

Posicionamento Oficial SBD, SBPC-ML, SBEM e FENAD 2017/2018

ATUALIZAÇÃO SOBRE HEMOGLOBINA GLICADA (A1C) PARA AVALIAÇÃO DO CONTROLE GLICÊMICO E PARA O DIAGNÓSTICO DO DIABETES: ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS



Índice

- 4 -

PREFÁCIO

PARTE 1: ASPECTOS CLÍNICOS

- 7 -

HEMOGLOBINA GLICADA – CONCEITO

- 9 -

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS DOS NÍVEIS ELEVADOS DE HEMOGLOBINA GLICADA (A1C)

- 10 -

A HEMOGLOBINA GLICADA (A1C) PARA RASTREIO E DIAGNÓSTICO DO DIABETES MELLITUS

- 12 -

TESTES DIAGNÓSTICOS BASEADOS NA GLICAÇÃO DE PROTEÍNAS

- 13 -

CORRELAÇÃO ENTRE O NÍVEL DE A1C E OS NÍVEIS MÉDIOS DE GLICOSE SANGUÍNEA

- 15 -

O IMPACTO DAS GLICEMIAS MAIS RECENTES É MAIOR DO QUE O DAS “MAIS ANTIGAS” SOBRE OS NÍVEIS DE A1C

- 15 -

FREQUÊNCIA RECOMENDADA PARA A REALIZAÇÃO DOS TESTES DE A1C

- 16 -

NÍVEIS RECOMENDADOS DE A1C PARA SEGUIMENTO DO DIABETES MELLITUS

- 17 -

POPULAÇÕES ESPECIAIS

- 18 -

TEMPO PARA O RETORNO AO NORMAL DOS NÍVEIS DE A1C DEPOIS DA NORMALIZAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA MEDIANTE TRATAMENTO ADEQUADO

- 19 -

PADRONIZAÇÃO DOS MÉTODOS LABORATORIAIS PARA DOSAGEM DE A1C

- 19 -

CUIDADOS NA INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE DE A1C

- 22 -

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**PARTE 2: ASPECTOS LABORATORIAIS
RECOMENDAÇÕES E CUIDADOS ANALÍTICOS PARA A
DETERMINAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA**

- 24 -

O QUE É HEMOGLOBINA GLICADA?

- 24 -

O PROCESSO DE FORMAÇÃO

- 24 -

NOMENCLATURA

- 25 -

ANÁLISE LABORATORIAL

- 25 -

FASE PRÉ-ANALÍTICA

- 29 -

FASE ANALÍTICA

- 32 -

FASE PÓS-ANALÍTICA

- 33 -

UNIDADES DE MEDIDA DA A1C

- 34 -

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PREFÁCIO

A hemoglobina glicada, também denominada glico-hemoglobina, é conhecida ainda como HbA_{1c} e, mais recentemente, apenas como A1C. Embora seja utilizada desde 1958 como uma ferramenta de avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes, 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: os estudos *DCCT - Diabetes Control and Complications Trial* (1993) e o *UKPDS - United Kingdom Prospective Diabetes Study* (1998).

Atualmente, a manutenção do nível de A1C em 7% é considerada como uma das principais metas de controle glicêmico para a maioria dos indivíduos com diabetes. Os dois estudos supramencionados indicaram que as complicações crônicas começam a se desenvolver quando os níveis de A1C estão situados permanentemente acima de 7%. Metas terapêuticas mais ou menos rígidas para os valores de A1C, podem ser indicadas dependendo da presença de comorbidades e tipo de tratamento antidiabético adotado.

O objetivo deste Posicionamento Oficial 2017 é o de promover uma atualização sobre o papel da hemoglobina glicada na avaliação do controle glicêmico e no diagnóstico do diabetes, 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.

São Paulo, agosto de 2017

Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada – A1C

Grupo Interdisciplinar de Padronização
da Hemoglobina Glicada – A1C

Relação dos Representantes das Sociedades Médicas Participantes

Coordenação Editorial

Dr. Augusto Pimazoni Netto

CRM-SP 11.970

Doutor em Ciências (Endocrinologia Clínica) pela Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP.
Coordenador do Grupo de Educação e Controle do Diabetes do Hospital do Rim da Universidade Federal de
São Paulo – UNIFESP.

Parte 1: Aspectos Clínicos

Dra. Milena Gurgel Teles Bezerra

CREMESP 101.806

Médica Assistente e Pesquisadora da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (Unidade de Diabetes e Unidade de Genética). Médica Assessora em Endocrinologia do Fleury Medicina e Saúde. Coordenadora do Comitê Científico de Endocrinologia da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Parte 2: Aspectos Laboratoriais

Dr. Nairo Massakazu Sumita

CREMESP 61.649

Professor Assistente Doutor da Disciplina de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Diretor Técnico do Serviço de Bioquímica Clínica da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP. Assessor Médico da área de Bioquímica Clínica do Fleury Medicina e Saúde. Diretor Científico da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Corpo Editorial

Dr. Adagmar Andriolo

CREMESP 22.250

Professor Associado, Livre Docente de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial
da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP.

Dr. Fadlo Fraige Filho

CREMESP 13.986

Professor Titular de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC – Presidente da Federação
Nacional das Associações e Entidades de Diabetes (FENAD) e da ANAD.

Dr. Antonio Roberto Chacra

CREMESP 13.129

Professor Titular de Endocrinologia da Universidade Federal de São Paulo. Diretor do
Centro de Pesquisa Clínica e Diabetes da Universidade Federal de São Paulo.

Diretor do Centro de Diabetes do Hospital Sírio-Libanês.

Diretor do Instituto Paulista de Diabetes e Endocrinologia.

Dra. Lenita Zajdenverg

CREMERJ 50.564-9

Professora adjunta do Departamento de clínica médica da faculdade de medicina da Universidade Federal do Rio
de Janeiro-UFRJ. Chefe dos Serviços de Nutrologia e Diabetes do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
da UFRJ. Coordenadora da Unidade de Transtornos Endócrinos e Metabólicos da Maternidade Escola da UFRJ.

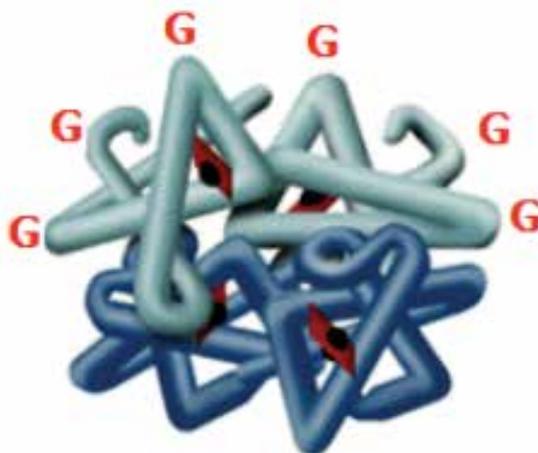
Doutora em medicina pela UFRJ.

PARTE 1: ASPECTOS CLÍNICOS

HEMOGLOBINA GLICADA - CONCEITO

O termo genérico “hemoglobina glicada” refere-se a um conjunto de substâncias formadas com base em reações entre a hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares. O termo “hemoglobina glicosilada” tem sido erroneamente utilizado como sinônimo de hemoglobina glicada. 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.^{1,2} **(Figura 1)**

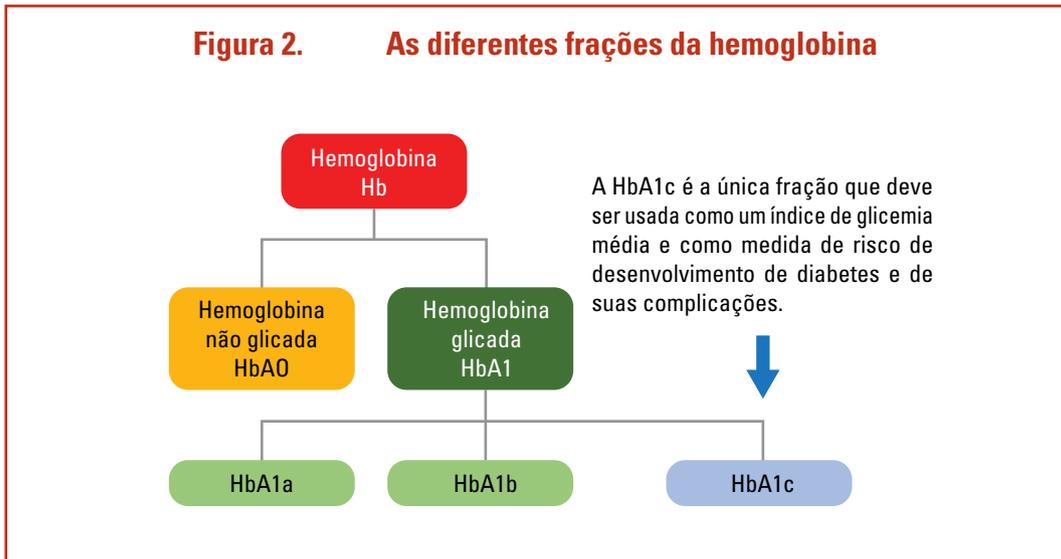
Figura 1. Moléculas de glicose (G) ligadas à molécula de hemoglobina, formando a hemoglobina glicada (A1C)



A HbA é a forma principal e nativa da hemoglobina, 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.

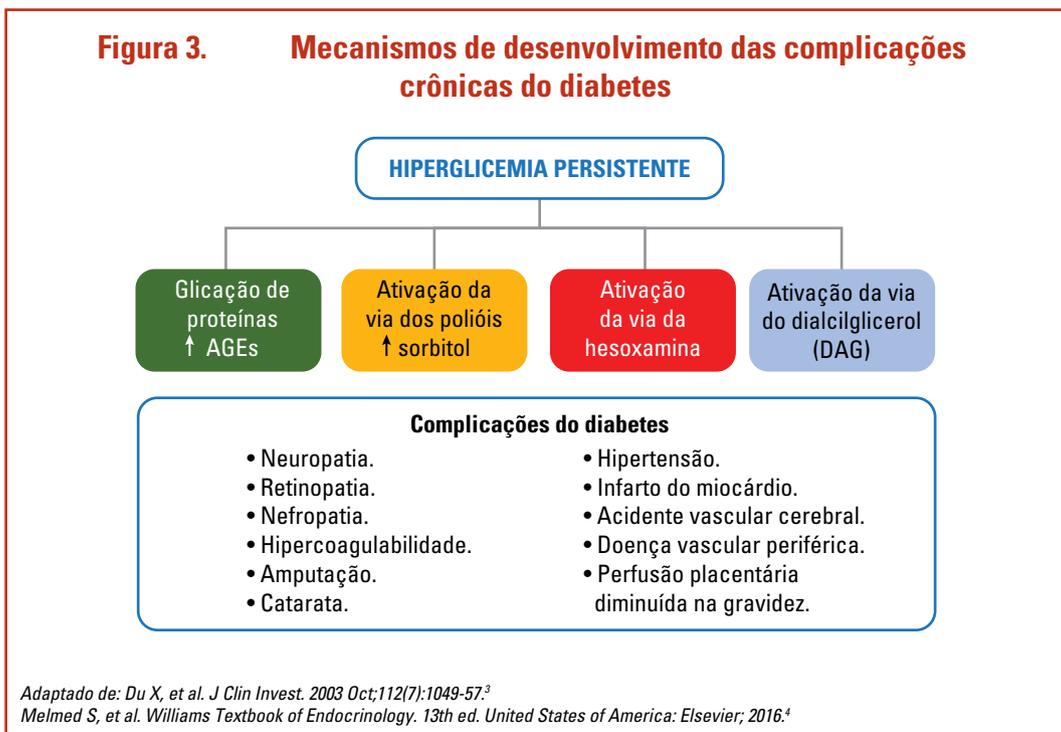
Existem vários subtipos distintos de HbA1, tais como HbA1a1, HbA1a2, HbA1b e HbA1c. Desses todos, a fração HbA1c, ou apenas A1C, é a que se refere à hemoglobina glicada propriamente dita e corresponde a 80% da fração glicada. A HbA1c é formada pela ligação da glicose ao aminoácido valina da porção N-terminal da cadeia beta da hemoglobina por meio de uma ligação estável e irreversível. **(Figura 2)**

Figura 2. As diferentes frações da hemoglobina



No decorrer dos anos, 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 quatro mecanismos diferentes: mediante a promoção da glicação de proteínas, geração de produtos finais da glicação avançada (AGEs), pela ativação da via dos polióis com aumento dos níveis de sorbitol dentro da célula e ainda ativação das vias do diacilglicerol (DAG) e das hexosaminas conforme apresentado na ilustração abaixo.^{3,4} (Figura 3)

Figura 3. Mecanismos de desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes



IMPLICAÇÕES CLÍNICAS DOS NÍVEIS ELEVADOS DE HEMOGLOBINA GLICADA (A1C)

A A1C é um componente menor da hemoglobina, sendo encontrada em indivíduos adultos não diabéticos em uma proporção de 1% a 4% dos indivíduos. A hemoglobina glicada reflete a glicemia média dos últimos 2 a 3 meses, o que corresponde à meia-vida das hemácias. Quanto maior a glicemia, maior a concentração de A1C. 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 define uma meta de A1C em torno de 7%, sendo que esse valor alvo pode ser maior ou menor, a depender das características clínicas de cada indivíduo.⁵

Caso o paciente esteja fora do alvo estabelecido de A1C 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 estudo DCCT e do risco de complicações micro e macrovasculares no estudo UKPDS.^{6,7} Níveis progressivamente elevados de A1C foram relacionados a aumento do risco de morte por doença coronariana, doença cardiovascular e por todas as causas.⁸

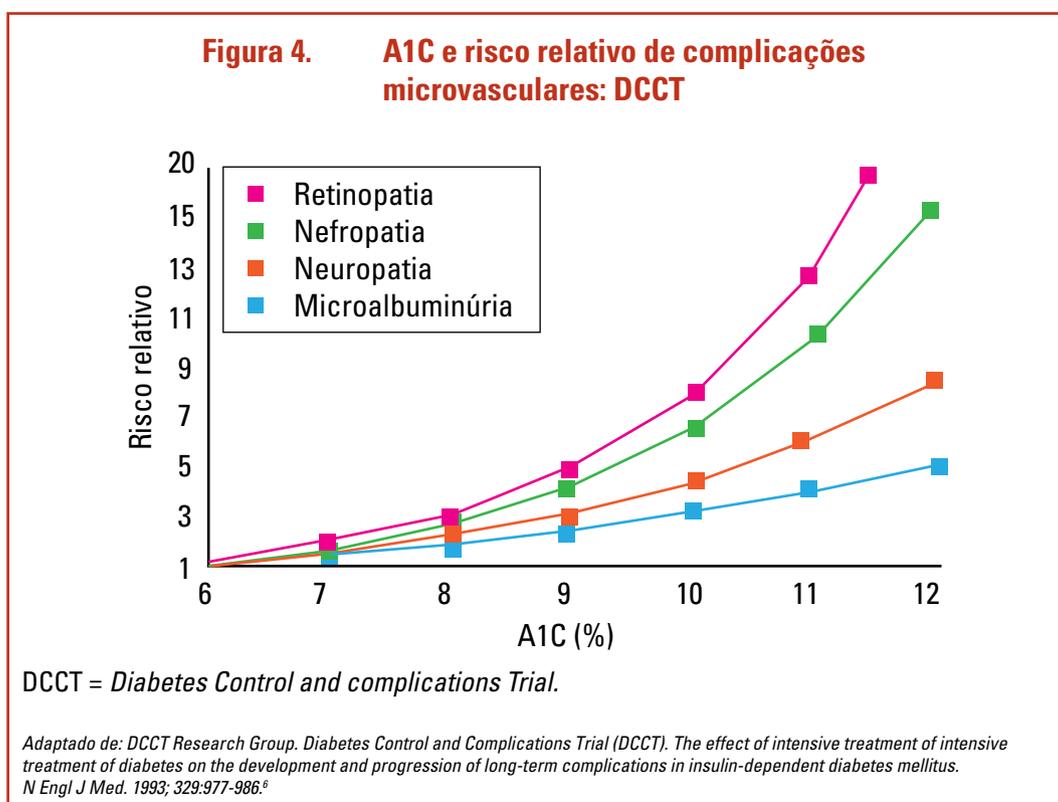
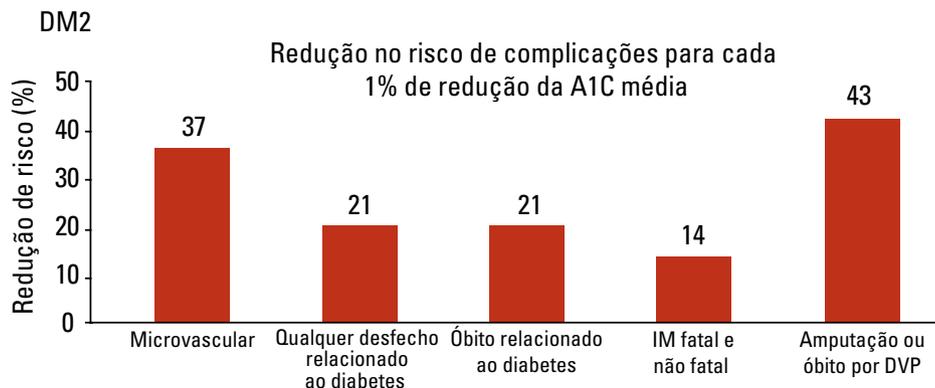


Figura 5. A1C e risco relativo de complicações micro e macrovasculares: UKPDS



UKPDS, *United Kingdom Prospective Diabetes Study*; IM, infarto do miocárdio; DVP, doença vascular periférica.

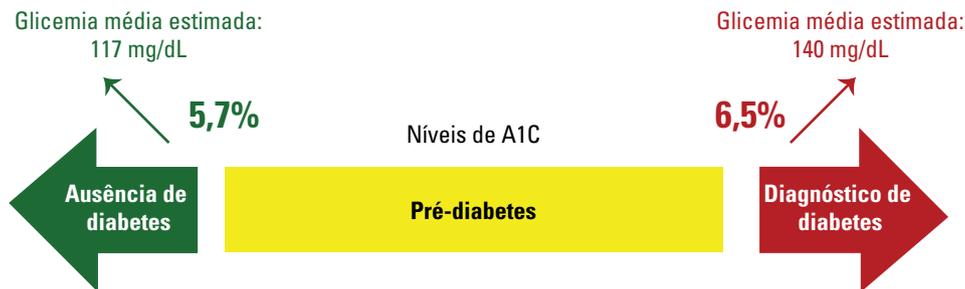
Adaptado de: Ismail-Beigi F, Moghissi E, Tiktin M, Hirsch IB, Inzucchi SE, Genuth S. Individualizing Glycemic Targets in Type 2 Diabetes Mellitus: Implications of Recent Clinical Trials. *Ann Intern Med* 2011;154:554-559.⁹ UK Prospective Diabetes Study Group: intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998; 352:837-853.⁷

A HEMOGLOBINA GLICADA (A1C) PARA RASTREIO E DIAGNÓSTICO DO DIABETES MELLITUS

Além de ser um marcador de controle glicêmico, mais recentemente, a A1C passou a ser utilizada como teste de rastreio ou mesmo de diagnóstico para o diabetes adicionalmente ao teste de glicemia de jejum e do teste oral de tolerância à glicose (TOTG).⁹ Isso só foi possível após a ampla padronização dos testes para dosagem de A1C (mais detalhes na seção de aspectos laboratoriais da A1C desse posicionamento). Valores acima ou iguais a 6,5%, realizados por um método certificado pelo NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*), quando confirmados numa segunda ocasião, fazem o diagnóstico de *diabetes mellitus*, conforme mostra a **tabela 1**.⁹ Indivíduos com valores de 5,7% a 6,4% são classificados no grupo de pré-diabetes e teriam risco aumentado para desenvolver diabetes.⁹

Alguns estudos mostram que o valor proposto de 6,5% para diagnóstico de *diabetes mellitus* para A1C pode diagnosticar até 30% menos indivíduos quando comparado ao valor de 126 mg/dL de glicemia de jejum.¹⁰ Em outras palavras, a utilização da A1C no rastreio ou no diagnóstico do diabetes seria uma opção diagnóstica com mais especificidade do que sensibilidade.^{10,11} Por outro lado, a conveniência para a realização do teste, como a ausência de necessidade de jejum, a menor variabilidade biológica e estabilidade da amostra após coleta podem suplantam esse aspecto. Importante mencionar que a dosagem de A1C pode não detectar elevações agudas da glicemia, como pode acontecer no quadro inicial do diabetes do tipo 1.

Tabela 1. A hemoglobina glicada no diagnóstico do diabetes



Os pontos de corte mencionados referem-se à utilização de métodos laboratoriais certificados pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP)

Valores de glicemia de jejum, 2h horas após teste de tolerância à glicose e de A1C para diagnóstico de diabetes e de pré-diabetes

Normal	Pré-diabetes	Diabetes
GJ <100 mg/dL	GJ ≥100 - 125 mg/dL (GJA)	GJ ≥126 mg/dL
2h GJ <140 mg/dL	2h PG ≥140-199 mg/dL (IAG)	2h PG ≥200 mg/dL ao acaso ≥200 + sintomas
HbA1c	5,7% - 6,4%	≥6,5%

GJA= glicemia de jejum alterada, IAG= intolerância à glicose.⁹

Adaptado de: American Diabetes Association: *Standards of Medical Care in Diabetes - 2017. Diabetes Care 2017; 40 (Suppl. 1):S1-S135.*⁹

Os valores de A1c para diagnóstico de diabetes não foram padronizados por idade ou etnia. Não existem valores de referência para a população pediátrica e é sabido que ocorre elevação dos valores de A1C com o aumento da idade.⁹ Há indicação que indivíduos afrodescendentes apresentam valores um pouco mais elevados de A1C que caucasianos, para o mesmo nível de glicemia. No primeiro trimestre da gestação, a presença de A1c elevada, conforme os valores de corte mencionados na **tabela 1** indicam a presença de *diabetes mellitus* pré-gestacional.⁹

Estudos demonstram que os valores de hemoglobina glicada também se correlacionam com o risco de desenvolvimento de diabetes.^{12,13} Uma metanálise com mais de 44.000 pacientes evidenciou que há um aumento da incidência de diabetes num período de 5 anos em até 25% para indivíduos com A1C entre 5,5-6% e em até 50% quando a hemoglobina glicada está entre 6-6,5%.¹²

Atualmente, a glicemia de jejum, o teste de tolerância à glicose ou a dosagem de hemoglobina podem ser utilizados para rastreamento, predição de risco e diagnóstico de *diabetes mellitus*.⁹ No entanto, a sua interpretação deve ser feita com cautela em algumas populações. Vale ressaltar que testes *point-of-care* de A1C, mesmo que certificados pelo NGSP, não são recomendados para diagnóstico de diabetes, apenas para seguimento.⁹

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. Esse processo estende-se a várias das 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 diabetes.^{3,4}

Do ponto de vista de recursos laboratoriais de avaliação do controle da glicemia, estão disponíveis ainda os testes que refletem o processo de glicação de proteínas plasmáticas. Como essas proteínas têm *turnover* mais rápido do que a A1C, esses exames têm sido propostos como marcadores mais precoces de oscilações glicêmicas. São eles a dosagem de albumina glicada e de frutossamina.¹⁴

O teste de albumina glicada reflete a média dos níveis glicêmicos das últimas duas a três semanas. À semelhança da hemoglobina glicada, os seus resultados são expressos em porcentagem, mas ainda há uma grande variação nos valores de referência (de 0,8-1,4 a 18-22%) devido a não padronização dos testes.¹⁵⁻¹⁷

Estudos recentes, utilizando a dosagem de albumina glicada sinalizaram sua potencial utilização para rastreamento de *diabetes mellitus*.^{18,19} A dosagem de albumina glicada combinada com a A1C em imigrantes afro-americanos foi capaz de fazer diagnóstico de diabetes em 78% dos casos quando comparada à A1C isoladamente (50%).¹⁸ A dosagem de albumina glicada é amplamente utilizada como triagem de diabetes em bancos de sangue do Japão.¹⁹

Entretanto, deve-se ressaltar que os resultados de albumina glicada podem ser influenciados pela presença de proteinúria maciça, doença intestinal perdedora de proteínas, cirrose, hiperuricemia e tabagismo.^{17,20} Há ainda descrição de valores mais elevados em negros quando comparados a caucasianos por razões ainda não bem estabelecidas.¹⁶ Além disso, não é um teste regularmente disponível na prática laboratorial diária.

O teste da frutossamina também tem, 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.¹⁴ É mais comumente utilizado do que o teste de albumina glicada. Como a albumina, maior componente da frutossamina (pouco mais de 80%), tem meia-vida curta, cerca de 2 a 3 semanas, o teste da frutossamina também reflete o controle glicêmico

de curto prazo. A dosagem de frutossamina, assim como a de albumina glicada, é recomendada em situações nas quais o teste de A1C apresente algum interferente.^{14,17}

Algumas publicações recentes já associaram as dosagens de albumina glicada e frutossamina com o desenvolvimento de complicações crônicas em longo prazo,^{21,22} no entanto, a pequena quantidade de estudos e a falta de padronização dos ensaios são fatores limitantes para estabelecimento de valores alvo para esses analitos.

CORRELAÇÃO ENTRE O NÍVEL DE A1C E OS NÍVEIS MÉDIOS DE GLICOSE SANGUÍNEA

O estudo *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT)⁶ 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 (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*),^{6,7} estabeleceu-se que os níveis de A1C acima de 7% estão associados com 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 diabetes bem controlado. Mais recentemente, a Associação Americana de Diabetes (ADA) e a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) recomendam que esse valor alvo pode ser maior ou menor a depender das características clínicas de cada indivíduo.^{9,23}

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 ADAG (*A1c-Derived Average Glucose Study Group*),²⁴ revisando os valores inicialmente indicados pelo estudo DCCT,⁶ conforme mostra a **tabela 2**.

Tabela 2. Correlação entre os níveis de A1C e de glicemia média estimada: o estudo ADAG

Níveis de A1C (%)	Valores correspondentes de Glicemia Média Estimada (mg/dL)
4	68
5	97
6	126
7	154
8	183
9	212
10	240
11	269
12	298

Adaptado de: Nathan, D.M.; Kuenen, J.; Borg, R.; Zheng, H.; Schoenfeld, D.; Heine, R.J. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1473-1478.²⁴

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 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.²⁴ Para facilitar os cálculos de conversão de níveis de A1C para níveis de Glicemia Média Estimada ou desta para valores correspondentes de A1C, a ADA disponibiliza uma calculadora automática no seguinte link:

<http://professional.diabetes.org/glucosecalculator.aspx>.

IMPORTANTE

A variabilidade glicêmica, caracterizada pela amplitude de variação dos níveis glicêmicos nos diversos horários do dia, constitui-se em um potencial 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 com diabetes.^{25,26} Como a A1C reflete apenas o nível médio da glicemia nos últimos 2 a 4 meses, é possível 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 1,5 anidroglicitol ou 1,5-AG é um marcador de controle glicêmico que pode se alterar com variações da glicose plasmática entre 24 e 72h. Tem boa correlação com hiperglicemia pós-prandial e alguns estudos indicam que pode desempenhar um papel como marcador de variabilidade glicêmica. É especialmente útil em indivíduos diabéticos com A1C entre 6 e 8%; valores plasmáticos acima de 10 mg/mL de 1,5-AG são indicativos de menor variabilidade glicêmica quando comparados a indivíduos com valores de 1,5-AG abaixo de 5 mg/mL.”^{27,28}

O IMPACTO DAS GLICEMIAS MAIS RECENTES É MAIOR DO QUE O DAS “MAIS ANTIGAS” SOBRE OS NÍVEIS DE A1C

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 2 a 3 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 meses antes do exame.²⁹ (Tabela 3)

Tabela 3. 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

Adaptado de: Chandalia H.B. and Krishnaswamy P.R. Glycated Hemoglobin – Current Science 2002; (83)12:1522-1532.²⁹

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.

FREQÜÊNCIA RECOMENDADA PARA A REALIZAÇÃO DOS TESTES DE A1C

A quantidade de glicose ligada à hemoglobina 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 hemoglobina pode fornecer uma avaliação do controle glicêmico médio no período de 90 a 120 dias antes do exame.

Em virtude de os 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 (2 a 4 meses antes do exame).

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

FREQÜÊNCIA RECOMENDADA DOS TESTES DE A1C

Os testes de A1C devem ser realizados, pelo menos, duas vezes ao ano para todos os pacientes com diabetes e quatro vezes por ano (a cada 3 meses) para pacientes que se submeterem a alterações do esquema terapêutico ou que não estejam atingindo os objetivos recomendados com o tratamento vigente.^{9,23}

NÍVEIS RECOMENDADOS DE A1C PARA SEGUIMENTO DO *DIABETES MELLITUS*

Apesar da maioria das sociedades estipularem um valor de A1C inferior a 7% como meta, para adultos não gestantes os valores alvo de A1C devem ser individualizados. A meta de A1c pode variar de 6% (na ausência de hipoglicemias) a pouco mais de 8% como mostra a **figura 6**.⁹ Aspectos como condições econômicas, risco de hipoglicemia, duração do diabetes, expectativa de vida, doença microvascular, doença macrovascular e condições associadas devem ser considerados para estipularmos um alvo.^{9,23}

Figura 6. Individualização do alvo de A1C de acordo com características de cada paciente

Motivação Adesão Capacidade de autocuidado	Aspectos a considerar	Motivação Adesão Capacidade de autocuidado
Adequadas	Condições econômicas	Inadequadas
Baixo	Risco de hipoglicemia	Alto
Curta	Duração do diabetes	Longa
Longa	Expectativa de vida	Curta
Ausente	Doença microvascular	Avançada
Ausente	Doença macrovascular	Estabelecida
Ausentes	Condições associadas	Múltiplas, severas

POPULAÇÕES ESPECIAIS

– Em crianças e adolescentes^{9,30}

Com o aumento da prevalência do diabetes 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. As metas ideais para a A1C em crianças e adolescentes devem ser individualizadas e podem variar de acordo com as diferentes sociedades. (Tabela 4)

Tabela 4. Recomendações da ISPAD e ADA para o controle glicêmico de crianças e adolescentes de todas as faixas etárias

	Glicemia de jejum ou pré-prandial (mg/dL)	Glicemia pós-prandial	Glicemia ao dormir (mg/dL)	A1C (%)
Ideal ISPAD	65-100	80-126	80-100	<6,5%
Ótimo ISPAD	70-145	90-180	120-180	<7,5%
ADA	90-130		90-150	<7,5%

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 6 anos de idade, 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 diabetes.
- Durante a puberdade, há um aumento dos níveis de A1C.

A *American Diabetes Association* e a *International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes* (ISPAD) recomendam que as metas de A1C sejam definidas em função dos níveis de glicemia pré-prandial, pós-prandial e ao dormir.^{9,30}

– Em diabéticos idosos^{9,31}

Nos pacientes idosos, o alvo da A1C deve ser individualizado. Para os idosos em boas condições clínicas, bom estado funcional e poucas comorbidades um valor de A1C entre 7% e 7,5% pode ser apropriado se puder ser alcançado com segurança. Alvos mais elevados de A1C (8-9%) são apropriados para adultos idosos com comorbidades múltiplas, saúde debilitada e expectativa de vida limitada.

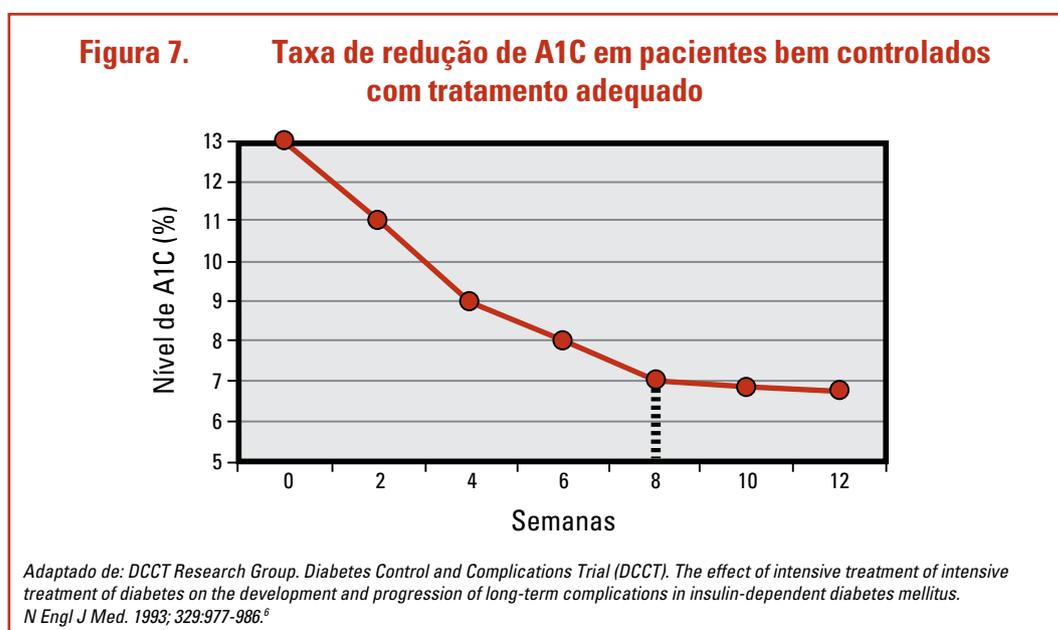
– Em gestantes com diabetes^{9,23}

Gestantes com diabetes apresentam risco aumentado de aborto espontâneo e de malformação congênita fetal. A magnitude destes riscos depende, principalmente, do grau de controle do diabetes no período pré-concepcional e no 1º trimestre da gestação. A mulher com diabetes 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, idealmente, ultrapassar 6% (se método certificado NGSP) ou o limite de 1% acima do valor normal do método.

Durante a gestação, a A1C não é 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. O controle glicêmico durante a gravidez é considerado ótimo quando os valores de glicemia pré-prandial são mantidos entre 65 e 95 mg/dL (até 99 mg/dL em mulheres com risco de hipoglicemia), com um pico 1 h pós-prandial até 140 mg/dL.

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 8 a 10 semanas, aproximadamente, para serem totalmente normalizados,⁶ como mostra a **figura 7**.



Isto significa que, para a avaliação da eficácia do tratamento, os níveis de A1C deverão ser avaliados somente após um a dois meses do início ou da modificação da terapia. Antes disto, os níveis de A1C não refletirão o verdadeiro efeito da mudança recente do tratamento, o qual poderá ser verificado através da avaliação dos níveis de glicose sanguínea, a qual reage mais rapidamente ao início ou à alteração da terapia.

PADRONIZAÇÃO DOS MÉTODOS LABORATORIAIS PARA DOSAGEM DE A1C

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

Com o intuito de se evitar problemas na interpretação dos níveis de A1C obtidos pelos diversos métodos laboratoriais, foi criado um projeto especial: o *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), disponível no link <http://www.ngsp.org/prog/index.html>.³² Este programa tem por finalidade harmonizar os métodos para dosagem de A1C, visando padronizar os resultados em relação ao método utilizado no trabalho do DCCT. Ao acessar o link, escolha a opção “Certified Methods/Labs”. 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”).

Vale reforçar que apenas métodos com essa certificação são adequados para o uso da A1C para diagnóstico de diabetes.⁹

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.

CUIDADOS NA INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE DE A1C³²

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 de alguns

aspectos pré-analíticos que modificam a interpretação 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 5** resume as principais condições clínicas que podem interferir no resultado do teste de A1C, dificultando sua correta utilização.

Embora o teste de A1C seja hoje em dia considerado como um dos parâmetros mais fiéis da avaliação do controle glicêmico, é muito importante ressaltar o papel da variabilidade glicêmica e seu impacto sobre os resultados do referido teste de A1C.

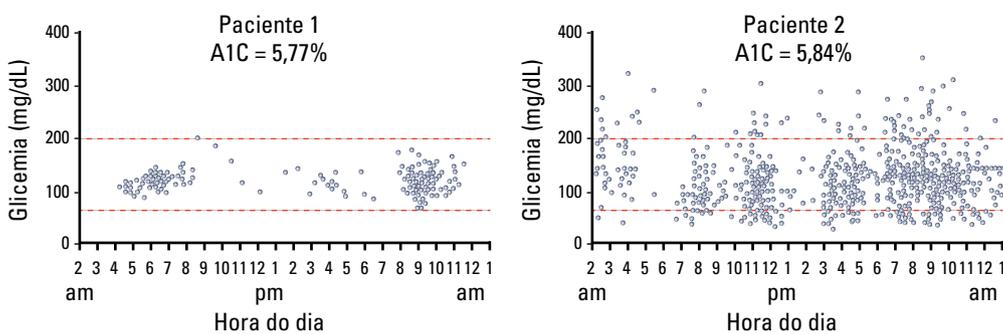
Tabela 5. Principais condições clínicas que podem interferir no resultado do teste de A1C	
Condições que podem promover redução do valor real da A1C (Diminuição do número ou da meia-vida dos eritrócitos)	
Anemias hemolíticas de diferentes etiologias (incluindo algumas hemoglobinopatias) Comprometimento da medula óssea por radiação, toxinas, fibrose, tumores. Medicções: antirretrovirais, dapsona.	Perda sanguínea Deficiência de eritropoietina secundária a comprometimento renal Gestação
Condições que podem promover aumento do valor real da A1C	
Presença de hemoglobina carbamílada (hemoglobina quimicamente modificada e resultante da ligação da ureia à hemoglobina) ocorrendo em pacientes com insuficiência renal - RARO com métodos mais recentes. Deficiência nutricional de ferro pode provocar aumento nos níveis de A1C. Algumas hemoglobinopatias (a depender do método utilizado)	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.
Hemoglobinopatias podem resultar em valores falsamente elevados ou diminuídos, ou não alterar o valor de A1C conforme a metodologia aplicada	

Na **figura 8**, o paciente 1 apresenta um nível de A1C de 5,77% e uma variabilidade glicêmica normal, situação esta que resulta num valor real desse parâmetro diagnóstico. Por outro lado, o paciente 2 apresenta uma A1C de 5,84%, portanto, praticamente igual ao nível de A1C apresentado pelo paciente 1. Note-se, também, que o paciente 2 apresenta uma ampla variedade glicêmica, embora mantendo níveis de A1C muito próximos

daqueles do paciente 1. Assim, na presença de ampla variedade glicêmica, os níveis de A1C estão “dentro da normalidade”, porém, refletem apenas uma situação de falsa normalidade que resulta de uma variabilidade glicêmica bem pronunciada.

Figura 8. O impacto da ampla variabilidade glicêmica sobre um nível de falsa normalidade nos níveis de A1C

Ambos os pacientes apresentam níveis equivalentes de A1C, apesar da grande diferença quanto à intensidade da variabilidade glicêmica.



Referências bibliográficas

1. Sacks D.B. Carbohydrates. In: Burtis, C.A.; Ashwood, E.R.; Bruns, D.E. 5th ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. St. Louis, Elsevier Saunders 2012. p.709-730.
2. Tests of Glycemia in Diabetes – Position Statement – American Diabetes Association – Diabetes Care 2004;27:S91-S93.
3. Du X, T Matsumura, D Edelstein, et al.: Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. J Clin Invest. 2003 Oct;112(7):1049-57.
4. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. Williams Textbook of Endocrinology. 13th ed. United States of America: Elsevier; 2016.
5. Ismail-Beigi F, Moghissi E, Tiktin M, Hirsch IB, Inzucchi SE, Genuth S. Individualizing Glycemic Targets in Type 2 Diabetes Mellitus: Implications of Recent Clinical Trials. Ann Intern Med 2011;154:554-559
6. 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. 1993; 329:977-986.
7. 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 1998; 352:837-853.
8. Khaw KT, Wareham N, Luben R et al. Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of European prospective investigation of cancer and nutrition (EPIC-Norfolk). BMJ. 2001; 322:15-891. International Expert 92.
9. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes - 2017. Diabetes Care 2017; 40 (Suppl. 1):S1-S135.
10. Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, et al. Prevalence of diabetes and high risk for diabetes using A1C criteria in the U.S. population in 1988–2006. Diabetes Care 2010; 33:562–568.
11. World Health Organization. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1C) in the diagnosis of diabetes mellitus abbreviated report of a WHO consultation. 2011
12. Zhang X, EW Gregg et al. A1C Level and Future Risk of Diabetes: A Systematic Review Diabetes Care 33:1665–1673, 2010
13. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. N Engl J Med 2010;362:800– 811
14. Welsh KJ, Kirkman MS and Sacks DB, Role of Glycated Proteins in the Diagnosis and Management of Diabetes: Research Gaps and Future Directions Diabetes Care 2016;39:1299–1306
15. Cohen MP. Clinical, pathophysiological and structure/function consequences of modification of albumin by Amadori-glucose adducts. Biochim Biophys Acta 2013;1830:5480–5485
16. Kohzuma T, Yamamoto T, Uematsu Y, Shihabi ZK, Freedman BI. Basic performance of an enzymatic method for glycated albumin and reference range determination.

17. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2011; 57:e1–e47
18. Sumner AE, Duong MT, Aldana PC, et al. A1C combined with glycated albumin improves detection of prediabetes in Africans: the Africans in America study. *Diabetes Care* 2016;39: 271–277
19. Araki T, Ishikawa Y, Okazaki H, et al. Japanese Red Cross GA Research Group. Introduction of glycated albumin measurement for all blood donors and the prevalence of a high glycated albumin level in Japan. *J Diabetes Investig* 2012; 3:492–497
20. Cohen RM, Sacks DB. Comparing multiple measures of glycemia: how to transition from biomarker to diagnostic test? *Clin Chem* 2012; 58:1615–1617
21. Parrinello CM, Selvin E. Beyond HbA1c and glucose: the role of nontraditional glycemic markers in diabetes diagnosis, prognosis, and management. *Curr Diab Rep* 2014; 14:548
22. Selvin E, Rawlings AM, Grams M, et al. Fructosamine and glycated albumin for risk stratification and prediction of incident diabetes and microvascular complications: a prospective cohort analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014; 2:279–288
23. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016) - São Paulo: A.C. Farmacêutica, 2016.
24. Nathan, D.M.; Kuenen, J.; Borg, R.; Zheng, H.; Schoenfeld, D.; Heine, R.J. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1473-1478.
25. Gorst C, Kwok CS, Long-term Glycemic Variability and Risk of Adverse Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis *Diabetes Care* 2015;38:2354–2369
26. Suh S, Kim JH. Glycemic Variability: How Do We Measure It and Why Is It Important? *Diabetes Metab J* 2015;39:273-282
27. Parrinello CM, Selvin E. Beyond HbA1c and glucose: the role of nontraditional glycemic markers in diabetes diagnosis, prognosis, and management. *Curr Diab Rep*. 2014;14(11):548. doi: 10.1007/s11892-014-0548-3. Review.
28. Kim WJ, Park CY. 1,5-Anhydroglucitol in diabetes mellitus. *Endocrine*. 2013 Feb;43(1):33-40. doi: 10.1007/s12020-012-9760-6. Epub 2012 Jul 31. Review.
29. Chandalia H.B. and Krishnaswamy P.R. Glycated Hemoglobin – *Current Science* 2002; (83)12:1522-1532.
30. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014 Compendium. *Pediatric Diabetes* 2014; 15(Suppl. 20): 102–114
31. Guidelines Abstracted from the American Geriatrics Society Guidelines for Improving the Care of Older Adults with Diabetes Mellitus: 2013 Update *J Am Geriatr Soc*. 2013 Nov; 61(11): 2020–2026.
32. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). IFCC standardization of HbA1C Disponível em: <http://www.ngsp.org/ifccrs.asp>.

PARTE 2: ASPECTOS LABORATORIAIS

Recomendações e cuidados analíticos para a determinação da hemoglobina glicada

O QUE É HEMOGLOBINA GLICADA?

O termo hemoglobina glicada, A1C ou HbA1c, se refere a um conjunto de substâncias formadas a partir de reações entre a Hemoglobina A (HbA) e alguns açúcares.

Os componentes glicosados da hemoglobina 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 na separação eletroforética. Assim, foram inicialmente denominadas de “hemoglobinas rápidas” por Samuel Rabhar (1969) que observou a presença destas hemoglobinas em pacientes com diabetes tipo 2 ao avaliar o perfil de hemoglobina por eletroforese em gel de agarose.¹ A fração mais importante da hemoglobina glicada, no que concerne ao diabetes, é a fração A1C ou HbA1c, na qual há um resíduo de glicose ligado ao grupo amino terminal (resíduo de valina) de uma ou de ambas as cadeias beta da HbA. A ligação entre a HbA e a glicose é o produto de uma reação não enzimática definida como glicação. Por esta razão, obedecendo à nomenclatura química, o termo correto é hemoglobina glicada. A A1C corresponde a cerca de 3 a 6% da HbA1 total em pessoas sem diabetes, alcançando até 20% ou mais em indivíduos com diabetes mal controlados.^{2,3}

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 hemoglobina é reversível e origina um composto intermediário denominado pré-A1C, A1C 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 HbA1c ou, simplesmente, A1C.²

A hemácia é livremente permeável à molécula de glicose, sendo que a hemoglobina fica, praticamente, exposta às mesmas concentrações da glicose plasmática. A hemoglobina glicada se acumula dentro das hemácias, apresentando, portanto, uma meia vida dependente da delas.²

NOMENCLATURA

Recomenda-se o uso dos termos “hemoglobina glicada”, “HbA1c” ou “A1C”.

O *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), dos 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 pelo NGSP referem-se, especificamente, à fração A1C, sendo os métodos ideais para uso na rotina laboratorial.

O termo glicosilação não é indicado ao se referir ao processo de formação da hemoglobina glicada, pois neste caso, a reação não é mediada por um sistema enzimático. Do ponto de vista químico, a formação da A1C baseia-se em um processo de “glicação”, uma vez que a reação é do tipo não enzimático entre a glicose e a hemoglobina.²

No indivíduo sem diabetes a fração A1C representa, aproximadamente, 80% da hemoglobina A1 total.² As outras frações da hemoglobina A1 originam-se da ligação de outras moléculas ao aminoácido valina presente na porção N-terminal da cadeia beta da hemoglobina A: A1a1 (frutose-1,6-difosfato), A1a2 (glicose-6-fosfato) e A1b (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 A0.² No **quadro 1** estão listados os principais termos referentes ao processo de glicação da hemoglobina, bem como as respectivas definições.

ANÁLISE LABORATORIAL

– Fase pré-analítica

- **Variação Biológica**

Idade:

Existe uma relação entre elevação dos níveis de A1C com a idade. Num estudo realizado em trabalhadores do sexo masculino no Japão, observou-se que a elevação foi mais acentuada nos indivíduos com histórico familiar de diabetes.⁴ Segundo Nutall (1999), o aumento médio seria de, aproximadamente, 0,11% a 0,15% por década, dependendo do método analítico utilizado.⁵

Raça ou etnia:

Os níveis de A1C podem variar de acordo com a raça ou etnia, independentemente dos níveis glicêmicos. Os afro-americanos tendem a apresentar níveis mais elevados de A1C do que os brancos não-hispânicos.⁶

Quadro 1. NOMENCLATURA

HbA	Forma principal e nativa da hemoglobina, que é um tetrâmero formado por duas cadeias alfa e duas cadeias beta.
HbA0	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.
HbA1 total	Formas de HbA carregadas 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 A1C específica. Estas metodologias não são mais recomendadas para a dosagem da A1C.
HbA1a1, HbA1a2, HbA1b, A1C	Representam as diferentes formas químicas ou as frações da hemoglobina glicada.
A1C 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 para o diagnóstico e acompanhamento do <i>diabetes mellitus</i> .
Pré-A1C	Molécula de HbA cujo aminoácido valina localizado na porção terminal da cadeia beta da hemoglobina A, 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	Termo introduzido por Samuel Rahbar (1969) que descreveu a presença destas hemoglobinas em indivíduos com diabetes tipo 2 na eletroforese em gel de agarose. ¹ O nome deriva da característica química da molécula de hemoglobina glicada 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. Este termo não mais é utilizado na rotina clínica e laboratorial.
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.

- **Interferentes analíticos**

Algumas condições clínicas e certos interferentes analíticos devem ser considerados 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.^{1,7,8} As condições clínicas que interferem na meia vida das hemácias diminuem o poder diagnóstico da A1C em refletir os níveis pregressos de glicose, não se tratando de interferentes diretos sobre a metodologia utilizada. A concentração da hemoglobina é um parâmetro importante a ser avaliado, frente a um resultado de A1C não consistente com o quadro clínico.

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.¹

O uso do medicamento dapsona pode induzir artificialmente queda nos níveis de hemoglobina glicada. A causa desta interferência não está claramente estabelecida. No entanto, é sabido que a dapsona pode induzir a oxidação da hemoglobina para meta-hemoglobina, o qual pode interferir no ensaio por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). A dapsona pode também reduzir o tempo de sobrevivência das hemácias, independente do seu efeito hemolítico.¹

A anemia por carência de ferro, vitamina B12 ou folato pode resultar em valores inapropriadamente elevados da A1C.¹

Hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, uremia, alcoolismo crônico e ingestão crônica de opiáceos podem interferir em algumas metodologias produzindo resultados falsamente elevados.¹

Hemoglobina quimicamente modificada pode estar presente nos pacientes com uremia, produzindo um composto denominado hemoglobina carbamilada, resultado da ligação da ureia à hemoglobina.⁹ Os pacientes que fazem uso de elevadas quantidades de ácido acetilsalicílico produzem a hemoglobina acetilada. Ambos os elementos podem interferir na dosagem da hemoglobina glicada, produzindo resultados falsamente elevados.¹

Atualmente, a maioria das metodologias certificadas pelo NGSP apresentam mínima ou nenhuma interferência das hemoglobinas quimicamente modificadas. No entanto, é oportuno considerar a possibilidade desta interferência frente a um resultado clinicamente inconsistente de A1C, onde as causas mais comuns de interferência metodológica foram descartadas.

A dosagem de hemoglobina glicada em pacientes portadores de variantes de hemoglobina heterozigótica (exemplos: hemoglobina S, C, D, E, etc.), ou naqueles com elevada concentração de hemoglobina F, resulta valores falsamente elevados ou diminuídos, conforme a metodologia aplicada.^{8,10-14} Importante ressaltar que as variantes de hemoglobina também apresentam processo de glicação semelhante a hemoglobina A. Alguns métodos, baseados no HPLC e eletroforese capilar, podem identificar a presença de alguns tipos de hemoglobinas variantes e desconsiderar a concentração das variantes de hemoglobina glicada no cálculo final da A1C. Já os métodos que não detectam a presença das variantes de hemoglobina, consideram estas variantes glicadas no cálculo da A1C.

A quantificação da hemoglobina glicada não é aplicável nas hemoglobinopatias homozigóticas, independente da metodologia utilizada, em função da ausência de hemoglobina A.⁸ Esta condição necessita ser rastreada e confirmada pelos métodos usuais para o estudo das variantes de hemoglobina.¹³ Nestas situações, exames alternativos, tais como frutossamina, albumina glicada ou 1,5-anidroglicitol podem ser úteis.^{7,15}

Os efeitos da presença das variantes de hemoglobina heterozigóticas C, S, E e D e também da hemoglobina fetal elevada sobre os métodos comerciais disponíveis, podem ser consultados no site do NGSP: www.ngsp.org

A base de Schiff, que é a fração lábil da hemoglobina glicada, 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.^{2,16}

ATENÇÃO: INTERFERENTES POTENCIAIS

Os laboratórios devem conhecer as limitações e os efeitos das potenciais interferências na metodologia utilizada, particularmente as variantes de hemoglobina. Ao selecionar o método de ensaio, os laboratórios devem se informar acerca do cálculo para obtenção do resultado da A1C.

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.

Coleta

O sangue pode ser obtido por punção venosa ou por punção capilar. Os tubos devem conter o anticoagulante especificado pelo fabricante, sendo que o EDTA é o anticoagulante indicado.

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.²

O armazenamento a -20°C, por longos períodos de tempo, ocasiona o aumento da HbA1a+b e, portanto, não é aceitável.²

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.² A grande maioria dos métodos atualmente disponíveis para dosagem de A1C estão capacitados a identificar e isolar ou remover este interferente. Os laboratórios devem ler atentamente a bula fornecida pelo fabricante para se certificar que o método está capacitado a minimizar ou remover a interferência da fração pré-A1C.

– Fase analítica

Métodos rastreáveis à referência DCCT e certificação NGSP

A função do *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) é padronizar os resultados da A1C entre os métodos comerciais disponíveis, de modo que os resultados sejam comparáveis àqueles obtidos no estudo DCCT.

O NGSP certifica métodos comerciais e também laboratórios clínicos. 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 e laboratórios certificados. Os fabricantes e os laboratórios que tem interesse em manter a certificação junto ao NGSP, necessitam revalidar o certificado anualmente.

- ***Padronização do International Federation for Clinical Chemistry (IFCC) para dosagem da hemoglobina glicada***

O *International Federation for Clinical Chemistry Working Group* (IFCC-WG) foi criado no ano de 1995 visando desenvolver métodos de referência para a dosagem da A1C.^{17,18} Uma rede de laboratório internacional foi criada para trabalhar com dois métodos: espectroscopia de massa e eletroforese capilar. Cada laboratório de rede utiliza misturas preparadas de hemoglobina A1C purificada e HbA0 como calibradores. A lista dos laboratórios membros do IFCC-WG pode ser consultada no seguinte site: <http://www.ifcchba1c.net/>.

Uma equação entre as metodologias IFCC e NGSP foi estabelecida, conforme descrita abaixo:¹⁷

$$\text{NGSP} = (0,09148 \times \text{IFCC}) + 2,152.$$

Os resultados da A1C obtidos pela metodologia IFCC são 1,5 a 2,0% mais baixos quando comparados aos resultados dos métodos certificados pelo NGSP.^{17,18}

O processo de certificação do NGSP e os resultados de A1C dos métodos certificados pelo NGSP não foram alterados, sendo que continuarão a ser diretamente rastreáveis à referência DCCT e agora também à referência IFCC.

- ***Critérios para escolha do método adequado na rotina laboratorial***

Existem diversas metodologias disponíveis, comercialmente, para a realização do teste de 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 ANVISA;
- Recomenda-se o uso de métodos certificados pelo NGSP;
- No mercado brasileiro existem fabricantes de conjuntos diagnósticos que comercializam reagentes para dosagem de A1C com a sua própria marca. No entanto, este reagente pode ter sido originalmente produzido por uma empresa estrangeira cujo conjunto diagnóstico é certificado pelo NGSP. Assim, estes conjuntos diagnósticos podem ser considerados como sendo certificados pelo NGSP. Informações mais detalhadas devem ser solicitadas junto ao fabricante ou fornecedor destes conjuntos diagnósticos.

Recomenda-se que os laboratórios clínicos utilizem métodos para dosagem de A1C certificados pelo NGSP. Além disso, o laboratório deve participar regularmente de um programa de ensaio de proficiência específico para a A1C.

- **Fundamentos metodológicos para dosagem de A1C**

Os métodos atualmente disponíveis para dosagem da A1C se baseiam em um dos seguintes fundamentos:²

Na diferença na carga iônica:

- Cromatografia de troca iônica (HPLC);
- Eletroforese em gel de agarose.
- Eletroforese capilar.

Nas características estruturais:

- Cromatografia de afinidade (HPLC) utilizando derivados do ácido borônico;
- Imunoensaio turbidimétrico.

Na reatividade química:

- Método colorimétrico.

- **Conjuntos diagnósticos para a dosagem de A1C**

Teste laboratorial remoto (TLR) para dosagem de A1C

Teste laboratorial remoto (TLR) ou *point-of-care* (POC) ou *point-of-care testing* (POCT) na língua inglesa estão disponíveis no mercado. Os testes laboratoriais remotos certificados pelo NGSP podem ser consultados no site do NGSP.

- **Desempenho analítico**

Recomenda-se que o laboratório mantenha um programa de controle interno da qualidade da dosagem de A1C. Recomenda-se, ainda, que o laboratório participe ativamente de um ou mais programas de ensaio de proficiência nacional e internacional. Segundo dados do programa de ensaio de proficiência do *College of American Pathologists* (CAP) referente ao *GH5 Survey Data*, atualizado em dezembro de 2016, a grande maioria dos métodos utilizados pelos laboratórios para a dosagem de A1C, apresentaram coeficiente de variação inferior a 3,5%.

- **Crítérios para suspeita da presença de variante de hemoglobina na amostra avaliada**

- Resultados abaixo do limite inferior da referência: 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 paciente portador de variante de hemoglobina.

- Resultados acima de 15%: Estes resultados devem ser repetidos e, se confirmados, a hipótese da presença de hemoglobina variante deve ser considerada, particularmente se os níveis de glicose plasmática não forem consistentes com o resultado da A1C. O cálculo da glicose média estimada pode ser útil na avaliação do resultado da A1C. Nestas circunstâncias, o laboratório poderia confirmar o resultado por uma segunda metodologia, ou realizar a pesquisa de variante de hemoglobina.^{16,19}

– Fase Pós-analítica

Intervalo de referência

Para as metodologias certificadas pelo NGSP, o intervalo de referência da A1C deve situar-se entre 4% a 6%.²⁰ A utilização de metodologia certificada pelo NGSP com rastreabilidade de desempenho analítico em relação aos estudos do DCCT permite adotar os critérios para diagnóstico e acompanhamento do diabetes do *American Diabetes Association* (ADA) e da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD).²¹⁻²³

Laudo laboratorial

O laudo laboratorial deve informar o tipo de material analisado, a metodologia utilizada incluindo a citação de ser certificado pelo NGSP, o intervalo de referência, o valor da glicose média estimada (vide item “Unidade de medida da A1C” neste documento) e os critérios para diagnóstico do diabetes baseados nos níveis de A1C.

Sugere-se também acrescentar um texto explicativo acerca da meta a ser atingida pelos pacientes com diabetes conforme descrito a seguir.

TEXTO SUGERIDO PARA EXPRESSÃO DE RESULTADOS DOS TESTES DE A1C

“O método utilizado nesta dosagem de hemoglobina glicada é certificado pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP). A meta a ser alcançada para o efetivo controle do diabetes deve ser individualizada para cada paciente pelo médico assistente.

Conforme a *American Diabetes Association* (ADA) e a Sociedade Brasileira de Diabetes, valores inferiores a 7%, sem aumentar o risco de hipoglicemia, diminuem significativamente o risco de desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes.”

UNIDADES DE MEDIDA DA A1C

A *American Diabetes Association* (ADA), a *European Association for the Study of Diabetes* (EASD), a *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) e a *International Diabetes Federation* (IDF), publicaram em 2007 um documento de consenso acerca da padronização mundial para dosagem da A1C.¹⁸

Algumas das propostas estabelecidas pelo grupo foram:

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.

Definição das unidades de medida para A1C:

- Unidade IFCC: mmol de A1C / mol de hemoglobina (mmol/mol)
- Unidade NGSP: Na forma percentual (%),

A partir do resultado da A1C calcula-se a glicose média estimada através de uma equação matemática proposta pelo grupo de estudo denominado *A1c-Derived Average Glucose* (ADAG).^{24,25}

Glicose média estimada (mg/dL) = 28,7 x A1C – 46,7

Este resultado de glicose média seria incorporado no laudo do exame, visando facilitar a interpretação clínica do resultado de A1C.

Este documento de posicionamento recomenda a manutenção da unidade NGSP nos resultados de A1C, sem a correção pela equação IFCC-NGSP. Estimulamos a incorporação do valor da glicose média estimada visando facilitar o entendimento e a interpretação do resultado da A1C.

Referências bibliográficas

1. Heinrichs HR. HbA1c - Glycated hemoglobin and diabetes mellitus. Bremen, INI-MED Verlag AG, 2009; p.10-22.
2. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. 5th ed. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. St. Louis, Elsevier Saunders 2012. p.709-730.
3. Tests of Glycemia in Diabetes – Position Statement – American Diabetes Association – Diabetes Care 2004; 27:S91-S93.
4. Hashimoto Y, Futamura A, Ikushima M. Effect of aging on HbA1c in a working male Japanese population. Diabetes Care 1995; 18:1337-1340.
5. Nutall FQ. Effect of age on the percentage of hemoglobin A1c and the percentage of total glycohemoglobin in non-diabetic persons. J Lab Clin Med 1999; 134: 451-453.
6. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes - 2017. Diabetes Care 2017; 40 (Suppl. 1):S1-S-135.
7. Andriolo A, Vieira, JGH. Diagnóstico e acompanhamento laboratorial do diabetes mellitus. In: Andriolo A. (org.). Guias de medicina ambulatorial e hospitalar da UNIFESP-EPM / medicina laboratorial. 2a. ed. São Paulo, Manole, 2008; p.37-42.
8. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). HbA1c assay interferences. Disponível em: <http://www.ngsp.org/interf.asp>. Acesso em: 20 fev 2017.
9. Weykamp CW, Miedema K, Haan T, Doelman CJA. Carbamylated hemoglobin interference in glycohemoglobin assays. Clin Chem 1999; 45:438-440
10. Sumita NM, Andriolo A. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. J Bras Patol Med Lab 2008; 44:169-174.
11. Sumita NM, Andriolo A. Importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento do paciente portador de diabetes mellitus. J Bras Patol Med Lab 2006; 42, editorial.
12. Sacks DB. Hemoglobin variants and hemoglobin A1C analysis: Problem solved? Clin Chem 2003; 49:1245-1247.
13. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assay for glycohemoglobin. Clin Chem 2001; 47:153-163.
14. Roberts WL, Chiasera JM, Ward-Cook KM. Glycohemoglobin results in samples with hemoglobin C or S Trait: a comparison of four test systems. Clin Chem 1999; 45:906-909.
15. Stettler C, Stahl M, Allemann S, Diem P, Schmidlin K, Zwahlen M et al. Association of 1,5-anhydroglucitol and 2-h postprandial blood glucose in type 2 diabetic patients. Diabetes Care 2008; 31:1534-1535.
16. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2002; 48:436-472.
17. National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). IFCC standardization of HbA1C Disponível em: <http://www.ngsp.org/ifccrs.asp>. Acesso em: 20 fev 2017.

18. 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* 2007; 30: 2399-2400.
19. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Sick Cell Trait & Other Hemoglobinopathies & Diabetes (For Providers). Disponível em: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diagnostic-tests/sickle-cell-trait-hemoglobinopathies-diabetes>. Acesso em: 20 fev 2017.
20. Bloomgarden ZT, Inzucchi SE, Karnieli E, Le Roith D. The proposed terminology "A1C-derived average glucose" is inherently imprecise and should not be adopted. *Diabetologia* 2008; 51: 1111-1114.
21. 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*. 1993; 329:977-986.
22. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England J, Tennill A, Goldstein D. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c: Analysis of glucose profiles and HbA1c in the diabetes control and complications trial. *Diabetes* 2002; 25(2):275-278.
23. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016). Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/profissionais/images/docs/DIRETRIZES-SBD-2015-2016.pdf>. Acesso em: 20 fev 2017.
24. Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, Heine RJ. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care* 2008; 31: 1473-1478.
25. Sacks DB. Translating hemoglobin A1C into average blood glucose: implications for clinical chemistry. *Clin Chem* 2008; 54:1756-1758.



**Sociedade Brasileira de
Endocrinologia e Metabologia**



© Copyright 2017/2018 - Direitos exclusivos da Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia e Federação Nacional das Associações e Entidades de Diabetes.