

Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA_{1c}) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais

Primeira submissão em 20/02/09
Publicado em 20/02/09

Update on glycated hemoglobin (HbA_{1c}) for assessment of glycemic control and the diagnosis of diabetes: clinical and laboratory aspects

Augusto Pimazoni Netto¹, Adagmar Andriolo², Fadlo Fraige Filho³, Marcos Tambascia⁴, Marília de Brito Gomes⁵, Murilo Melo⁶, Nairo Massakazu Sumita⁷, Ruy Lyra⁸, Saulo Cavalcanti⁹

A hemoglobina glicada, também denominada hemoglobina glicosilada ou glico-hemoglobina, é conhecida ainda como HbA_{1c} e, mais recentemente, apenas como A1C. Embora seja utilizada desde 1958 como uma ferramenta de diagnóstico na avaliação do controle glicêmico em pacientes diabéticos, a dosagem da A1C passou a ser cada vez mais empregada e aceita pela comunidade científica após 1993, depois de ter sido validada através dos dois estudos clínicos mais importantes sobre a avaliação do impacto do controle glicêmico sobre as complicações crônicas do diabetes *mellitus* (DM): o Diabetes control and complications trial (DCCT) (1993) e o United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) (1998).

Atualmente, a manutenção do nível de A1C abaixo de 7% é considerada como uma das principais metas no controle do DM. Os dois estudos supramencionados indicaram que as complicações crônicas começam a se desenvolver quando os níveis de A1C estão situados permanentemente acima de 7%. Algumas sociedades médicas adotam, inclusive, metas terapêuticas mais rígidas de 6,5% para os valores de A1C.

O objetivo deste Posicionamento Oficial 2009 é promover uma atualização sobre o papel da A1C na avaliação do controle glicêmico e no diagnóstico do DM, abordando aspectos clínicos e laboratoriais sobre esse importante recurso diagnóstico. Visa, também, definir recomendações de padronização de métodos laboratoriais devidamente validados, bem como discutir os métodos alternativos que possam ser utilizados na prática laboratorial diária para a avaliação desse importante parâmetro diagnóstico.

1. Coordenador do Grupo de Educação e Controle do Diabetes (GECD) do Centro Integrado de Hipertensão e Metabologia Cardiovascular (CIHMCV) do Hospital do Rim e Hipertensão (HRH) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP); coordenador do Projeto de Posicionamentos Oficiais da Sociedade Brasileira de Diabete/Medicina Laboratorial (SBD/ML); consultor para projetos de educação e controle do diabetes.

2. Professor livre-docente de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial da Escola Paulista de Medicina (EPM) da UNIFESP.

3. Professor titular de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC (FMABC); presidente da Federação Nacional das Associações e Entidades de Diabetes (FENAD) e da Associação Nacional de Assistência ao Diabético (ANAD).

4. Chefe da disciplina de Endocrinologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas (FCM/UNICAMP); presidente do Departamento de Diabetes da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM); ex-presidente da SBD/ML.

5. Professora adjunta da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ); atual presidente da SBD/ML (2008-2009).

6. Médico patologista clínico; professor assistente do Departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP); diretor de comunicações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (SBPC/ML); diretor da World Association of Societies of Pathology and Laboratory Medicine (WASPALM); diretor de Patrimônio e Finanças da Associação Paulista de Medicina (APM); diretor médico-científico do Total Laboratórios.

7. Professor assistente doutor da disciplina de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP); diretor técnico do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas (DLC/HC) da FMUSP; assessor médico da área de Bioquímica Clínica do Fleury – Medicina e Saúde.

8. Professor de endocrinologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco (FCM/UPE); atual presidente da SBEM.

9. Professor emérito da disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais (FCMMG); presidente do Departamento de Diabetes da SBEM; vice-presidente da SBD.

Os autores participaram do "Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada (A1C)". Este trabalho é um posicionamento oficial assumido pelas seguintes sociedades: Sociedade Brasileira de Diabete (SBD), Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e Federação Nacional das Associações e Entidades de Diabetes (FENAD).

Aspectos clínicos

Conceito de hemoglobina glicada

O termo genérico “hemoglobina glicada” (A1C) refere-se a um conjunto de substâncias formado com base em reações entre a hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares. O termo “hemoglobina glicosilada” tem sido erroneamente utilizado como sinônimo de A1C. O processo de “glicação” de proteínas envolve uma ligação não enzimática e permanente com açúcares redutores como a glicose, ao contrário do processo de “glicosilação”, que envolve uma ligação enzimática e instável⁽¹⁶⁾.

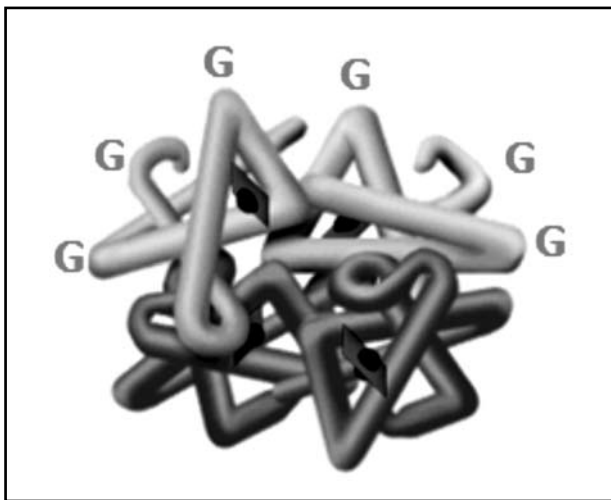


Figura 1 – Moléculas de glicose ligadas à molécula de hemoglobina, formando a hemoglobina glicada

A HbA é a forma principal e nativa da hemoglobina (Hb), sendo que a HbA₀ é o principal componente da HbA. Na prática, esta corresponde à chamada fração não-glicada da HbA. Por outro lado, a HbA₁ total corresponde a formas de HbA carregadas mais negativamente devido à adição de glicose e outros carboidratos.

Existem vários subtipos de HbA₁ cromatograficamente distintos, tais como HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b} e HbA_{1c}. Desses todos, a fração HbA_{1c}, ou apenas A1C, é a que se refere à hemoglobina glicada propriamente dita, cujo terminal valina da cadeia beta está ligado à glicose por meio de uma ligação estável e irreversível.

No decorrer dos anos ou das décadas, a hiperglicemia prolongada promove o desenvolvimento de lesões orgânicas extensas e irreversíveis, afetando os olhos, os rins, os nervos, os vasos grandes e pequenos, assim como a coagulação sanguínea. Os níveis de glicose sanguínea persistentemente elevados são tóxicos ao organismo por três

mecanismos diferentes: mediante a promoção da glicação de proteínas, pela hiperosmolalidade e pelo aumento dos níveis de sorbitol dentro da célula, conforme apresentado na **Figura 3**⁽⁹⁾.

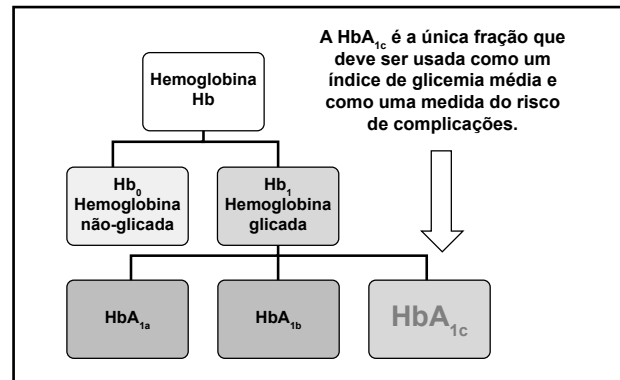


Figura 2 – As diferentes frações da hemoglobina

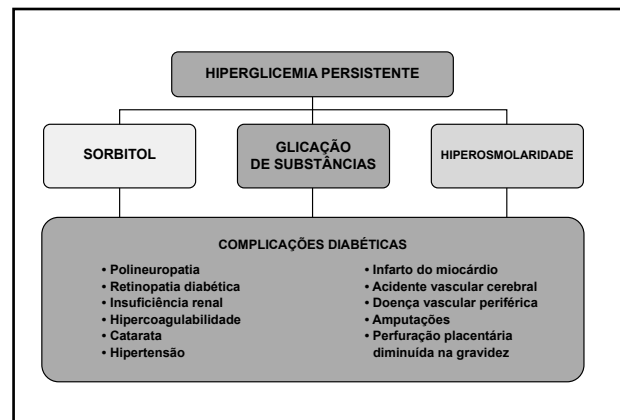


Figura 3 – Mecanismos de desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes (adaptado de *Tests of Glycemia in Diabetes – Position Statement*. American Diabetes Association. *Diabetes Care*, v. 27, p. S91-3, 2004)

Implicações clínicas dos níveis elevados de hemoglobina glicada

A A1C é um componente menor da Hb, sendo encontrada em indivíduos adultos não-diabéticos em uma proporção de 1% a 4% dos indivíduos normais. Na prática, os valores normais de referência vão de 4% a 6%. Níveis de A1C acima de 7% estão associados a um risco progressivamente maior de complicações crônicas. Por isso, o conceito atual de tratamento do diabetes *mellitus* (DM) define a meta de 7% (ou de 6,5%, de acordo com algumas sociedades médicas) como limite superior acima do qual está indicada a revisão do esquema terapêutico em vigor. As **Figuras 4** e **5** mostram o impacto do mau controle glicêmico sobre o risco relativo de complicações microvasculares no Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) e do risco de

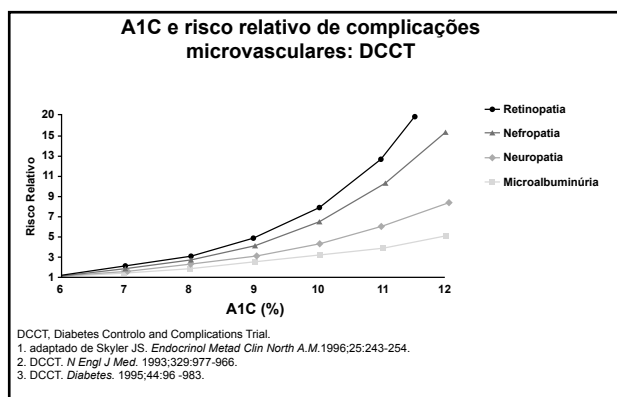


Figura 4 – Hemoglobina glicada e risco relativo de complicações microvasculares: DCCT(3)

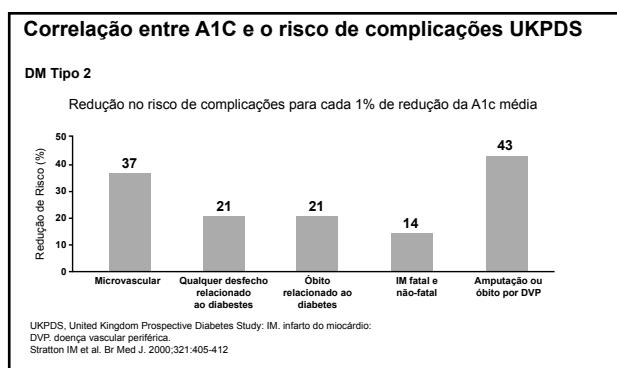


Figura 5 – Hemoglobina glicada e risco relativo de complicações micro e macrovasculares: UKPDS(4, 5)

complicações micro e macrovasculares no United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)(7, 15).

Testes diagnósticos baseados na glicação de proteínas

O processo de glicação de proteínas não se restringe apenas à ligação da glicose com a hemoglobina, formando a hemoglobina glicada. Muito pelo contrário, esse processo estende-se, praticamente, a muitas proteínas do organismo, contribuindo para a geração dos chamados produtos finais da glicação avançada (Advanced Glycation End products [AGEs]), os quais desempenham importante papel no aumento do risco das complicações crônicas do DM.

Do ponto de vista de recursos laboratoriais de avaliação do controle da glicemia, a glicação da albumina é outro processo decorrente da glicação das proteínas, gerando a chamada "albumina glicada", analito considerado o melhor marcador do controle glicêmico do que a A1C, uma vez que a glicação da albumina não é afetada pela alteração no tempo de sobrevivência das hemácias, como acontece no teste de A1C, o qual pode ser profundamente influenciado pela presença de processos hemolíticos e de

hemoglobinas anormais. Alguns autores consideram que o uso da albumina glicada está especialmente indicado a pacientes com DM submetidos à hemodiálise. Entretanto, deve-se ressaltar que os níveis ideais de albumina glicada ainda não foram definitivamente estabelecidos e que os resultados desse teste podem ser influenciados pela presença de proteinúria maciça, doença intestinal perdedora de proteínas, ou pelo tratamento com diálise peritoneal (DP)(1). O teste de albumina glicada reflete a média dos níveis glicêmicos das últimas duas a três semanas, enquanto o teste de A1C reflete a média dos níveis glicêmicos dos últimos dois a quatro meses. Não é um teste regularmente disponível na prática laboratorial diária.

O teste da frutossamina tem também como base a glicação de proteínas, sendo resultante da interação da glicose plasmática e a lisina, presente na molécula de albumina e de outras proteínas. É mais comumente utilizado do que o teste de albumina glicada, muito embora não seja facilmente disponível na prática laboratorial diária. Como a albumina, maior componente da frutossamina, tem meia-vida curta, cerca de duas a três semanas, o teste da frutossamina reflete o controle glicêmico de curto prazo. A utilidade clínica do teste de frutossamina não está bem estabelecida, sendo esse recurso, geralmente, recomendado em situações nas quais o teste de A1C apresente algum problema. Além disso, não há estudos demonstrando a utilidade do teste como marcador do desenvolvimento de complicações relacionadas com o DM(2).

Correlação entre o nível de A1C e os níveis médios de glicose sanguínea

O DCCT(7, 15) forneceu a validação inicial da A1C como uma ferramenta de prognóstico para as complicações crônicas e, também, uma padronização do método laboratorial.

Com base nos estudos DCCT e UKPDS(1, 15), ficou estabelecido que os níveis de A1C acima de 7% estão associados ao risco maior de complicações crônicas. Por esta razão, o conceito de tratamento por objetivos define 7% como o limite superior do valor aceitável para um paciente com DM bem controlado. Mais recentemente, a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) estabeleceu a meta mais rígida de A1C menor que 6,5% para caracterização do bom controle glicêmico(13).

Em agosto de 2008 foi publicado um trabalho de revisão dos valores de correspondência entre níveis de A1C e respectivos níveis de glicemia, com base nos achados do estudo A1C-Derived Average Glucose Study Group (ADAG),

revisando os valores inicialmente indicados pelo estudo DCCT⁽¹²⁾, conforme mostra a **Tabela 1**.

| Nível de A1C (%) | Correspondência entre níveis de A1C e níveis médios de glicemia (mg/dl) | |
|------------------|---|-------------|
| | Estudo DCCT | Estudo ADAG |
| 4 | 65 | 70 |
| 5 | 100 | 98 |
| 6 | 135 | 126 |
| 6,5 (meta SBD) | 152 | 140 |
| 7 (meta ADA) | 170 | 154 |
| 8 | 205 | 182 |
| 9 | 240 | 211 |
| 10 | 275 | 239 |
| 11 | 310 | 267 |
| 12 | 345 | 295 |

Nathan, D. M. et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1-6.
 DCCT: Diabetes Control and Complications Trial; ADAG: Derived Average Glucose Study Group; SBD: Sociedade Brasileira de Diabetes; ADA: American Diabetes Association.

Com base nos resultados do estudo ADAG, a American Diabetes Association (ADA), a European Association for the Study of Diabetes (EASD) e a International Diabetes Federation (IDF) lançaram, em junho de 2008, uma intensa campanha de divulgação do novo conceito de glicemia média estimada (GME) como uma nova forma de expressão de resultados em mg/dl para substituir a expressão usual de resultados em termos de percentual de A1C atualmente utilizada⁽¹²⁾. Para facilitar os cálculos de conversão de níveis de A1C para níveis de GME ou desta para valores correspondentes de A1C, a ADA disponibiliza uma calculadora automática no *link* <<http://professional.diabetes.org/glucosecalculator.aspx>>.

Importante

Estudos clínicos publicados em 2008 mostraram que a variabilidade glicêmica, caracterizada pela amplitude de variação dos níveis glicêmicos nos diversos horários do dia, constitui-se em um fator de risco isolado e independente dos níveis médios de glicemia em termos de potencial de risco para a função endotelial, favorecendo as complicações cardiovasculares no paciente diabético^(5, 11). Como a A1C reflete apenas o nível médio da glicemia nos últimos dois a quatro meses, há necessidade de se avaliar, também, o aspecto da variabilidade glicêmica dos dados de glicemia. Os fabricantes de monitores de glicemia oferecem recursos informatizados para a análise dos resultados das glicemias,

fornecendo os valores da glicemia média do período e do desvio padrão da amostra.

O impacto das glicemias mais recentes é maior do que o das “mais antigas” sobre os níveis de A1C (Tabela 2)

Tradicionalmente, a A1C tem sido considerada como representativa da média ponderada global das glicemias médias diárias (incluindo glicemias de jejum e pós-prandial) durante os últimos dois a três meses.

Na verdade, a glicação da hemoglobina ocorre ao longo de todo o período de vida do glóbulo vermelho, que é de, aproximadamente, 120 dias. Porém, dentro destes 120 dias, a glicemia recente é a que mais influencia o valor da A1C.

De fato, os modelos teóricos e os estudos clínicos sugerem que um paciente em controle estável apresentará 50% de sua A1C formada no mês precedente ao exame, 25% no mês anterior a este e os 25% remanescentes no terceiro ou quarto mes antes do exame⁽⁶⁾.

| Impacto das glicemias mais recentes versus as “mais antigas” sobre os níveis de A1C | | | |
|---|---------------|---------------|---------------|
| 1 mês antes | 2 meses antes | 3 meses antes | 4 meses antes |
| 50% | 25% | 25% | |
| ↑ data da coleta de sangue para o teste de A1C | | | |

Adaptada de Sacks, D. B. Hemoglobin variants and hemoglobin A1C analysis: Problem solved? *Clin Chem* 2003; 49: 1245-47.

O impacto de qualquer variação significativa (em sentido ascendente ou descendente) na glicemia média será “diluído” dentro de três ou quatro meses, em termos de níveis de A1C. A glicemia mais recente causará o maior impacto nos níveis de A1C.

Frequência recomendada para a realização dos testes de A1C

A quantidade de glicose ligada à Hg é diretamente proporcional à concentração média de glicose no sangue. Uma vez que os eritrócitos têm um tempo de vida de, aproximadamente, 120 dias, a medida da quantidade de glicose ligada à Hg pode fornecer uma avaliação do controle glicêmico médio no período de 90 a 120 dias antes do exame.

Em virtude dos resultados do exame fornecerem informação retrospectiva sobre dois a quatro meses precedentes, a realização de um teste de A1C a cada três meses fornecerá dados que expressam a glicose sanguínea média no passado recente (dois a quatro meses antes do exame).

Os exames de A1C devem ser realizados regularmente em todos os pacientes com DM. Primeiramente, para documentar o grau de controle glicêmico em sua avaliação inicial e, subsequentemente, como parte do atendimento contínuo do paciente.

Frequência recomendada dos testes de A1C

Os testes de A1C devem ser realizados, pelo menos, duas vezes ao ano para todos os pacientes diabéticos e quatro vezes por ano (a cada três meses) para pacientes que se submeterem a alterações do esquema terapêutico ou que não estejam atingindo os objetivos recomendados com o tratamento vigente⁽³⁾.

Níveis recomendados de A1C em populações especiais

Em crianças e adolescentes⁽³⁾

As metas ideais para a A1C em crianças e adolescentes ainda não estão rigidamente determinadas, diferentemente do que ocorre com os indivíduos adultos. Com o aumento da prevalência do DM nos jovens e o uso crescente da concentração de A1C como indicador do controle da glicemia, é importante o desenvolvimento de níveis de referência e padrões de bom controle para essa faixa etária.

No estabelecimento dos objetivos para um bom controle glicêmico nas crianças e adolescentes, os principais aspectos que devem ser considerados são:

- crescimento e desenvolvimento adequados;
- baixo risco de hipoglicemia (principalmente em crianças com menos de 8 anos, quando o desenvolvimento neurológico ainda não está completo);
- o nível de controle glicêmico na faixa pré-puberal também é importante para prevenir o desenvolvimento futuro de complicações crônicas do DM;
- aumento dos níveis de A1C, que ocorre durante a puberdade.

A frequência de testes de A1C na infância e na adolescência vai depender das disponibilidades locais e do nível de controle alcançado, podendo variar de dois a quatro por ano. É aconselhável que se tenha, pelo menos, uma avaliação de A1C por ano.

A ADA recomenda que as metas de A1C sejam definidas, também, em função dos níveis de glicemia pré-prandial, como mostra a **Tabela 3**.

Em diabéticos idosos⁽⁴⁾

Nos pacientes idosos, o alvo da A1C deve ser individualizado. Os idosos em boas condições clínicas e que apresentam complicações microvasculares são os que, provavelmente, mais se beneficiariam de um controle glicêmico intensivo. No entanto, os riscos de um controle glicêmico intensivo, incluindo hipoglicemia, tratamentos concomitantes múltiplos, interações entre as drogas e os seus efeitos colaterais devem ser considerados na equação do risco-benefício.

Nos idosos já fragilizados, indivíduos com esperança de vida limitada e outros nos quais os riscos do controle glicêmico intensivo são maiores do que os benefícios potenciais, um nível de A1C de 8% pode ser mais apropriado.

Tabela 3 Metas de A1C e de níveis glicêmicos para crianças e adolescentes^(1,2)

| Idade (anos) | Meta de A1C (%) | Metas de glicemia (mg/dl) | | Comentários |
|--------------|-----------------|---------------------------|-----------|--|
| | | pré-prandial | ao deitar | |
| 0 - 6 | entre 7,5 e 8,5 | 100 - 180 | 110 - 200 | • Alto risco e alta vulnerabilidade a hipoglicemias |
| 6 - 12 | < 8 | 90 - 180 | 100 - 180 | • Risco de hipoglicemia e risco relativamente baixo de complicações antes da puberdade |
| 13 - 19 | < 7,5 | 90 - 130 | 90 - 150 | • Risco de hipoglicemia grave • Problemas psicológicos e de desenvolvimento • Meta de < 7% é razoável se puder ser atingida sem risco de hipoglicemias importantes |

Em gestantes com diabetes^(3, 14)

Gestantes com DM apresentam risco aumentado de aborto espontâneo e de má-formação congênita fetal. A magnitude destes riscos depende, principalmente, do grau de controle metabólico do DM no período pré-concepcional e no primeiro trimestre da gestação. A mulher diabética que pretende engravidar deve ser encorajada a atingir o melhor controle metabólico possível antes e durante a gestação. Os níveis de A1C recomendados para minimizar tais riscos também são os menores possíveis, não devendo ultrapassar o limite de 1% acima do valor normal do método. Durante a gestação, a A1C não deve ser usada como parâmetro de avaliação para eventuais alterações da conduta terapêutica devido ao longo período necessário para que os níveis glicêmicos alterados possam se refletir nos níveis de A1C observados. Durante a gravidez, é muito mais importante o controle rígido dos níveis de glicemias de jejum e pós-prandiais do que os dos níveis de A1C.

Tempo para o retorno ao normal dos níveis de A1C depois da normalização dos níveis de glicose sanguínea mediante tratamento adequado

Os níveis de A1C não retornam ao normal imediatamente após a normalização dos níveis de glicose sanguínea, demorando de oito a 10 semanas, aproximadamente, para serem totalmente normalizados⁽⁶⁾, como mostra a **Figura 6**.

Isto significa que, para a avaliação da eficácia do tratamento, os níveis de A1C deverão ser analisados somente após um a dois meses depois do início ou da modificação da terapia. Antes disto, os níveis de A1C não refletirão o verdadeiro efeito da mudança recente do tratamento,

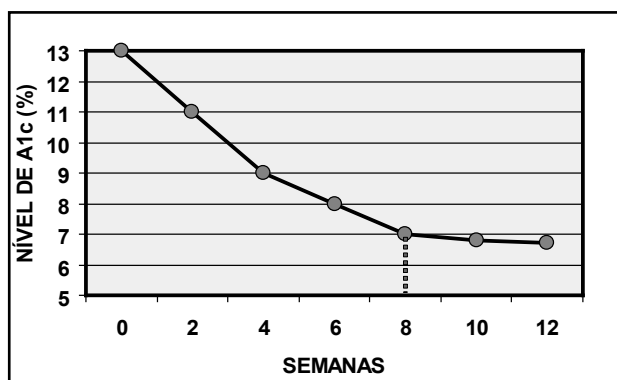


Figura 6 – Taxa de redução de hemoglobina glicada em pacientes bem controlados com tratamento adequado (adaptado de Sacks, D. B. Hemoglobin variants and hemoglobin A1C analysis: problem solved? *Clin Chem*, v. 49, p. 1245-7, 2003).

o qual poderá ser verificado por meio da avaliação dos níveis de glicose sanguínea, que, por sua vez, reage mais rapidamente ao início ou à alteração da terapia.

A meta de < 7% de A1C é aplicável a alguns métodos laboratoriais, mas não a todos os métodos disponíveis

Esta questão é muito importante, pois, na realidade, a meta de se atingir um nível < 7% de A1C foi validada para o método utilizado no DCCT, baseado em diferenças na carga iônica (*High Performance Liquid Chromatography* [HPLC], representado em português pela sigla CLAE [Cromatografia Líquida de Alta Eficiência]).

Com intuito de se evitar problemas na interpretação dos níveis de A1C obtidos pelos diversos métodos laboratoriais, foi criado um projeto especial intitulado *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), disponível no [link](http://www.ngsp.org/prog/index.html) <<http://www.ngsp.org/prog/index.html>>.

Este programa promove a padronização das determinações do teste de A1C, com relação ao método utilizado no DCCT. Ao acessar o [link](http://www.ngsp.org/prog/index.html), escolha a opção "Certified Methods/Labs UPDATED 11/08". Nesta opção, estão disponíveis a lista de métodos certificados pelo NGSP (opção: List of NGSP Certified Methods) e a lista de laboratórios clínicos também certificados pelo NGSP (opção: List of NGSP Certified Laboratories).

Métodos laboratoriais para determinação da A1C

Recomenda-se que os laboratórios clínicos utilizem, preferencialmente, os métodos de ensaio certificados pelo National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) com rastreabilidade de desempenho analítico ao método utilizado no DCCT. Além disso, os laboratórios que dosam a A1C devem participar de programas de ensaios de proficiência implementados por entidades oficiais de patologia clínica e medicina laboratorial.

A hemoglobina glicada como teste de rastreio para o diabetes

Recentemente, tem-se cogitado em utilizar A1C como teste de rastreio ou mesmo de diagnóstico para o DM como um possível substituto do teste de glicemia de jejum e do teste oral de tolerância à glicose (TOTG). Entretanto, os estudos têm demonstrado que a limitação dessa proposta não está relacionada com o fato de que valores altos de A1C indiquem a presença de DM, mas sim ao fato de que um resultado "normal" não exclui

a doença. Em outras palavras, a utilização da A1C no rastreio ou no diagnóstico do DM seria uma opção diagnóstica com especificidade, porém, sem sensibilidade^(8, 10).

Em função dessa restrição, aventou-se a possibilidade da utilização do teste de A1C como complemento da glicemia de jejum, seja para o diagnóstico do DM ou para o rastreio dos pacientes que, efetivamente, necessitariam do TOTG para confirmação do diagnóstico. Se utilizado desta maneira, a especificidade de um valor aumentado de A1C estaria sendo aplicada a uma população já com alto risco de apresentar intolerância à glicose em função de uma glicemia de jejum limítrofe da anormalidade^(8, 10).

Outro aspecto a ser considerado é o custo de realização do teste de A1C, ainda incompatível com sua utilização como teste de rastreio, do ponto de vista de economia da saúde.

O diagnóstico do DM deve obedecer às diretrizes recomendadas, as quais são definidas pelas diversas sociedades de DM ao redor do mundo. Existem regras muito específicas para a interpretação dos níveis glicêmicos, visando diagnosticar-se o DM e as outras condições relacionadas, tais como o pré-diabetes.

Portanto, a avaliação dos níveis glicêmicos em condições específicas é o único método validado para o diagnóstico do DM. Os níveis de A1C ainda não foram validados para o propósito de diagnóstico desta condição.

É claro que um indivíduo que apresente níveis de A1C de

10% ou 11% possivelmente será DM. Mas, mesmo neste caso, para se efetuar o diagnóstico definitivo, deverão ser seguidas as diretrizes recomendadas, com base nos níveis glicêmicos.

Implicações clínicas na interpretação dos resultados do teste de A1C

Tendo em vista a variabilidade dos métodos laboratoriais disponíveis e, conseqüentemente, a ampla faixa de variação de “valores normais”, é absolutamente fundamental que o médico clínico tenha uma noção inteligente dos aspectos laboratoriais do teste de A1C. Somente assim ele poderá esclarecer suas dúvidas junto ao laboratório clínico e, desta forma, acompanhar adequadamente e interpretar corretamente os resultados dos testes de A1C.

Com alguma frequência, os resultados do teste de A1C podem não estar compatíveis com a condição clínica do paciente e/ou com os níveis efetivos de glicemia que o paciente apresenta nos diversos horários do dia. A **Tabela 4** resume as principais condições clínicas que podem interferir no resultado do teste de A1C, dificultando sua correta utilização.

Importante

Para mais detalhes sobre os métodos e as técnicas laboratoriais disponíveis, consultar a parte 2 deste Posicionamento Oficial 2009, que trata dos aspectos laboratoriais da A1C.

Tabela 4 Principais condições clínicas que podem interferir no resultado do teste de A1C

Condições que promovem redução do valor real da A1C em função da diminuição do número de eritrócitos, dos níveis de hemoglobina e do hematócrito

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • anemias hemolíticas de diferentes etiologias; • hemoglobinopatias (podem resultar em valores falsamente elevados ou diminuídos, conforme a metodologia aplicada); • comprometimento da medula óssea por radiação, toxinas, fibrose, tumores; • deficiência nutricional de ácido fólico, vitaminas B₆ e B₁₂; | <ul style="list-style-type: none"> • hipertireoidismo; • queimaduras graves, com perda de líquido proteico. Leucemia; • mieloma múltiplo; • deficiência de eritropoietina secundária a comprometimento renal; • intoxicação por chumbo; • presença de grandes quantidades de vitaminas C e E pode inibir a glicação da hemoglobina. |
|--|---|

Condições que promovem aumento do valor real da A1C

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • presença de hemoglobina carbamylada (hemoglobina quimicamente modificada e resultante da ligação da ureia à hemoglobina), ocorrendo em pacientes com insuficiência renal; • deficiência nutricional de ferro pode provocar aumento significativo (> 2%) nos níveis de A1C; | <ul style="list-style-type: none"> • presença de hemoglobina acetilada (hemoglobina quimicamente modificada e resultante da ligação do salicilato com a hemoglobina), ocorrendo em pacientes em uso de doses elevadas de ácido acetilsalicílico; • condições que promovem aumento do número de glóbulos vermelhos e/ou do valor do hematócrito. |
|--|---|

Aspectos laboratoriais

Recomendações para a determinação da hemoglobina glicada

O papel do laboratório de patologia clínica na determinação da hemoglobina glicada

A patologia clínica, também denominada medicina laboratorial (ML), é uma especialidade médica que visa otimizar a integração clinicolaboratorial. Os patologistas clínicos são médicos capacitados a oferecer aos demais profissionais da saúde mais do que um simples laudo de exame laboratorial, mas também uma consultoria completa, desde questões de ordem técnica até a interpretação do resultado.

O exame laboratorial é um importante instrumento de auxílio ao raciocínio clínico e para a definição da conduta terapêutica, constituindo-se em indicador sensível e objetivo do estado da saúde do paciente. Desta forma, o resultado de um exame laboratorial é uma informação complementar que auxilia na definição do diagnóstico, particularmente, quando este não pode ser esclarecido exclusivamente pelos dados de história clínica e exame físico. Como consequência, os exames laboratoriais são responsáveis por 60% a 70% das decisões médicas⁽⁹⁾. O elevado grau de confiabilidade dos exames de laboratório pode ser creditado, em parte, ao processo de evolução dos métodos laboratoriais e, também, pela incorporação de novas tecnologias, como por exemplo os analisadores totalmente automatizados, os quais possibilitaram a obtenção de resultados com elevado grau de exatidão, reprodutibilidade e rapidez.

Para que um método laboratorial tenha utilidade clínica, este deve preencher alguns requisitos básicos que garantam a confiabilidade dos resultados obtidos em amostras de pacientes. São estes a exatidão, a precisão, a sensibilidade e a especificidade.

A exatidão diz respeito à capacidade do método em apresentar resultados próximos do valor verdadeiro. A avaliação do grau de exatidão de um método em uso no laboratório pode ser feita por meio de um ensaio de comparação interlaboratorial, com um programa de ensaio de proficiência. Este sistema de controle da qualidade interlaboratorial consiste na comparação de resultados observados em uma mesma amostra biológica, analisada simultaneamente por diversos laboratórios, utilizando a mesma metodologia. A avaliação é realizada pelo valor médio de consenso de todos os participantes que utilizam a mesma metodologia. Os laboratórios que conseguem obter resultado igual ou muito próximo

àqueles obtidos pela maioria dos participantes possuem um sistema analítico com nível de exatidão adequado e comparável aos demais laboratórios. Atualmente, boa parte dos laboratórios clínicos no Brasil participa de pelo menos um programa nacional ou internacional de ensaio proficiência. Como exemplos, podemos citar o Programa de Excelência para Laboratórios Clínicos (PELM), da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), e o programa do *College of American Pathologists* (CAP), dos Estados Unidos.

A precisão revela a capacidade do método de, em determinações repetidas em uma mesma amostra, fornecer resultados próximos entre si. O grau de reprodutibilidade de um método é avaliado pelo controle interno da qualidade. Neste caso, o laboratório executa, diariamente, a análise de amostras-controle, de valores conhecidos e dosadas, simultaneamente, com as amostras dos pacientes. Os valores observados não apresentarão, necessariamente, o mesmo valor numérico no decorrer dos dias, porém devem apresentar resultados muito próximos entre si, garantindo que o sistema analítico mantenha bom nível de reprodutibilidade dia após dia.

A sensibilidade de uma prova refere-se à probabilidade de que um resultado seja alterado na presença da doença, isto é, a porcentagem de resultados obtidos com a realização da prova, em uma população constituída apenas por indivíduos afetados com a doença para a qual o teste deve ser aplicado.

A especificidade de uma prova refere-se à probabilidade de que um resultado esteja dentro do intervalo de referência na ausência de doença, isto é, a porcentagem de resultados negativos obtidos com a realização da prova, em uma população constituída de indivíduos que não têm a doença para a qual o teste deve ser aplicado.

Outro conceito importante diz respeito aos valores preditivos positivo e negativo de um teste. O valor preditivo positivo é definido como a probabilidade de um resultado positivo ser verdadeiro, ou seja, representar a presença da doença. Já o valor preditivo negativo refere-se à probabilidade de um resultado negativo também ser verdadeiro, significando ausência de doença.

A história clínica e o exame físico permitem uma estimativa da probabilidade de existência de determinada doença antes da realização de um teste diagnóstico, a chamada Probabilidade Pré-Teste. Utilizando nomogramas, como o existente no site da *Società Italiana Medicina di Laboratorio* (www.simel.it), é possível calcular como o resultado de um teste-diagnóstico, com características

particulares de razão de chance (*likelihood ratio*) afeta a Probabilidade Pré-Teste e permite uma avaliação da Probabilidade Pós-Teste. A abordagem de medicina laboratorial baseada em evidências foi adotada pela SBPC/ML, que traduziu a ferramenta italiana para a língua portuguesa.

A evolução do conhecimento médico obriga o desenvolvimento de novas metodologias e a introdução de novos parâmetros laboratoriais. Neste contexto, o laboratório de Patologia Clínica busca incorporar novos parâmetros ao menu de exames, atendendo à demanda das novas descobertas médicas.

O que é hemoglobina glicada ou A1C?

O termo genérico hemoglobina glicada ou A1C se refere a um conjunto de substâncias formado a partir de reações entre a hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares.

Os componentes glicosilados da hemoglobina (Hb) são reconhecidos porque alguns deles apresentam diferenças de carga elétrica (menos cargas positivas em pH neutro) e migram mais rapidamente que a HbA não-glicada em um campo elétrico. Foram, inicialmente, chamados de “hemoglobinas rápidas”. A mais importante dessas hemoglobinas rápidas, no que concerne ao DM, é a fração A1C (HbA_{1c}), na qual há um resíduo de glicose ligado ao terminal NH₂ (resíduo de valina) de uma ou de ambas as cadeias beta da HbA. Dependendo do método de análise laboratorial, a A1C corresponde a cerca de 3% a 6% da HbA₁ total em pessoas normais, alcançando até 20% ou mais em diabéticos mal controlados^(2, 20).

O processo de formação

A ligação entre a HbA e a glicose é um tipo de glicação não-enzimática, contínua, lenta e irreversível. Entretanto, a primeira fase da reação entre a glicose e a Hb é reversível e origina um composto intermediário denominado pré-A1C, HbA_{1c} lábil ou instável, aldimina ou, ainda, base de Schiff. A segunda fase resulta em um composto estável tipo cetoamina, não mais dissociável, agora denominado de HbA_{1c} ou, simplesmente, A1C⁽²⁰⁾.

A hemácia é livremente permeável à molécula de glicose, sendo que a Hb fica, praticamente, exposta às mesmas concentrações da glicose plasmática. A A1C se acumula dentro das hemácias, apresentando, portanto, uma meia vida dependente da delas⁽²⁰⁾.

As nomenclaturas adotadas por este posicionamento oficial

Os termos “hemoglobina glicada” e “A1C” são os recomendados por esse posicionamento, mas há uma variedade de termos usados no contexto do estudo da glicação da hemoglobina e que podem ou não ter os mesmos significados. Os mais comumente vistos são hemoglobina glicosilada, hemoglobina glucosilada, glicohemoglobina, fração rápida da hemoglobina, HbA_{1c}, A_{1c} e A1C, entre outros⁽²⁰⁾. Chamamos a atenção ao fato de que a denominação mais adequada e bioquimicamente correta é hemoglobina glicada.

O National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), nos Estados Unidos, é a entidade que certifica os métodos laboratoriais rastreáveis com aquele utilizado no estudo do DCCT. Os resultados obtidos utilizando as metodologias certificadas referem-se, especificamente, à fração A1C, sendo indicadas para uso na rotina laboratorial.

O termo glicosilação não deve ser utilizado, pois indica uma reação mediada por um sistema enzimático. Do ponto de vista químico, a formação da A1C baseia-se em um processo de “glicação”, pois a reação é do tipo não-enzimático entre a glicose e a hemoglobina⁽²⁰⁾ sendo, por isso, o termo correto.

No indivíduo normal a fração HbA_{1c} representa aproximadamente 80% da HbA₁ total⁽²⁰⁾. As outras frações da HbA₁ originam-se da ligação de outras moléculas ao aminoácido valina presente na porção N-terminal da cadeia beta da hemoglobina A: A_{1a1} (frutose-1,6-difosfato), A_{1a2} (glicose-6-fosfato) e A_{1b} (ácido pirúvico).

Quando o processo de glicação ocorre em outros pontos da cadeia beta ou da cadeia alfa, pode não ser detectado pelos métodos baseados na diferença de carga elétrica, resultando na fração A₀⁽²⁰⁾. Na **Tabela 1** estão listados os principais termos referentes ao processo de glicação da Hb, bem como as respectivas definições.

Análise laboratorial

Fase pré-analítica

• Variação biológica

Vários estudos sugerem que a variação biológica intraindividual da A1C é desprezível quando não relacionada à glicemia. Quanto à variação biológica interindividual, não ocorrem efeitos clinicamente significativos de idade, gênero e origem étnica; as-

Tabela 1

Nomenclatura

| | |
|---|--|
| HbA | Forma principal e nativa da hemoglobina, que é um tetrâmero formado por duas cadeias alfa e duas cadeias beta. |
| HbA ₀ | Principal componente da HbA, identificado por suas propriedades cromatográficas e de carga elétrica. Pode apresentar algum grau de glicação, contudo insuficiente para afetar as propriedades de mobilidade carga-dependente. Na prática, é considerada a fração não-glicada da HbA. |
| HbA ₁ total | Forma de HbA carregada mais negativamente devido à adição de glicose e outros carboidratos (modificações pós-translacionais). Corresponde à hemoglobina glicada total, a qual não apresenta valor clínico. Os primeiros métodos determinavam o valor da hemoglobina glicada total, em detrimento da fração HbA _{1c} específica. Estas metodologias não são mais recomendadas para a dosagem da A1C. |
| HbA _{1a1} , HbA _{1a2} , HbA _{1b} , HbA _{1c} | Representam as diferentes formas químicas ou as frações da hemoglobina glicada. |
| HbA _{1c} ou A1C | Corresponde à fração da hemoglobina glicada cujo aminoácido valina localizado na porção terminal da cadeia beta da hemoglobina A está ligado à glicose por meio de uma ligação estável e irreversível. Do ponto de vista clínico, é o componente que deve ser avaliado nos portadores de diabetes mellitus. |
| Pré-A1C | Molécula de HbA cujo aminoácido valina localizado na porção terminal da cadeia beta da HbA está ligado à glicose por meio de uma ligação instável e reversível. Alguns métodos podem sofrer interferência desta fração, superestimando o resultado final da A1C. |
| Hemoglobinas rápidas | Sinônimo de A1C. O nome deriva da característica química da molécula de A1C de migrar mais rapidamente na direção do anodo, durante a separação eletroforética, bem como eluir mais rapidamente, na cromatografia, quando comparadas às hemoglobinas não-glicadas. |
| Hemoglobina glicada | Do ponto de vista químico, corresponde a qualquer molécula de hemoglobina ligada à glicose ou a qualquer outro açúcar, sendo a reação não mediada por um sistema enzimático. |

Por este Posicionamento Oficial utilizar-se-á o termo "hemoglobina glicada" como sinônimo de HbA_{1c} ou A1C.

sim como não são descritas variações circadianas e nas diferentes estações do ano nos resultados de A1C⁽²¹⁾ (**Tabela 2**).

• **Interferentes analíticos**

Algumas hipóteses devem ser consideradas quando o resultado da A1C não se correlacionar, adequadamente, com o estado clínico do paciente.

- As doenças que cursam com anemia hemolítica ou estados hemorrágicos podem resultar em valores inapropriadamente diminuídos por encurtarem a meia vida das hemácias ^(4, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 25);

- é importante ressaltar que as situações que interferem na meia vida das hemácias na realidade diminuem sensivelmente o poder diagnóstico da A1C em refletir a média (ponderada) dos níveis progressos de glicose e não devem ser consideradas

Tabela 2 **Variação biológica da hemoglobina glicada**

| | |
|-----------------|------|
| Intraindividual | 3,4% |
| Interindividual | 5,1% |

Fonte: www.westgard.com/biodatabase1.htm. Acesso em novembro de 2008

como interferentes diretos sobre a metodologia utilizada^(10, 11);

- a anemia por carência de ferro, vitamina B₁₂ ou folato pode resultar em valores inapropriadamente elevados da A1C^(4, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 25);

- a presença de grandes quantidades de vitaminas C e E é descrita como fator que pode induzir resultados falsamente diminuídos por inibirem a glicação da hemoglobina^(4, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 25);

- hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, uremia, alcoolismo crônico e ingestão crônica de opiáceos podem interferir em algumas metodologias, produzindo resultados falsamente elevados^(4, 6, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 25, 27);

- hemoglobina quimicamente modificada pode estar presente nos pacientes urêmicos, produzindo um composto denominado hemoglobina carbamylada, resultado da ligação da ureia à Hb. Os pacientes que usam elevadas quantidades de ácido acetilsalicílico (AAS) produzem a hemoglobina acetilada. Ambos os elementos podem interferir na dosagem da A1C, produzindo resultados falsamente elevados^(4, 6, 10, 11, 14, 21, 22, 24, 25, 27);

- a dosagem de A1C em pacientes portadores de hemoglobina variante heterozigótica (exemplos: hemoglobinas C, S, E, D, Fetal, Graz, Sherwood Forest, Padova) resulta valores falsamente elevados ou diminuídos, conforme a metodologia aplicada^(4, 6, 10-12, 14, 18, 21, 22, 24, 25). Alguns métodos, baseados na cromatografia por troca iônica, podem identificar a presença de alguns tipos de hemoglobinas variantes, permitindo uma análise mais criteriosa do resultado. Os métodos que utilizam o princípio do imunoenensaio não são capazes de detectar a presença das diferentes hemoglobinas variantes^(4, 6, 10-12, 14, 18, 21, 22, 24, 25, 27);

- a quantificação da A1C não é aplicável nas hemoglobinopatias homozigóticas, independente da metodologia utilizada, em função da ausência de HbA^(4, 6, 10-12, 14, 18, 21, 22, 24, 25, 27). Esta condição necessita ser rastreada e confirmada pelos métodos usuais para o estudo das hemoglobinopatias^(6, 10, 11). Nestas situações, exames alternativos, tais como frutossamina e albumina glicada, podem ser úteis^(4, 6, 10, 11);

- a base de Schiff, que é a fração lábil da A1C, pode representar importante interferente na dosagem, na dependência do método utilizado. O laboratório deve se certificar da potencial interferência deste composto na metodologia adotada. Para as metodologias afetadas pela fração lábil, deve-se seguir, rigorosamente, as instruções do fabricante para remoção deste interferente^(10, 11, 20, 21).

Atenção: interferentes potenciais

Os laboratórios devem conhecer os efeitos das interferências potenciais na metodologia utilizada, incluindo as hemoglobinas variantes, os derivados quimicamente modificados (hemoglobina carbamylada e acetilada) e outros fatores, como a presença de vitaminas C e E, anemia por deficiência de ferro, vitamina B₁₂ e folato, hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, alcoolismo crônico, ingestão crônica de opiáceos, os quais podem afetar os resultados do teste de A1C.

Ao selecionar o método de ensaio, os laboratórios devem considerar o risco potencial das interferências e a prevalência das moléstias no grupo populacional do paciente avaliado.

Coleta, processamento e conservação das amostras

Preparo do paciente

O paciente não precisa estar em jejum, entretanto resultados mais acurados são obtidos em amostras isentas de turbidez decorrentes da hipertrigliceridemia. Por esta razão, é recomendada a coleta de sangue pelo menos duas horas após a ingestão de alimentos^(10, 11).

Coleta

O sangue pode ser obtido por punção venosa ou por punção capilar. Os tubos devem conter o anticoagulante especificado pelo fabricante (EDTA é o mais usado). Em alguns sistemas, a heparina é aceitável^(10, 11).

Estabilidade

Em geral, o sangue total é estável por uma semana sob refrigeração (2 a 8°C). O sangue total armazenado a -70°C é estável por pelo menos 18 meses^(10, 11, 20).

O armazenamento a -20°C, por longos períodos de tempo, ocasiona o aumento da HbA_{1a+b} e, portanto, não é recomendável^(10, 11, 20).

Processamento das amostras

Instruções detalhadas para o processamento da amostra devem ser fornecidas nas instruções de uso pelo fabricante do conjunto diagnóstico ou sistema analítico. A formação da A1C é precedida pela formação de base de Schiff intermediária, chamada "pré-A1C" ou A1C lábil. Essa base é formada rapidamente no evento de hiperglicemia aguda e interfere com alguns ensaios, principalmente aqueles baseados em carga elétrica^(10, 11, 20). Os laboratórios devem seguir as instruções do fabricante para a remoção dos intermediários lábeis.

Fase analítica

• Padronização da *International Federation for Clinical Chemistry* para dosagem da hemoglobina glicada

A *International Federation for Clinical Chemistry* (IFCC) desenvolveu um método de referência para a dosagem da A1C^(1, 15). Na primeira etapa, a Hb é clivada em seus peptídeos pela enzima endoproteínase Glu-C, e, em uma segunda etapa, os hexapeptídeos N-terminais glicosados e não-glicosados obtidos são separados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC [High performance liquid chromatography]) e, a seguir, quantificados ou por espectrometria de massas com ionização por nebulização elétrica (ESI/MS [electrospray ionization/mass spectrometry]) ou por eletroforese capilar com detecção ultravioleta (UV). Ambos os princípios originam resultados idênticos. Os calibradores consistem de misturas de HbA₀ e HbA_{1c} altamente purificadas. O desempenho analítico do método foi avaliado por uma rede de laboratórios de referência da Europa, dos Estados Unidos e do Japão. Devido à alta especificidade, os resultados obtidos por esse método são menores que os obtidos por metodologias comerciais calibradas contra métodos designados ou comparativos, como o usado no DCCT⁽¹⁵⁾.

Uma equação entre as metodologias IFCC e NGSP foi estabelecida, conforme descrita a seguir⁽¹⁵⁾:

$$\text{NGSP} = (0,915 \times \text{IFCC}) + 2,15$$

Os resultados da A1C obtidos pela metodologia IFCC são 1,5% a 2% mais baixos quando comparados aos resultados dos métodos certificados pelo NGSP^(1, 15).

Até o presente momento o NGSP não adotou o método do IFCC como a referência para fins de rastreabilidade. Assim sendo, o NGSP mantém como método de referência aquele rastreável ao estudo do DCCT.

É importante frisar que, mesmo que o NGSP adote a metodologia proposta pelo IFCC como padrão-ouro para a medida da A1C, todos os métodos atualmente em uso, certificados pelo NGSP, continuam válidos para uso em rotina. Nesta nova condição, os métodos em uso serão mantidos, porém devidamente harmonizados com relação à nova referência. Concomitantemente, conforme proposta da IFCC, os métodos atuais passariam a ser calibrados por meio de padrões sintéticos constituídos por hemoglobina glicada e não-glicada⁽⁵⁾.

• Método utilizado no estudo do DCCT e certificação NGSP

Devido ao impacto positivo que a padronização interlaboratorial dos resultados de A1C representa no cuidado aos pacientes portadores de diabetes *mellitus* (DM), o

American Association for Clinical Chemistry Standards Committee criou o *GHB Standardization Subcommittee*, em abril de 1993. O subcomitê definiu que o método de ensaio usado no estudo do DCCT (HPLC) fosse adotado como método de referência interino até o estabelecimento de um método de referência definitivo. O subcomitê também propôs a padronização dos conjuntos diagnósticos comerciais disponíveis com relação ao método de referência do estudo DCCT, com o uso de amostras de sangue nativas. O *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), nos Estados Unidos, realiza os estudos comparativos entre diferentes metodologias comerciais com o método de referência do estudo DCCT (HPLC). Os métodos certificados pelo NGSP apresentam resultados de A1C equivalentes aos obtidos com o método aplicado no estudo DCCT^(10, 11, 17).

• Critérios para escolha do método adequado na rotina laboratorial

Existem diversas metodologias disponíveis comercialmente para a realização do teste da A1C na rotina laboratorial. Cabe ao laboratório selecionar a metodologia de melhor custo/efetividade, considerando os seguintes aspectos:

- necessidade do registro do conjunto diagnóstico junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA);
- uso de métodos certificados pelo NGSP, recomendado pelo posicionamento oficial;
- se a opção recair por um método não certificado pelo NGSP, este deverá, preferencialmente, dosar a fração HbA_{1c};
- a escolha da metodologia deverá considerar a prevalência, principalmente, das hemoglobinopatias e da insuficiência renal na população atendida pelo laboratório.

Importante

Recomenda-se que os laboratórios clínicos utilizem os métodos certificados pelo NGSP e rastreáveis ao estudo do DCCT. O laboratório deve participar ativa e regularmente de um programa de ensaio de proficiência específico para a A1C.

No *site* do NGSP (www.ngsp.org) estão descritas as informações referentes ao processo de certificação e uma lista, mensalmente atualizada, dos conjuntos diagnósticos comerciais certificados. Os certificados têm validade de um ano⁽¹⁶⁾.

• Fundamentos metodológicos para dosagem de hemoglobina glicada

Tabela 3 Interferência das hemoglobinas variantes e da hemoglobina carbamylada na dosagem da hemoglobina glicada, segundo NGSP, nas diferentes metodologias (atualizada em abril de 2008).

| Método | Interferência (sim/não) | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|-----------------|----------------|
| | Traço Hb C | Traço Hb S | Traço Hb E | Traço Hb D | Hb F elevada | Hb Carbamylada |
| Abbott Architect | sim | sim | - | - | - | - |
| Axis-Shield Nycocard | não | não | - | - | - | não |
| Axis-Shield Afinion | não | não | não | não | - | - |
| Siemens Advia | sim | sim | - | - | - | - |
| Siemens DCA 2000 | sim/não | não | não | não | sim | não |
| Beckman Diatec | sim | sim | - | - | sim | sim |
| Beckman Synchron | não | não | não | não | - | - |
| Bio-Rad D-10 (short program) | sim/não | não | não | não | - | - |
| Bio-Rad D-10 (extended program) | não | não | não | não | - | - |
| Bio-Rad DiaSTAT | não | sim | - | - | - | - |
| Bio-Rad Variant A1C | não | sim/não | não | não | - | sim |
| Bio-Rad Variant GHb | não | não | - | - | - | - |
| Bio-Rad Variant II A1C | sim/não | sim/não | não | não | não | não |
| Bio-Rad Variant II Turbo | não | não | sim | sim | - | - |
| Dade Dimension | não | não | não | não | - | - |
| Diazyme Direct Enzymatic HbA1C | não | não | não | não | - | - |
| Drew Scientific DS5 | não | sim | - | - | - | - |
| Helena Glyco-Tek | sim | não | - | - | - | - |
| Menarini HA8140 | não | sim | sim | sim | não | sim/não |
| Menarini HA8160 (Diabetes Mode) | não | não | sim | sim | - | - |
| Menarini HA8160 (Thalassemia Mode) | - | - | não | sim | - | - |
| Microgenics | não | não | - | - | - | - |
| Bayer A1C Now | sim | sim | não | não | - | - |
| Olympus | sim | sim | não | não | sim (>10%) | - |
| Ortho-Clinical Vitros | não | não | não | não | - | - |
| Pointe Scientific Hemoglobin A1C | não | não | não | não | - | - |
| Primus Boronate Affinity HPLC | não | não | não | não | sim | não |
| Bio-Rad Deeside | sim | não | - | - | - | - |
| Randox Haemoglobin A1C | sim | sim | - | - | sim (> 10%) | - |
| Roche Cobas Integra | sim | sim | - | - | - | - |
| Roche Cobas Integra Gen2 | Não | não | não | não | - | - |
| Roche Tina-quant II | não | não | não | não | não (≤ 30% HbF) | não |
| Roche Unimate | sim | sim | - | - | - | não |
| Tosoh A1c 2.2 Plus | não | não | sim | não | sim | sim/não |
| Tosoh G7 | não | não | sim | não | não | - |
| Tosoh G8 | - | - | sim | não | - | - |

(-): não há referências na literatura

sim/não: indica que os dados da literatura são conflitantes. A opção indicada em negrito representa a opinião do National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), baseada na revisão da literatura.

Os métodos atualmente disponíveis para dosagem da hemoglobina glicada se baseiam em um dos seguintes fundamentos^(7, 10, 11, 20, 22):

na diferença na carga iônica:

- cromatografia de troca iônica (HPLC);

- microcromatografia em minicolunas contendo resina de troca iônica; Eletroforese em gel de agarose;

nas características estruturais:

- cromatografia de afinidade (HPLC) utilizando derivados do ácido borônico;

- imunoensaio turbidimétrico;

na reatividade química:

- método colorimétrico com formação do 5-hidroximetilfurfural (SHMF).

• Conjuntos diagnósticos para a dosagem de hemoglobina glicada

Na **Tabela 4**, atualizada até dezembro de 2008, estão listados alguns fabricantes dos conjuntos diagnósticos para a dosagem de A1C e os respectivos métodos; vários destes estão disponíveis no mercado brasileiro.

• Testes rápidos para automonitoração da hemoglobina glicada

Os métodos rápidos, certificados pelo NGSP, podem ser indicados, mas no Brasil ainda são pouco difundidos, particularmente em razão do custo elevado.

• Desempenho analítico

Recomenda-se que o laboratório mantenha um programa de controle interno da qualidade da dosagem de A1C e que estabeleça como meta um coeficiente de variação interensaio inferior a 5%, embora o percentual desejável seja inferior a 3%. O laboratório deve utilizar dois níveis de amostras controle. Recomenda-se, ainda, que o laboratório participe ativamente de programas de proficiência, como o programa de Proficiência em Ensaios Laboratoriais (PELM), da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), com a finalidade de monitorar a exatidão e o cálculo do erro total. Informações mais completas sobre o PELM poderão ser obtidas nos *site*: www.pelm.com.br.

Requisitos da qualidade – coeficientes de variação

Os laboratórios devem atingir níveis inferiores a 5% (idealmente inferiores a 3%) para o coeficiente de variação inte-

rensaio nos métodos de ensaio para A1C. Recomenda-se que pelo menos duas amostras controle sejam avaliadas como uma medida do desempenho do ensaio. Os laboratórios devem confirmar os resultados de amostras abaixo do limite inferior do intervalo de referência ou acima de 15%. Se a base de Schiff (fração lábil da A1C ou pré-A1C) interferir com o método de ensaio, esta deve ser removida antes do ensaio, conforme orientação do fabricante do conjunto diagnóstico.

• Critérios para a repetição do ensaio laboratorial

Os resultados abaixo do limite inferior da referência necessitam de repetição para confirmação. Se o resultado baixo for confirmado, sugere-se que o laboratório faça contato com o médico solicitante para obtenção de dados adicionais do paciente acerca de suspeita de doença hemolítica, hemorragia ou hemoglobina variante.

Os resultados acima de 15% devem ser repetidos e, se confirmados, a hipótese da presença de hemoglobina variante deve ser considerada. Nestas circunstâncias, o laboratório pode analisar esta amostra por uma segunda metodologia, menos sujeita à interferência, ou realizar a pesquisa de hemoglobina variante^(10, 11, 21, 22).

Fase pós-analítica

• Intervalo de referência

Para as metodologias certificadas pelo NGSP, o intervalo de referência deve situar-se entre 4% e 6%, com variação inferior a 0,5%^(5, 10, 11). A utilização de metodologia certificada pelo NGSP com rastreabilidade de desempenho analítico com relação aos estudos do DCCT permite adotar o valor inferior a 7% como meta para o efetivo controle do paciente diabético, conforme a *American Diabetes Association* (ADA) ou 6,5% conforme a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). É importante ressaltar que este valor não é de referência, mas um valor acima do qual os riscos de desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares da doença são significativamente elevados^(3, 8, 10, 11, 21, 22, 24, 25-27).

• Laudo laboratorial

O laudo laboratorial deve informar o tipo de material analisado, a metodologia utilizada e o intervalo de referência.

Sugere-se acrescentar no laudo um texto que explique a importância dos pacientes portadores de DM em alcançar a meta de 7% (ADA) ou 6,5% (SBD) para A1C, conforme sugerido a seguir:

Tabela 4

Conjuntos diagnósticos para a dosagem da hemoglobina glicada

| Princípio | Fabricante | Parâmetro | Certificado pelo NGSP |
|--|------------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Afinidade (ácido borônico) | Axis-Shield PoC As | A1C | sim |
| | Bio-Rad Deeside | A1C | sim |
| | Infopia Co, Ltd | A1C | sim |
| | Quotient Diagnostics Ltd | A1C | sim |
| Cromatografia de troca iônica | Doles | HbA ₁ total | Não |
| | INLAB | HbA ₁ total | Não |
| | In vitro | HbA ₁ total | Não |
| | Katal | HbA ₁ total | Não |
| | Labtest | HbA ₁ total | Não* |
| Enzimático | Arkray, Inc. | A1C | sim |
| | Diazyme Laboratories USA | A1C | sim |
| Eletroforese | Sebia | A1C | Não |
| | CELM | HbA ₁ total | Não |
| HPLC Troca iônica | A.Menarini Diagnostics | A1C | sim |
| | Arkray | A1C | sim |
| HPLC Cromatografia de afinidade (ácido borônico) | Bio-Rad Laboratories | A1C | sim |
| | Tosoh Corporation | A1C | sim |
| Imunoensaio por Turbidimetria | Primus Diagnostics | A1C | sim |
| | Abbott (reagentes da Seradyn, Inc) | A1C | sim |
| | Arkray | A1C | sim |
| | Axis Shield | A1C | sim |
| | Bayer Health Care – A1C Now | A1C | sim |
| | Beckman Coulter | A1C | sim |
| | DiaSys Diagnostic Systems | A1C | sim |
| | Home Access Health Corporation | A1C | sim |
| | Horiba ABX | A1C | sim |
| | Labtest | A1C | sim** |
| | MEC Dynamics Corporation | A1C | sim |
| | Olympus | A1C | sim |
| | Ortho-Clinical Diagnostics | A1C | sim |
| | Pointe Scientific, Inc. | A1C | sim |
| | Roche Diagnostics | A1C | sim |
| Seradyn, Inc. | A1C | sim | |
| Siemens | A1C | sim | |
| Thermo Fisher Scientific Ou | A1C | sim | |

Para atualização dos métodos certificados pelo NGSP consultar o site www.ngsp.org

* Conjunto diagnóstico da empresa Labtest denominado Hemoglobina Glicada (Referência 17)

** O conjunto diagnóstico da empresa Labtest denominado HbA1c Turbiquest (Referência 301) traz a seguinte informação nas instruções de uso: "O método é certificado pelo National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) para Pointe Scientific, Inc., com rastreabilidade ao método de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) utilizado no estudo Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)"

“O método utilizado nesta dosagem de hemoglobina glicada é certificado pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program* - EUA (NGSP). A meta a ser alcançada para o efetivo controle do diabetes *mellitus* deve ser inferior a 7%, conforme a *American Diabetes Association* (ADA) ou inferior 6,5% (sem aumentar o risco de hipoglicemia), conforme a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) (em adultos).”

Tendências

Em setembro de 2007 algumas das mais importantes instituições mundiais ligadas ao estudo do DM, American Diabetes Association (ADA), European Association for the Study of Diabetes (EASD), International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) e International Diabetes Federation (IDF), publicaram um documento de consenso acerca da padronização mundial para dosagem da A1C⁽¹⁾.

Neste documento foram aprovadas as seguintes propostas:

- os resultados da A1C necessitam de uma padronização universal, incluindo a definição de um método de referência e de uma maneira adequada para expressão dos resultados;

- neste contexto, o método proposto pelo IFCC serviria como âncora para padronização da medida do A1C. Os métodos atualmente disponíveis para uso no laboratório clínico continuariam válidos, porém necessitariam ser referendados pelo método do IFCC;

- a A1C deveria ser expressa universalmente na unidade preconizada pelo IFCC e pelo NGSP:

- unidade IFCC: mmol de A1C/mol de Hb (mmol/mol);
- unidade NGSP: na forma percentual (%), sendo o valor corrigido pela equação IFCC-NGSP;

- a partir da A1C dosada, deve ser calculado um valor correspondente à glicose média estimada através de uma equação matemática^(13, 23). Este resultado de glicose média seria incorporado no laudo do exame, visando facilitar a interpretação clínica do resultado de A1C.

O grupo de estudo denominado A1c-Derived Average Glucose (ADAG), patrocinado por IDF, ADA e EASD, determinou uma fórmula para o cálculo da glicemia média estimada⁽¹³⁾: glicose média estimada (mg/dl) = $28,7 \times A1C - 46,7$, sendo a equação válida apenas para métodos rastreáveis ao estudo do DCCT.

Finalmente, o laudo do exame de A1C seria composto por três resultados: A1C na unidade de concentração definida pelo IFCC (mmol/mol), A1C na unidade preconizada pelo NGSP (%) e o valor da glicose média estimada (mg/dl).

O Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada (GIPHG) é favorável às propostas do documento de consenso acerca da padronização mundial para dosagem da A1C. No entanto, entende que a aplicação integral das propostas aprovadas neste consenso dificulta a consolidação do conceito acerca da importância da A1C entre médicos e pacientes. Assim sendo, por este posicionamento oficial sugere aos laboratórios clínicos a manutenção da unidade NGSP nos resultados de hemoglobina glicada, sem a correção pela equação IFCC - NGSP. Já a incorporação do valor da glicose média estimada deve ser estimulada, visando facilitar o entendimento e a interpretação do resultado da A1C.

Referências (Aspectos clínicos)

1. ABE, M.; MATSUMOTO, K. Glycated hemoglobin or glycated albumin for assessment of glycemic control in hemodialysis patients with diabetes? *Nat Clin Pract Nephrol*, v. 4, p. 482-3, 2008. Disponível em: <<http://www.medscape.com/viewarticle/580573>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
2. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. *Fructosamine test*. Disponível em: <http://professional.diabetes.org/Disease_Backgrounder.aspx?TYP=6&MID=262>. Acesso em: 21 nov. 2008.
3. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, v. 31, suppl. 1, p. S12-S54, 2008.
4. CALIFORNIA HEALTHCARE FOUNDATION/AMERICAN GERIATRICS SOCIETY PANEL ON IMPROVING CARE FOR ELDERLY WITH DIABETES. Guidelines for Improving the Care of the Older Person with Diabetes Mellitus. *Journal of the American Geriatrics Society*, v. 51, suppl, p. S265-79, 2003.
5. CERIELLO, A. et al. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients. *Diabetes*, v. 57, p. 1349-54, 2008.
6. CHANDALIA, H. B.; KRISHNASWAMY, P. R. Glycated hemoglobin. *Current Science*, v. 12, n. 83, p. 1522-32, 2002.

7. DCCT RESEARCH GROUP. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). 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*, v. 329, p. 977-86, 1993.
8. KILPATRICK, E. S. Haemoglobin A1C in the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. *J Clin. Pathol*, v. 61, p. 977-82, 2008.
9. LANG, F. Hormones: late complications of prolonged hyperglycemia (diabetes *mellitus*). In: SILBERNAGL, S.; LANG, F. *Color atlas of pathophysiology*. New York: Thieme Stuttgart, 2000. p. 291.
10. LEE, T. J.; SAFRANEK, S. A1C Testing in the diagnosis of diabetes mellitus. Disponível em: <<http://www.aafp.org/afp/20060701/fpin.html>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
11. MONNIER, L.; COLETTE, C. Glycemic variability. Should we and can we prevent it? *Diabetes Care*, v. 31, suppl. 2, p. S150-4, 2008.
12. NATHAN, D. M. *et al.* Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*, v. 31, p. 1-16, 2008.
13. PIMAZONI, N. A. *et al.* Novas diretrizes da SBD para o controle glicêmico do diabetes tipo 2: posicionamento oficial SBD nº 4. *Revista Brasileira de Medicina*, supl esp. 4, 2007.
14. THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. Pregnancy outcomes in the diabetes control and complications trial. *Am J Obstet Gynecol*, v. 174, p. 1343-53, 1996.
15. UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet*, v. 352, p. 837-53, 1998.
16. ULRICH, P.; CERAMI, A. Protein glucation, diabetes and aging. *Recent Progress in Hormone Research*, v. 56, p. 1-22, 2001.

Referências (Aspectos laboratoriais)

1. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF DIABETES, INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE AND THE INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. Consensus Committee. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement. *Diabetes Care*, v. 30, p. 2399-400, 2007.
2. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Tests of Glycemia in Diabetes – Position Statement. *Diabetes Care*, v. 27, p. S91-3, 2004.
3. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus - position statement. *Diabetes Care*, v. 25, suppl. 1, p. S33-S49, 2002.
4. ANDRIOLO, A.; VIEIRA, J. G. H. Diagnóstico e acompanhamento laboratorial do diabetes *mellitus*. In: ANDRIOLO, A. (org.). *Guias de medicina laboratorial e hospitalar/medicina laboratorial*. 1. ed. São Paulo: Manole, 2008. p. 37-42.
5. BLOOMGARDEN, Z. T. *et al.* The proposed terminology “A1C-derived average glucose” is inherently imprecise and should not be adopted. *Diabetologia*, v. 51, p. 1111-4, 2008.
6. BRY, L.; CHEN, P. C.; SACKS, D. B. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assay for glycohemoglobin. *Clin Chem*, v. 47, p. 153-63, 2001.
7. CHANDALIA, H. B.; KRISHNASWAMY, P. R. Glycated hemoglobin. *Current Science*, v. 12, n. 83, p. 1522-32, 2002.
8. DCCT RESEARCH GROUP. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The effect of intensive treatment of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes *mellitus*. *N Engl J Med*, v. 329, p. 977-86, 1993.
9. FORSMAN, R. W. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? *Clin Chem*, v. 42, p. 813-6, 1996.
10. GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1C. *Hemoglobina glicada*. Posicionamento oficial (versão 2003). A importância da hemoglobina glicada (A1C) para a avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes *mellitus*: aspectos clínicos e laboratoriais. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/profissional/noticia.diverso.php?id=8&tp=3>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
11. GRUPO INTERDISCIPLINAR DE PADRONIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA – A1C. *Hemoglobina glicada*. Posicionamento oficial (versão 2004). A importância da hemoglobina glicada (A1C) para a avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes *mellitus*: aspectos clínicos e laboratoriais. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/profissional/noticia.diverso.php?id=5&tp=3>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
12. KHUU, H. M. *et al.* Evaluation of a fully automated high-performance liquid chromatography assay for hemoglobin A1C. *Arch Pathol Lab Med*, v. 123, p. 763-67, 1999.
13. NATHAN, D. M. *et al.* Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*, v. 31, p. 1473-8, 2008.
14. NATIONAL GLYCOHEMOGLOBIN STANDARDIZATION PROGRAM (NGSP). *Factors that interfere with GHB (HbA1c) Test results*. Updated 4/08. Disponível em: <<http://www.ngsp.org/prog/factors.htm>>. Acesso em: 21 nov. 2008.

15. NATIONAL GLYCOHEMOGLOBIN STANDARDIZATION PROGRAM (NGSP). *IFCC standardization of HbA1C*. Disponível em: <<http://www.ngsp.org/prog/IFCCmain.html>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
16. NATIONAL GLYCOHEMOGLOBIN STANDARDIZATION PROGRAM (NGSP). *List of NGSP certified methods* (updated 12/08, listed by date certified). Disponível em: <<http://www.ngsp.org/prog/index.html>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
17. NATIONAL GLYCOHEMOGLOBIN STANDARDIZATION PROGRAM (NGSP). *Purpose of the NGSP*. Disponível em: <<http://www.ngsp.org/prog/index.html>>. Acesso em: 21 nov. 2008.
18. ROBERTS, W. L. *et al.* Glycohemoglobin results in samples with hemoglobin C or S trait: a comparison of four test systems. *Clin Chem*, v. 45, p. 906-9, 1999.
19. ROHLFING, C. L. *et al.* Defining the relationship between plasma glucose and HbA_{1c}: Analysis of glucose profiles and HbA_{1c} in the diabetes control and complications trial. *Diabetes*, v. 25, n. 2, p. 275-8, 2002.
20. SACKS, D. B. *Carbohydrates*. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. 4. ed. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. St. Louis: Elsevier Saunders, 2006. p. 837-901.
21. SACKS, D. B. *et al.* Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem*, v. 48, n. 436-72, 2002.
22. SACKS, D. B. Hemoglobin variants and hemoglobin A1C analysis: problem solved? *Clin Chem*, v. 49, p. 1245-7, 2003.
23. SACKS, D. B. Translating hemoglobin A1C into average blood glucose: implications for clinical chemistry. *Clin Chem*, v. 54, p. 1756-8, 2008.
24. SUMITA, N. M.; ANDRIOLO, A. Importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento do paciente portador de diabetes mellitus. *J Bras Patol Med Lab*, n. 42, editorial, 2006.
25. SUMITA, N. M.; ANDRIOLO, A. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. *J Bras Patol Med Lab*, v. 44, p. 169-74, 2008.
26. UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet*, v. 352, n. 837-53, 1998.
27. WEYKAMP, C. W. *et al.* Carbamylated hemoglobin interference in glycohemoglobin assays. *Clin Chem*, v. 45, p. 438-40, 1999.

Endereço para correspondência

Adagmar Andriolo
Rua Dois de Dezembro, 78 - salas 909/910 - Catete
CEP 22220-040 - Rio de Janeiro-RJ
Tel.: (21) 2558-1024
Fax: (21) 2205-3386