

Evaluación del desempeño analítico de tres métodos de cuantificación de hemoglobina A_{1c}

Analytical performance evaluation of three methods for hemoglobin A_{1c} quantification

Avaliação do desempenho analítico do três métodos de quantificação de hemoglobina A_{1c}

► Gisela Unger^{1a}, Gustavo Ruiz^{1b}, Pablo Milano^{1a}, Silvia Fabiana Benozzi^{2a}, Graciela Laura Pennacchiotti^{3ac}

¹ Bioquímico/a.

² Magister en Bioquímica.

³ Doctora en Bioquímica.

^a Cátedra Bioquímica Clínica I, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670. Bahía Blanca. Argentina.

^b Laboratorio Privado Dr. Ruiz, Rondeau 801. Bahía Blanca. Argentina.

^c Hospital Municipal Dr. Lucero de Bahía Blanca, Estomba 968. Bahía Blanca. Argentina.

Resumen

El laboratorio debe garantizar la exactitud de los resultados de HbA_{1c} cumpliendo con los requisitos analíticos internacionales de calidad, cada vez más estrictos y asegurar que una variación de HbA_{1c} de 0,5 puntos porcentuales (%-NGSP) o más entre dos controles consecutivos de un paciente diabético se deba a una variación clínica y no a una variación analítica. En este trabajo se evaluó el desempeño analítico de tres métodos comerciales para HbA_{1c}: inmunoturbidimétrico, enzimático y cromatográfico de intercambio catiónico. Para tal fin, se procesaron por cada método distintos controles comerciales de HbA_{1c}, con trazabilidad al método de referencia IFCC, determinándose en cada caso Coeficiente de Variación Total, *Bias*, Error Total, Valor de Referencia del Cambio y cambio clínico significativo de HbA_{1c} en el punto crítico 7,0%-NGSP. En las condiciones analíticas de este trabajo, solamente el método inmunoturbidimétrico tuvo un desempeño analítico aceptable, permitiendo atribuir un cambio de 0,5%-NGSP a una variación clínica significativa del paciente. Frente a las recomendaciones internacionales sobre el uso de HbA_{1c} en el control y diagnóstico de diabetes, es indiscutible la importancia de elegir un método que satisfaga los requerimientos analíticos mínimos de calidad para asegurar la utilidad clínica del resultado de HbA_{1c}.

Palabras clave: hemoglobina A_{1c} * hemoglobina glicosilada * requisitos de calidad analítica * metodología * desempeño analítico * valor de referencia del cambio * diagnóstico de diabetes * control del paciente diabético

Summary

The laboratory must guarantee the accuracy of HbA_{1c} results meeting the increasingly strict international analytical quality standards and assuring that an HbA_{1c} variation of 0.5 percentage points (%-NGSP) or more between two

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

consecutive controls of a diabetic patient is due to a clinical variation and not to an analytical variation. In this paper, the analytical performance of three commercial methods for HbA_{1c}: Immunoturbidimetric, Chromatographic and Enzymatic Cation Exchange, were evaluated. For this purpose, commercial controls with assigned values traceable to the IFCC reference method for HbA_{1c} were processed. For each methodology, total Coefficient of Variation (CV%), Bias%, Total Error (TE%), Change Reference Value and Clinically Significant Change (CSC) at the critical point of HbA_{1c} 7.0%-NGSP were determined. Within the analytical conditions of this study, only the immunoturbidimetric method had an acceptable analytical performance, allowing attribute a change in 0.5%-NGSP to a significant clinical variation. Faced with international recommendations on the use of HbA_{1c} on control and diagnosis of diabetes, the importance of choosing a method that meets the minimum analytical quality requirements to ensure the clinical utility of HbA_{1c} result is undeniable.

Key words: hemoglobin A_{1c} * glycated hemoglobin * analytical quality requirements * methodology * analytical performance * change reference value * diabetes diagnosis * management of the diabetic patient

Resumo

O laboratório deve garantir a precisão dos resultados da HbA_{1c} cumprindo com os requisitos analíticos internacionais de qualidade cada vez mais exigentes e garantir que uma variação de HbA_{1c} de 0,5 pontos percentuais (% - NGSP) ou mais entre duas verificações consecutivas de um doente diabético seja devido a uma variação clínica e não a uma variação analítica. Neste trabalho foi avaliado o desempenho analítico de três métodos comerciais para HbA_{1c}: imunoturbidimétrico, enzimático e cromatográfico de intercâmbio catiônico. Para esse fim, foram processados diversos controles comerciais de HbA_{1c} por cada método, com rastreabilidade ao método de referência IFCC, determinando em cada caso Quociente de Variação Total, Bias, Erro Total, Valor de Referência da Alteração e Alteração Clinicamente Significativa de HbA_{1c} no ponto crítico 7,0%-NGSP. Nas condições de análise deste estudo, apenas o método imunoturbidimétrico teve um desempenho analítico aceitável, permitindo atribuir uma alteração de 0,5%-NGSP a uma variação clínica significativa do paciente. Perante as recomendações internacionais sobre o uso da HbA_{1c} no controle e diagnóstico da diabetes, é inegável a importância de escolher um método que atenda os requisitos analíticos mínimos de qualidade de análise para garantir a utilidade clínica do resultado HbA_{1c}.

Palavras-chave: hemoglobina A_{1c} * hemoglobina glicada * requisitos de qualidade analítica * metodologia * desempenho analítico * valor de referência da alteração * diagnóstico de diabetes * controle do paciente diabético

Introducción

La determinación de Hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) es fundamental en el control del paciente con diabetes (1-3). En el año 2010 esta prueba fue incorporada como criterio diagnóstico de diabetes por la *American Diabetes Association (ADA)* (4), especificándose el requisito de que la determinación se realice con métodos certificados por el *National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)* y estandarizados de acuerdo con las especificaciones del *Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)* (4). Dicho criterio, que establece el diagnóstico de diabetes con valores de HbA_{1c} superiores a 6,5%-NGSP, fue avalado en 2011 por el Panel de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (5) e incluido en las Guías y Recomendaciones para Análisis de Laboratorio en el Diagnóstico y Manejo de Diabetes *Mellitus* (6). Esta decisión estuvo sustentada en varias consideraciones, entre ellas, la mejora de los ensayos para la medición de HbA_{1c} a partir de la estandarización llevada a cabo por el NGSP, que ha convertido a la HbA_{1c} en una prueba

precisa y confiable para su uso en el diagnóstico de diabetes en muchos países del mundo (4) (7). No obstante, este es un tema pendiente en muchos otros países, tal como ocurre en Argentina (8).

Es esencial que la HbA_{1c} se mida con precisión y exactitud tanto para realizar el diagnóstico de diabetes como para distinguir un control glucémico óptimo de uno subóptimo, e implementar intervenciones adecuadas, ya que se ha demostrado que pacientes con diabetes que mantienen un valor de HbA_{1c} promedio de 7,0%-NGSP, obtienen una reducción significativa de las complicaciones micro y macrovasculares (9).

Asimismo, es importante destacar que internacionalmente la evaluación de los nuevos regímenes de tratamiento se realiza en términos de la reducción de HbA_{1c} en 0,5 puntos porcentuales o más (10-12), por lo tanto, el profesional bioquímico debe asegurar que un cambio de esta magnitud constituya una modificación clínica y no una variación analítica del método empleado.

Las recomendaciones analíticas según el *College of American Pathologists (CAP)* y NGSP han variado en el

tiempo, tornándose cada vez más estrictas en cuanto a la exactitud del método; tal es así que el error total (ET%) aceptable en el año 2007 era de 15,0%, y disminuyó a 7,0% en 2012 y a 6,0% en 2013 (7) (12-14). Asimismo, las recientes pautas para el análisis de laboratorio en el diagnóstico y manejo de la diabetes (6) recomiendan que la imprecisión o coeficiente de variación total (CV%) intra-laboratorio debe ser idealmente menor de 2,0% y entre laboratorios, menor de 3,5%.

Los comerciantes de equipos de diagnóstico *in vitro* ofrecen, en Argentina, una amplia variedad de pruebas basadas en diferentes métodos que difieren en su desempeño analítico. La verificación del cumplimiento de los estándares internacionales para que el empleo de la prueba resulte en datos clínicos confiables es de suma importancia, tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de los pacientes. Con el objetivo de observar si se cumplen estos requisitos, se propuso la evaluación del desempeño analítico de tres métodos comerciales para HbA_{1c}.

Materiales y Métodos

La cuantificación de HbA_{1c} se realizó mediante la utilización de tres equipos comerciales basados en diferentes métodos: inmunoturbidimétrico (I), enzimático (E) y cromatografía de intercambio catiónico (C), siguiendo estrictamente las indicaciones de los fabricantes. Los resultados se expresaron como porcentaje de HbA_{1c} según NGSP (%-NGSP).

El **método I** se realizó de manera automatizada en un autoanalizador ADVIA 1200 (Siemens Medical Healthcare, Alemania). El método consiste en dos reacciones independientes que miden el nivel de HbA_{1c} y Hemoglobina Total (HbTotal), expresándose la proporción de HbA_{1c} como %-NGSP. La concentración de HbA_{1c} se determina por inmunoturbidimetría a 694 nm, en tanto que la concentración de HbTotal se mide espectrofotométricamente a 596 nm, minimizándose el efecto de las interferencias con una lectura a una longitud de onda secundaria de 660 nm.

El **método E** se efectuó de forma automatizada en un autoanalizador Metrolab 2100 (Metrolab, Buenos Aires, Argentina). Se fundamenta en la acción de una proteasa sobre las cadenas beta de hemoglobina, que libera ami-

noácidos, entre ellos "valinas N-terminal glicadas" que caracterizan a la HbA_{1c}, luego estas valinas son clivadas específicamente por la enzima fructosil-valina-oxidasasa generándose H₂O₂ que es cuantificado en una reacción catalizada por una peroxidasa en presencia de un cromógeno. La absorbancia se mide empleando una longitud de onda principal de 700 nm y una secundaria de 800 nm para restar la lectura de los interferentes. No es necesario medir por separado la HbTotal. La concentración de HbA_{1c} se expresa directamente como %-NGSP.

El **método C** es un método manual en el cual las hemoglobinas son retenidas por una resina de intercambio catiónico, eluyéndose posteriormente y de forma específica la HbA_{1c}. La estimación del %-NGSP de HbA_{1c} se realiza por lectura de la absorbancia a 415 nm del eluido, respecto de la lectura de HbTotal. La corrida cromatográfica se efectuó a una temperatura constante de 25 °C bajo estricto control y se empleó para la lectura un espectrofotómetro Mindray BA 88A (Shenzhen, China).

Los controles comerciales analizados de HbA_{1c} presentaban valores asignados trazables al método de referencia IFCC y fueron provistos por los respectivos fabricantes de los equipos comerciales empleados. Los mismos se conservaron y procesaron según la especificación de los fabricantes. Para los métodos **I** y **E** se procesaron dos niveles de HbA_{1c}, uno bajo (Bajo-I y Bajo-E) y otro alto (Alto-I y Alto-E), en tanto que para **C** solo se procesó un control de nivel bajo (Bajo-C). Los valores asignados a cada control analizado se presentan en la Tabla I.

Para evaluar el desempeño analítico se empleó el protocolo EP15-A2 del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) procesando por triplicado cada control para los respectivos métodos durante cinco días. Se evaluó la linealidad de los métodos **I** y **E** por regresión lineal. Se determinó para cada metodología CV%, veracidad (*bias%*) y ET% para un nivel de confianza de 95%, considerando la fórmula (15):

$$ET\% = [bias\%] + (1,65 \times CV\% \text{ total})$$

que se comparó con el ET% aceptable de 7,0% (2012) y 6,0% (2013) según el NGSP-CAP.

Se calculó el *bias%* aceptable a partir de la fórmula de ET%, considerando los valores recomendados de CV% de 2,0% y de ET% de 7,0% y 6,0%, resultando

Tabla I. Valores asignados y rangos de HbA_{1c} (%-NGSP) de los controles comerciales utilizados para cada método.

Método	Control de HbA _{1c}	Valor asignado y rango de HbA _{1c}
Cromatográfico de Intercambio Catiónico	Bajo-Cromatográfico de Intercambio Catiónico	5,1 (4,1-6,2)%-NGSP
Enzimático	Bajo-Enzimático	5,7 (4,6-6,8)%-NGSP
	Alto-Enzimático	8,5 (6,8-10,2)%-NGSP
Inmunoturbidimétrico	Bajo-Inmunoturbidimétrico	5,6 (4,5-6,7)%-NGSP
	Alto-Inmunoturbidimétrico	11,3 (9,0-13,6)%-NGSP

aceptable un valor de *bias%* de $\pm 3,7\%$ y de $\pm 2,7\%$ respectivamente.

Empleando el CV% de cada método y considerando un coeficiente de variación biológica intraindividuo (CVi%) para HbA_{1c} de 1,0%, según Rohlfing *et al.* (16) (17), quienes postularon que las fluctuaciones en los valores de HbA_{1c} en pacientes con diabetes no serían al azar y deberían considerarse causadas fundamentalmente por cambios en los niveles de glucemia, se calculó el valor de referencia del cambio (VRC%) según la siguiente fórmula (18)(19):

$$VRC\% = \sqrt{2} \times 1,96 \times \sqrt{(CV\%)^2 + (CVi\%)^2}$$

El VRC indica el porcentaje de cambio entre dos mediciones consecutivas de un analito, que puede considerarse un cambio clínicamente significativo (CCS) y no atribuido a variaciones analíticas o biológicas, con una probabilidad del 95%. El VRC depende exclusivamente de la imprecisión analítica de cada método y de la variabilidad biológica intraindividual del analito.

Se calculó el CCS que detectaron los métodos en el punto crítico de 7,0%-NGSP, con el fin de evaluar la efectividad de los mismos en detectar la variación de HbA_{1c} considerada clínicamente significativa, de 0,5%-NGSP, considerando que esta detección tiene un profundo impacto en el manejo de los pacientes con diabetes, si los cambios en su medicación se realizan en base a las mediciones seriadas de HbA_{1c}.

Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla II y los valores medios e Intervalo de Confianza del 95% (IC-95%) del nivel bajo de HbA_{1c} para cada método en la Figura 1.

En la evaluación del **método I** se obtuvo un aceptable desempeño analítico en ambos niveles evaluados de HbA_{1c}. En el nivel bajo (Bajo-C) se obtuvo un CV% y un ET% conformes al valor propuesto por NGSP-CAP

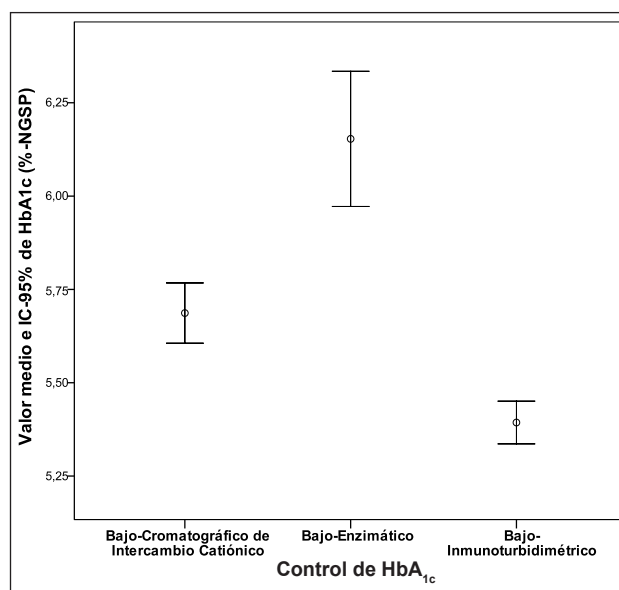


Figura 1. Valores medios e Intervalo de Confianza del 95% (IC-95%) obtenidos por cada método para los respectivos controles analizados de nivel bajo de HbA_{1c}.

para el año 2012; en el nivel alto (Alto-C) se obtuvo un CV% de 2,2% ligeramente superior al recomendado de 2,0%, pero un bajo valor de *bias%* por lo cual el ET% correspondiente a este nivel cumplió el requerimiento de ET% propuesto por NGSP-CAP para el año 2012 y 2013. Asimismo, se obtuvo una óptima linealidad del método, como se observa en la Figura 2, obteniéndose por regresión lineal un valor de r^2 de 0,996 y la siguiente ecuación de la recta: $y = 1,03x$ (IC-95%: 1,00 a 1,05; p : 0,000) - 0,35 (IC-95%: -0,56 a -0,14; p : 0,002).

En la evaluación del **método E**, en ambos niveles (Bajo-E y Alto-E) se obtuvo un elevado CV% y de ET% y una linealidad subóptima, como se observa en la Figura 3, obteniéndose por regresión lineal un valor de r^2 de 0,793 y la siguiente ecuación de la recta: $y = 0,80x$ (IC-95%: 0,64 a 0,96; p : 0,000) + 1,59 (IC-95%: 0,45 a 2,74; p : 0,008). Su desempeño analítico no fue aceptable en estas condiciones.

Tabla II. Resultados obtenidos en el análisis de los respectivos controles de HbA_{1c} por los métodos evaluados.

Método	Control de HbA _{1c}	Valor medio HbA _{1c} (IC-95%)	CV%	Bias%	ET%	VRC%	CCS de HbA _{1c} para 7,0%-NGSP
Cromatográfico de Intercambio Catiónico	Bajo-Cromatográfico de Intercambio Catiónico	5,69(±0,07)%-NGSP	2,2	+ 11,5	15,8	7,7	0,5%-NGSP
Enzimático	Bajo-Enzimático	6,15(±0,17)%-NGSP	5,6	+ 8,0	17,2	15,8	1,1%-NGSP
	Alto-Enzimático	8,39(±0,42)%-NGSP	9,8	- 1,3	17,5	27,4	1,9%-NGSP
Inmunoturbidimétrico	Bajo-Inmunoturbidimétrico	5,39(±0,05)%-NGSP	2,0	- 3,7	7,0	6,2	0,4%-NGSP
	Alto-Inmunoturbidimétrico	11,24(±0,12)%-NGSP	2,2	- 0,5	4,1	6,7	0,5%-NGSP

CV%: Coeficiente de Variación Total; ET%: Error Total; VRC%: Valor de Referencia del Cambio; CCS: Cambio Clínicamente Significativo; IC-95%: Intervalo de Confianza del 95%.

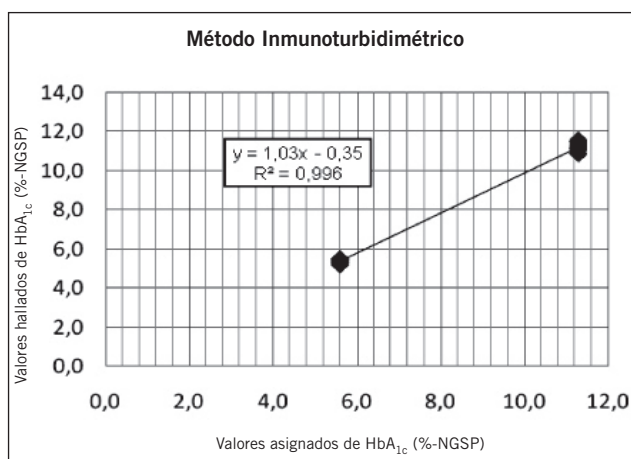


Figura 2. Evaluación de la linealidad del método Inmunoturbidimétrico.

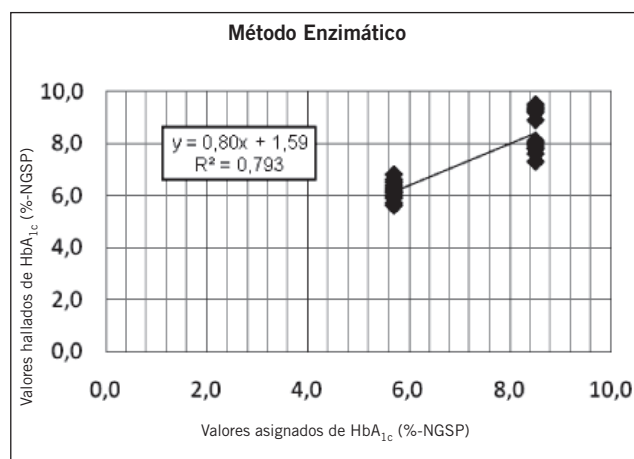


Figura 3. Evaluación de la linealidad del método Enzimático.

La evaluación del **método C** se realizó sólo en el nivel bajo de HbA_{1c} (Bajo-C), obteniéndose un CV% relativamente aceptable, aunque un elevado *bias*%, condición que determinó un ET% muy superior a lo recomendado internacionalmente, siendo no aceptable el desempeño analítico de este método en estas condiciones.

En la Figura 4 se muestra el ET% obtenido en el nivel bajo de HbA_{1c} de los tres métodos, respecto de los valores aceptables propuestos por NGSP-CAP de 7,0% en 2012 y 6,0% en 2013.

Discusión y Conclusiones

Se debe considerar que los médicos realizarán cambios en los regímenes terapéuticos guiados por el nivel de HbA_{1c} del paciente y los cambios seriales en sus mediciones, es decir, los médicos se basarán en la medición de HbA_{1c} para decidir si el paciente necesita o no un cambio en el tratamiento, y muchas veces sin conocer si el desempeño analítico del método es el adecuado, condición que sin duda alguna, debe asegurar el profesional bioquímico.

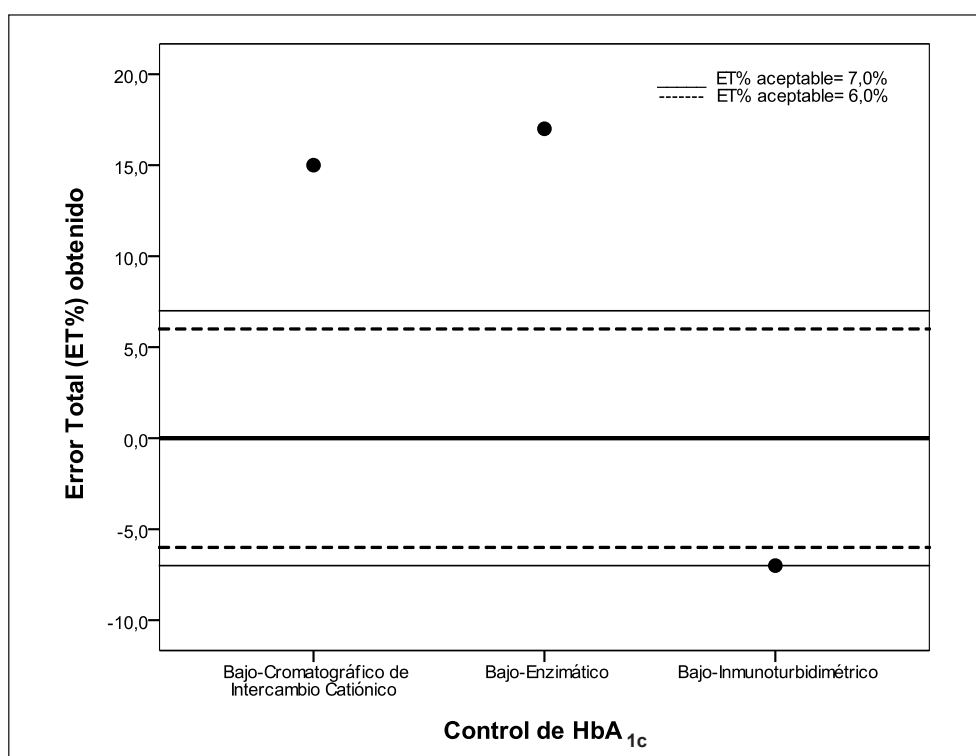


Figura 4. Error Total (ET%) obtenido por cada método para el respectivo control de HbA_{1c} de nivel bajo con respecto al ET% aceptable según NGSP-CAP de 7,0% (2012) y de 6,0% (2013).

El laboratorio clínico tiene entonces una gran responsabilidad en la elección del método para cuantificar HbA_{1c} ante la amplia gama de posibilidades metodológicas que son ofrecidas por los fabricantes de pruebas para diagnóstico *in vitro*. Si bien la complejidad del laboratorio es un aspecto que influirá en la elección del mismo, se debe asegurar el empleo de pruebas confiables, de óptima calidad, que cumplan con los requerimientos analíticos estipulados, puesto que ello impactará directamente en la calidad y utilidad clínica del resultado emitido.

En sus inicios, la determinación de HbA_{1c} presentaba gran variabilidad entre los diferentes métodos y laboratorios. Es por ello que en Estados Unidos se implementó el NGSP para lograr estandarizar la determinación de HbA_{1c} y que todos los laboratorios informaran en forma trazable con el método *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* de intercambio catiónico (Biorex-70), esfuerzos que continúan en la actualidad, junto a otras instituciones, con excelentes logros a lo largo del tiempo en los laboratorios participantes de muchos países.

En este sentido, en Argentina, en el año 2009, se emitió el documento de las "Primeras Jornadas Conjuntas de Consenso del Laboratorio en Diabetes" (8), en el cual se recomendó como mejor opción para la determinación de HbA_{1c}, los métodos inmunturbidimétricos, por ser reconocidos internacionalmente como equivalentes al método HPLC según el NGSP. Asimismo, se desaconsejaron los procedimientos basados en cromatografía de intercambio iónico (columnas), recomendando, si se utilizara este método, una ejecución con estricta estandarización, particularmente en el control de la temperatura. Por otra parte, en este consenso se determinó que la reciente recomendación de utilizar la determinación de HbA_{1c} para el diagnóstico de diabetes no tiene aplicabilidad por el momento en Argentina, dada las limitaciones existentes en la estandarización metodológica en la mayoría de los laboratorios de análisis clínicos, ya que para este uso en el diagnóstico, la determinación de HbA_{1c} debe realizarse con métodos certificados por el NGSP.

En este trabajo, el **método I**, certificado por el NGSP, demostró un aceptable desempeño analítico, ajustándose a los requisitos internacionales propuestos para el año 2012, condición que validaría su uso para el diagnóstico y el control del paciente con diabetes, ya que ofrecería resultados con la precisión y exactitud necesarias para permitir que el médico tome decisiones ciertas en base al resultado de HbA_{1c} informado al paciente y en relación con los valores críticos considerados en las recomendaciones internacionales para el monitoreo y diagnóstico de la diabetes.

En cuanto al **método C**, cabe destacar que se trabajó en un ambiente climatizado con estricto control de la temperatura, a 25 °C, y estandarización del procedimiento, lográndose un CV% relativamente aceptable

de 2,2%, lo que concuerda con las recomendaciones del Consenso en cuanto a las precauciones a considerar en el uso de este método; este valor se refleja en el CCS obtenido de 0,5%-NGSP, ya que este parámetro depende analíticamente del CV% del método. Sin embargo, la buena precisión de **C** se vio afectada por el elevado valor de *bias%* obtenido, que determinó un elevado ET%, es decir, una marcada inexactitud del método, invalidándolo para su uso clínico en estas condiciones analíticas. Teniendo en cuenta que esta metodología resulta de fácil acceso a laboratorios de baja complejidad, por su simplicidad metodológica, resulta imperioso enfatizar en la validación analítica de este método en el laboratorio previo a iniciar su uso y en el control de calidad, tanto interno como externo, para asegurar la precisión y exactitud de los resultados emitidos por el mismo.

El **método E** se procesó según las indicaciones del fabricante, pero no cumplió con los requisitos necesarios para su validación, demostrando la necesidad de revisión del procedimiento a fin de determinar las causas y establecer acciones correctivas que puedan mejorar su desempeño, previo a la incorporación para su uso en el laboratorio.

En este trabajo se evidencia la necesidad de emplear métodos certificados por NGSP, evaluar o validar analíticamente los métodos que se utilizarán para determinar la concentración de HbA_{1c} en las condiciones de cada laboratorio en particular y previo a la implementación de su uso, como así también la importancia de realizar el control interno de calidad del método y de participar en programas de evaluación externa de calidad, ya que justamente de la "calidad" de los resultados emitidos dependerá la decisión médica sobre el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

CORRESPONDENCIA

GRACIELA LAURA PENNACCHIOTTI
San Juan 670. 8000 BAHÍA BLANCA. Argentina
Teléfono: 0291-4595101, Int. 2447
E-mail: grapen@uns.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. DCCT 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.
2. Turner RC, Holman RR, Cull CA, Stratton IM, Matthews DR, Frighi V, *et al.* 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: 837-53.

3. Shichiri M, Kishikawa H, Ohkubo Y, Wake N. Long-term results of the Kumamoto Study on optimal diabetes control in type 2 Diabetic Patients. *Diab Care* 2000; 23 Supl 2: B21-B29.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes *mellitus*. *Diab Care* 2010; 33 Supl 1: S62-S69.
5. Report of a World Health Organization Consultation. Use of glycated haemoglobin (HbA_{1c}) in the diagnosis of diabetes *mellitus*. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93: 299-309.
6. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, *et al.* Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 34: e61-99.
7. National Glycohemoglobin Standardization Program. Disponible en: www.ngsp.org. Fecha de acceso: 15 de julio de 2013.
8. Sociedad Argentina de Diabetes. Documento de las "Primeras Jornadas Conjuntas de Consenso del Laboratorio en Diabetes" Desarrolladas entre la Sociedad Argentina de Diabetes - Capítulo Cuyo; la Asociación Bioquímica de Mendoza y la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Juan Agustín Maza 2009. Disponible en: www.diabetes.org.ar/docs/Primeras_Jornadas_Conjuntas_de_Consenso_del_Laboratorio_en_Diabetes.pdf. Fecha de acceso: 15 de julio de 2013.
9. American Diabetes Association. Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes-2013. *Diab Care* 2013; 36 Supl 1: S4-S10.
10. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, *et al.* Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diab Care* 2009; 32: 193-203.
11. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Type 2 diabetes: newer agents for blood glucose control in type 2 diabetes. Disponible en: www.nice.org.uk/nicemedia/live/12165/44318/44318.pdf. Fecha de acceso: 16 de julio de 2013.
12. Little RR, Rohlfing CL. The long and winding road to optimal HbA_{1c} measurement. *Clin Chim Acta* 2013; 418: 63-71.
13. Future Changes in CAP GH2 HbA_{1c} Survey Grading. Disponible en: www.ngsp.org/news.asp. Fecha de acceso: 16 de julio de 2013.
14. Mosca A, Branca MT, Carta M, Genna ML, Giorda CB, Ghidelli R, *et al.* Recommendations for the implementation of international standardization of glycated hemoglobin in Italy. GLAD Working Group (HbA_{1c} delegates WG). *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 623-6.
15. Mazziotta D, Correa JA. Control de calidad. En: Fernández Espina C, Mazziotta D, editores. *Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico*. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2005. p. 371-407.
16. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, Grotz VL, Tennill A, England J, *et al.* Biological variation of glycohemoglobin. *Clin Chem* 2002; 48: 1116-8.
17. Linters-Westra E, Weykamp C, Schindhelm RK, Siebelder C, Bilo HJ, Slingerland RJ. One in five laboratories using various hemoglobin A1c methods do not meet the criteria for optimal diabetes care management. *Diab Technol Ther* 2011; 13 Supl 4: 1-5.
18. Omar F, van der Watt GF, Pillay TS. Reference change values: how useful are they? *J Clin Pathol* 2008; 61: 426-7.
19. Ricos C, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Iglesias N, Jimenez CV, *et al.* The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest* 2004; 64: 175-84.

Recibido: 6 de agosto de 2013

Aceptado: 27 de diciembre de 2013