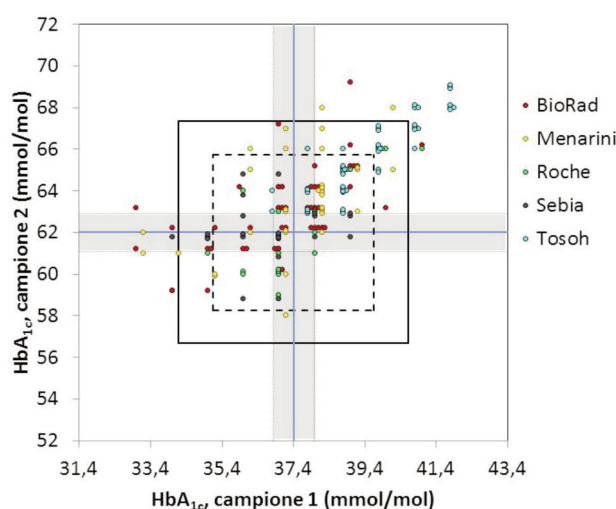
Le elaborazioni sono state effettuate con Microsoft Excel 2010.

**RISULTATI**

In seguito alla campagna informativa, sono state raccolte 206 adesioni al programma. I campioni di sangue sono stati spediti nei primi due giorni di dicembre 2014 e i risultati raccolti entro una settimana dalla spedizione. Sono state ottenute risposte da 193 laboratori (93,7% sul totale degli invii).

La Figura 1 riporta i principali risultati ottenuti raggruppati per tipologie di metodiche analitiche, rispetto ai valori "target". I valori bersaglio di HbA<sub>1c</sub> ottenuti per ciascuno dei due campioni erano 37,4 e 62,0 mmol/mol, rispettivamente per il campione 1 e 2. Le relative incertezze espansive erano 0,57 e 0,91 mmol/mol, rispettivamente. Si osserva che per le metodiche Tosoh G7 e G8 i valori medi e una quota >70% dei risultati ( $\pm$ 1SD) erano sempre significativamente più alti rispetto ai valori bersaglio.

La Figura 2 presenta i risultati riportati da tutti i partecipanti sotto forma di Youden plot. Da quest'analisi si evidenzia come non vi sia un'apparente differenza nella capacità di rispettare il limite di prestazione desiderabile per entrambi i campioni in base a differenti principi analitici. Infatti, sia il metodo immunochimico che quello in elettroforesi capillare sembrano, pur nella disparità di numero di utenti, fornire le medesime



**Figura 2.** Youden plot: i risultati ottenuti dai partecipanti con i diversi sistemi analitici sono rappresentati con colori diversi. Le linee continue blu rappresentano i valori bersaglio e l'area grigia ne indica l'incertezza; quelle tratteggiate il limite di errore totale accettabile (ETa) del 6%; quelle nere continue il limite di ETa del 8,6%.

prestazioni rispetto a due sistemi in HPLC (BioRad e Menarini), mentre solo una parte di utenti del terzo metodo in HPLC (Tosoh) offre misure entro i due traguardi di ETa.

La Tabella 1 riporta, con maggiori dettagli, i risultati delle elaborazioni ottenute raggruppando i dati in base alle differenti tipologie di sistemi analitici. Viene anche riportata la percentuale di laboratori che sono stati in grado di soddisfare il traguardo dell'ETa. 84% dei laboratori forniva una misura di HbA<sub>1c</sub> adeguata rispetto al traguardo di ETa = 8,6% sul campione 1 e 93% per il

**Tabella 1**

Risultati dello studio raggruppati per metodica e per strumenti

Metodi e strumenti	Campione 1				Campione 2							
	No. (outlier)	Media (mmol/mol)	DS (mmol/mol)	CV (%)	No. (%) entro ETa 8,6%	No. (%) entro ETa 6,0%	No. (%) (outlier)	Media (mmol/mol)	DS (mmol/mol)	CV %	No. (%) entro ETa 8,6%	No. (%) entro ETa 6,0%
Abbott Architect c4000	1 (0)	37,0	--	--	1 (100)	1 (100)	1 (0)	63,0	--	--	1 (0)	1 (100)
B-Analyst	1 (0)	37,0	--	--	1 (100)	1 (100)	1 (0)	63,0	--	--	1 (0)	1 (100)
Bio-Rad D-10	11 (2)	36,7	1,79	4,9	9 (82)	9 (82)	11 (2)	62,5	2,34	3,7	11 (100)	10 (91)
Bio-Rad Variant II	25 (1)	36,7	2,03	5,5	21 (84)	19 (76)	25 (1)	63,1	2,35	3,7	23 (92)	22 (88)
Bio-Rad Variant II Turbo	14(0)	37,7	1,44	3,8	13 (93)	12 (86)	14 (0)	62,6	1,86	3,0	14 (100)	13 (93)
Menarini - HA8160 VP	12 (0)	37,9	1,38	3,6	12 (100)	9 (75)	12 (0)	64,3	2,23	3,5	11 (92)	8 (67)
Menarini - HA8160 TP	20 (0)	36,8	1,80	4,9	17 (85)	17(85)	20 (0)	63,3	2,49	3,9	19 (95)	16 (80)
Menarini - HA8180 V	5 (0)	37,8	0,45	1,2	5 (100)	5 (100)	5 (0)	62,6	0,55	0,9	5 (100)	5 (100)
Roche Cobas c501	11(0)	36,8	0,84	2,3	11 (100)	10 (91)	11 (0)	60,8	1,36	2,2	11 (100)	11 (100)
Roche Integra 400	3 (0)	37,1	1,55	4,2	3 (100)	3 (100)	3 (0)	62,5	2,53	4,0	3 (100)	3 (100)
Roche Modular	2 (0)	40,5	--	--	1 (50)	0 (0)	2 (0)	66,0	--	--	2 (100)	0 (0)
Sebia Capillarys	22 (0)	36,7	1,29	3,5	21 (95)	18 (82)	22 (0)	62,5	1,01	1,6	22 (100)	22 (100)
Sebia Minicap	3 (0)	37,3	1,53	4,1	3 (100)	3 (100)	3 (0)	60,0	1,73	2,9	3 (100)	3 (100)
Tosoh G7	8 (0)	40,0	1,60	4,0	5 (63)	3 (38)	8 (0)	66,4	2,07	3,1	5 (63)	3 (38)
Tosoh G8	49 (0)	39,7	1,24	3,1	35 (71)	25 (51)	49 (0)	65,6	1,63	2,5	42 (86)	25 (51)
Tosoh GX	2 (0)	37,5	--	--	2 (100)	0 (0)	2 (0)	63,0	--	--	2 (100)	2 (100)

ETa, errore totale accettabile.

campione 2. Quando i risultati ottenuti venivano valutati usando come traguardo ETa il 6%, si riscontrava che un numero significativamente inferiore di laboratori era in grado di rispettarlo (70% per il campione 1 e 77% per il campione 2, rispettivamente).

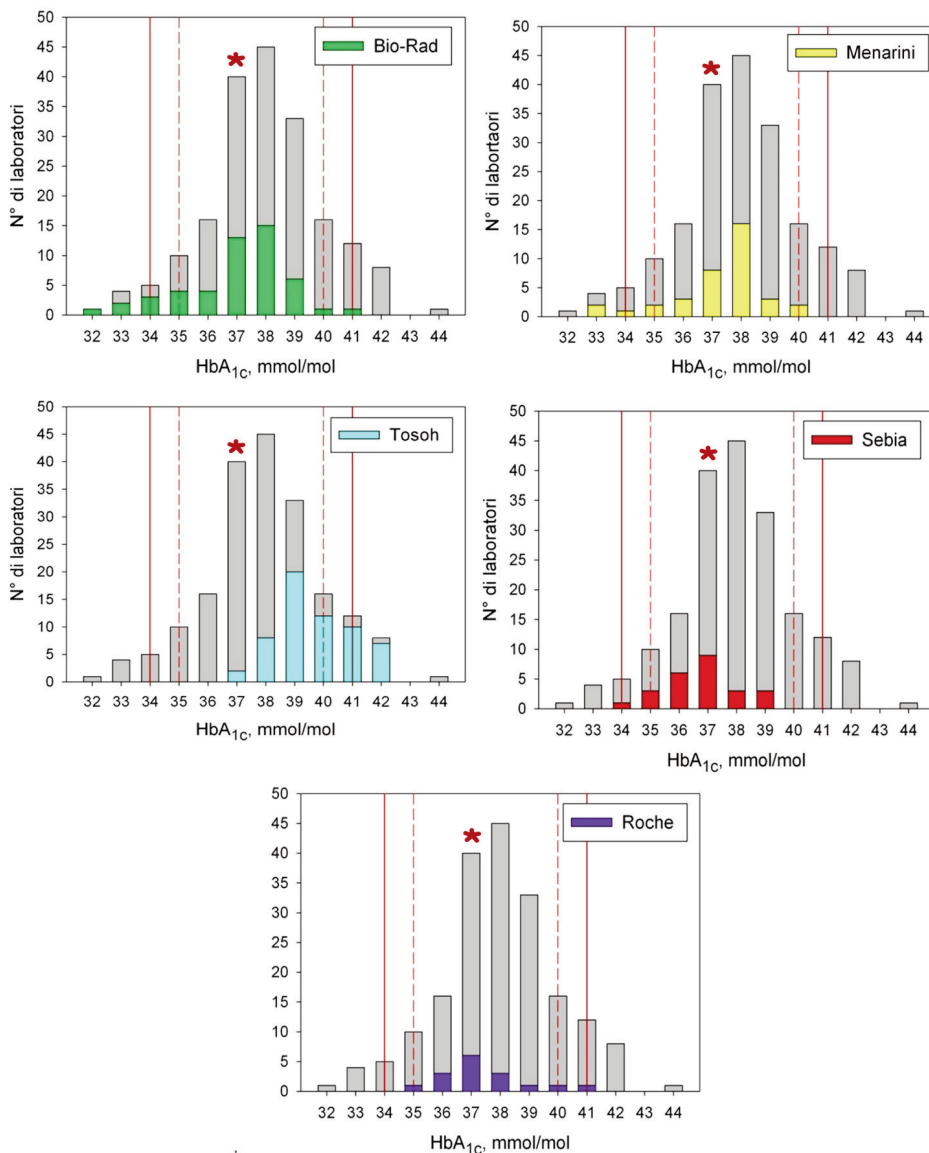
Le distribuzioni dei risultati ottenuti sui due campioni sono infine riportate nelle Figure 3 (campione 1) e 4 (campione 2), dalle quali si può osservare che la distribuzione dei risultati per gruppi di metodiche non è dipendente dalla concentrazione di HbA<sub>1c</sub> del campione.

## DISCUSSIONE

Questo è il primo studio a livello nazionale portato a termine dopo lo studio pilota effettuato nel 1997 (12). A quel tempo avevamo distribuito due campioni di sangue liofilizzato a 117 laboratori, dato che non era stato possibile spedire sangue fresco, fondamentalmente per motivi di costi. I risultati ottenuti avevano evidenziato una variabilità globale di ~16% sul campione a concentrazione fisiologica di HbA<sub>1c</sub> e ~15% sul campione a concentrazione elevata. I dati raccolti e presentati ora dimostrano dunque che la variabilità globale è molto diminuita in questi anni, anche se un giudizio accurato non può prescindere dalla considerazione che molti dei partecipanti attuali non sono i medesimi del primo studio, che le metodiche sono cambiate nel corso di questi anni e che i materiali allora distribuiti erano liofilizzati e quindi non commutabili.

Volendo effettuare un paragone a livello internazionale, i nostri dati ben assomigliano a quelli raccolti nello stesso periodo (fine del 2014) dall'esercizio interlaboratorio statunitense del "College of American Pathologists" ("CAP") (13). Anche in questo esercizio venivano distribuiti campioni di sangue umano fresco ma, a differenza del nostro studio, non erano stati assegnati valori "target" di HbA<sub>1c</sub> mediante il metodo di riferimento IFCC e il traguardo di ETa era fissato al 6%. I dati del CAP relativi ai campioni GH2-01 (HbA<sub>1c</sub> 48 mmol/mol) e GH2-03 (HbA<sub>1c</sub> 82 mmol/mol) dimostravano CV interlaboratorio compresi tra 1,4% e 4,7% e tra 0,5% e 5,6%, rispettivamente. Per quanto riguarda il raggiungimento dell'ETa, 88,8% dei laboratori americani lo raggiungeva sul campione GH2-01 e 94,2% sul campione GH2-03. Il confronto è solo orientativo, anche in considerazione del fatto che negli Stati Uniti usano esprimere la HbA<sub>1c</sub> in unità % e che i traguardi analitici variano a seconda delle unità di misura, come dimostrato da Weykamp et al. (14).

Dalla Tabella 1 e dalla Figura 2 si può osservare per il campione 1 una dispersione abbastanza ampia dei dati, con laboratori che riportano risultati sia al di sopra che al di sotto dell'ETa 8,6%, ma con una media complessiva che resta spesso entro l'ambito di incertezza attorno al valore bersaglio (Figura 1). Nel caso del campione 2 invece si osserva uno spostamento dell'insieme dei risultati verso l'alto e infatti la media complessiva (63,7 mmol/mol) risulta al di sopra del

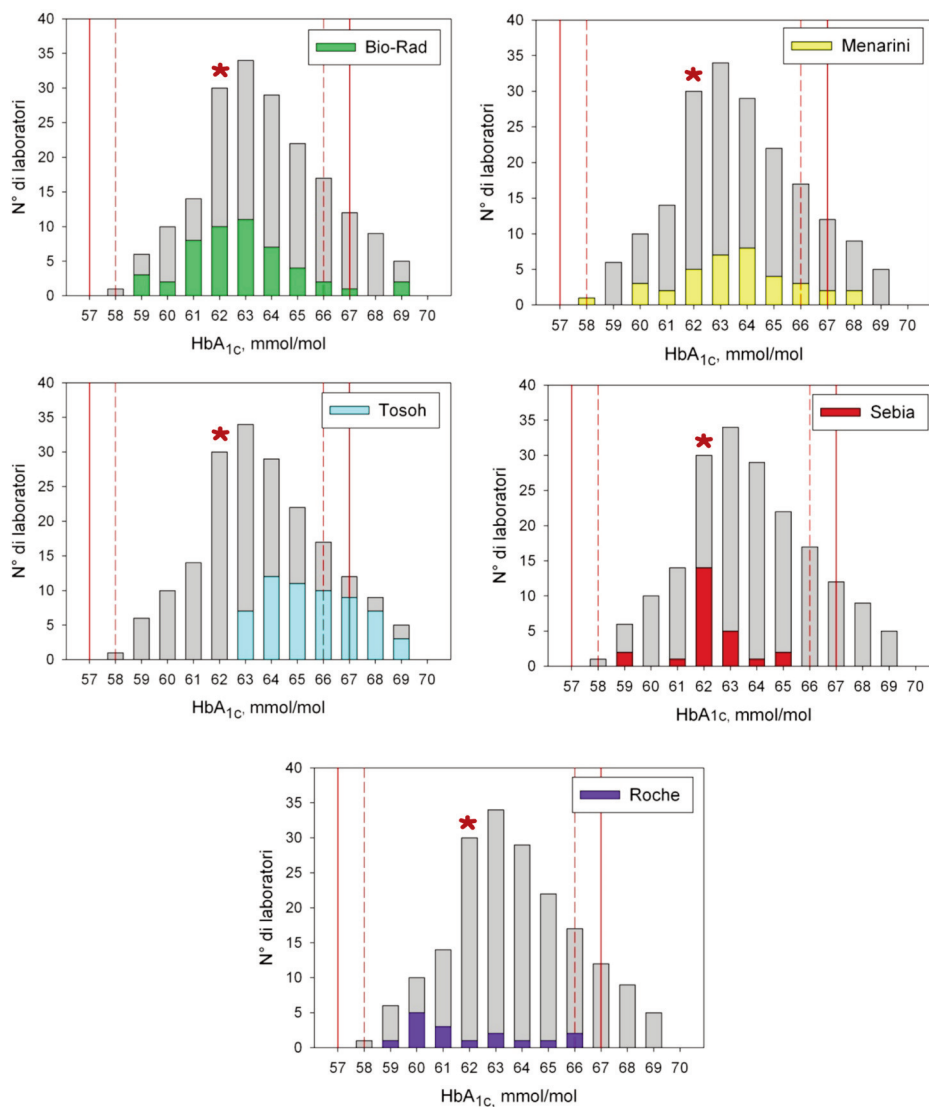


**Figura 3**  
 Distribuzione dei risultati sul campione a concentrazione fisiologica di HbA<sub>1c</sub> (campione 1). Per ogni gruppo di metodiche sono riportate le relative distribuzioni dei risultati ottenuti (in colore) rispetto alla distribuzione globale (in grigio). L'asterisco indica il valore bersaglio, le linee i limiti calcolati sulla base del traguardo dell'errore totale (linea continua: ETa=8,6%; linea tratteggiata: ETa=6,0%).

valore bersaglio del campione (62,0±0,91 mmol/mol). Nessun laboratorio riporta per questo campione risultati inferiori oltre l'ETa di 8,6% e solo un laboratorio presenta un ET >-6%; al contrario i laboratori che riportano risultati con ET >+8,6% sono 13 e molti di più quelli che non rispettano il limite del +6%. 10 laboratori (5,2%) danno risultati al di sopra dell'ETa 8,6% per entrambi i campioni e il numero sale a 31 (16%) se si utilizza l'ETa del 6%. Si può osservare come gli utilizzatori Tosoh abbiano fornito risultati sempre al di sopra del valore bersaglio per il campione 2 (Figure 3 e 4) e di conseguenza una significativa percentuale di utilizzatori di questo metodo non ha fornito risultati entro il traguardo di ETa 8,6% (29% degli utenti sul campione 1 e 17% sul campione 2) in accordo anche con i dati del CAP sopracitato, nel

quale pure si evidenziava uno scostamento positivo significativo per questo gruppo di metodiche.

Le elaborazioni che abbiamo effettuato sono state fatte sulla base di un ETa ricavato dalle raccomandazioni che il gruppo GLAD aveva precedentemente emesso (5), tenuto conto della rivalutazione in funzione del passaggio alle unità di misura in mmol/mol. Altri autori hanno successivamente espresso l'opinione che sarebbe più corretto analizzare i risultati usando un ETa più stringente, pari al 6,0% (11). Abbiamo quindi proceduto a elaborare i risultati raccolti utilizzando anche questo traguardo e un confronto tra le due elaborazioni è mostrato nella Tabella 1. Come si può osservare, utilizzando come traguardo di ETa il valore del 6,0% la percentuale di laboratori che rispettano tale limite si



**Figura 4**  
*Distribuzione dei risultati sul campione a concentrazione patologica di HbA<sub>1c</sub> (campione 2). Simbologia come per Fig. 3.*

riduce al 70% sul campione 1 e al 77% sul campione 2. Nel complesso, 125 laboratori su 193 (65%) hanno ottenuto risultati entro  $\pm 6,0\%$  dal valore atteso per entrambi i campioni (area centrale della Figura 2). Nel caso degli utenti Tosoh, solo poco più del 50% riesce a raggiungere questo traguardo di ETa, ma anche percentuali significative degli utenti di altre metodiche dimostrano parimenti di avere bisogno di azioni correttive.

Val qui la pena di sottolineare che solo con studi di VEQ quali quello presentato in questo contributo si può avere una rappresentazione fedele dello stato dell'arte della qualità delle misure dell'HbA<sub>1c</sub> nel nostro Paese. Come recentemente sottolineato (15), miglioramenti significativi si possono sperare solo se tutte le parti interessate (società scientifiche, produttori di diagnostici, professionisti di medicina di laboratorio, organizzatori di

VEQ, enti governativi nazionali e internazionali) agiscono in maniera coordinata per intraprendere azioni correttive in ogni circostanza nella quale una VEQ indichi chiaramente che lo stato dell'arte non è a livello di qualità ottimale, cioè tale da garantire che la misura sia sempre adeguata da permetterne l'utilizzo clinico. Nel contesto nazionale, purtroppo, preoccupa il fatto che, nonostante ampie campagne informative, molte Regioni non hanno ancora implementato in maniera permanente VEQ e che, quindi, molti laboratori non sono vincolati a dimostrare le loro prestazioni analitiche in maniera obiettiva. Inoltre, dai principali organizzatori di VEQ a livello nazionale per HbA<sub>1c</sub> (Azienda Careggi di Firenze, Centro di Ricerca Biomedica di Padova) non abbiamo evidenze che i materiali utilizzati siano esenti da problemi di commutabilità e che il valore venga assegnato mediante metodo di riferimento.

## RINGRAZIAMENTI

Il progetto di ricerca è stato interamente finanziato da SIBioC. Si ringrazia Cas Weykamp (Winterswijk, The Netherlands) per aver raccolto e spedito i campioni di sangue. Si ringraziano vivamente Fabio Agostara (A. Menarini Diagnostici, Firenze), Gianni Bertoli (Bio-Rad Laboratories, Milano), Stefano Frediani (Tosoh Bioscience, Torino), Giovanni Magni (Roche Diagnostici, Monza) e Sauro Maoggi (Sebia Italia, Firenze) per l'aiuto fornito nella fase di arruolamento dei partecipanti. Si ringraziano infine tutti i professionisti di laboratorio che hanno partecipato al programma.

## CONFLITTO DI INTERESSI

Due autori (AC e FC) di questo contributo sono utilizzatori della metodica commercializzata da Sebia Italia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Sacks DB, Arnol D, Bakris GL, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011;57:e1-47.
2. American Diabetes Association. Glycemic targets. *Diabetes Care* 2015;38:S33-40.
3. Lapolla A, Mosca A, Fedele D. The general use of glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes and other categories of glucose intolerance: Still a long way to go. *Nutr Metab Cardiovasc* 2011;21:467-75.
4. Associazione Medici Diabetologi (AMD) - Società Italiana di Diabetologia (SID) - Standard italiani per la cura del diabete mellito 2014; pag. 58. [www.standarditaliani.it](http://www.standarditaliani.it).
5. Mosca A, Branca MT, Carta M, et al. Raccomandazioni per l'implementazione della standardizzazione internazionale della misura dell'emoglobina glicata in Italia. *Biochim Clin* 2009;33:258-61.
6. Mosca A. Considerazioni sull'implementazione a livello nazionale delle raccomandazioni per la standardizzazione della misura dell'emoglobina glicata. *Biochim Clin* 2011;35:36-41.
7. Mosca A, Weykamp C. Feasibility of an EQAS for HbA1c in Italy using fresh blood samples. *Clin Chem Lab Med* 2014;57:e151-3.
8. News SIBioC 9 luglio 2013. [www.sibioc.it/show/news/16](http://www.sibioc.it/show/news/16).
9. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.
10. Infusino I, Braga F, Paleari R, et al. Il "Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine" (JCTLM): una cooperazione internazionale per promuovere la standardizzazione dei risultati in Medicina di Laboratorio. *Biochim Clin* 2011;35:377-81.
11. Braga F, Panteghini M. Standardizzazione della misura e traguardi analitici per l'emoglobina glicata. *Biochim Clin* 2013;37:100-7.
12. Mosca A, Paleari R, Trapolino A, et al. A re-evaluation of glycohemoglobin standardization: the Italian experience with 119 laboratories and 12 methods. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35:243-8.
13. College of American Pathologists. Surveys 2014, GH2-A Hemoglobin A1c. <http://www.ngsp.org/CAP/CAP14a.pdf>.
14. Weykamp CW, Mosca A, Gillery P, et al. The analytical goals for hemoglobin A1c measurement in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program units are different. *Clin Chem* 2011;57:1204-6.
15. Ceriotti F. The role of External Quality Assessment Schemes in monitoring and improving the standardization process. *Clin Chim Acta* 2014;432:77-81.