

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

Hemoglobina Glicada (A1C) no Diagnóstico do Diabetes Mellitus

Dissertação de Mestrado

Gabriela Cavagnoli

Porto Alegre, Novembro de 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA

Hemoglobina Glicada (A1C) no Diagnóstico do Diabetes Mellitus

Dissertação de Mestrado

Gabriela Cavagnolli

Orientadora: Prof^a Dr^a Joiza Lins Camargo

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Porto Alegre, Novembro de 2009.

O formato da dissertação segue o modelo recomendado pelo PPG em Ciências Médicas:
Endocrinologia - UFRGS, sendo apresentada na forma de um artigo de revisão sobre o
tema, seguido de um artigo original contendo os resultados finais.

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	5	
Capítulo 1: Artigo de Revisão		
O desempenho diagnóstico do teste A1C na detecção do diabetes mellitus.....	6	
Objetivos.....		23
Capítulo 2: Artigo Original em Português		
O teste A1C no diagnóstico de diabetes: qual o melhor ponto de corte?.....	24	
Capítulo 3: Artigo Original em Inglês		
A1c measurement for the diagnosis of diabetes: which cutoff point?.....	33	

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente a minha querida professora orientadora, Doutora Joiza Lins Camargo que nunca mediu esforços para me auxiliar na realização deste trabalho, pelo apoio incondicional e por dividir seus conhecimentos contribuindo muito para minha formação.

Aos meus pais pelo constante incentivo e por terem me proporcionado uma excelente educação ensinando a nunca desistir e persistir sempre.

A Deus por sempre iluminar meu caminho e me auxiliar quando tudo parecia ser tão difícil.

As acadêmicas de iniciação científica Juliana Comerlato e Carolina Comerlato pela colaboração e dedicação nas tarefas que lhe cabiam, do qual foram realizadas sempre com muito êxito, bem como Paula B. Renz pela colaboração na coleta dos dados.

Aos bioquímicos e auxiliares das Unidades de Bioquímica e Hematologia do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre que sempre se dispuseram, com muita atenção na realização deste trabalho, assim como a toda equipe de coleta da zona 14.

A chefia do Serviço de Patologia Clínica, a todos os chefes das Unidades e funcionários pela atenção, amizade e por cederem espaço físico para realização deste trabalho.

A minha prima Sabrina Mioranza pela amizade, compreensão e colaboração, assim como as amigas Michele Mergener e Roberta B. Silvestrin que participaram em diversos momentos deste trabalho.

O desempenho diagnóstico do teste A1C na detecção do diabetes mellitus

Gabriela Cavagnoli¹

Juliana Comerlato²

Carolina Comerlato²

Jorge Luiz Gross³

Joiza Lins Camargo⁴

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

³ Professor Titular da Faculdade de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

⁴ Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Chefe da Unidade de Bioquímica e Imunoensaios do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

*Autor para Correspondência:

Joiza Lins Camargo

Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcellos, 2350; 2º andar, Porto Alegre, RS, 90035-903, Brazil.

Fax: +55-51-33598310.

E-mail address: jcamargo@hcpa.ufrgs.br

Artigo de Revisão

RESUMO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença que está associada com aumento da morbidade, mortalidade e custos econômicos. O DM tipo 2 é a forma de diabetes mais comum, acometendo 85%-90% de todos os casos. O mau controle glicêmico é um fator determinante do desenvolvimento e progressão das complicações do DM. A hemoglobina glicada (A1C) se tornou a medida de referência para o controle de DM por mais de duas décadas. Existe um grande incentivo, tanto da perspectiva de saúde pública quanto da clínica, em detectar pessoas com risco futuro de desenvolver DM2, pois este é um forte fator de risco para doença cardiovascular. Também existem evidências que é possível prevenir ou retardar o DM nas pessoas com tolerância a glicose diminuída, desde que estes casos sejam identificados e tratados adequadamente. Os testes disponíveis hoje para o diagnóstico do DM, glicemia de jejum (GJ) e teste oral de tolerância à glicose (TOTG), carecem de sensibilidade e/ou especificidade. Recentes estudos têm evidenciado que a A1C pode ser uma nova ferramenta para diagnóstico do DM, sendo que diversos pontos de corte tem sido estudados. Maiores investigações para a validação do desempenho diagnóstico deste teste na predição do DM são necessárias para podermos utilizar esta ferramenta com segurança na triagem e diagnóstico do DM.

Descritores: A1C, desempenho diagnóstico, hiperglicemia, controle glicêmico

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a disease associated with greater mortality and economical costs. Type 2 DM is the commonest form of DM, accounting for 85-90 % of its cases. Glycemic levels are a determinant factor for the development and progression of DM complications. Glycated hemoglobin (A1C) became the reference measure of glycemic control for more than two decades. There is a great incentive in detecting persons with future risk of developing DM, because this is a strong risk factor for cardiovascular disease. Also there are evidences that it is possible to prevent or to delay DM in persons with prediabetes, since identified and treated appropriately. Available tests for DM diagnosis, fasting glycemia (FG) and oral glucose tolerance test (OGTT), lack sensibility and/or specificity. Recent studies have shown that A1C can be a new tool for DM diagnosis and several cutoff points have been analyzed. However, the validation of this test as diagnostic modality to detect DM might be necessary in order to provide a useful tool for DM diagnosis.

Key Words: HbA1C, diagnostic performance, hyperglycemia, glycemic control

INTRODUÇÃO

A alta prevalência de diabetes mellitus (DM) emergiu como um problema de saúde pública mundial nos últimos 20 anos. O DM tipo 2 (DM2) é a forma de diabetes mais comum, estimando uma contagem de 85-90% dos casos de diabetes (World Health Organization - WHO 2006 e 1999). As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por mais de 50% das mortes em pacientes com DM2 e também por 30% das internações em centros de tratamento intensivo (Bennett *et al.*, 2007; WHO 2006; Scheffel *et al.*, 2004).

O diagnóstico prévio desta condição é importante, pois o manejo cuidadoso do DM pode reduzir a incidência de complicações micro- e macrovasculares como cegueira, insuficiência renal, doença cardiovascular e amputação de membros. Os níveis glicêmicos são um fator determinante do desenvolvimento e progressão das complicações do DM (American Diabetes Association - ADA 2009 - 1; United Kingdom Prospective Diabetes Study - UKPDS 1998; Diabetes Control and Complications Trial - DCCT 1993). A hemoglobina glicada (A1C) é o parâmetro de referência para avaliar o grau de hiperglicemia crônica entre os pacientes diabéticos. Esta técnica se tornou medida de referência para o controle de DM (ADA 2009 - 1; Consensus 2007; Camargo e Gross 2004 - 1).

A necessidade de um método de triagem eficiente para o diagnóstico da DM tem crescido muito nas últimas duas décadas. Os métodos hoje disponíveis para o diagnóstico são pouco acurados, não havendo consenso sobre o melhor método. Os testes de diagnóstico mais amplamente usados para o DM são o teste de glicose plasmática em jejum (GJ) e o teste oral de tolerância a glicose (TOTG) (ADA 2009 - 2; WHO 2003). Ambos os testes envolvem a medida de glicose sanguínea. A sensibilidade diagnóstica da GJ não é muito alta, apresentando até 30% de falsos negativos para DM. O TOTG, por sua vez, tem uma reprodutibilidade menor que a GJ, além de consumir tempo, ser desconfortável e mais caro. Fatores como tempo de jejum e medicação podem interferir consideravelmente nos resultados destes testes (Saudek *et al.*, 2008; Sacks *et al.*, 2002;). Existe um grande incentivo, tanto da perspectiva de saúde pública quanto da clínica, em detectar pessoas com risco de desenvolver DM2, pois este é um forte fator de risco para DCV.

Nos últimos anos, a validade da A1C como uma ferramenta de triagem para o DM foi examinada, usando TOTG e GJ como o padrão de referência e comparação.

Estes estudos foram conduzidos em hospitais e em comunidades de diferentes países, e em diferentes grupos étnicos. Estudos prévios demonstraram que a A1C tem menor variação intra-individual e melhor prediz as complicações micro e macrovasculares. Embora o custo atual de A1C seja mais alto do que da GJ, os benefícios adicionais na predição das complicações clínicas evitáveis podem fazer daquele teste uma escolha custo-efetiva (Saudek *et al.*, 2008; Bennett *et al.*, 2007).

1. 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 de HbA1 cromatograficamente distintos, tais como HbA1a1, HbA1a2, HbA1b e HbA1c (Camargo e Gross 2004 - 1; Jeppson *et al.*, 2002; Sacks *et al.*, 2002). A A1C expressa a fração da hemoglobina que está ligada à glicose através do terminal NH₂ da valina em uma ou ambas cadeias beta. Dependendo do método de análise laboratorial, a A1C corresponde a cerca de 3 a 6% da HbA1 total em pessoas normais, alcançando até 20% ou mais em diabéticos mal-controlados (ADA 2004).

A A1C se acumula dentro das hemácias, apresentando, portanto, uma meia-vida dependente da delas. Devido à média de vida dos eritrócitos serem em torno de 120 dias, estima-se que os valores de A1C representam a média das concentrações de glicose sanguínea entre 60 á 90 dias, ou até 120 dias (ADA 2009 - 1; Sacks *et al.*, 2002). Dados clínicos mostram que a média glicêmica dos 20-30 dias anteriores à coleta da amostra contribui com aproximadamente 50% do resultado final, e que os 90-120 dias precedentes contribuem com apenas 10%. Devido a isso, a A1C pode detectar grandes variações da glicemia em pequenos períodos de tempo, como 3 a 4 semanas (ADA 2009 - 1; Camargo e Gross 2004 - 1).

2. ASPECTOS LABORATORIAIS

2.1. Obtenção da amostra

A A1C pode ser medida em qualquer hora do dia, 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. O sangue pode ser obtido por punção venosa ou por punção capilar. Os tubos devem conter o anticoagulante especificado pelo fabricante (EDTA é o mais usado). Em alguns sistemas, a heparina é aceitável (Grupo Interdisciplinar 2009).

A A1C também pode ser analisada com uma pequena amostra de sangue usando um dispositivo portátil, apesar de esta ser uma opção atualmente cara. Também há o potencial para o sangue obtido de uma picada digital ser levado a um laboratório central para a análise, permitindo a triagem de indivíduos nas áreas mais remotas (Bennett *et al.*, 2007; Sacks *et al.*, 2002).

2.2. Estabilidade da amostra

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. O armazenamento a -20°C, por longos períodos de tempo, ocasiona o aumento da HbA1a+b e, portanto, não é recomendável (Grupo Interdisciplinar 2009; Sumita *et al.*, 2008; Camargo JL *et al.*, 2004 - 2; Sacks *et al.*, 2002,).

2.3. Metodologia laboratorial e Padronização

O método de referência para dosagem de A1C foi estabelecido pela Federação Internacional de Química Clínica (International Federation for Clinical Chemistry - IFCC) (Hoelzel *et al.*, 2004; Jeppsson *et al.*, 2002). O Programa Nacional Americano de Padronização da A1C (National Glycohemoglobin Standardization Program - NGSP - <http://www.ngsp.org>) com o objetivo de padronizar metodologias e sua calibração, realiza estudos comparativos entre diferentes metodologias comerciais com o método de referência e os métodos utilizados nos ensaios clínicos do *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS), o que resultou numa redução significativa na variação da A1C entre laboratórios (Grupo

Interdisciplinar 2009; NGSP 2008; Saudek *et al.*, 2008; Sacks *et al.*, 2002; Little *et al.*, 2001; UKPDS 1998; DCCT 1993). Todos os laboratórios que dosam A1C devem participar de programas de proficiência implementados por entidades oficiais de patologia clínica e medicina laboratorial.

Os resultados de A1C devem ser expressos em unidades IFCC (mmol / mol) e unidades NGSP (%) utilizando o método de referência IFCC-NGSP (ADA 2009 - 1; Grupo Interdisciplinar 2009; Kilpatrick 2008; NGSP 2008; Consensus 2007). A1C é normalmente informada como um percentual da hemoglobina total, no entanto um consenso mundial na padronização recomenda que as duas unidades sejam informadas no resultado da A1C (Little e Sacks 2009; Kilpatrick 2008; Consensus 2007).

2.4 Variação Biológica

A alta variação inter-individual nos níveis de A1C tem sido utilizada como um argumento contra seu uso como ferramenta no rastreamento do DM. Entretanto, a variação intra-individual da A1C em indivíduos não-diabéticos é muito baixa (<2%) (Rohlfing *et al.*, 2002; Sacks *et al.*, 2002).

2.5 Interferentes Analíticos

As hemoglobinopatias podem influenciar no resultado da A1C. As hemoglobinas variantes mais comuns são HbS, HbE, HbC e HbD. Em adição, a HbF pode estar aumentada em algumas condições ou na persistência da hemoglobina fetal (Grupo Interdisciplinar 2009; Little e Sacks 2009; Saudek *et al.*, 2008; Camargo e Gross 2004 - 2). Estudos realizados pelo NGSP indicam que as interferências são método-específicas. Em geral HbAS e HbAC interferem com alguns métodos imunoenaios, enquanto HbAE e HbAD interferem com alguns métodos de HPLC (Little e Sacks 2009). Altas doses de salicilatos, vitaminas C e E, e deficiência severa de ferro tem sido reportados como substâncias interferentes (Saudek *et al.*, 2008), mas estes efeitos são controversos (Camargo *et al.*, 2006; Silva JF, 2009).

Hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, uremia, alcoolismo crônico e opiáceos podem interferir em algumas metodologias, produzindo resultados falsamente elevados. Em pacientes com nefropatias crônicas, além da anemia crônica associada a nefropatia, a presença de altas concentrações de ureia podem carbamilar a Hb, levando a um aumento

ou diminuição dos níveis de A1C, dependendo da metodologia utilizada (Silva JF, 2009; Grupo interdisciplinar 2009; Sacks *et al.*, 2002). Anemia hemolítica ou estágios hemorrágicos podem resultar em valores diminuídos de A1C por encurtarem a meia-vida das hemácias (Grupo Interdisciplinar 2009; Sumita *et al.*, 2008; Sacks *et al.*, 2002).

3. A1C COMO ÍNDICE DE CONTROLE GLICÊMICO

O nível de A1C está associado ao desenvolvimento de complicações microvasculares (neuropatias, nefropatias, retinopatias) e macrovasculares (doenças coronarianas, doenças vasculares periféricas, acidente vascular encefálico) que reduzindo a expectativa de vida em 7 a 8 anos (ADA 2009-1; Norberg *et al.*, 2006; WHO 2006; Jesudason *et al.*, 2003; UKPDS 1998; DCCT 1993). Os valores de A1C são usados para monitorar o controle glicêmico ao longo de períodos de 8 a 12 semanas. Este parâmetro se tornou a medida de referência para o controle de DM há mais de duas décadas (Consensus 2007; ADA 2004; Camargo e Gross 2004 - 1).

3.1 Frequência Recomendada

A A1C deve ser medida regularmente em todos os pacientes em intervalos de 4 a 6 meses. Este intervalo deve ser menor, a cada 3 ou 4 meses, para aqueles pacientes que não atingem o controle glicêmico desejável (ADA 2009 - 1, WHO 2006; Goldstein *et al.*, 2003).

3.2 Níveis recomendados

Na prática, os valores de referência são de 4% a 6%, para os métodos certificados pelo NGSP, ou para os métodos que dosam a fração A1C específica. Níveis de A1C acima de 7% estão associados a um risco progressivamente maior de complicações crônicas. Por isso, o conceito atual de tratamento do DM define a meta de 7% (ou de 6,5%, de acordo com algumas sociedades médicas) como limite superior acima do qual está indicada a revisão do esquema terapêutico em vigor (ADA 2009 - 1).

Os estudos clínicos DCCT e o UKPDS determinaram que níveis de A1C > 7% estão associados ao aumento das complicações crônicas. A Sociedade Brasileira de Diabetes recomenda A1C < 6,5% (Grupo Interdisciplinar 2009; UKPDS 1998; DCCT 1993).

4. A1C COMO CRITÉRIO DIAGNÓSTICO PARA DIABETES

Na revisão dos critérios para diagnóstico do DM em 2003, a A1C não foi recomendada como teste diagnóstico, devido ao teste não possuir uma padronização adequada, além de não haver dados suficientes sobre a acurácia do teste. Devido evidências mais recentes e o reconhecimento crescente da necessidade de haver um diagnóstico precoce e eficiente para DM, a utilização da A1C foi reconsiderada (ADA 2009 – 1; Saudek *et al.*, 2008; Bennett *et al.*, 2007; ADA 2003). Há vários estudos na literatura analisando o papel deste teste no rastreamento de DM (Tabela 1). Isto vem causando um grande debate principalmente em relação à padronização metodológica, variação dos valores de normalidade e a sensibilidade e especificidade do teste. Após cautelosa análise sobre qual o ponto de corte adequado para a utilização da A1C como diagnóstico para DM, recentemente, um Comitê Internacional de Especialistas relatou valores de A1C $\geq 6,5\%$ como o ponto de corte de escolha para o diagnóstico de DM (*International Committee* 2009). A escolha deste ponto de corte foi para enfatizar a especificidade ao invés da sensibilidade, porém o desempenho diagnóstico deste ponto de corte específico não é mencionado. Outros estudos sugeriram valores menores de A1C para este fim (Saydah *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2001).

Um único valor de A1C $\geq 6,5\%$ pode não ser suficiente para diagnosticar um paciente com DM, por isso alguns critérios de confirmação tem sido propostos. Algoritmos utilizando a A1C e os outros testes diagnósticos como GJ e TOTG tem sido sugeridos (Saudek *et al.*, 2008).

Em um estudo japonês foi avaliada a sensibilidade e especificidade da A1C $\geq 6,5\%$ em indivíduos diagnosticados para DM pelo TOTG. Os resultados mostraram que 49% dos indivíduos diabéticos apresentaram A1C $\geq 6,5$ e 51% A1C $< 6,5\%$, enquanto que 2% dos indivíduos eram tolerantes ou intolerantes à glicose. A sensibilidade para separar os pacientes DM das outras classificações é baixa. No entanto, a especificidade é alta, e os autores concluem que A1C $\geq 6,5\%$ é um marcador de apoio adequado e útil no diagnóstico do DM em indivíduos japoneses (Tanaka *et al.*, 2001).

O uso da A1C e GJ como preditores de DM2 e risco cardiovascular foi avaliado em um estudo em indivíduos rastreados para DM2. Os indivíduos com níveis de A1C entre 5,6 e 6,1% e GJ entre 93 e 105 mg/dL apresentaram alto risco de DCV. Embora a GJ e a A1C não sejam medidas independentes de risco cardiovascular, há uma relação contínua entre essas medidas e risco cardiovascular. Os autores sugerem que estes pacientes devem ser encaminhados para uma avaliação adicional (Jesudason *et al.*, 2003).

A combinação de A1C, GJ e índice de massa corpórea (IMC) é efetiva na triagem de indivíduos em alto risco de diagnóstico futuro de DM2, sendo que o TOTG não é necessário (Norberg *et al.*, 2006). Kim e colaboradores observaram que o critério diagnóstico baseado somente em GJ é relativamente insensível na detecção de DM em sujeitos de alto risco. A simultânea determinação de GJ e A1C compensaram a falta da sensibilidade da GJ sozinha. Os pontos de corte satisfatórios para A1C e GJ foram de 6,1% (sensibilidade 81,8%, especificidade 84,9%) e 110 mg/dL (sensibilidade 85,2%, especificidade 88,5%), respectivamente. Esta combinação poderia ser uma ferramenta diagnóstica mais sensível na identificação de indivíduos com alto risco de DM em uma primeira etapa (Kim *et al.*, 2008).

Outro estudo utilizou a combinação da GJ e A1C ou frutossamina para prever a probabilidade de DM em indivíduos de alto risco. Somente indivíduos com GJ ≥ 90 mg/dL e < 130 mg/dL e frutossamina ≥ 235 $\mu\text{mol/L}$ precisaram o TOTG para confirmar DM, significando que 78,2% dos TOTG poderiam ser economizados. Os valores pareados de GJ e A1C ou frutossamina ajudaram a identificar sujeitos potencialmente diabéticos. Utilizando-se essa abordagem, 80% dos TOTG puderam ser economizados, dependendo do valor de corte da GJ (Ko *et al.*, 1998). Saydah e colaboradores também realizaram um estudo usando dados de IMC, GJ e A1C para reduzir o número de indivíduos que precisariam realizar TOTG (Saydah *et al.*, 2002).

Rowley e colaboradores consideraram vantajosa a utilização da A1C no rastreamento da DM quando comparada com os métodos convencionais de diagnóstico. Estes autores observaram que o ponto de corte para A1C $\geq 7,0\%$ foi válido para estudos epidemiológicos, apresentando 73% e 98% de sensibilidade e especificidade, respectivamente (Rowley *et al.*, 2005).

Em uma recente revisão sistemática, o ponto de corte diagnóstico de A1C $\geq 6,1\%$ foi considerado o melhor na maioria dos estudos avaliados. Porém, todos os estudos

sugerem que pontos de corte específicos devem ser estabelecidos nas diferentes populações, devido às variações do teste A1C conforme grupo étnico, idade, gênero e prevalência da DM na população estudada. Os autores concluem que a A1C tem menor variação intra-individual e melhor prediz as complicações micro e macrovasculares. Embora o custo atual de A1C seja mais alto do que a GJ, os benefícios adicionais na predição das complicações clínicas evitáveis podem fazer deste teste uma escolha custo-efetiva como teste diagnóstico para DM (Bennett *et al.*, 2007).

O uso de algoritmos pode facilitar a identificação precoce de indivíduos com DM. Utilizando dados como IMC e valores diferentes de ponto de corte para GJ e A1C pode-se reduzir o número de indivíduos que possam necessitar de TOTG. Estudo realizado na população do NHANES avaliou o uso combinado de GJ, A1C e IMC, os dados sugerem que o número de TOTG pode ser reduzido, sendo que a triagem periódica utilizando este teste pode ser recomendada apenas para as pessoas em alto risco de DM, já que a GJ não é útil na triagem dos indivíduos intolerantes à glicose (Buell *et al.*, 2007).

Tabela 1. Sensibilidade e especificidade para A1C no diagnóstico de DM.

	N	A1C (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Tanaka <i>et al.</i> , 2001	866	≥ 6,5	49	98
Herdzik <i>et al.</i> , 2002	234	> 6,4	73,7	93,2
Jesudason <i>et al.</i> , 2003	505	≥ 6,2	42,6	99,1
DCA 2000			72,2	94,7
Ko <i>et al.</i> , 1998	2877	≥ 6,1	77,5	78,8
Saydah <i>et al.</i> , 2002	2844	≥ 6,0	16,7	92,9
Kim <i>et al.</i> , 2008	392	> 6,1	81,8	84,9
Colagiuri <i>et al.</i> , 2004	10447	≥5,3	78,7	82,8

CONCLUSÃO

Existe um grande incentivo, tanto da perspectiva de saúde pública quanto da clínica, em detectar pessoas com risco futuro de desenvolver DM2, pois este é forte fator de risco para DCV. O uso rotineiro do TOTG na prática clínica consome muito tempo e é caro, e por isso, métodos similares e mais práticos são necessários.

Comparado com o TOTG, a medida da A1C é mais rápida e conveniente, pois pode ser facilmente automatizada e não requer jejum para a sua realização. Em adição, os níveis de A1C podem prever risco para complicações crônicas.

Uma das vantagens da A1C, em relação ao TOTG e GJ, é que não há necessidade do paciente estar em jejum. Pontos de corte apropriados para utilizar a A1C no diagnóstico do DM ainda devem ser estabelecidos. É possível que estes valores sejam diferentes para rastreamento e diagnóstico nas diferentes populações. O valor de A1C $\geq 6,5\%$ parece ser o ponto de corte com maior especificidade. No entanto, uma combinação de GJ e A1C poderia fornecer uma estratégia diagnóstica com maior sensibilidade e especificidade, tornando o processo mais efetivo na identificação de indivíduos com DM em uma primeira etapa.

REFERÊNCIAS

- 1) American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2009 Position Statement. **Diabetes Care** 2009; 32: S13-S61.
- 2) American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus - Position Statement. **Diabetes Care** 2009; 32: S62-S67.
- 3) 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.
- 4) American Diabetes Association. Screening for type 2 diabetes (Clinical Practice Recommendations 2004: Position Statement). **Diabetes Care** 2004; 27: S11-S14.
- 5) American Diabetes Association Clinical Practice Recommendation. Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care** 2003; 26(suppl. 1):S106-S108.
- 6) Bennett CM, Guo M, Dharmage SC. HbA1c as a screening tool for detection of Type 2 diabetes: a systematic review. **Diabet Med** 2007; 24: 333–343.
- 7) Buell C, Kermah D, Davidson MB. Utility of A1c for diabetes screening in the 1999 - 2004 NHANES population. **Diabetes Care** 2007; 30:2233-5.
- 8) Camargo JL, Gross JL. Glico-Hemoglobina (HbA_{1c}): Aspectos Clínicos e Analíticos. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2004, 48(4):451-63.
- 9) Camargo JL, Gross JL. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. **J Clin Path** 2004, 57:344-45.
- 10) Camargo, J; Stiff, J; Gross, J. The effect of aspirin and vitamins C and E on HbA1c assays. *Clinica Chimica Acta* 2006, v. 372, p. 206-209.
- 11) Camargo, JL, Felisberto M, Gross JL. Effect of pre-analytical variables on glycohemoglobin measurements in routine clinical care. **Clinical Biochemistry** 2004, v. 37, p. 836-839.
- 12) Colagiuri S, Hussain Z, Zimmet P, Cameron A, Swah J, Screening for Type 2 Diabetes and Impaired Glucose Metabolism. The Australian experience. **Diabetes Care** 2004 27:367–371.
- 13) DCCT - 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; 329:977-86.
- 14) Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM, Sacks DB: Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care** 2003; 27: 1761-1773, 2004.
 - 15) Grupo Interdisciplinar de Padronização da Hemoglobina Glicada -A1C. Hemoglobina Glicada. **Posicionamento Oficial 2009**. A importância da hemoglobina glicada (A1C) para a avaliação do controle glicêmico em pacientes com diabetes mellitus: aspectos clínicos e laboratoriais. Disponível em: <http://www.sbpc.org.br/profissional/noticia.diverso.php?id=8&tp=3>. Acesso em julho de 2009.
 - 16) Hoelzel W, Weykamp C, Jeppsson JO, Miedema K, Barr J, Goodall I, et al. IFCC Reference System for measurement of hemoglobin A1c in human blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan, and Sweden: a method-comparison study. **Clin Chem** 2004; 50:166–74.
 - 17) International Expert Committee. The International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes. **Diabetes Care** 2009; 32:1327-34.
 - 18) Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. **Clin Chem Lab Med** 2002; 40:78-89.
 - 19) Jesudason DR, Dunstan K, Leong D, Wittert GA. Macrovascular risk and diagnostic criteria for type 2 diabetes. implications for the use of FPG and HbA1c for cost-effective screening. **Diabetes Care** 2003; 26:485–490.
 - 20) Kim KS, Kim SK, Lee YK, Park SW, Cho YW. Diagnostic value of glycated haemoglobin (HbA1c) for the early detection of diabetes in high-risk subjects. **Diabet Med** 2008; 25, 997–1000.
 - 21) Kilpatrick, ES. Haemoglobin A1c in the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. **J. Clin. Pathol.** 2008; 61;977-982.
 - 22) Ko GTC, Chan JCN, Yeung VTFF, Chow CC, Tsang LWW, Li JKY *et al*. Combined use of a fasting plasma glucose concentration and HbA1c or fructosamine predicts the likelihood of having diabetes in high-risk subjects. **Diabetes Care** 1998; 21: 1221–1225.
 - 23) Little e Sacks. HbA1c: how do we measure it and what does it mean? Current Opinion in Endocrinology, **Diabetes & Obesity** 2009; 16:113–118.

- 24) Little RR, Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Myers GL, Sacks DB, Goldstein D. The National Glycohemoglobin Standardization Program: A five-year report progress. **Clin Chem** 2001;47:1985-92.
- 25) Mannucci E, Ognibene A, Sposato I, Brogi M, Gallori G, Bardini G, Cremasco F, Messeri G, Rotella CM. Fasting plasma glucose and glycated haemoglobin in the screening of diabetes and impaired glucose tolerance. **Acta Diabetol** 2003 40:181–186.
- 26) Norberg M, Eriksson JW, Lindahl B, Andersson C, Rolandsson O, Stenlund, H, Weinehall L. Combination of HbA1c, fasting glucose and BMI is effective in screening for individuals at risk of future type 2 diabetes: OGTT is not needed. **J Int Med** 2006; 260(3):263-71.
- 27) National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). IFCC standardization of HbA1C Disponível em: <http://www.ngsp.org/prog/IFCCmain.html>. Acesso em 12 de outubro de 2009.
- 28) Rohlfing C, Wiedmeyer HM, Little R, et al. Biological variation of glycohemoglobin. **Clin Chem** 2002; 48:1116–1118.
- 29) Rowley, K.G., Daniel, M., O’Dea, K. Screening for diabetes in Indigenous populations using glycated haemoglobin: sensitivity, specificity, post-test likelihood and risk of disease. **Diabet. Med.** 2005; 22, 833–839.
- 30) Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. **Clin Chem** 2002; 48:436-72.
- 31) Saudek, C.D., Herman, W.H., Sacks, D.B., Bergenstal, R.M., Edelman, D., Davidson, M.B. 2008. A New Look at Screening and Diagnosing Diabetes Mellitus. **J. Clin. Endocrinol Metab.** 2008; 93(7): 2447-2453.
- 32) Saydah SH, Byrd-Holt D, Harris MI. Projected Impact of Implementing the Results of the Diabetes Prevention Program in the U.S. Population. **Diabetes Care** 2002 25:1940–1945.
- 33) Scheffel RS, Bortolanza D, Weber CS, Costa LA, Canani LH, Santos KGd, et al. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito do tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev Assoc Med Bras**, 50:263-67, 2004.

- 34) Silva JF. Anemia e Diabetes: possíveis implicações na interpretação do controle glicêmico avaliado pelos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c). Dissertação, UFRGS, 2009.
- 35) Sumita N.M., Andriolo A. Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes mellitus e na avaliação de risco das complicações crônicas. *J Bras Patol Med Lab* 2008; 44:169-174.
- 36) Tanaka Y, Atsumi Y, Matsuoka K, Mokubo A, Asahina T, Hosokawa K et al. Usefulness of stable HbA1c for supportive marker to diagnose diabetes mellitus in Japanese subjects. ***Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53: 41–45.**
- 37) U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). ***Lancet* 1998; 352:837-51.**
- 38) World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/ IDF Consultation. Geneva, **World Health Organization, 2006.**
- 39) World Health Organization. Screening for Type 2 Diabetes. Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation meeting. Geneva, **World Health Organization, 2003.**
- 40) World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Geneva, **World Health Organization, 1999.**

OBJETIVO

Avaliar o desempenho diagnóstico do teste A1C para detecção de DM em comparação à glicemia de jejum e/ou glicemia 2h após o teste oral de tolerância a glicose.

Capítulo 2

O teste A1C no diagnóstico de diabetes: qual o melhor ponto de corte?

Gabriela Cavagnoli¹

Juliana Comerlato²

Carolina Comerlato²

Paula B. Renz²

Jorge Luiz Gross³

Joiza Lins Camargo⁴

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

³ Professor Titular da Faculdade de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

⁴ Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Chefe da Unidade de Bioquímica e Imunoensaios do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

*Autor para Correspondência:

Joiza Lins Camargo

Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcellos, 2350; 2° andar, Porto Alegre, RS, 90035-903, Brazil.

Fax: +55-51-33598310.

E-mail address: jcamargo@hcpa.ufrgs.br

*Artigo submetido na versão em inglês ao periódico Diabetes Care em 08/09/09, em
revisão*

RESUMO

OBJETIVO - Analisar o desempenho da A1C para diagnóstico do diabetes tipo 2 (DM2) utilizando a glicose plasmática em jejum (GJ) e o teste oral de tolerância à glicose (TOTG).

MÉTODOS - Estudo de acurácia diagnóstica em indivíduos atendidos no Departamento de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para a realização de 75-g TOTG. Após jejum de 8h, A1C, GJ e glicemia 2h (2hG) após a ingestão de 75g de glicose via oral foram medidos. A curva ROC foi utilizada para avaliar o desempenho diagnóstico da A1C.

RESULTADOS - 498 indivíduos (195 homens, com idade média de 56 anos) foram selecionados e 115 (23,1%) tiveram o diagnóstico de DM2. A sensibilidade e especificidade para o teste A1C $\geq 6,5\%$ foram 20,9% e 95,3%, respectivamente. O valor de A1C $\geq 6,0\%$ apresentou sensibilidade de 51,3% e especificidade de 78,3% e representa o melhor ponto de equilíbrio entre sensibilidade e especificidade.

CONCLUSÕES- A1C $\geq 6,0\%$ parece ser o ponto de corte mais adequado para diagnosticar DM.

INTRODUÇÃO

Recentemente, um Comitê Internacional de Especialistas recomendou valores de A1C $\geq 6,5\%$ como o ponto de corte para o diagnóstico de diabetes (DM) (1). A escolha deste ponto de corte foi para enfatizar a especificidade ao invés da sensibilidade, porém o desempenho diagnóstico deste ponto de corte específico não é mencionado. Outros estudos sugeriram valores mais baixos de A1C como 5,8% e 6,0% para este fim (2-5). Considerando que em diferentes populações uma maior prevalência de retinopatia já é observada em torno de valores de A1C de 6,0% (1), o risco de doenças cardiovasculares é maior no nível de A1C de 5,6-6,1% (6), e que estes indivíduos se beneficiariam com uma intervenção precoce, o objetivo deste trabalho é analisar o desempenho do valor de A1C $\geq 6,5\%$, recomendado para o diagnóstico de DM tipo 2 (DM2) de acordo com os atuais critérios de diagnóstico baseados no teste oral de tolerância à glicose (TOTG) (7,8).

MATERIAL E MÉTODOS

Este é um estudo transversal de acurácia diagnóstica para avaliar o novo ponto de corte recomendado de A1C $\geq 6,5\%$ para o diagnóstico de DM2. Os testes convencionais de diagnóstico [glicemia de jejum (GJ) >126 mg / dL e / ou 2 h – glicemia plasmática (2hG) >200 mg/L] foram utilizados como padrão de referência (7,8,9).

Pacientes

O estudo incluiu indivíduos com mais de 18 anos, atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que se submeteram ao TOTG, no período entre setembro de 2008 e maio de 2009. Pacientes com anemia (10), taxa de filtração glomerular estimada <60 mL/min/1.73 m² (11) e/ou presença de hemoglobina variante (12) foram excluídos. Os pacientes elegíveis deram seu consentimento informado e responderam a um questionário padronizado e foram aferidos para peso, altura e circunferência da cintura, e o IMC (kg.m⁻²) foi calculado. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Análises Laboratoriais

Após jejum noturno de 8h, as amostras de sangue foram coletadas para determinar A1C, perfil lipídico, creatinina e glicose. Foi administrado 75-g de glicose oral, e a glicose plasmática foi medida após 120 min (2hG). Glicemia, colesterol total, HDL e triglicerídeos foram determinados por métodos enzimáticos e a creatinina pela reação de Jaffé (Modular P, Roche Diagnostics). A A1C foi determinada por um método de HPLC calibrado pela Federação Internacional de Química Clínica e alinhada aos resultados do DCCT (Tosoh 2.2 A1c Plus, Tosoh Corporation, Tóquio, Japão). Colesterol LDL foi calculado pela equação de Friedewald (se TG <400 mg / dL). Diagnóstico do DM, glicemia anormal de jejum (IFG) e intolerância à glicose (IGT) foram estabelecidas de acordo com os critérios da Associação Americana de Diabetes (ADA) (7).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados estão expressos como média e desvio padrão (DP) quando normalmente distribuídos, e como mediana (intervalo) para variáveis não-Gaussianas. Os testes T-Student, qui-quadrado, Mann-Whitney U e coeficiente kappa foram utilizados conforme o caso. A curva *Receiver Operating Characteristic* (curva ROC) foi utilizada para analisar o desempenho do teste de A1C para diagnosticar DM considerando a GJ e/ou 2hG como critérios de referência de diagnóstico. Foi adotada uma significância de 5%.

RESULTADOS

Setecentos e quarenta e um pacientes foram avaliados, no total 498 indivíduos foram selecionados para participar deste estudo (Figura 1). As características clínicas e laboratoriais de todos os indivíduos estão resumidas na Tabela 1. Segundo os critérios tradicionais da ADA, 115 (23,1%) indivíduos foram diagnosticados com DM: 26 pela GJ, 54, 2hG e 35 por ambos testes. Apenas 57 indivíduos apresentaram uma A1C $\geq 6,5\%$, dos quais apenas 29 (25,2%) tiveram o diagnóstico estabelecido pelos critérios atuais: 22 foram diagnosticados pela GJ e 2hG, e 7 pela GJ ou 2hG. Houve 86 indivíduos com diagnóstico estabelecido pelos critérios atuais e A1C <6,5%. A sensibilidade e especificidade do valor de corte de A1C $\geq 6,5\%$, em comparação com o diagnóstico de DM estabelecido pela GJ e/ou 2hG foram 20,9% e 95,3%, respectivamente, resultando em um valor preditivo negativo (VPN) de 80,5%. Houve fraca concordância entre o critério recomendado recentemente e os critérios atuais de diagnóstico (kappa = 0,217).

Com base na análise da curva ROC e considerando GJ apenas como critério de referência, o ponto de corte obtido pelo ponto com o melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade (100%-to-100% diagonal), foi o valor de A1C de 6,0%. A sensibilidade e especificidade foram 74,2% e 72,0%, respectivamente. Alternativamente, quando GJ e/ou 2hG ou só 2hG foram considerados como critérios de referência, A1C de 5,9% foi o ponto de equilíbrio para a sensibilidade e especificidade (63,5/66,1% e 62,9/64,1%, respectivamente) (Figura 2). Sessenta e cinco indivíduos foram diagnosticados com DM por este critério e 50 foram erroneamente classificados. Houve 102 resultados falso-positivos. Apenas 9 dos indivíduos tinham níveis normais de glicemia, no entanto 93 apresentaram hiperglicemia (41 IFG, IGT 7 e 45, ambos). A concordância diagnóstica entre o corte de A1C $\geq 6,0\%$ e os critérios de diagnóstico atuais também foi fraco ($\kappa = 0,274$).

DISCUSSÃO

Este estudo mostra que o ponto de corte de A1C $\geq 6,5\%$ teve uma sensibilidade de apenas 25% para diagnosticar DM. Por outro lado, quando o ponto de corte de A1C $\geq 6,0\%$ foi adotado, a sensibilidade aumentou para 51,3%. Embora o aumento de resultados falsos positivos foi observado, os indivíduos não classificados como DM apresentaram um alto risco de desenvolver DM, pois 93% apresentaram alguma anormalidade na glicemia.

Diversos estudos sugeriram valores inferiores aos valores atualmente recomendados de A1C $\geq 6,5\%$ para este fim (2-5). Além disso, o valor de corte de A1C $>6,1\%$ apresentou alta sensibilidade e especificidade para triagem de diabetes em indivíduos de alto risco e a combinação de A1C e GJ melhorou a sensibilidade para ambos os testes sozinhos (4). Ainda, existe uma relação contínua entre GJ, A1C e risco cardiovascular. Tem sido sugerido que os indivíduos com um nível de A1C de 5,6-6,1% e um nível de glicemia de 101 - 113 mg / dL tem maior risco para doença cardiovascular e devem ser alvo de avaliação adicional (6). Em uma revisão sistemática, o valor da A1C $>6,1\%$, foi o ponto de corte recomendado para o diagnóstico do DM na maioria dos estudos revisados, embora seja também ressaltado que os pontos de corte possam ser população-específica e possam variar conforme a raça, idade, sexo e prevalência de DM na população (5).

Tradicionalmente, a GJ e/ou 2hG são os testes recomendados para diagnóstico de diabetes. O raciocínio por trás dessas recomendações é de que os critérios atuais

distinguem um grupo com aumento significativo de mortalidade precoce e aumento do risco de complicações microvasculares e cardiovasculares (7,8).

Em conclusão, os resultados apresentados sugerem que o ponto de corte de A1C $\geq 6,5\%$ não é suficiente para o diagnóstico de DM e que um teste adicional deve ser realizado. Portanto, o valor da A1C $\geq 6,0\%$ parece ser o ponto de corte mais preciso para garantir a correta classificação dos indivíduos diabéticos.

Tabela 1: Características dos participantes do estudo, conforme valores de A1C (N=498); dados apresentados como média \pm DP ou mediana [intervalo]). IMC = Índice de massa corporal; HF DM = história familiar de diabetes; HF HT = história familiar de hipertensão; HF DCV = história familiar de doença cardiovascular.

	A1c (%)		
	< 6.0	6 - 6.4	\geq 6.5
N	331	111	56
Sexo (Homens/Mulheres)	139/192	35/76	21/35
Idade (anos)	53 \pm 13	61 \pm 11	61 \pm 12
IMC	27 \pm 5,6	28 \pm 6,0	30 \pm 6,3
Circunferência da cintura	94 \pm 17	97 \pm 18	103 \pm 13
Fumante sim/não	60/107	18/36	14/15
Exercício	131 (39,5%)	46 (41,4%)	22 (39,2%)
Sem DM	113 (34,1%)	8 (7,2%)	1 (1,78%)
Pre DM	168 (50,7%)	67 (60,3%)	26 (46,4%)
DM	50 (15,1%)	36 (32,4%)	29 (51,7%)
Hipertensão	162 (48,9%)	79 (71,1%)	44 (78,5%)
Uso de antihipertensivo	144 (43,5%)	76 (68,4%)	42 (75%)
HF DM	162 (48,9%)	61 (54,9%)	30 (53,5%)
HF HT	238 (71,9%)	75 (67,5%)	40(71,4%)
HF DCV	207 (62,5%)	72 (64,8%)	40(71,4%)
GJ (mg/dL)	103 \pm 13	112 \pm 14	136 \pm 45
2hG (mg/dL)	134 \pm 53	159 \pm 73	228 \pm 105
A1C (%)	5,3 \pm 0,4	6,1 \pm 0,14	7,2 \pm 1,5
Triglicerídeos (mg/dL)	138 (45-576)	163 (44-375)	183 (78-501)
Colesterol Total (mg/dL)	190 \pm 47	203 \pm 66	206 \pm 65
Colesterol HDL (mg/dL)	47 \pm 14	48 \pm 13	44 \pm 10
Colesterol LDL (mg/dL)	110 \pm 34	117 \pm 37	128 \pm 67
Creatinina (mg/dL)	0,84 \pm 0,2	0,92 \pm 0,2	0,94 \pm 0,19

Figura 1:

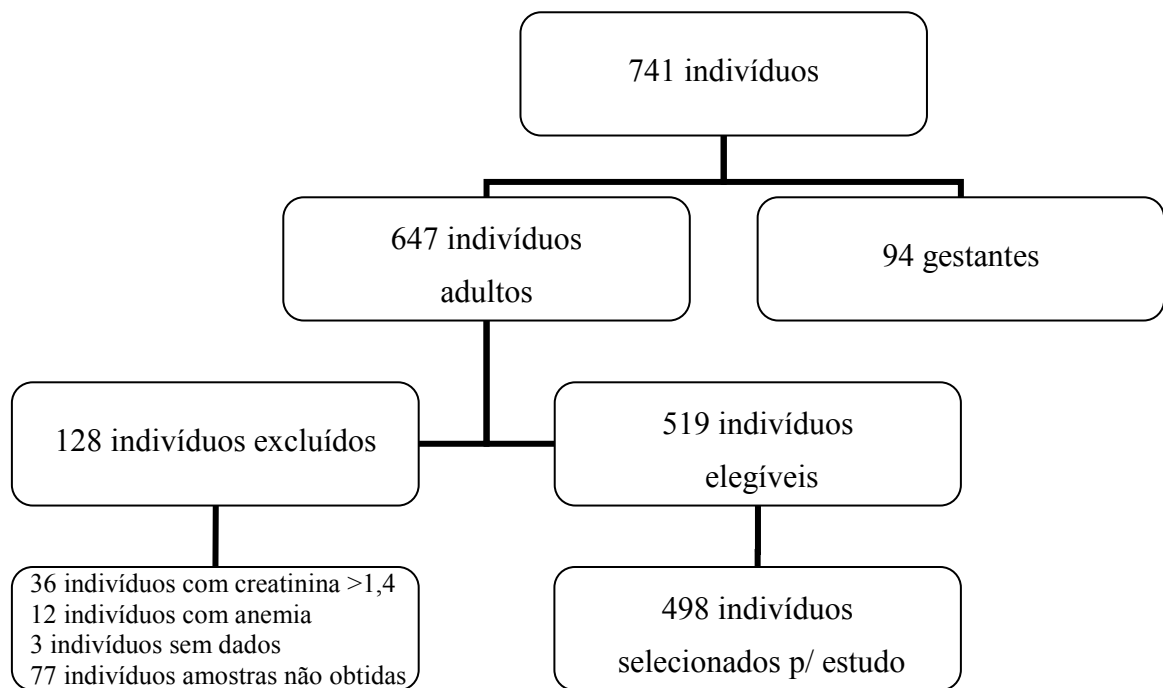
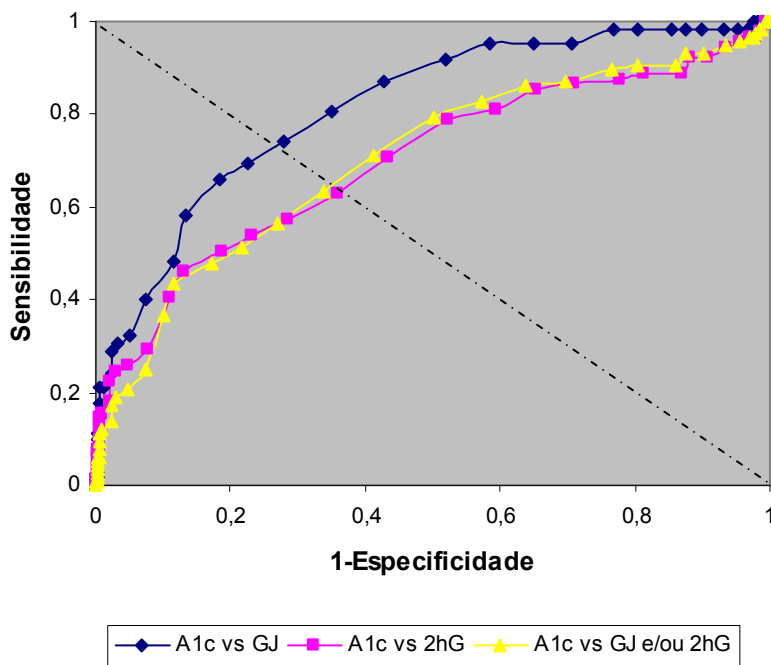


Figura 2: Curva ROC para níveis de A1C no diagnóstico do DM.



REFERÊNCIAS

- 1) International Expert Committee. The International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:1327-34
- 2) Buell C, Kermah D, Davidson MB. Utility of A1c for diabetes screening in the 1999 2004 NHANES population. *Diabetes Care* 2007; 30:2233-5.
- 3) Tanaka Y, Atsumi Y, Matsuoka K, Mokubo A, Asahina T, Hosokawa K et al. Usefulness of stable HbA1c for supportive marker to diagnose diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53: 41–45.
- 4) Kim KS, Kim SK, Lee YK, Park SW, Cho YW. Diagnostic value of glycated haemoglobin (HbA1c) for the early detection of diabetes in high-risk subjects. *Diabet Med* 2008; 25, 997–1000
- 5) Bennett CM, Guo M, Dharmage SC. HbA1c as a screening tool for detection of Type 2 diabetes: a systematic review. *Diabet Med* 2007; 24: 333–343
- 6) Jesudason DR, Dunstan K, Leong D, Wittert GA. Macrovascular risk and diagnostic criteria for type 2 diabetes. implications for the use of FPG and HbA1c for cost-effective screening. *Diabetes Care* 2003; 26:485–490
- 7) The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26:3160–3167
- 8) World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/ IDF Consultation. Geneva, World Health Org., 2006
- 9) Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Ann Intern Med.* 2003 Jan 7; 138(1):W1-12
- 10) Astor BC, Muntner P, Levin A .Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 2002; 162 (12) 1401-8
- 11) Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slevak JM, Jacobsen SJ. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and chronic disease. *Ann Intern Med*; 141:929-37, 2004
- 12) Camargo JL, Gross JL. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. *J Clin Path*, 57:344-45, 2004

A1C measurement for the diagnosis of diabetes: which cutoff point?

Running title: A1c test and diabetes diagnosis

Submission category: Brief Report

*Gabriela Cavagnoli*¹

*Juliana Comerlato*²

*Carolina Comerlato*²

*Paula B Renz*²

Jorge Luiz Gross^{1,3}

Joíza Lins Camargo^{1,2*}

¹ Post-Graduate Program in Endocrinology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS),
Porto Alegre, Brazil

² Clinical Pathology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

³ Endocrinology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

*Corresponding author:

Joíza Lins Camargo

Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcellos, 2350; 2º andar, Porto Alegre, RS, 90035-903, Brazil.

Fax: +55-51-33598310.

E-mail address: jcamargo@hcpa.ufrgs.br

ABSTRACT

OBJECTIVE — To analyze A1C performance to diagnose type 2 diabetes (DM) based on plasma glucose measured on fasting (FPG) and/or 2-h (2-h PG) post 75-g oral glucose tolerance test (OGTT).

RESEARCH DESIGN AND METHODS — This is a study of diagnostic test accuracy in individuals referred to Clinical Pathology Department for OGTT. After fasting overnight, A1C, FPG and 2-h PG were measured. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic performance of A1C.

RESULTS — A total of 498 subjects (195 male, mean age 56 years) were enrolled and 115 (23.1%) were diagnosed with DM. Sensitivity and specificity of A1C $\geq 6.5\%$ were 20.9%, 95.3%, respectively. The value of A1C $\geq 6.0\%$ has a sensitivity of 51.3% and specificity of 78.3% and represents the point of best equilibrium between sensitivity and specificity.

CONCLUSIONS— A1C value $\geq 6.0\%$ appears to be the most appropriate cutoff point to diagnose DM.

INTRODUCTION

Recently, an International Expert Committee reported values of A1C $\geq 6.5\%$ as the cutoff point for diagnosing diabetes (DM) (1). The selection of this cutoff point was to emphasize specificity rather than sensitivity however the diagnostic performance of this specific cutoff point is not mentioned. Other studies had suggested lower A1C values such as 5.8% and 6.0% for this purpose (2-5). Considering that increased prevalence of retinopathy in different populations is already observed around A1C values of 6.0% (1), the risk for cardiovascular disease is greater at the A1C level of 5.6–6.1% (6), and that these individuals would benefit from early intervention, the aim of this report was to analyze the performance of the recommended A1C $\geq 6.5\%$ value for the diagnosis of type 2 DM according to current diagnostic criteria based on fasting plasma glucose (FPG) and/or 2-h (2-h PG) post 75-g oral glucose tolerance test (OGTT) (7,8).

RESEARCH DESIGN AND METHODS

This is a study of diagnostic accuracy to evaluate the newly recommended 6.5% cutoff point of A1C test for diagnosis DM. Conventional diagnostic tests FPG ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L) and/or 2-h PG ≥ 200 mg/L (11.1 mmol/L) were considered the reference standard (7,8,9).

Patients

The study included individuals over 18 years old attended at the Clinical Pathology Department of Hospital de Clinicas de Porto Alegre, between September 2008 and May 2009, to perform an OGTT. Patients with anemia (10), estimated glomerular filtration rate < 60 mL/min/1.73 m² (11) and/or presence of variant hemoglobin (12) were excluded. Patients signed an informed consent and answered a standardized questionnaire. The protocol was approved by the Ethics Committee.

Laboratory Analysis

After overnight fast, blood samples were drawn to determine A1C, lipid profile, creatinine and glucose and an OGTT was performed. Plasma glucose, serum total cholesterol, HDL and triglyceride levels were determined by enzymatic methods, and creatinine by Jaffé reaction (Modular P, Roche Diagnostics). A1C was determined by HPLC method (Tosoh

2.2 Plus A1c, Tosoh Corporation, Tokyo, Japan). LDL cholesterol was calculated by the Friedewald equation. Diagnosis of DM, impaired fasting glucose (IFG), and impaired glucose tolerance (IGT) was made according to American Diabetes Association (ADA) criteria (7).

STATISTICAL ANALYSIS

Data are expressed as mean and SD when normally distributed and as median (range) for non-Gaussian variables. Student's *t*-test, chi-square, Mann–Whitney *U* tests and kappa coefficient were used as appropriate. The Receiver Operating Characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the performance of A1C test to diagnose DM considering the FPG and/or 2h-PG as reference diagnostic criteria. Significance of 5% was adopted.

RESULTS

A total of 498 individuals were selected to participate in this study. The clinical and laboratory characteristics of all individuals are summarized in Table 1. According to traditional ADA criteria, 115 (23.1%) individuals were diagnosed with DM: 26 by FPG, 54 by 2-h PG and 35 by both tests. Only 57 individuals presented an A1C $\geq 6.5\%$, of those only 29 (25.2%) had the diagnosis established by current criteria: 22 were diagnosed by FPG and 2-h PG and 7 by either FPG or 2-h PG. There were 86 individuals with a diagnosis established by current criteria and A1C $< 6.5\%$. The sensitivity and specificity of the A1C cutoff value of 6.5%, compared with the diagnosis of DM established by FPG and/or 2-h PG were 20.9% and 95.3%, respectively, resulting in a negative predictive value (NPV) of 80.5%. There was poor agreement between the newly recommended criterion and current diagnostic criteria (kappa = 0.217). Based on ROC analysis and considering FPG alone as the reference criterion, the cutoff point obtained by the point with the best equilibrium between sensitivity and specificity (100%-to-100% diagonal), a value of A1C of 6.0% was obtained. The sensitivity and specificity were 74.2% and 72.0%, respectively. Alternatively, when FPG and/or 2-h PG and 2-h PG alone were considered as the reference criteria, an A1C level of 5.9% was the equilibrium point for sensitivity and specificity (63.5/66.1% and 62.9/64.1%, respectively). Sixty-five individuals were diagnosed with DM by this criterion and 50 were misclassified. There

were 102 false positive results. Only 9 individuals of those had normoglycemia, however 93 presented hyperglycemia (41 IFG, 7 IGT and 45 both). The diagnostic agreement between the cutoff of A1C $\geq 6.0\%$ and current diagnosis criteria was also poor (kappa = 0.274).

DISCUSSION

This study shows that the cutoff point of A1C $\geq 6.5\%$ had a sensitivity of only 25% to diagnose DM. On the other hand, when the cutoff of A1C $\geq 6.0\%$ was adopted the sensitivity increased to 51.3%. Although increased false positive results are observed, the individuals misclassified present a high-risk to develop DM since 93% have some glucose abnormality. Several studies had suggested lower values than the present recommended values of A1C $\geq 6.5\%$ for this purpose (2-5). Besides, the cutoff value of A1C $> 6.1\%$ presented high sensitivity and specificity to screen for diabetes in high-risk individuals and the combination of A1C and FPG improved the sensitivity for both tests alone (4). Moreover, there is a continuous relationship between FPG and A1C and cardiovascular risk. It has been suggested that individuals with an A1C level of 5.6–6.1% and a FPG level of 101 – 113 mg/dL (5.6–6.3 mmol/L) are at greatest risk for cardiovascular disease and should be targeted for further evaluation (6). In a systematic review the value of A1C $> 6.1\%$ was the recommended optimum cutoff point for the diagnose of DM in most reviewed studies, although it is also stressed that cutoff points may be population-specific and may vary by race, age, gender and population prevalence of diabetes (5). Traditionally, FPG and/or 2-h PG are the recommended diagnostic test for diabetes. The rationale behind these recommendations is that the current criteria distinguish a group with significantly increased premature mortality and increased risk of microvascular and cardiovascular complications (7,8). In conclusion, the results presented suggest that the cutoff point of A1C $\geq 6.5\%$ would be not enough to diagnose DM and that an additional test should be carried out. The value of A1C $\geq 6.0\%$ looks like the most accurate cutoff point to assure the correct classification of diabetic individuals.

Acknowledgements: This study was supported by Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). G.C. and J.C. were recipients of scholarships from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), respectively.

Conflict of interest statement: None declared.

REFERENCES

- 1) International Expert Committee. The International Expert Committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32:1327-34
- 2) Buell C, Kermah D, Davidson MB. Utility of A1c for diabetes screening in the 1999 2004 NHANES population. *Diabetes Care* 2007; 30:2233-5.
- 3) Tanaka Y, Atsumi Y, Matsuoka K, Mokubo A, Asahina T, Hosokawa K et al. Usefulness of stable HbA1c for supportive marker to diagnose diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53: 41–45.
- 4) Kim KS, Kim SK, Lee YK, Park SW, Cho YW. Diagnostic value of glycosylated haemoglobin (HbA1c) for the early detection of diabetes in high-risk subjects. *Diabet Med* 2008; 25, 997–1000
- 5) Bennett CM, Guo M, Dharmage SC. HbA1c as a screening tool for detection of Type 2 diabetes: a systematic review. *Diabet Med* 2007; 24: 333–343
- 6) Jesudason DR, Dunstan K, Leong D, Wittert GA. Macrovascular risk and diagnostic criteria for type 2 diabetes. implications for the use of FPG and HbA1c for cost-effective screening. *Diabetes Care* 2003; 26:485–490
- 7) The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26:3160–3167
- 8) World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: Report of a WHO/ IDF Consultation. Geneva, World Health Org., 2006
- 9) Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig LM et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Ann Intern Med.* 2003 Jan 7; 138(1):W1-12
- 10) Astor BC, Muntner P, Levin A .Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 2002; 162 (12) 1401-8

11) Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slevak JM, Jacobsen SJ. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and chronic disease. *Ann Intern Med*; 141:929-37, 2004

12) Camargo JL, Gross JL. Conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method. *J Clin Path*, 57:344-45, 2004

Table 1: Characteristics of individuals participating in the study according to A1C values. (N = 498; data are mean \pm SD or median [interval]). BMI = body mass index; HT = hypertension; FHDM = familial history of diabetes; FHHT = familial history of hypertension; FH CVD = familial history of cardiovascular disease.

	A1c (%)		
	< 6.0	6 - 6.4	\geq 6.5
N	331	111	56
Sex (Man/Woman)	139/192	35/76	21/35
Age (years)	53 \pm 13	61 \pm 11	61 \pm 12
BMI	27 \pm 5.6	28 \pm 6.0	30 \pm 6.3
Waist circumference	94 \pm 17	97 \pm 18	103 \pm 13
Smoking Y/EX	60/107	18/36	14/15
Exercise	131 (39.5%)	46 (41.4%)	22 (39.2%)
Without DM	113 (34.1%)	8 (7.2%)	1 (1.78%)
Pre DM	168 (50.7%)	67 (60.3%)	26 (46.4%)
DM	50 (15.1%)	36 (32.4%)	29 (51.7%)
HT	162 (48.9%)	79 (71.1%)	44 (78.5%)
Anti - Hypertensive Use	144 (43.5%)	76 (68.4%)	42 (75%)
FH DM	162 (48.9%)	61 (54.9%)	30 (53.5%)
FH HT	238 (71.9%)	75 (67.5%)	40(71.4%)
FH CVD	207 (62.5%)	72 (64.8%)	40(71.4%)
FPG (mg/dL)	103 \pm 13	112 \pm 14	136 \pm 45
2-h PG (mg/dL)	134 \pm 53	159 \pm 73	228 \pm 105
A1c (%)	5.3 \pm 0.4	6.1 \pm 0.14	7.2 \pm 1.5
Triglyceride (mg/dL)	138 (45-576)	163 (44-375)	183 (78-501)
Total cholesterol (mg/dL)	190 \pm 47	203 \pm 66	206 \pm 65
HDL cholesterol (mg/dL)	47 \pm 14	48 \pm 13	44 \pm 10
LDL cholesterol (mg/dL)	110 \pm 34	117 \pm 37	128 \pm 67
Creatinine (mg/dL)	0.84 \pm 0.2	0.92 \pm 0.2	0.94 \pm 0.19

