

Hemoglobin A1c

Whole Blood Application - Standardized according to IFCC

Hemoglobina A1c

Aplicação de sangue total - Padronizada segundo a IFCC

Informações para encomenda

COBAS INTEGRA Hemoglobin A1c	150 Testes	Ref. 20753521 322 System-ID 07 5352 1
HbA1c Calibrator	4 × 1 ml	Ref. 20755664 322 System-ID 07 5566 4
HbA1c Control N	4 × 0,5 ml	Ref. 20764833 322 System-ID 07 6483 3
HbA1c Control P	4 × 0,5 ml	Ref. 20764841 322 System-ID 07 6484 1
HbA1c Hemolysis Reagent	6 × 8 ml	Ref. 20767115 322 System-ID 07 6711 5
COBAS INTEGRA Cleaner Cassette	150 Testes	Ref. 20764337 322 System-ID 07 6433 7

● Indica em que analisador(es) pode ser utilizada a cassette

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 700	COBAS INTEGRA 800
●	●	●

Função

A cassette COBAS INTEGRA Hemoglobin A1c (HbA1c) contém um sistema de reagentes para diagnóstico in vitro, para utilização nos sistemas COBAS INTEGRA, com vista à determinação quantitativa da percentagem de hemoglobina A1c [HbA1c (%)] em sangue total (testes HEM1W, 0-552 e HEM2W, 0-652). Os resultados da hemoglobina A1c são úteis para a monitorização do controlo da glicose no sangue a longo prazo em indivíduos com diabetes mellitus.

Características^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10}

A hemoglobina (Hb) é constituída por 4 cadeias de proteínas com 4 fracções heme, e é a proteína de pigmento vermelho localizada nos eritrócitos. A sua função principal é o transporte de oxigénio e de dióxido de carbono no sangue. Cada molécula de Hb é capaz de ligar 4 moléculas de oxigénio. A Hb é constituída por uma variedade de subfracções e derivados. Entre este grupo heterogéneo de hemoglobinas HbA1c está uma das hemoglobinas glicadas, uma subfracção formada pela ligação de vários açúcares à molécula de Hb. A HbA1c forma-se em 2 passos, através da reacção não enzimática da glucose com o grupo amino terminal N da cadeia β da hemoglobina normal (HbA). O 1º passo é reversível e produz HbA1c lábil. Este facto é lentamente alterado no 2º passo da reacção, de forma a produzir HbA1c estável.

Nos eritrócitos, a quantidade relativa de HbA convertida em HbA1c estável aumenta com a concentração média de glucose no sangue. A conversão para HbA1c estável é limitada pelo tempo de vida dos eritrócitos, que é de cerca de 100 a 120 dias. Como consequência, a HbA1c reflecte o nível médio de glucose no sangue nos 2 a 3 meses precedentes. A HbA1c é, assim, adequada para monitorizar o controlo da glucose no sangue a longo prazo em indivíduos com diabetes mellitus. Os níveis mais recentes de glucose têm maior influência no nível de HbA1c.¹

A relação aproximada entre a HbA1c e o valor médio de glucose no sangue durante os 2 a 3 meses anteriores foi analisada em vários estudos. Num estudo recente obteve-se a seguinte correlação:

Padronização IFCC (recalculada de acordo com Ref. 8)

- Glucose plasmática média [mmol/l] = $1,73 \times \text{HbA1c} (\%) + 0,20$ ou
- Glucose plasmática média [mg/dl] = $31,2 \times \text{HbA1c} (\%) + 3,51$

Padronização de acordo com DCCT/NGSP⁸

- Glucose plasmática média [mmol/l] = $1,98 \times \text{HbA1c} (\%) - 4,29$ ou
- Glucose plasmática média [mg/dl] = $35,6 \times \text{HbA1c} (\%) - 77,3$

O risco de complicações diabéticas, como a nefropatia e a retinopatia diabética, aumenta quando o controlo metabólico é fraco. Devido à sua função de indicador do nível médio de glucose no sangue, a HbA1c permite prever o desenvolvimento de complicações diabéticas nos doentes diabéticos.^{3,5}

Na utilização clínica de rotina, é normalmente suficiente efectuar a análise a cada 3 ou 4 meses. Em algumas situações clínicas, como a diabetes da gravidez ou após uma alteração importante da terapêutica, pode ser útil medir a HbA1c a intervalos de 2 a 4 semanas.⁷

Princípio do teste

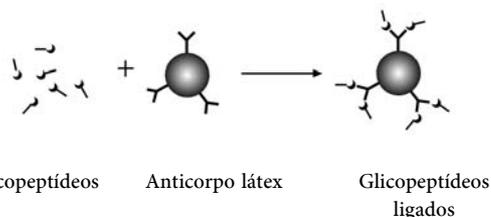
A concentração de Hb total e de HbA1c é determinada após hemólise da amostra de sangue total anticoagulada. A Hb total é determinada colorimetricamente. A HbA1c é determinada imunoturbidimetricamente. O rácio das duas concentrações dá origem ao resultado final da percentagem de HbA1c [HbA1c (%)].

A amostra de sangue total anticoagulada é hemolisada automaticamente nos sistemas COBAS INTEGRA com HbA1c Hemolysis Reagent na cuvete de pré-diluição. O eritrócitos são lisados por baixa pressão osmótica. A Hb libertada é degradada proteoliticamente pela pepsina, fazendo com que as estruturas do β-N-terminal sejam mais acessíveis no imunoensaio. Adicionalmente, as fracções heme são oxidadas para o doseamento de Hb.

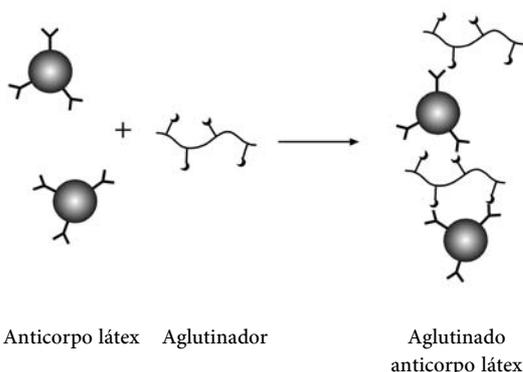
A Hb total é determinada nos sistemas COBAS INTEGRA no hemolisado, utilizando um método colorimétrico isento de cianeto baseado na formação de um cromóforo castanho-esverdeado (hematina alcalina D-575) em solução detergente alcalina.¹¹ A intensidade da cor é proporcional à concentração de Hb na amostra, e é determinada através da monitorização do aumento da absorvância a 552 nm. O resultado do teste é calculado utilizando um factor fixo determinado a partir da clorohemina, um calibrador primário.¹²

A HbA1c é determinada em sistemas COBAS INTEGRA utilizando anticorpos monoclonais ligados a partículas de látex. Os anticorpos ligam-se aos fragmentos do β-N-terminal de HbA1c.

INTEGRA 400/700/800



Os restantes anticorpos livres encontram-se aglutinados com um polímero sintético portador de múltiplas cópias da estrutura do β-N-terminal do HbA1c. A alteração da turbidez é inversamente proporcional à quantidade de glicopeptídeos ligados e é medida turbidimetricamente a 552 nm.



É utilizado na calibração um polipeptídeo sintético que inclui a estrutura do terminal N da HbA1c.¹³

O resultado final é expresso sob a forma de percentagem de HbA1c e é calculado a partir do rácio de HbA1c/Hb do seguinte modo:

Protocolo 1 (de acordo com a IFCC)

$$\text{HbA1c (\%)} = (\text{HbA1c/Hb}) \times 100$$

Protocolo 2 (de acordo com DCCT/NGSP):

$$\text{HbA1c (\%)} = (\text{HbA1c/Hb}) \times 87,6 + 2,27$$

Reagentes – soluções de trabalho

R1 Reagente de látex (líquido)

R2 Reagente de Hb (líquido)

R3 = SR Reagente de aglutinador (líquido)

Componentes activos

Componentes	Concentrações				
	R2	R1	SR	Hb Test	HbA1c Test
Fosfato	400			194	mmol/l
Tensioactivos	20			0,97	g/l
Látex revestido com anticorpo monoclonal (ratinho) específico de HbA1c		0,5			0,34 g/l
HEPPS		50			34 mmol/l
Cloreto de sódio		150			103 mmol/l
Albumina sérica bovina		2,0	1,0		1,5 g/l
Formato			10		1,4 mmol/l
Agglutinador			0,5		0,07 mg/l
pH		11,5	8,1	3,0	11,5

O reagente R1 contém estabilizante não reactivo, surfactante e conservante.

Precauções e advertências

Preste atenção a todas as precauções e advertências incluídas na Introdução do Capítulo 1.

Preparação dos reagentes

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus

A cassette tem de ser homogeneizada diariamente antes de usar. Coloque a cassette no Cassete Mixer e homogeneíze durante 1 minuto.

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800

O reagente é homogeneizado automaticamente durante 2 minutos depois de a cassette ser perfurada e durante meio minuto no início do dia.

Conservação e estabilidade

Validade a 2-8°C Ver o prazo de validade na cassette.

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus

No analisador a 10-15°C 8 semanas

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800

No analisador a 8°C 8 semanas

Colheita e preparação das amostras

Para colheita e preparação das amostras utilize apenas tubos ou cuvets de amostra apropriados.

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

Sangue capilar ou venoso anticoagulado. O K₃-EDTA, a heparina de lítio, o citrato de sódio, o oxalato de potássio e o fluoreto de sódio são anticoagulantes aceitáveis. As amostras têm de estar isentas de coágulos. As amostras que apresentem qualquer alteração do hematócrito podem provocar alarmes no analisador. Estas amostras têm de ser bem homogeneizadas e depois analisadas como "STAT".

A sedimentação de eritrócitos pode dar origem a um resultado assinalado com o alarme <TEST RNG. Pode ser obtido um valor final válido de HbA1c homogeneizando bem a amostra e depois analisando-a como "STAT".

Estabilidade¹⁴: 1 semana a 15-25°C

4 semanas a 2-8°C

no máximo 12 semanas a -20°C

Os ciclos de congelação e descongelação repetidos (no máximo 10 vezes) não afectam o resultado do teste. Homogeneíze muito bem a amostra depois de descongelar.

Os tipos de amostras foram analisados com uma série de tubos de colheita de amostras disponíveis comercialmente na altura da análise, i.e. não foram testados todos os tubos disponíveis de todos os fabricantes. Os sistemas de colheita de amostras de vários fabricantes podem conter materiais diferentes que às vezes podem afectar os resultados de teste. Quando utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- HbA1c Hemolysis Reagent, Ref. 20767115, System-ID 07 6711 5. O reagente de hemólise é colocado na sua posição predefinida no suporte. Para mais informações, consulte Manuseamento do calibrador, controlo e diluente na parte 1, Introdução, do manual de método. (Estabilidade no analisador: Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus: 4 semanas, analisadores COBAS INTEGRA 700/800: 8 semanas.)
- COBAS INTEGRA Cleaner Cassette, Ref. 20764337, System-ID 07 6433 7. Recomendam-se ciclos de lavagem suplementares sempre que determinadas combinações de testes sejam executadas em conjunto nos sistemas COBAS INTEGRA. Para mais informações sobre

combinações de testes que requerem ciclos de lavagem suplementares, consulte o Capítulo 1, Introdução, Parte III.

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter instruções mais específicas sobre o ensaio feito neste analisador.

Aplicações para Hb e HbA1c

COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste de Hb

Nome abreviado do teste	HEM1W
Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	D-R2-S
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	552/659 nm
Primeiro/último cálc.	1/69
Intervalo de teste típico*	50-400 µmol/l (81-644 mg/dl)
Factor pré-diluição	51
Factor pós-diluição	Não
Unidade	µmol/l

Parâmetros de pipetagem

Hb	Diluyente (H ₂ O)	
R2	60 µl	6 µl
Amostra	32 µl	26 µl
Volume total	124 µl	

COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste Hb

Nome abreviado do teste	HEM1W
Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	D-R2-S
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	552/659 nm
Primeiro/último cálc.	1/98
Intervalo de teste típico*	50-400 µmol/l (81-644 mg/dl)
Factor pré-diluição	51
Factor pós-diluição	Não
Unidade	µmol/l

Parâmetros de pipetagem

Hb	Diluyente (H ₂ O)	
R2	60 µl	6 µl
Amostra	32 µl	26 µl
Volume total	124 µl	

* O intervalo de teste indicado está relacionado com o hemolisado pré-diluído a 1:51. O intervalo do teste de Hb para amostras não diluídas é de 2,5 a 20,4 mmol/l (4 a 32,9 g/dl).

COBAS INTEGRA 400/400 plus - Definição do teste de HbA1c

Nome abreviado do teste	HEM2W
Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	D-R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	552 nm
Primeiro/último cálc.	33/48
Intervalo de teste típico*	1,4-47 µmol/l (2,4-75,8 mg/dl)
Factor pré-diluição	51

Factor pós-diluição	Não
Unidade	µmol/l

Parâmetros de pipetagem

HbA1c	Diluyente (H ₂ O)	
R1	120 µl	
Amostra	3 µl	11 µl
R2	24 µl	16 µl
Volume total	174 µl	

COBAS INTEGRA 700/800 - Definição do teste de HbA1c

Nome abreviado do teste	HEM2W
Modo de medida	Absorvância
Modo de cálculo da abs.	Ponto final
Modo de reacção	D-R1-S-SR
Sentido da reacção	Aumento
Comprimento de onda A/B	552 nm
Primeiro/último cálc.	44/70
Intervalo de teste típico*	1,4-47 µmol/l (2,4-75,8 mg/dl)
Factor pré-diluição	51
Factor pós-diluição	Não
Unidade	µmol/l

Parâmetros de pipetagem

HbA1c	Diluyente (H ₂ O)	
R1	120 µl	
Amostra	3 µl	11 µl
R2	24 µl	16 µl
Volume total	174 µl	

* O intervalo de teste indicado está relacionado com o hemolisado pré-diluído a 1:51. O intervalo do teste de HbA1c para amostras não diluídas é de 0,07 a 2,40 mmol/l (0,11 a 3,8 g/dl). O limite superior e inferior do intervalo de teste de HbA1c depende do valor real do calibrador. O intervalo de teste acima referido baseia-se num valor típico de calibrador de 47 µmol/l. Para uma concentração de hemoglobina normal de 8,2 mmol/l (13,2 g/dl), o intervalo de teste dos resultados finais de HbA1c (%) é de 1 a 29% (valor IFCC; valores correspondentes para DCCT/NGSP 3-28%).

Nota

Não defina réplicas provenientes da mesma cuvete de amostra. Se forem necessárias réplicas, amostras adicionais têm de ser utilizadas em conformidade.

Definição do rácio para cálculo da HbA1c (%)

Protocolo 1 (de acordo com IFCC):

Nome abreviado do rácio	HBRWI (0-656)
Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus	(HEM2W/HEM1W) × 100
Analísadores COBAS INTEGRA 700/800	((HEM2W/HEM1W) × 100)
Unidade	%

Protocolo 2 (de acordo com DCCT/NGSP):

Nome abreviado do rácio	HBRWD (0-655)
Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus	(HEM2W/HEM1W) × 87,6 + 2,27
Analísadores COBAS INTEGRA 700/800	((HEM2W/HEM1W) × 87,6 + 2,27)
Unidade	%

Para cálculo do valor percentual de HbA1c, consulte a secções **Princípio do teste** e **Definição do rácio para cálculo da HbA1c (%)** neste folheto informativo.

INTEGRA 400/700/800

Analísadores COBAS INTEGRA 400/400 plus
Predefina um perfil (HEMWP) e um rácio para entrada e cálculo em simultâneo dos testes de Hb (HEM1W) e HbA1c (HEM2W) para a mesma amostra de sangue total. Para garantir que todos os resultados do rácio serão assinalados por um alarme CALC ERROR no caso de a HEM1W e HEM2W NÃO serem pipetadas a partir da mesma cuvete de pré-diluição, não se esqueça de activar a caixa de verificação "common cuvette" (implementada na versão 2.1 e superior do software) em "Calculated Results/ID-tab".

Analísadores COBAS INTEGRA 700/800

Utilize o perfil predefinido (HEMWP) para entrada em simultâneo dos testes de Hb (HEM1W) e HbA1c (HEM2W) para a mesma amostra de sangue total. Para garantir que todos os resultados do rácio serão assinalados por um alarme CALC ERROR no caso de a HEM1W e HEM2W NÃO serem pipetadas a partir da mesma cuvete de pré-diluição, não se esqueça de que os parênteses externos têm de ser definidos na fórmula conforme é indicado acima. O rácio de HbA1c (%) é calculado automaticamente depois de sair o resultado de ambos os testes.

IMPORTANTE

Para garantir uma sequência correcta de pipetagem de HEM1W seguida de HEM2W, não introduza HEM1W (hemoglobina total) ou HEM2W (HbA1c de sangue total) na lista de Sequência de Processamento. Certifique-se também que o número de teste introduzido seja idêntico com o ID do teste. Recomendamos utilizar o perfil de HbA1c pré-definido HEMWP (ID do teste 0-654).

Calibração*Hb*

Factor do calibrador 34,55

O teste de Hb é calibrado utilizando um factor fixo determinado pelo calibrador primário cloro-hemina.

HbA1c

Calibrador HbA1c Calibrator
Rácio de diluição 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, realizada automaticamente pelo analisador da calibração

Modo de calibração Logit/log 5
Repetição da calibração Duplicado recomendado

Intervalo de calibração Cada lote e de 57 em 57 dias, e conforme necessário, segundo os procedimentos de controlo de qualidade.

Rastreabilidade: O método da HbA1c foi padronizado de acordo com o método de referência IFCC aprovado para a medição de HbA1c em sangue humano^{15,16} e pode ser extrapolado para resultados adaptáveis às normas DCCT/NGSP, através de cálculo.

Nota

Introduza o valor teórico do calibrador específico do lote e da aplicação. Esta aplicação só é válida em combinação com lotes de calibrador baseados na padronização IFCC.

Controlo de qualidade

Controlo de qualidade da HbA1c (%) HbA1c Control N
HbA1c Control P
Intervalo de controlo 24 horas (recomendado)
Sequência de controlo Definida pelo utilizador
Controlo após calibração Recomendado

Para o controlo de qualidade, utilize os materiais de controlo indicados na secção "Informações para encomenda". Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Nota

Os controlos da HbA1c contêm informação válida apenas para a HbA1c (%). Não são fornecidas informações para as concentrações de Hb e HbA1c. Em consequência disto, os controlos HbA1c são tratados como amostras e não podem ser incluídos no programa de Controlo de Qualidade dos analisadores COBAS INTEGRA.

Cálculo*Hb*

A concentração de Hb de cada hemolisado é determinada multiplicando as taxas medidas (ΔA) pelo o factor de calibração fixo. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisadores COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

HbA1c

Os analisadores COBAS INTEGRA calculam automaticamente a concentração de HbA1c de cada amostra. Para mais informações, consulte a secção Análise de Dados, no Capítulo 7 do Manual do Utilizador (analisadores COBAS INTEGRA 700), ou a Análise de dados da ajuda Online (analisadores COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

HbA1c (%)

Para cálculo do valor percentual de HbA1c, consulte a secções **Princípio do teste** e **Definição do rácio para cálculo da HbA1c (%)** neste folheto informativo.

Nota:

A IFCC e o NGSP indicaram aos fabricantes que não modificassem os seus valores actuais de HbA1c a reportar, até decisões futuras do grupo de trabalho de ADA/EASD/IDF sobre o ensaio de HbA1c.¹⁷ Isto significa que a maioria dos países deve continuar a reportar os valores estabelecidos pela DCCT/NGSP. Se não sabe ainda ao certo a situação no seu país, por favor contacte as autoridades locais para garantir a abordagem apropriada para o seu laboratório.

Limitações - interferências

- Quando o objectivo é o diagnóstico, os valores de HbA1c (%) têm de ser utilizados juntamente com os resultados de outros procedimentos de diagnóstico e das avaliações clínicas.
- Como o teste foi concebido apenas para a determinação exacta e precisa da HbA1c (%), os resultados individuais gerados para a concentração de Hb total e de HbA1c não devem ser utilizados.
- O teste não se destina ao diagnóstico da diabetes mellitus, nem serve para monitorizar o controlo diário da glucose, não devendo ser utilizado para substituir as determinações diárias da glucose no sangue e na urina feitas pelo doente em casa.
- Todos os processos que reduzem a vida dos eritrócitos, reduzem a exposição dos eritrócitos à glucose e podem, portanto, provocar uma diminuição dos valores da HbA1c (%), mesmo quando o nível de glicemia médio em função do tempo está elevado.¹⁸ As causas da redução do tempo de vida dos eritrócitos podem ser uma anemia hemolítica ou outras doenças hemolíticas, vestígios de células falciformes homocigóticas, gravidez, perda de sangue recente significativa ou crónica, etc.
- À semelhança do que acontece com outros métodos, os valores de HbA1c podem não reflectir com exactidão a glicemia média em doentes com variantes de Hb.¹⁹ A HbF glicada (hemoglobina fetal) não é detectada, uma vez que não contém a cadeia β -glicada que caracteriza a HbA1c. Em

consequência disto, as amostras que contêm quantidades elevadas de HbF (>10%) podem produzir resultados de HbA1c inferiores aos previstos. As amostras que contêm variantes de HbS (células falciformes) e HbC podem produzir resultados de HbA1c superiores aos previstos. A viabilidade dos resultados obtidos para as variantes de Hb depende do traço de Hb, do nível de HbA1c e outras características da amostra. Em indivíduos sem diabetes ou que têm uma diabetes bem controlada foi reportado um desvio positivo médio entre 0,5 a 1,5% com HbS heterozigótica (células falciformes) e entre 1,1 a 2,2% com as variantes da HbC heterozigótica. Este desvio aumenta na diabetes mal controlada.^{20,21} Não foram avaliadas outras variantes muito raras da região terminal N da cadeia beta, HbE.

Critério: Recuperação dentro de $\pm 10\%$ do valor inicial.

Icterícia	Sem interferência significativa.
Lipemia	Sem interferência significativa.
Glicemia	Sem interferência significativa até um nível de glicose de 55,5 mmol/l (1000 mg/dl). Não é necessária uma amostra colhida em jejum.
Outras	A Hb acetilada (elevada devido à ingestão de álcool ou de aspirina), a Hb carbamylada (elevada na uremia) e a HbA1c lábil (um intermediário na formação de HbA1c estável) não interferem com o teste.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Valores teóricos

Protocolo 1 (de acordo com IFCC):
2,9-4,2% HbA1c²²

Protocolo 2 (de acordo com DCCT/NGSP):
4,8-5,9% HbA1c.²²

Os níveis de HbA1c acima do intervalo de referência estabelecido são um indicador de hiperglicemia durante os 2 a 3 meses anteriores ou há mais tempo. Os níveis de HbA1c podem atingir níveis iguais ou superiores a 20% na diabetes mal controlada. Sugere-se que se inicie o tratamento em níveis superiores ou iguais a 8%. Os doentes diabéticos com níveis de HbA1c inferiores a 7% cumprem os objectivos da American Diabetes Association.²³ Os níveis de HbA1c inferiores ao intervalo de referência estabelecido podem indicar episódios recentes de hipoglicemia, a presença de variantes da Hb ou uma redução do tempo de vida dos eritrócitos. Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho¹⁴

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho dos analisadores COBAS INTEGRA. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada utilizando amostras humanas e controlos num protocolo interno (intra-ensaio n = 20, inter-ensaio n = 20). Obtiveram-se os seguintes resultados (dados baseados nos valores DCCT/NGSP):

	Nível 1	Nível 2
Média	4,7%	10,3%
CV intra-ensaio	2,3%	2,2%
CV inter-ensaio	2,4%	2,4%

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

O limite inferior do intervalo de teste da Hb é 50 $\mu\text{mol/l}$ (81 mg/dl). O limite inferior do intervalo de teste da HbA1c depende do valor exacto do calibrador, mas é normalmente 1,4 $\mu\text{mol/L}$ (2,4 mg/dl). O limite inferior típico do intervalo de teste da %HbA1c pode ser calculado com base numa concentração de Hb indicada. Partindo do princípio de que a concentração típica de Hb é 8,2 mmol/l (13,2 g/dl), o limite inferior do intervalo de teste para a %HbA1c é de 1% (valores IFCC; o valor correspondente, de acordo com o DCCT/NGSP, é 3%).

Comparação dos métodos

Os valores de HbA1c (%) das amostras de sangue humano, obtidos no analisador COBAS INTEGRA 700 com a casete COBAS INTEGRA Hemoglobin A1c, foram comparados com os métodos subsequentes. Obtiveram-se os seguintes resultados:

(x) = Aplicação para hemolisados no analisador COBAS INTEGRA 700, valores IFCC
 (y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores IFCC
 Valores compreendidos entre 3,0 e 15,4% de HbA1c.
 Tamanho da amostra (n) = 63

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,02x - 0,17\%$	$y = 1,02x - 0,17\%$
$\tau = 0,955$	$r = 0,998$
DP (md 95) = 0,21	Sy.x = 0,14

(x) = Aplicação para hemolisados no analisador COBAS INTEGRA 700, valores DCCT/NGSP
 (y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores DCCT/NGSP
 Valores compreendidos entre 4,9 e 15,7% de HbA1c.
 Tamanho da amostra (n) = 63

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,02x - 0,19\%$	$y = 1,02x - 0,20\%$
$\tau = 0,955$	$r = 0,998$
DP (md 95) = 0,18	Sy.x = 0,12

(x) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores IFCC
 (y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 400/400 plus, valores IFCC
 Valores compreendidos entre 3,0 e 15,4% de HbA1c.
 Tamanho da amostra (n) = 63

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 0,99x + 0,07\%$	$y = 0,99x + 0,11\%$
$\tau = 0,950$	$r = 0,997$
DP (md 95) = 0,321	Sy.x = 0,16

(x) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores DCCT/NGSP
 (y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 400/400 plus, valores DCCT/NGSP
 Valores compreendidos entre 4,9 e 15,7% de HbA1c.
 Tamanho da amostra (n) = 63

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 0,99x + 0,08\%$	$y = 0,99x + 0,12\%$
$\tau = 0,949$	$r = 0,997$
DP (md 95) = 0,28	Sy.x = 0,14

(x) = Ensaio Tina-quant \boxtimes HbA1c II no analisador Roche/Hitachi 917, valores IFCC
 (y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores IFCC

INTEGRA 400/700/800

Valores compreendidos entre 3,0 e 13,9% de HbA1c.
Tamanho da amostra (n) = 62

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,02x + 0,01\%$	$y = 1,00x + 0,06\%$
$\tau = 0,928$	$r = 0,993$
DP (md 95) = 0,45	Sy.x = 0,23

(x) = Ensaio Tina-quant \otimes HbA1c II no analisador Roche/Hitachi 917, valores DCCT/NGSP
(y) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 700, valores DCCT/NGSP
Valores compreendidos entre 4,9 e 14,5% de HbA1c.
Tamanho da amostra (n) = 62

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,02x - 0,04\%$	$y = 1,00x + 0,05\%$
$\tau = 0,928$	$r = 0,993$
DP (md 95) = 0,39	Sy.x = 0,20

(x) = Aplicação para sangue total no analisador COBAS INTEGRA 800, valores DCCT/NGSP
(y) = Aplicação para hemolisados no analisador COBAS INTEGRA 800 com o *dispositivo adicional de tubos de colheita fechado*, valores DCCT/NGSP
Valores compreendidos entre 4,8 e 11,2% HbA1c.
Tamanho da amostra (n) = 90

Passing/Bablok	Regressão linear
$y = 1,03x - 0,15\%$	$y = 1,00x - 0,01\%$
$\tau = 0,868$	$r = 0,996$
DP (md 95) = 0,13	Sy.x = 0,07

Especificidade analítica

Derivados de Hb	A HbA1c lábil (pré-HbA1c), a Hb acetilada e a Hb carbamylada não afectam o resultado do ensaio.
Variantes de Hb	As amostras que contêm quantidades elevadas de HbF (>10%) podem produzir resultados de HbA1c inferiores aos previstos. As amostras que contêm variantes de HbS e HbC podem produzir resultados de HbA1c superiores aos previstos.

Bibliografia

- Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 1995;18:896-909.
- Goldstein DE, Little RR. More than you ever wanted to know (but need to know) about glycohemoglobin testing. *Diabetes Care*. 1994;17:938-939.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977-986.
- Santiago JV. Lessons from the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1993;42:1549-1554.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) group. Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998;352:837-853.
- Flückiger R, Mortensen HB. Review: glycated haemoglobins. *J Chromatogr*. 1988;429:279-292.
- Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, McKenzie EM. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. *Clin Chem*. 1986;32:B64-B70.
- Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care*. 2002;25:275-278.
- Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science*. 1978;200:21-27.
- Sacks BW, 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.
- Zander R, Lang W, Wolf HU. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. I. Description of the method. *Clin Chim Acta*. 1984;136:83-93.
- Wolf HU, Lang W, Zander R. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. II. Standardization of the method using pure chlorohaemin. *Clin Chim Acta*. 1984;136:95-104.
- Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, Wilke AL, Rohlfing CL, Wians FH, et al. Interlaboratory standardization of measurements of glycohemoglobins. *Clin Chem*. 1992;38:2472-2478.
- Documentação da Roche Diagnostics.
- Kobold U, Jeppsson JO, Duelffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem*. 1997;43:1944-1951.
- Jeppsson JO, Kobold U, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40:78-89.
- European Association for the Study of Diabetes (EASD) News Section 5/2004. Report of the ADA/EASD/IDF Working Group of the HbA1c Assay. London, UK. January 20, 2004.
- Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. β -N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies: relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem*. 1993;39:2259-2265.
- Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem*. 1993;39:1717-1723.
- Roberts WL et al. Effects of hemoglobin C and S traits on eight glycohemoglobin methods. *Clin Chem* 2002;48:383-385.
- Roberts WL et al. Glycohemoglobin results in samples with hemoglobin C or S trait: a comparison of four test systems. *Clin Chem* 1999;45:906-909.
- Junge W, Wilke B, Halabi A et al. Determination of reference levels in adults for hemoglobin A1c (HbA1c). Poster presentation EUROMEDLAB, Barcelona 2003.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care [Suppl]* 18/1,1995;8-15.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem.
©2005 Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

