

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة سعد دحلب البليدة (1)  
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Génétique

### Thème

Dépistage des hémoglobinoses lors du dosage de l'HbA1c (glyquée)  
par HPLC au niveau de la région de Blida

*Présenté par :*

TALBI AFAF

*Soutenu le :*

09/07/2023

Devant le jury :

Nom

Grade/Lieu

Qualité

Mr MOHAMED SAID.R

MCA/USDB1

Président

Mme GUESSAIBIA.N

MCA/USDB1

Examinatrice

Mr GUETARNI.Dj

Prof/USDB1

Promoteur

Mr BENEHELLAL.A

Dr/USDB1

Co-promoteur

Année universitaire : 2022/2023

## *Remerciements*

En tout premier lieu, je remercie Dieu, le tout puissant de m'avoir donné la volonté et la force d'entamer et de terminer ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mon promoteur Professeur **GUETARNI DJAMEL** d'avoir accepté de m'encadrer, je le remercie pour sa rigueur, sa très grande disponibilité ainsi que pour tous ses conseils dont j'ai pu bénéficier durant la préparation de ce mémoire.

Je tiens également à exprimer mes très sincère reconnaissance envers mon Co. Promoteur Docteur **BENHELLAL.A**, qui m'a permis d'effectuer mon mémoire de fin d'étude au sein de son laboratoire d'analyses médicales, ainsi que pour les moyens qu'il a mis à ma disposition tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements à monsieur **MOHAMED SAID.R** pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire ainsi pour toute l'aide qu'il m'a apporté durant mon parcours académique.

J'exprime toute ma reconnaissance à madame **GUESSAIBIA.N** d'avoir acceptée d'examiner ce travail.

En fin, je ne peux achever ce mémoire sans exprimer ma gratitude à tous les enseignants du département de Biologie pour leur dévouement et leur assistance tout au long de nos études universitaires, ainsi qu'à toutes personnes ayant contribuées de près ou de loin à l'aboutissement de ce mémoire et tout le personnel du laboratoire pour leur aide et leur soutien.

# *Dédicaces*

J'ai l'honneur de dédier ce travail comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Mes parents :

Ma très chère mère, qui a bâti sa vie autour de mon avenir et qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, que dieu la garde.

Mon merveilleux père décédé, qui a toujours rêvé que je réussirais et que j'arriverais à ce jour pour l'honorer et relever sa tête, mais malheureusement il m'a quitté avant de voir mon succès. J'espère qu'il repose en paix.

Ce travail leur est dédié. Qu'ils trouvent ici le témoignage de toute mon affection et toute ma gratitude pour tous leurs sacrifices.

À mon époux, qui m'a soutenu tout au long de ce travail, ne ménageant aucun effort pour m'aider. Pour sa patience, son amour et ses sacrifices, je le remercie chaleureusement

À ma petite princesse Eline

À mes chères sœurs, Radia, Khalida et Amira, qui m'ont accordé un soutien sans faille, reçoivent mes sincères remerciements.

À ma chère grand-mère qui ne m'a jamais oublié dans ses prières, que Dieu la guérisse.

À ma merveilleuse amie Ilhem qui n'a jamais cessé de m'aider et de me conseiller tout au long de ce travail, merci pour tous les souvenirs que nous avons partagés ensemble.

À celles et ceux, dont je ne peux pas citer les noms, mais qui comptent beaucoup pour moi.

## Sommaire

<b>Introduction.</b> .....	1
<b>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</b>	
I.1. Généralité sur le diabète .....	2
I.1.1 Définition .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I.1.2 Classification .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I.1.2.1. Diabète De Type 1 .....	2
I.1.2.2. Diabète De Type 2 .....	2
I.1.2.3. Autres types de diabètes.....	3
I.1.3 Diagnostic .....	3
I.1.4 Surveillance .....	3
I.1.4.1. Dosage de la glycémie .....	3
I.1.4.2. Dosage de l'hémoglobine glyquée.....	4
I.2. Généralité sur l'hémoglobine.....	4
I.2.1. Histoire, Définition, Fonction : .....	4
I.2.2. Structure.....	5
I.2.2.1. La globine .....	5
I.2.2.2. L'hème .....	5
I.2.3. Les différents types d'hémoglobine.....	6
I.2.4. Organisation génétique et régulation de l'expression des différentes hémoglobines	7
I.3. L'hémoglobine glyquée : .....	8
I.3.1. Définition.....	8
I.3.2. Différentes fractions glyquées de l'hémoglobine : .....	8
I.3.3. Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée .....	9
I.3.3.1. Les méthodes basées sur la modification de la charge.....	9
I.3.3.2. Les méthodes basées sur la modification de la structure .....	9
I.3.4. Standardisation .....	9
I.4. Les hémoglobinopathies.....	10
I.4.1. Classification .....	10
I.4.2. Les hémoglobines anormales.....	10
I.4.2.1. La drépanocytose (Sickle cell disease).....	11
I.4.2.2. L'hémoglobine C .....	11
I.4.2.3. L'hémoglobine E .....	11

I.4.2.4. L'hémoglobine O-Arab.....	12
I.4.2.5. L'hémoglobine D-Punjab.....	12
I.4.3. Diagnostic biologique d'une anomalie de l'hémoglobine .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I.4.3.1. Les techniques séparatives .....	13
I.4.4. Moyens thérapeutiques .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I.4.5. Mode de transmission des hémoglobinopathies .....	14
<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>	
II.1. Type, lieu et durée de l'étude.....	15
II.2. Matériels .....	15
II.2.1. Matériel biologique .....	15
II.2.2. Matériel non biologique .....	15
II.3. Méthodes.....	15
II.3.1. Prélèvement et préparation de l'échantillon.....	16
II.3.2. Dosage de l'HbA1c et dépistage des anomalies de l'hémoglobine.....	16
II.3.2.1. Chromatographe liquide à haute performance marque « bio-rad D-10 ».....	16
II.3.2.2. Principe .....	16
II.3.2.3. L'expression des résultats des profils chromatographiques .....	17
II.3.3. L'électrophorèse de l'hémoglobine.....	18
II.3.3.1. Principe .....	18
II.3.3.2. L'expression des résultats des profils électrophorétiques .....	19
II.3.4. Enquête génétique .....	19
II.3.5. Etudes statistiques .....	19
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
III.1. Caractéristiques de la population étudiée .....	20
III.2. Résultats du dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c).....	22
III.3. Résultats de l'identification des variants de l'hémoglobine par électrophorèse de l'hémoglobine.....	26
III.3.1. Lecture des résultats du profil électrophorétique des variants de l'hémoglobine...26	
III.3.2. Interprétation des résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients ayant présentés des variants d'hémoglobine.....	32
III.3.3. Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine.....	33
III.4. Enquête génétique chez une famille porteuse de l'Hb D.....	34
<b>Conclusion.....</b>	<b>35</b>

Liste des figures :

<b>Figure 1.</b> Structure de l'hémoglobine. ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Figure 2.</b> Expression des gènes de globine au cours du développement ontogénique.....	6
<b>Figure 3.</b> Organisation des 2 familles de gènes de globine.....	7
<b>Figure 4.</b> Transmission d'un gène associé à une maladie récessive : à gauche lorsque les deux parents sont porteurs ; à droite lorsqu'un seul des deux parents est porteur).....	14
<b>Figure 5.</b> Profil électrophorétique de sang normal .....	18
<b>Figure 6.</b> Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale.....	19
<b>Figure 7.</b> Profil chromatographique d'une hémoglobine normal (A/A) obtenus par chromatographie liquide à haute performance .....	22
<b>Figure 8.</b> Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine S (photo originale). ....	24
<b>Figure 9.</b> Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine S (cas homozygote) (photo originale).....	25
<b>Figure 10.</b> Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine C... ..	26
<b>Figure 11.</b> Profil électrophorétique d'une hémoglobine hétérozygote (A/S) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine.....	27
<b>Figure 12.</b> Profil électrophorétique d'une hémoglobine S homozygote (S/S) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine.....	28
<b>Figure 13.</b> Profil électrophorétique d'une hémoglobine C hétérozygote (A/C) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine.....	29
<b>Figure 14.</b> Profil électrophorétique d'une hémoglobine D hétérozygote (A/D) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine.....	30
<b>Figure 15.</b> Profil électrophorétique en faveur d'une mutation alpha avec dédoublement de l'Hb A et l'Hb A2 obtenu par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine .....	31
<b>Figure 16.</b> Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine.....	33
<b>Figure 17.</b> Exemple d'arbre généalogique d'une famille Porteuse de l'hémoglobinose D.....	34

### Liste des tableaux :

**Tableau I.** Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez un sujet non diabétique. .... 8

**Tableau II.** La plage indiquée pour l'HbA1c selon les unités de valeurs internationales. .... 17

**Tableau III.** Répartition des patients en fonction du sexe et de l'âge..... 21

**Tableau IV.** Répartition des patients en fonction des tranches de taux de l'HbA1c ..... 23

**Tableau V.** Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobine.. ..... 32

### Liste des abréviations :

ADA : American Association Diabetes

ADO : Les antidiabétiques oraux

ALAT : L'alanine Amino transférase

CLBP : Chromatographie Liquide Basse Pression

CPA : cellules présentatrices d'antigène

DCCT : Diabète Control and Complication Trial (groupe de recherche anglaise)

DG : Diabète Gestationnel

DT1 : Diabète type 1

DT2 : Diabète type 2

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique

FID : Fédération International Diabétique

Hb : Hémoglobine

HbA1c : Hémoglobine glyquée

Hb A : Hémoglobine adulte

Hb F : Hémoglobine fœtale

Hb C : Hémoglobine C

Hb D : Hémoglobine D

Hb E : Hémoglobine E

Hb S : Hémoglobine S (Drépanocytose)

Hb Var : base de données spécifique au locus

HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale

HPLC : Haute Performance Liquide Chromatographie

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

LCR : regulatory locus control region

MCS : Multispecies conserved sequences

NABM : Nomenclature des actes de biologie médicale

NGSP : American National Glycohaemoglobin Standardization Program

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAL : Phosphatase alcalin

SDM : syndromes drépanocytaires majeurs

### Résumé :

Le diabète est une maladie chronique caractérisée par une élévation prolongée de la concentration de glucose dans le sang. Son diagnostic est basé sur plusieurs méthodes de mesures différentes dont celle de l'hémoglobine glyquée par la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), qui permet à la fois d'évaluer l'équilibre de la glycémie au cours des 3 derniers mois et de dépister les anomalies de l'hémoglobines.

Ces anomalies de l'hémoglobines représentent les hémoglobinopathies qui sont des maladies génétiques transmises de façon autosomique récessive. L'intérêt de l'étude de ces pathologies est le dépistage des porteurs pour la prévention des formes majeurs de cette maladie et la recherche des cas familiaux à terme de développer un conseil génétique.

L'objectif de notre étude est de dépister les anomalies de l'hémoglobine les plus courantes dans la population de Ouled yaich (BLIDA). À travers d'un dosage de l'HbA1c par la technique de HPLC, suivis d'une identification de ces variants de l'hémoglobine par électrophorèse de l'hémoglobine, Il et s'ensuit d'une enquête génétique visant à rechercher les hémoglobinopathies au sein d'une famille.

Parmi les 1796 patients traités on a révélé 30 cas d'hémoglobinopathies. L'hémoglobine S est le plus fréquent dans notre population avec 16 patients dont 15 cas sont à l'état hétérozygote et un seul cas est à l'état homozygote, ensuite l'hémoglobine C avec un nombre de 9 patients tous hétérozygotes, puis l'hémoglobine D qui occupent la troisième position dans notre population avec un nombre de 4 patients à l'état hétérozygote, et en fin un seul cas à l'état hétérozygote avec un dédoublement des fractions d'HbA et d'HbA2 (mutation alpha).

**Mots clés :** diabète, hémoglobine, hémoglobine glyquée, hémoglobinopathies, chromatographie liquide à haute performance.

### **Abstract :**

Diabetes is a chronic disease characterized by prolonged elevated blood glucose levels. Its diagnosis is based on several different measurement methods including glycated hemoglobin by the high performance liquid chromatography (HPLC) technique, which allows both to assess the balance of blood sugar over the last 3 months and to detect hemoglobin abnormalities.

These hemoglobin abnormalities represent hemoglobinopathies which are autosomally recessively transmitted genetic diseases. The interest of the study of these pathologies is the screening of carriers for the prevention of major forms of this disease and the search for family cases eventually to develop genetic advice.

The objective of our study is to detect the most common hemoglobin abnormalities in the Ouled yaich population (BLIDA). Through an HbA1c assay by the HPLC technique, followed by an identification of these hemoglobin variants by hemoglobin electrophoresis, it follows from a genetic investigation to look for hemoglobinopathies within a family.

Among the 1796 patients treated, 30 cases of hemoglobinopathies were revealed. Hemoglobin S is the most common in our population with 16 patients of which 15 cases are heterozygous and only one case is homozygous, then hemoglobin C with a number of 9 patients all heterozygous, then hemoglobin D which occupy the third position in our population with a number of 4 patients in the heterozygous state, and finally a single case in the heterozygous state with a doubling of the fractions of HbA and HbA<sub>2</sub> (alpha mutation).

**Keywords:** diabetes, hemoglobin, glycated hemoglobin, hemoglobinopathies, high performance liquid chromatography.

### ملخص:

مرض السكري هو مرض مزمن يتميز بارتفاع مستويات السكر في الدم لفترات طويلة. يعتمد تشخيصه على العديد من طرق القياس المختلفة بما في ذلك الهيموجلوبين السكري من خلال تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) ، والتي تسمح لكل من تقييم توازن السكر في الدم خلال الأشهر 3 الماضية واكتشاف تشوهات الهيموجلوبين.

تمثل تشوهات الهيموجلوبين هذه اعتلالات الهيموجلوبين وهي أمراض وراثية تنتقل بطريقة جسمية متنحية. اهتمام دراسة هذه الأمراض هو فحص الناقلين للوقاية من الأشكال الرئيسية لهذا المرض والبحث عن الحالات العائلية في نهاية المطاف لتطوير المشورة الجينية.

الهدف من دراستنا هو اكتشاف تشوهات الهيموجلوبين الأكثر شيوعًا في سكان أولاد يعيش (BLIDA) من خلال اختبار HbA1c بواسطة تقنية HPLC، متبوعًا بتحديد متغيرات الهيموجلوبين هذه بواسطة الهيموجلوبين الكهربائي، يتبع التحقيق الجيني للبحث عن اعتلال الهيموجلوبين داخل الأسرة.

من بين 1796 مريضًا تم علاجهم، تم الكشف عن 30 حالة من اعتلال الهيموجلوبين. الهيموجلوبين S هو الأكثر شيوعًا بين سكاننا مع 16 مريضًا منهم 15 حالة متغايرة الزيجوت وحالة واحدة فقط متماثلة الزيجوت، ثم الهيموجلوبين C مع عدد من 9 مرضى جميعهم متغايرون، ثم الهيموجلوبين D الذي يحتل المركز الثالث في سكاننا مع عدد من 4 مرضى في الحالة غير المتجانسة، وأخيرًا حالة واحدة في الحالة غير المتجانسة مع مضاعفة كسور HbA و HbA2 طفرة ألفا.

**الكلمات الرئيسية:** مرض السكري، الهيموجلوبين، الهيموجلوبين السكري، اعتلال الهيموجلوبين، كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء.

# *Introduction*

Le diabète est une pathologie grave et chronique qui a atteint des proportions alarmantes, actuellement, près d'un demi-milliard de personnes dans le monde vivent avec le diabète. **(Williams, 2019).**

Le diagnostic de diabète est basé sur plusieurs méthodes de mesures différentes dont celle de l'hémoglobine glyquée (HbA1c).

L'hémoglobine glyquée représente le paramètre clé de la surveillance de l'équilibre glycémique des patients diabétiques durant les 4 à 8 semaines précédant le prélèvement. De nombreuses techniques de dosages existent sur le marché parmi lesquelles la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) qui permet à la fois de doser l'HbA1c et de dépister les variants de l'hémoglobine **(Marzullo & Minery, 2008).**

Ces variants de l'hémoglobine représentent les hémoglobinopathies qui sont des affections génétiquement déterminées et qui constituent un problème de santé publique dans de vastes parties du monde. À l'origine, elles étaient principalement localisées dans les zones tropicales d'Afrique subsaharienne, d'Asie et de la région méditerranéenne, mais avec les migrations, ces maladies sont désormais présentes dans le monde entier **(Williams & Weatherall, 2012).**

Les hémoglobinopathies sont conséquentes à des anomalies des hémoglobines qui sont de deux types : quantitatives et qualitatives. Sont souvent graves dans leurs formes majeures et classées parmi les maladies rares **(Couque et al., 2016).**

L'objectif de notre travail consiste à rechercher certaines anomalies de l'hémoglobine les plus fréquentes dans la population de Ouled Yaich (BLIDA), après un dosage de l'hémoglobine glyquée sur des échantillons frais par la technique de HPLC au niveau du laboratoire d'analyses médicales du Dr BENHELAL, suivi d'une enquête génétique pour rechercher les hémoglobinopathies au sein d'une famille.

# *Synthèse Bibliographique*

### **I.1. Généralités sur le diabète :**

#### **I.1.1. Définition :**

Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (hormone régulatrice de la glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. S'il n'est pas maîtrisé à long terme, le déficit en insuline peut endommager de nombreux organes de l'organisme et entraîner des complications invalidantes et potentiellement mortelles comme les maladies cardiovasculaires, les lésions nerveuses (neuropathie), rénales (néphropathie) et oculaires induisant une rétinopathie, une perte visuelle et même la cécité (**Williams, 2019**).

#### **I.1.2. Classification :**

##### **I.1.2.1. Diabète De Type 1 :**

Le diabète de type 1 est un diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, il est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline. L'organisme produit alors très peu ou ne produit pas d'insuline (**Atkinson et al., 2014**).

Les connaissances sur le DT1 ont rapidement augmenté au cours des 25 dernières années, ce qui a permis de mieux comprendre sur de nombreux aspects de la maladie. Le développement du DT1 est initié par la présentation de peptides de cellules  $\beta$  par cellules présentatrices d'antigène (CPA). Ces derniers migrent vers les ganglions lymphatiques pancréatiques où ils interagissent avec les lymphocytes T (CD4+ et CD8+). Ces lymphocytes T activés retournent vers les îlots pancréatiques de Langerhans et conduisent à une destruction auto-immune des cellules  $\beta$ , donc le pancréas produit l'insuline de quantité insuffisante, qui entraîne une altération permanente du métabolisme du glucose (**Dimeglio et al., 2018**).

##### **I.1.2.2. Diabète De Type 2 :**

Le diabète de type 2 est un diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte, c'est la forme la plus répandue dans le monde et elle touche près de 90 % des diabétiques. Dans le cas du DT2, au départ les cellules sont moins sensibles à l'insuline, ce qui provoque l'hyperglycémie « insulino-résistance ». Lorsqu'il y a résistance à l'insuline, l'hormone est inefficace ce qui provoque une augmentation de la production d'insuline. Avec le temps, la production d'insuline devient anormale en raison de l'incapacité des cellules bêta du pancréas à répondre à la demande. Le DT2 se manifeste le plus souvent chez les personnes âgées, mais on l'observe de

plus en plus chez les enfants et les jeunes adultes en raison de l'augmentation des taux d'obésité, de l'inactivité physique et de la mauvaise alimentation (**Williams, 2019**).

### **I.1.2.3. Autres types de diabètes :**

#### ➤ **Diabète gestationnel :**

C'est une affection provisoire qui survient pendant la grossesse, se présente lorsque la glycémie est supérieure à la normale. Le diabète gestationnel s'accompagne d'un risque de macrosomie fœtale et de diverses complications obstétricales, il est également associé à un risque à long terme de développer un diabète de type 2 (**Williams, 2019**).

#### ➤ **Diabète secondaire :**

Peu fréquents, comprennent les affections génétiques, infections, affections du pancréas exocrine, endocrinopathies, causes médicamenteuses (**Vionnet et al., 2015**).

### **I.1.3. Diagnostic :**

Les critères diagnostiques du diabète et du pré-diabète ont été définis par l'ADA et l'OMS et indiquent que le diagnostic peut être établi si un ou plusieurs des critères suivants sont établis

- Une glycémie  $\geq 1,26\text{g/l}$  ( $7\text{ mmol/l}$ ) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises.
- La présence de symptômes de diabète sucré (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associés à une glycémie (sur plasma veineux)  $\geq 2\text{g/l}$  ( $11,1\text{mmol/l}$ ).
- Une glycémie (sur plasma veineux)  $\geq 2\text{g/l}$  ( $11,1\text{mmol/l}$ ) 2 heures après une charge orale de 75 grammes de glucose.
- Une glycémie aléatoire  $> 2\text{g/l}$  ( $11,1\text{mmol/l}$ ).
- Une hémoglobine glyquée (HbA1c)  $\geq 6,5\%$  ( $48\text{ mmol/mol}$ ) (**Camara, 2014**).

### **I.1.4. Surveillance :**

#### **I.1.4.1. Dosage de la glycémie :**

Le diagnostic du diabète repose sur la mesure de la glycémie (taux de sucre dans le sang). La glycémie regroupe plusieurs paramètres à savoir :

- La glycémie à jeun qui reflète une valeur de glycémie immédiate.
- La glycémie postprandiale : Mesurée deux heures après le petit-déjeuner, elle donne une idée de l'effet de ce repas sur l'équilibre glycémique (**Nau, 2003**).

### I.1.4.2. Dosage de l'hémoglobine glyquée :

Le dosage de l'hémoglobine glyquée constitue un outil intéressant dans la prise en charge des patients diabétiques, il offre une évaluation globale du niveau d'équilibre glycémique au cours des 8 à 12 dernières semaines (**Sepulchre et al., 2014**).

Les objectifs de ces sujets diabétiques se traduisent en objectifs d'hémoglobine glyquée :

- Lorsque l'HbA1c est < 6,5 % : l'objectif est optimal.
- Lorsque l'hba1c est < 8% sur deux contrôles successifs : l'équilibre est acceptable
- Lorsque l'HbA1c est > 8% sur deux contrôles successifs : l'équilibre glycémique est mauvais (**Pasteur cerba, 2007**).

L'hémoglobine glyquée peut être remplacée par le dosage des fructosamines lorsque :

- L'hémoglobine glyquée est ininterprétable (anémie hémolytique, hémoglobinopathie).
- Lors de l'évaluation à court terme d'un changement thérapeutique.
- Au cours de la grossesse (**Gillery, 2013**).

## I.2. Généralité sur l'hémoglobine :

### I.2.1. Histoire, Définition, Fonction :

Le terme hémoglobine, a été introduit pour la première fois en 1862 par le physiologiste Allemand « Hoppe-Seyler » pour désigner le pigment respiratoire du globule rouge porteur d'oxygène. Les hémoglobines humaines appartiennent à une famille de molécules très ancienne, apparue bien avant la vie aérobie dans l'évolution de l'espèce. Les premières molécules de cette famille remontent à plus de 1,8 milliard d'années (**Wajcman, 2006**)

L'hémoglobine (Hb) est une protéine contenue sous forme soluble au sein des globules rouges, avec une forte concentration intracellulaire d'environ 34 g/dL (**Couque et al., 2016**).

L'hémoglobine a trois fonctions : transporter l'oxygène aux tissus, transporter le CO<sub>2</sub> des tissus aux poumons, tamponner les protons H<sup>+</sup> libérés par les tissus. (**Baudin, 2016**)

### I.2.2. Structure :

L'hémoglobine est une métalloprotéine (protéine renfermant du fer) globulaire complexe formée de 4 sous-unités identiques 2 à 2 qui se distinguent en sous-unités de type  $\alpha$  et sous-unités de type non  $\alpha$ . Chaque sous-unité comporte une partie protéique, la globine et un groupement prosthétique, l'hème, (**Figure 1**) (**Wajcman, 2006**).

### I.2.2.1. La globine :

Les globines humaines sont des chaînes polypeptidiques synthétisées dans les érythroblastes et différenciées par leurs séquences. Elles sont constituées de deux types de chaînes : les chaînes de type alpha de 141 acides aminés et les chaînes non-alpha (bêta, gamma, delta...) constituées de 146 acides aminés (Godeau et Galactéros, 2003).

### I.2.2.2. L'hème :

L'hème résulte de l'association d'une partie organique, la porphyrine, et d'un atome de fer. Cet atome de fer est lié par 4 liaisons au noyau porphyrine, par une liaison à la chaîne de globine et la dernière liaison permet le transport d'une molécule d'oxygène (Wajcman, 2006).

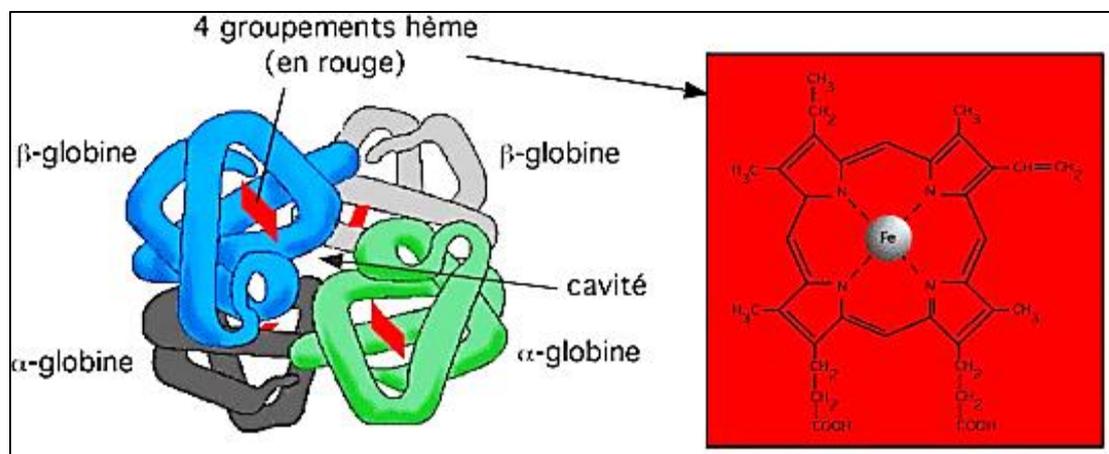


Figure 1. Structure de l'hémoglobine (Steinberg et al., 2009)

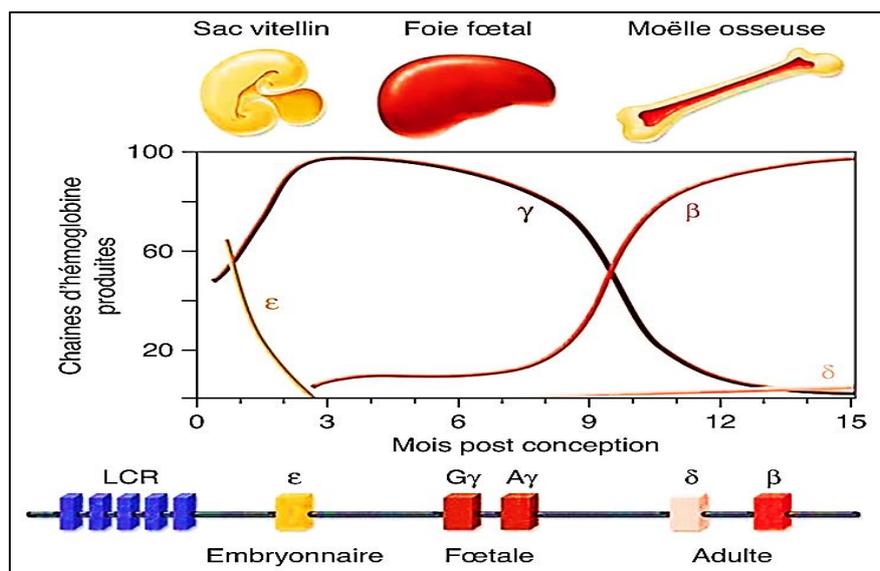
### I.2.3. Les différents types d'hémoglobine :

Au cours du développement humain, différentes chaînes de globines sont successivement synthétisées et leurs proportions relatives évoluent selon plusieurs étapes (Figure 2). Elles se distinguent par la nature des chaînes qui les constitue. Chaque deux chaînes  $\alpha$  se lient à deux chaînes non  $\alpha$  et permettent la production successive de diverses hémoglobines qui évoluent parallèlement au changement du lieu de l'érythropoïèse

**Chez l'embryon,** Trois hémoglobines sont présentes : l'hémoglobine Gower 1 ( $\zeta 2\varepsilon 2$ ), l'hémoglobine Gower 2 ( $\alpha 2\varepsilon 2$ ) et l'hémoglobine Portland 1 ( $\zeta 2\gamma 2$ ). Les chaînes  $\varepsilon$  et  $\zeta$  sont uniques à la vie embryonnaire, et la structure de la chaîne  $\zeta$  est très similaire à celle de la chaîne  $\alpha$ . L'expression du gène  $\varepsilon$  est remplacée par celle des gènes fœtaux  $\gamma$  à la fin du stade embryonnaire, tandis que l'expression du gène  $\zeta$  est remplacée par celle des gènes  $\alpha$ .

**Chez le fœtus,** À partir de la 5<sup>ème</sup> semaine de vie intra-utérine, l'hémoglobine F est détectable et sera la principale protéine hémoglobinique de la vie fœtale. Son taux atteint 90% entre la 8<sup>ème</sup> et la 10<sup>ème</sup> semaine, puis légèrement baisse jusqu'à la naissance où, il représente environ 80% de l'hémoglobine totale. Les chaînes  $\gamma$  sont remplacées par les chaînes du deuxième switch, qui se produit à la fin de la vie fœtale. La synthèse des chaînes  $\beta$  commence en effet très lentement dès le dernier trimestre de gestation. Ainsi, durant la vie fœtale, l'hémoglobine A représente 5 à 10 % de l'hémoglobine totale.

**Après la naissance,** la synthèse des chaînes  $\beta$  augmente rapidement et l'hémoglobine A prend une place prépondérante. À l'âge de 2 ans, le profil hémoglobinique de l'adulte est atteint et l'hémoglobine A représente alors plus de 95 % de la totalité des hémoglobines. Il existe également l'hémoglobine A2, dont le taux est environ de 2,5 % et qui est détectable dès le 3ème mois de naissance. Chez l'adulte sain, il est également possible de détecter des traces d'hémoglobine F (< 1 %) (Wajcman, 2006).



**Figure 2. Expression des gènes de globine au cours du développement ontogénique (Condom et al., 2022).**

#### I.2.4. Organisation génétique et régulation de l'expression des différentes hémoglobines :

Les différentes chaînes de globine sont codées par des gènes organisés de 5' en 3' selon leur ordre d'expression au cours du développement et localisés sur deux « clusters » (Figure 3) :

- **Le cluster alpha :** localisé sur le chromosome 16, comporte trois gènes fonctionnels : un gène embryonnaire  $\zeta$  et deux gènes exprimés dès la vie fœtale  $\alpha 2$  et  $\alpha 1$ . En amont de ces gènes, se situent 4 régions non codantes : le MCS-R1 à -R4 « Multispecies conserved

sequences » qui contrôleraient l'expression des gènes du cluster alpha. À l'heure actuelle, seul le MCS R2 (HS-40) a été démontré comme essentiel à l'expression des gènes  $\alpha$ .

- **Le cluster bêta** : localisé sur le chromosome 11, comporte 5 gènes fonctionnels : un gène embryonnaire  $\epsilon$ , deux gènes fœtaux  $G\gamma$  et  $A\gamma$  et deux gènes adultes  $\delta$  et  $\beta$ . En amont des gènes se situe le LCR « regulatory locus control region » jouant un rôle primordial dans le contrôle de l'expression des gènes de la famille  $\beta$  au cours du développement (Coque et al., 2016 ; De Montalembert et Couque, 2013).

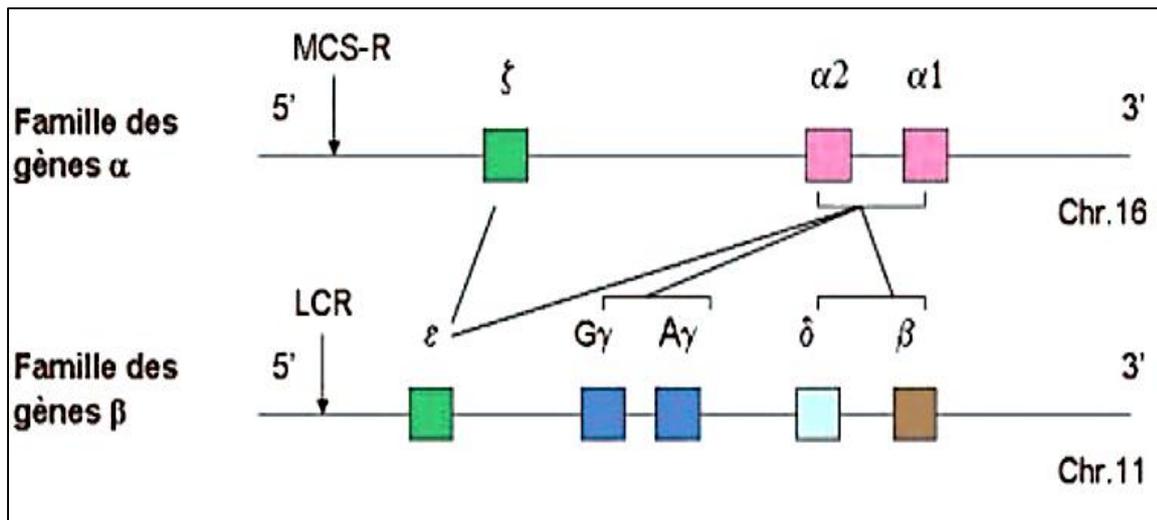


Figure 3. Organisation des gènes de globine (De Montalembert et Couque, 2013).

### I.3. L'hémoglobine glyquée :

#### I.3.1. Définition :

L'hémoglobine glyquée comprend l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par fixation non enzymatique d'oses (principalement de glucose) sur les fonctions aminées des protéines de l'hémoglobine. Elle est le reflet de l'équilibre glycémique des 120 jours (2 à 3 mois) précédents. La formation d'HbA1c dépend de la concentration de glucose circulant qui diffuse rapidement dans les hématies grâce au transporteur GLUT1. Elle augmente avec l'élévation chronique de la glycémie (Hay-Lombardie et Bigot-Corbel, 2018).

#### I.3.2. Différentes fractions glyquées de l'hémoglobine :

Une partie de l'Hb A se transforme en hémoglobine glyquée, dans le sang d'un adulte normal, qui est constitué par une cohorte d'érythrocytes jeunes, vieux ou d'âge intermédiaire, les différentes fractions de l'Hb sont réparties dans (tableau I) (Monnier et Collete, 2017).

**Tableau I. Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez un sujet non diabétique (Monnier et Collete, 2017).**

Hémoglobine	% de l'Hb totale	Structure
<b>HbA0</b>	≈ 90%	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\beta$ non glyquées.
<b>HbA1c</b>	≈ 4%	Glucose fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$ .
<b>HbA1 a1</b>	0.2%	Fructose -1.6- diphosphate fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$ .
<b>HbA1 a2</b>	0.2%	Glucose -6- phosphate fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé a situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$ .
<b>HbA1b</b>	0.5%	Acide pyruvique fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$ .
<b>Hb glyquées diverses</b>	1 à 1.5%	Hb glyquées sur différents acides aminés des chaîne $\alpha$ et $\beta$ de l'Hb A.
<b>HbA2</b>	2.5%	Deux chaînes protéiques $\alpha$ $\delta$ non glyquées
<b>Hb F</b>	0.5%	Deux chaîne $\alpha$ et $\gamma$ non glyquées

### I.3.3. Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée :

Il existe plus de 30 méthodes de dosage différentes pour la mesure de l'hémoglobine glyquée. Ces méthodes peuvent être classées en deux catégories, selon qu'elles se basent sur une modification de la charge ou une modification de la structure (Zendjabil, 2015).

#### I.3.3.1. Les méthodes basées sur la modification de la charge :

##### ➤ La chromatographie échangeuse d'ions :

Les techniques chromatographiques avec résine échangeuse de cations séparent les diverses fractions de l'hémoglobine donnant des pics correspondant à chaque fraction sur le chromatogramme. Les automates de HPLC ou chromatographie liquide à basse pression (BCLC) sont préférables aux mini-colonnes qui sont en voie de disparition car elles ne sont pas certifiées NGSP. Ces techniques ont l'avantage de mettre en évidence les variantes de l'hémoglobine. Le coût de ces automates reste relativement élevé (Zendjabil, 2015).

➤ **L'électrophorèse capillaire :**

L'électrophorèse capillaire est la seule technique électrophorétique commercialisée par les laboratoires Sebia®, elle présente l'avantage d'être automatisée, rapide, reproductible et quantitative avec des tracés simples à interpréter (Cotton et al., 2013).

**I.3.3.2. Les méthodes basées sur la modification de la structure :**

➤ **La chromatographie d'affinité :**

Est une technique de chromatographie qui permet d'isoler des protéines dans des solutions. Le principe est d'obtenir des protéines très pures et en grande quantité (Erwig et Herbig, 2015).

➤ **Les techniques immunologiques :**

Elles font appel à des anticorps dirigés contre l'extrémité N-terminale de la chaîne de la globine. Elles ont l'inconvénient d'être limitées par la nature de l'épitope reconnu (Zendjabil, 2015).

**I.3.4. Standardisation :**

Deux groupes de travail, l'un nommé NGSP basé aux Etats-Unis et le second l'IFCC.

Ont mis en place parallèlement une standardisation de la méthode de dosage de l'HbA1c. Le principal avantage du NGSP est de s'appuyer sur les travaux menés par le DCCT et UKPDS. Ceci a abouti à la coexistence de deux valeurs différentes pour l'HbA1c avec un ordre de grandeur comparable, mais des valeurs usuelles d'HbA1c de 1 à 2% plus basses avec la méthode IFCC par rapport à DCCT/NGSP. Ces différences ont suscité un vaste débat sur la façon dont le dosage de l'HbA1c doit être exprimé et dès lors, les sociétés internationales de diabétologie et l'IFCC ont pris les décisions suivantes au cours d'une conférence de consensus en décembre 2007 : toutes les méthodes de mesure d'HbA1c doivent être basées sur la méthode IFCC et exprimées en mmol/mol ou soit en unités dérivées (pourcentage d'Hb totale) par une conversion utilisant une équation directrice. La conversion des valeurs IFCC en valeurs DCCT/NGSP est réalisée avec l'équation IFCC suivante (Amemiya et Hoshino, 2013).

$$\text{NGSP (\%)} = 0,0915 (\text{IFCC mmol/mol}) + 2,15$$

#### I.4. Les hémoglobinopathies :

Les hémoglobinopathies sont des troubles au niveau de la production de l'hémoglobine. Elles font partie des maladies héréditaires monogéniques qui constituent un problème de santé publique dans de vastes parties du monde (**Couque et al., 2016**).

##### I.4.1. Classification :

Les hémoglobinopathies sont classiquement séparées en deux grandes catégories :

- Les variants de l'hémoglobine avec anomalie qualitative : synthèse en quantité normale d'une hémoglobine « anormale ».
- Les variants de l'hémoglobine avec anomalie quantitative : défaut quantitatif de production d'une hémoglobine normale, ce qui correspond à une thalassémie.

Quelques variants de l'Hémoglobine ont la particularité d'associer à la fois un défaut qualitatif et quantitatif (**De Montalembert et Coque, 2013**).

##### I.4.2. Les hémoglobines anormales :

Plus de 1 000 variants sont aujourd'hui répertoriés dans la banque de données HbVar, et seulement un tiers d'entre eux ont des conséquences cliniques. Trois hémoglobines anormales occupent une place prépondérante en raison de leur fréquence et leur caractère pathogène sont l'Hb S, l'Hb E et l'Hb C (**Pasteur cerba, 2007**).

###### I.4.2.1. La drépanocytose (Sickle cell disease) :

C'est une maladie génétique fréquente de transmission autosomique récessive, elle résulte d'une substitution d'un acide glutamique par la valine expliqué ultérieurement par une mutation au niveau de la chaîne bêta de l'hémoglobine sur le chromosome 11 par remplacement du 6<sup>ème</sup> codon GAG par GTG, induisant la synthèse d'une hémoglobine anormale : l'hémoglobine S (**Robert, 2003**).

Il existe plusieurs formes génétiques de la drépanocytose :

- La forme hétérozygote ou trait drépanocytaire qui est typiquement asymptomatique.
- Les syndromes drépanocytaires majeurs qui incluent la forme Homozygote (SS) la plus fréquente (> 70 % des syndromes drépanocytaires majeurs, SDM), et la forme Hétérozygotes composites la plus sévère par l'association de l'Hb S à d'autres hémoglobinopathies (Sβthalassémie, SC, SE...) (**Mattioni et al., 2016**).

Les porteurs du gène de la drépanocytose sont généralement asymptomatiques et vivent une vie normale, mais ils peuvent transmettre ce gène à leurs enfants. Lorsque les deux parents portent le gène de la drépanocytose, ils ont un risque de 25% d'avoir un enfant drépanocytaire et de 50% d'avoir un enfant porteur du gène à chaque grossesse (**Wajcman, 2004**).

#### **I.4.2.2. L'hémoglobine C :**

Couramment symbolisée Hb C, c'est une anomalie génétique autosomique qui touche principalement la population noire (Côte d'Ivoire, Ghana, Burkina Faso, Benin, Togo, Sud du Mali et rive ouest Niger), cette affection est due à une mutation ponctuelle sur le gène de la chaîne bêta de la globine, cela aboutit à la substitution en position 6 de la séquence d'acide aminé de la chaîne bêta de la globuline de l'acide glutamique par la lysine (**Nagara et al., 2009**)

#### **I.4.2.3. L'hémoglobine E :**

Ce variant de l'hémoglobine est fréquent en Asie, la mutation ponctuelle à l'origine de ce variant présente une double propriété : d'une part, elle est responsable d'une substitution faux sens touchant le codon 26 de la chaîne bêta et créant un mutant de surface ; d'autre part, elle crée un site cryptique d'épissage partiellement utilisé, qui dévie une partie de l'ARNm vers une maturation anormale aux dépens de la production d'ARNm normal (**De Montalembert et Coque, 2013**)

#### **I.4.2.4. L'hémoglobine O-Arab :**

L'Hb O-Arab est un mutant de la chaîne  $\beta$  où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une lysine, sa forme hétérozygote n'a aucune complication mais sa forme homozygote est peu symptomatique (**Bain, 2006**).

#### **I.4.2.5. L'hémoglobine D-Punjab :**

L'Hb D-Punjab est un mutant de la chaîne  $\beta$  où l'acide glutamique en position 121 est remplacé par une glutamine, sa forme hétérozygote est asymptomatique avec une présence d'hématies en cibles et une Hb D de 25% à 40%, et sa forme homozygote est caractérisée par, une anémie modérée, et une Hb D > 95 (**Bain, 2006**).

### I.4.3. Diagnostic biologique d'une anomalie de l'hémoglobine :

Plusieurs situations peuvent conduire à la recherche d'une anomalie de l'hémoglobine, dont :

- Les signes clinico-biologiques, le plus souvent une anémie (une pâleur, un ictère, une hépato-splénomégalie, une asthénie, un essoufflement), plus rarement une cyanose ou une polyglobulie (des céphalées, des acouphènes, des vertiges).
- La constatation d'éléments purement biologiques comme une hémolyse ou une microcytose.
- L'enquête familiale ou du dépistage systématique chez une personne appartenant à une ethnie dite « à risque » (Afrique sub-saharienne, Afrique du Nord, Bassin méditerranéen, Antilles, Asie, Moyen-Orient et Proche-Orient),
- Le contexte anesthésique, anténatal, pré-greffe...
- Le test de confirmation d'un dépistage néonatal (**De Montalembert et Coque, 2013**)

Selon la NABM, « un bilan standard pour la recherche d'une hémoglobine anormale » doit inclure 3 tests phénotypiques distincts, dont au moins une technique électrophorétique avec interprétation. Les techniques utilisées sont :

- Soit séparatives permettant de différencier les hémoglobines en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques (électrophorèse et chromatographie).
- Soit non séparatives, mais mettant en évidence des propriétés spécifiques : test Itano, recherche de corps de Heinz, test de précipitation à l'isopropanol, spectrophotométrie pour la méthémoglobine, courbe de dissociation de l'oxygène (**Wajcman et al., 2002**).

#### I.4.3.1. Les techniques séparatives :

##### ➤ **Electrophorèse capillaire :**

L'électrophorèse capillaire est une microtechnique décrite par Tiselius dans les années 1930. Destinée à l'analyse qualitative et quantitative de solutions complexes, à partir d'échantillons de très faible volume. Elle permet notamment une séparation rapide de molécules organiques de masse moléculaire et de structure très variées telles que les sucres, les lipides, les peptides et les protéines (**Le carrer et Bach-Ngohou, 2005**).

L'électrophorèse capillaire permet la séparation des variantes les plus courantes de l'hémoglobine et la quantification exacte et précise de l'Hb A 2, Hb F et d'autres fractions d'hémoglobine (**Cotton et al., 2013**).

➤ **La chromatographie liquide de haute performance :**

La chromatographie liquide de haute performance est une méthode particulièrement adaptée au dépistage des anomalies de l'hémoglobine. Les différentes hémoglobines sont séparées par un gradient de tampons de force ionique et de pH croissants. Cette technique automatisée permet une quantification précise de l'Hb A2, Hb F, Hb A, Hb S et Hb C notamment. Cependant, puisque certains variants de l'hémoglobine peuvent Co-éluer et certaines hémoglobines éluent avant la zone d'intégration des pics, cette technique ne peut être utilisée seule. Elle doit être couplée à une autre technique, par exemple électrophorétique, de manière à confronter les résultats obtenus par ces deux techniques différentes (Ou & Rognerud, 2001).

#### **I.4.4. Moyens thérapeutiques :**

Certaines formes d'hémoglobinopathies ne nécessitent aucun traitement. Pour les formes graves, les futurs parents peuvent avoir recours au conseil génétique et au dépistage prénatal afin d'estimer les risques encourus pour leurs enfants (Davies et Gilmore, 2003).

➤ **Le Conseil génétique :**

Le principal objectif du conseil génétique est de donner aux parents toutes les informations leur permettant de prendre des décisions éclairées sur leurs choix de vie reproductive et de recourir au diagnostic prénatal. Pour que les couples puissent avoir ce choix, le dépistage par une étude de l'hémoglobine doit être proposé systématiquement aux couples ayant des origines familiales dans les populations les plus concernées. La consultation de conseil génétique a lieu idéalement en binôme médecin et psychologue.

- ✓ Demande d'information génétique de la part de personnes porteuses d'un trait d'hémoglobinopathie. Tout dépistage d'un trait devrait déboucher sur une information génétique.
- ✓ Demande spontanée d'un couple : savoir s'il constitue un « couple à risque » avant la conception.
- ✓ Le couple est adressé en conseil génétique au moment d'une grossesse en vue d'un diagnostic prénatal. La grossesse est débutée, le risque d'hémoglobinopathie grave pour le fœtus est présomptif et fondé sur des analyses antérieures et les antécédents (Davies et Gilmore, 2003).

#### I.4.5. Mode de transmission des hémoglobinopathies :

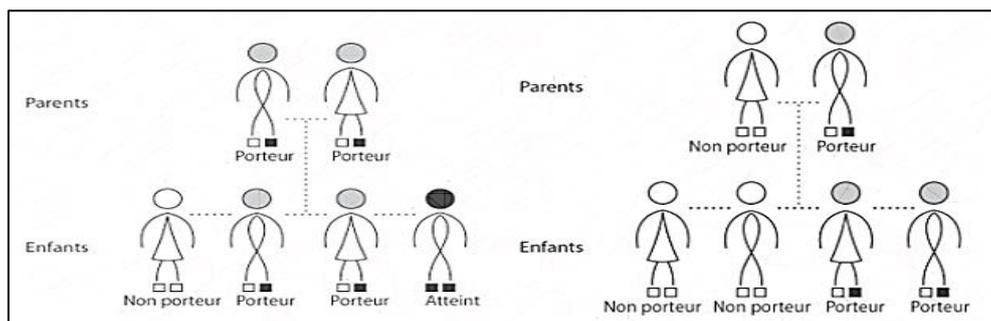
Les hémoglobinopathies sont des maladies héréditaires autosomiques récessives (**Figure 4**).

Si les deux parents sont porteurs d'un allèle associé à la maladie, à chaque grossesse, les probabilités sont de :

- 25 % d'avoir un enfant qui n'a ni la maladie ni porteur de l'allèle associé à la maladie.
- 50 % d'avoir un enfant porteur de l'allèle associé à la maladie.
- 25 % d'avoir un enfant atteint de la maladie.

Si un seul des deux parents est porteur, peu importe que ce soit la mère ou le père, à chaque grossesse, les probabilités sont de :

- 50 % d'avoir un enfant qui n'a ni la maladie ni porteur de l'allèle associé à la maladie.
- 50 % d'avoir un enfant porteur de l'allèle gène associé à la maladie (**Guide d'interprétation des résultats de porteurs de gènes d'hémoglobinopathies, 2018**).



**Figure 4. Transmission d'un allèle associé à une maladie récessive : à gauche lorsque les deux parents sont porteurs ; à droite lorsqu'un seul des deux parents est porteur (Guide d'interprétation des résultats de porteurs de gènes d'hémoglobinopathies, 2018).**

# *Matériel et Méthodes*

### II.1. Type, lieu et durée de l'étude :

Notre étude est réalisée au niveau de laboratoire d'analyses médicales Dr A. BENHELAL, situé à Ouled Yaïch de la commune de BLIDA durant une période de trois mois allant du 13 février au 25 mai 2023.

L'étude a porté sur 1796 patients des deux sexes, âgés de 3 à 94 ans, et qui se sont présentés pour le dosage d'hémoglobine glyquée dans le cadre du suivi de diabète et d'exploration des nouveaux cas.

### II.2. Matériels :

#### II.2.1. Matériels biologiques :

Le dosage est réalisé sur des échantillons de sang total, prélevé au niveau des veines en général au pli du coude sur des tubes contenant de l'EDTA, il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun.

Chaque patient est identifié par : nom, prénom, âge, sexe et numéro de référence, ainsi la date et l'heure de prélèvement.

#### II.2.2. Matériel non biologique :

C'est l'ensemble d'appareillages nécessaires à notre étude, à savoir :

- La chromatographie liquide à haute performance marque « bio-rad D-10™ Hemoglobin A1c »
- L'électrophorèse de l'hémoglobine marque « Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia) ».

### II.3. Méthodes :

#### II.3.1. Prélèvement et préparation de l'échantillon :

Les échantillons de sang veineux doivent être recueillis dans des tubes 5 ml sous vide contenant de l'EDTA.

Si l'échantillon se trouve dans un tube de taille ou de type anormal, ou si le tube contient moins de 2 ml d'échantillon, une prédilution est nécessaire avant de procéder à l'analyse.

#### II.3.2. Dosage de l'HbA1c et dépistage des anomalies de l'hémoglobine :

Les fractions de l'hémoglobine sont séparées au moyen de l'automate à Chromatographie liquide à haute performance de marque « bio-rad D-10™ hemoglobin A1c ».

### II.3.2.1. Chromatographe liquide à haute performance marque « bio-rad D-10™ Hemoglobin A1c » :

Le D-10 Hemoglobin A1c Program permet la séparation des analytes par chromatographie liquide à haute performance sur une colonne échangeuse d'ions, il pèse 35 kg et se compose de :

- Tampon d'éluion 1 : deux flacons de 2000 ml de tampon, pH= 6,0 ;
- Tampon d'éluion 2 : une bouteille avec 1000 ml de tampon, pH= 6,7 de lavage
- Solution de lavage/diluant
- Cartouche de test
- Disquette avec les paramètres des programmes D - 10 HbA1c
- Jeu de calibrateurs/diluant : trois flacons de calibrateur de niveau 1, trois flacons calibrateur de niveau 2 et flacon de diluant de calibrateur
- Papier thermique (**Annexe 2**).

Cet analyseur est un multiparamétrique pour le dosage des hémoglobines A1c, A2, F et le dépistage des variants de l'hémoglobine.

### II.3.2.2. Principe :

Le dosage effectué est totalement automatisé puisque l'appareil travaille directement sur tube primaire de sang total, suivi d'une dilution des échantillons et d'une analyse de trois minutes par échantillon, la solution diluée est injectée dans la colonne analytique.

Le D-10 envoie dans la colonne un gradient programmé de tampon de force ionique croissante, et les molécules d'hémoglobine sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la colonne.

Les molécules d'hémoglobine séparées traversent ensuite la cellule de mesure où les changements d'absorbance sont mesurés à 415 nm.

Le logiciel du système D-10 collecte les données brutes issues de chaque analyse et calcule les valeurs de l'HbA1c à l'aide d'une courbe d'étalonnage à deux niveaux.

Un compte-rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon (**Marzullo & Minery, 2008**).

### II.3.2.3. L'expression des résultats des profils chromatographiques :

Le résultat est exprimé sous la forme d'une courbe représentant les différentes fractions de l'hémoglobines en pics et les valeurs de mesure sont exprimés par les deux unités : NGSP (%) et IFCC

(mmol/mol) pour chaque fraction d'hémoglobine. Pour assurer l'acceptation des résultats obtenus, il est important de suivre ces conseils :

- L'étalonnage du système doit avoir été effectué.
- La surface totale de chaque analyse doit être comprise entre 1,0 million et 5,0 millions d'unités. Ne pas prendre en compte le résultat si la surface se trouve en dehors de cette plage.
- Les pics A1c et A0 doivent être correctement identifiés.
- Les valeurs du contrôle qualité doivent être comprises dans la plage indiquée (**Tableau II**).
- À la fin de diagnostic, les résultats doivent être interprétés à la lumière des antécédents et des résultats cliniques du patient (**Guide D-10 hemoglobin A1c program, 2018**).

**Tableau II. La plage indiquée pour l'HbA1c selon les unités de valeurs internationales (Guide D-10 hemoglobin A1c program, 2018).**

	Plage indiquée
Valeur NGSP d'HbA1c en %	3,9-18,8
Valeur IFCC d'HbA1c en mmol/mol	19- 182

### II.3.3. L'électrophorèse de l'hémoglobine :

Les échantillons de patients présentant des variants de l'hémoglobine seront confirmés par l'analyseur « capillarys 2 Flex piercing » (**Annexe 3**).

#### II.3.3.1. Principe :

Le capillarys® est un analyseur dont le principe est l'électrophorèse capillaire de zone en veine liquide. Réalisée dans un tampon de pH = 10, sous un voltage élevé de 7000 volts, la migration est contrôlée par effet Peltier à 35,5 °c. la migration s'effectue en parallèle dans huit tubes capillaires de silice fondue (diamètre : 25 µm, longueur : 18 cm) protégés par une gaine en aluminium. Le système optique est constitué d'une lampe au deutérium. L'alimentation des échantillons se fait en continu, avec identification des tubes primaires par un code à barre intégré.

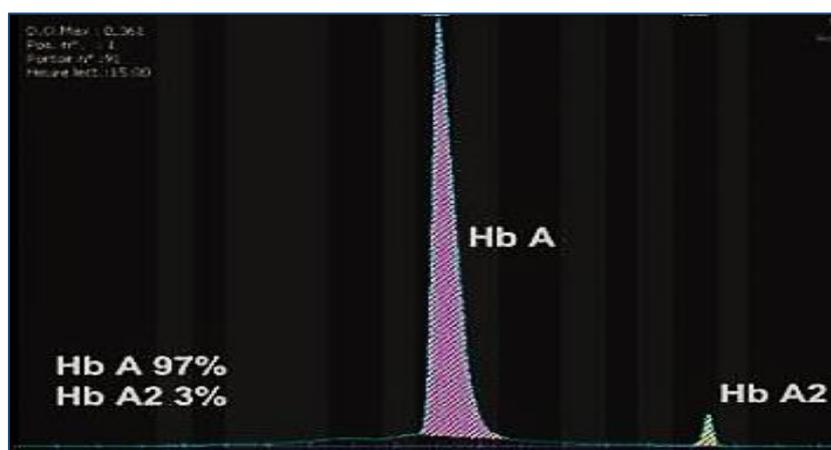
Les fractions séparées de l'hémoglobine sont détectées directement au niveau d'une cellule sur le capillaire par spectrophotométrie d'absorbance à 415nm.

Le pilotage de l'automate s'effectue grâce à un logiciel multitâche sous Windows qui permet le traitement des résultats et l'identification des fractions, et les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies. La cadence de l'automate est de 80 tests/heure, le tracé apparaissant sur l'écran une dizaine de minutes après l'introduction de l'échantillon® (**Le carrer et Bach-Ngohou, 2005**).

L'électrophorèse de l'hémoglobine s'effectue sur un prélèvement de sang réalisé sur tube EDTA (**Jeanne, 2010**)

### II.3.3.2. L'expression des résultats des profils électrophorétiques :

Le profil électrophorétique normal du sujet, à l'âge adulte, montre la présence d'une majorité d'Hb A et d'une faible proportion d'Hb A2, et parfois d'une faible fraction d'Hb F en pourcentage inférieur à 1% (**figure 6**) (**Guide capillarys 2 Flex Piercing, 2014**).



**Figure 5. Profil électrophorétique de sang normal (Jeanne, 2010).**

### II.3.4. Enquête génétique :

L'enquête génétique est menée sur une seule famille qui porte l'anomalie de l'hémoglobine, sur trois générations successives.

L'enquête a pour objectif de :

- Établir l'arbre généalogique.
- Confirmer le mode de transmission de l'anomalie de l'hémoglobine par rapport à cette famille.

### II.3.5. Etudes statistiques :

Sur le plan statistique, les calculs, histogrammes et secteurs utilisés ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel 2016 pour faciliter l'interprétation des résultats

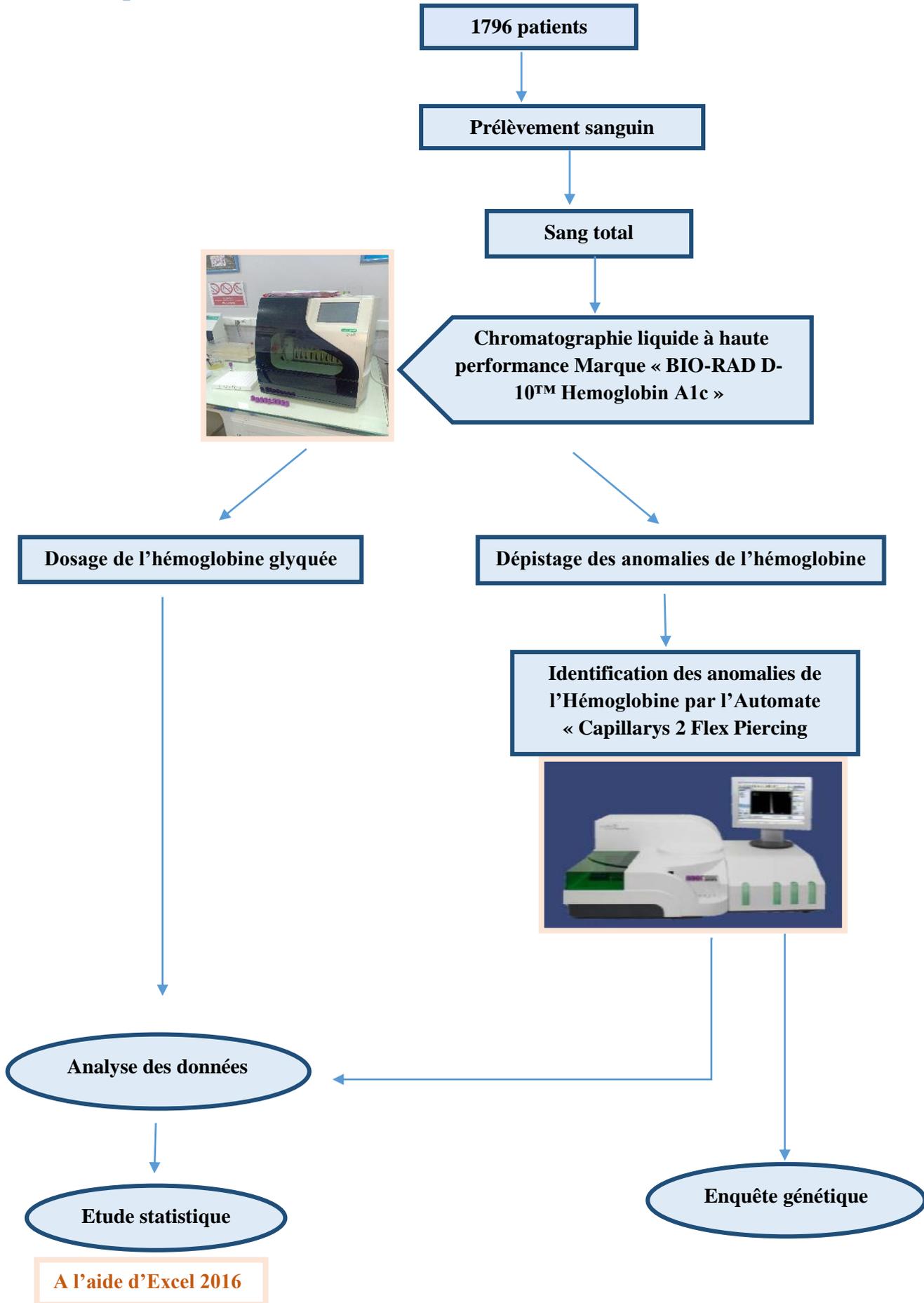


Figure 6. Schéma récapitulatif de la démarche expérimentale

## *Résultats et Discussion*

**III.1. Caractéristiques de la population étudiée :**

Ce travail a été mené sur une population de 1796 patients âgés de 3 à 94 ans qui ont été soumis à un dosage de l'hémoglobine glyquée par la technique de HPLC, dans le cadre du suivi de diabète et de l'exploration des nouveaux cas.

La distribution des patients en fonction du sexe et de l'âge est rapportée dans le tableau ci-dessous.

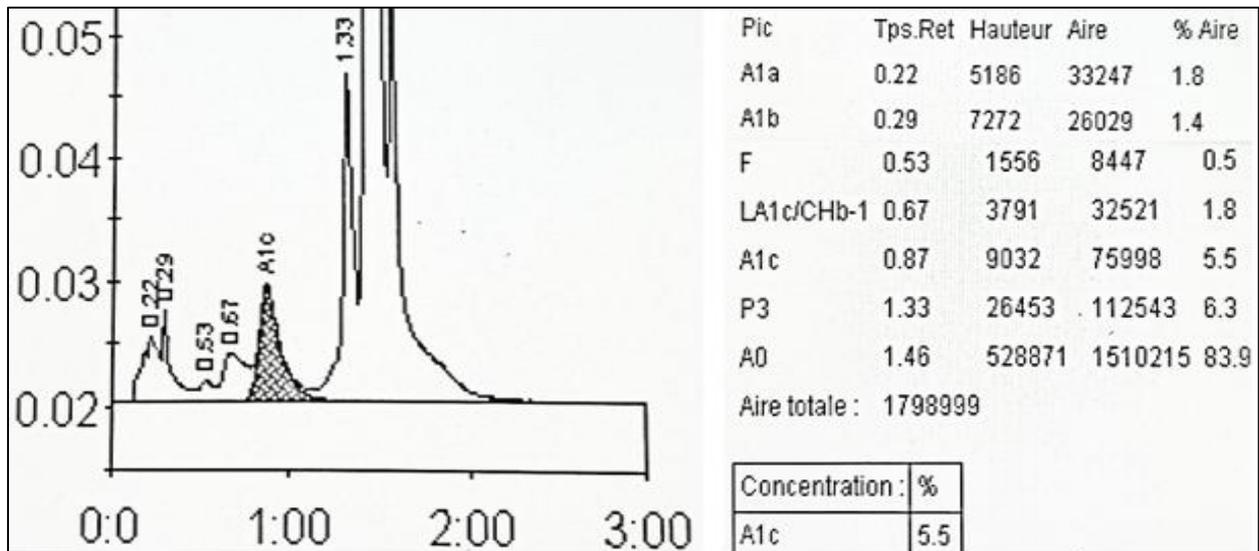
**Tableau III. Répartition des patients en fonction du sexe et de l'âge.**

Tranche d'âge (ans)	Masculin		Féminin	
	Nombre	(%)	Nombre	(%)
[0-10[	6	1	8	1
[10-20[	8	1	20	2
[20-30[	16	2	58	5
[30-40[	50	7	90	8
[40-50[	120	17	169	15
[50-60[	153	22	260	23
[60-70[	179	26	296	27
[70-80[	128	19	156	14
[80-90[	27	4	45	4
[90-100[	2	1	5	1
<b>Total</b>	<b>689</b>	<b>38</b>	<b>1107</b>	<b>62</b>

Il en ressort que la tranche d'âge qui prédomine la population étudiée varie entre 60 et 70 ans, et la majorité sont des femmes avec un pourcentage de 62%. En effet, plusieurs études ont révélé que les femmes sont le sexe dominant dans la population atteinte de diabète. Selon **Druet et al, (2013)** pour une étude réalisée en France, l'âge moyen des personnes diabétiques était de 65 ans et la population diabétique était majoritairement féminine.

III.2. Résultats du dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) :

Le profil chromatographique (courbe) et les taux de chaque fraction de l'hémoglobine (Tps.Ret et %Aire) obtenus au moyen de l'analyseur par HPLC de l'échantillon de sang sont rapportés dans la figure ci-dessous.



Le Tps.Ret représente le temps de rétention en minute pour chaque fraction à éluer alors que l'Aire% Représente le pourcentage d'hémoglobine dans le pic d'élution.

**Figure 7. Profil chromatographique d'une hémoglobine normal (A/A) obtenus par chromatographie liquide à haute performance (photo originale).**

Chez un sujet normal, sept (7) fractions d'hémoglobine sont identifiées dans l'ordre de leur élution : HbA1a, HbA1b, Hb F, LA1c/CHb-1, HbA1c, P3, HbA0 ; alors que chez le sujet porteur de variant, il apparait sur le chromatogramme un pic retardé avec un temps de rétention supérieur à celui de l'HbA0.

Les différentes fractions de l'hémoglobine obtenues chez le sujet normal sont définies comme suit :

- **HbA1a** : composé de sous fractions A1a1 et A1a2 résultent respectivement de la liaison de fructose-1,6-diphosphate et de glucose-6-phosphate sur la valine N-terminale des chaînes bêta de l'hémoglobine (Cosson et al., 1997).
- **HbA1b** : c'est le pyruvate qui est fixé à l'extrémité N-terminale des chaînes β de globine (Cosson et al., 1997).

- **LA1c/CHb-1** : est une hémoglobine glyquée labile, elle est formée par la liaison instable d'un glucose à la valine N-terminale de l'une ou des deux chaînes globine de l'Hb. Sa concentration est  $\leq 6$  %. (**Guide D-10 hemoglobin A1c program, 2018**).

- **Hb F** : C'est une Hémoglobine fœtale, constitué de deux chaînes  $\alpha$  et  $\gamma$  non glyquées. Sa concentration est  $\leq 10$  % (**Monnier et Colette, 2017 ; Guide D-10 hemoglobin a1c program, 2018**).

- **HbA1c** : C'est la forme majoritaire d'hémoglobine glyquée résultant de la fixation non enzymatique de glucose sur l'extrémité N-terminale des chaînes de globine. Les valeurs de référence sont : 20 à 42 mmol/mol Hb (IFCC) ou 4 – 6 % de l'Hb totale (NGSP). (**Gillery et al., 2011, Biomnis, 2012**).

- **P3** : l'un des composants mineurs de l'hémoglobine A. Sa concentration est  $\leq 10$  % (**Guide D-10 hemoglobin a1c program, 2018**).

- **HbA0** : C'est un Composant majeur de HbA, comprend des formes non glyquées et des formes glyquées ailleurs que sur l'extrémité N-terminale des chaînes  $\beta$  leur pourcentage normale est  $\approx 90$  % de l'Hb totale (**Gillery, 2002 ; Monnier et Colette, 2017**).

Sur la base des résultats de l'HPLC, particulièrement le taux de l'HbA1c, la distribution des patients est rapportée en fonction des trois tranches définies dans le tableau ci-dessous.

**Tableau IV. Répartition des patients en fonction des tranches de taux de l'HbA1c :**

HbA1c (%)	Nombre de patients	Pourcentage (%)
HbA1c $\leq 6,5$	892	49
HbA1c 6,6-8	498	28
HbA1c $> 8$	406	23

Taux d'HbA1c  $\leq 6,5$  : normal ; taux d'HbA1c 6,6-8 : équilibre moyen et taux d'HbA1c  $> 8$  : équilibre mauvais.

- **La première tranche** : représente 49% des patients (892) qui ont une valeur de l'HbA1c dans les normes, inférieure ou égale à 6,5%, qui représente la frange de patients qui sont non diabétiques et diabétiques qui ont suivi leur traitement avec une bonne hygiène de vie.
- **La deuxième tranche** : représente 28% des patients (498) qui ont une valeur d'HbA1c moyennement équilibrée, qui se situe entre 6.6% et 8%. Selon **Pasteur cerba, (2007)**, pour cette

tranche de patients, il peut être envisagée une modification de traitement, en fonction de l'appréciation par le clinicien du rapport avantages/inconvénients.

- **La troisième tranche :** représente 23% des patients (406) qui ont une valeur d'HbA1c mal équilibrée, supérieure à 8 %. Selon **Pasteur cerba, (2007)**, une modification du traitement est recommandée pour cette tranche de patients.

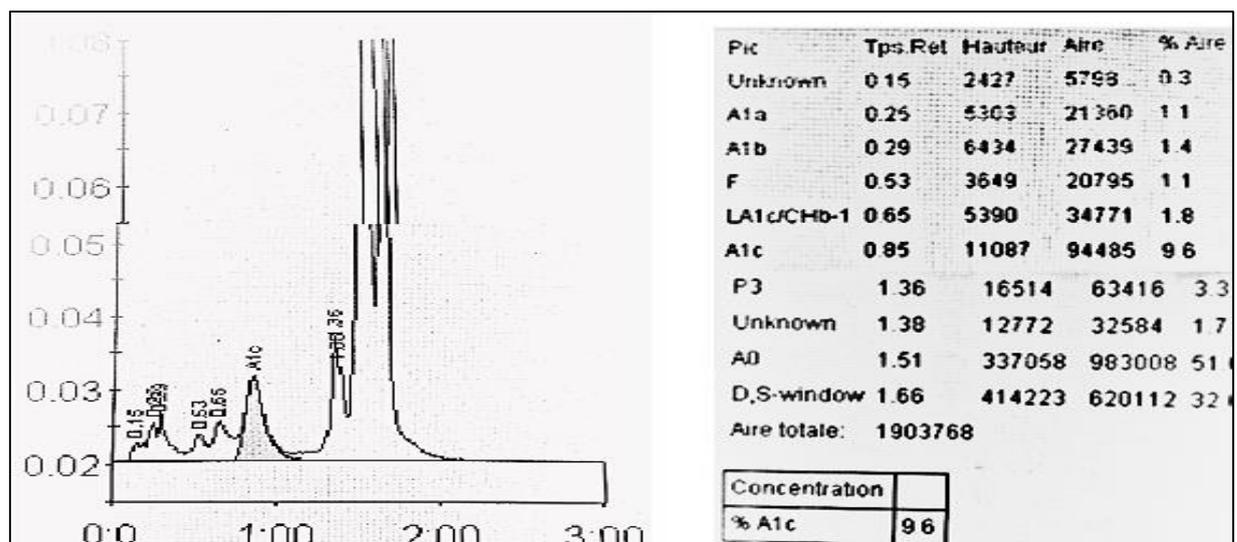
La moitié de la population étudiée (51%) présente ont un diabète hors normes. Selon **Koevi et al (2014)**, le non-respect des recommandations hygiéno-diététiques ou du traitement prescrit, le vieillissement, l'hypertension artérielle (HTA), la dyslipidémie, la surcharge pondérale et l'obésité sont les facteurs qui aggravent le diabète.

Le traitement des résultats de l'HPLC a permis de caractériser la présence de variants de l'hémoglobine chez trente (30) patients ; à savoir :

- 17 patients présentant un variant d'Hb S (**Figures 9 et 10**)
- 09 patients présentant un variant d'Hb C (**Figure 11**)
- 04 patients présentant un variant d'Hb E.

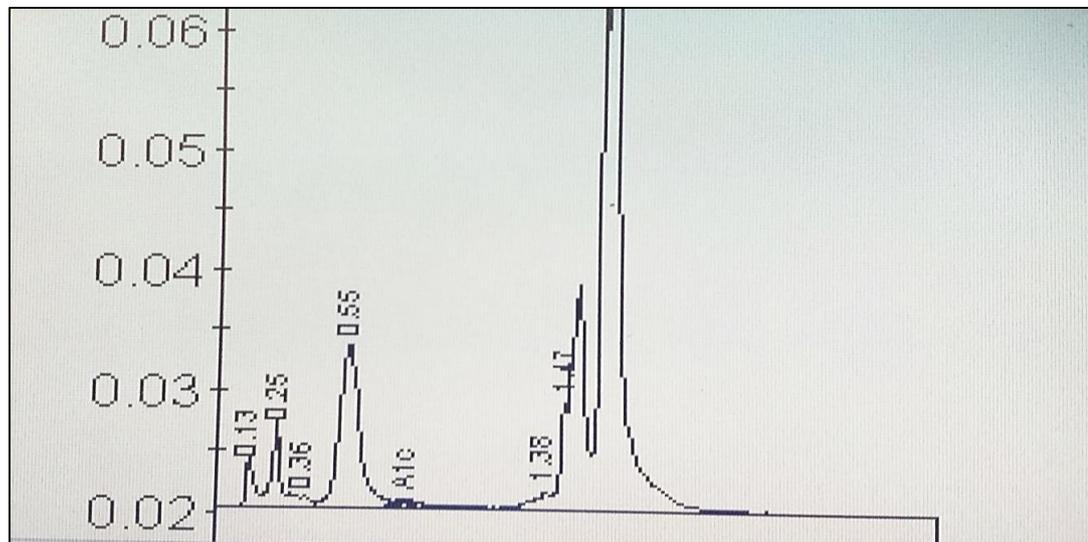
**L'hémoglobine S** résulte d'une substitution d'un acide glutamique par la valine au niveau de la chaîne bêta de l'hémoglobine sur le chromosome 11 (**Girot et Robert, 2003**).

- Profils chromatographiques de patient porteur d'Hb S :



**Figure 8. Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine S (photo originale).**

Le profil chromatographique de la figure 9 montre que l'aire de l'HbA0 est de 51% et celle de l'HbS est de 32%. Le temps de rétention est 1,51 min pour l'HbA0 et 1,66 pour l'HbS. L'interprétation de ce cas de figure nous permet de dire que c'est un cas d'hémoglobinoase hétérozygote (Hb A / Hb S).



**Figure 9 : Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine S (cas homozygote) (photo originale).**

Le profil chromatographique de la figure 10 montre l'absence totale de l'Hb A (les fractions d'HbA0 et Hb A1C sont absentes). L'appareil affiche uniquement le signal (en volts) émis par le détecteur et pas les pourcentages de chaque fraction. L'interprétation de ce cas de figure nous permet de dire que c'est un cas d'hémoglobinoase homozygote (Hb S / S).

En effet, selon les recommandations du guide de l'appareil **D-10 hemoglobin a1c program, (2018)**, lorsque les variants d'hémoglobine se présentent sous la forme homozygote, la valeur d'HbA1c ne peut pas être déterminée en raison de l'absence totale d'HbA.

Dans ce type de situation, le contrôle du diabétique doit se faire par d'autres paramètres tel que la fructosamine. Cette dernière n'est pas recommandée pour le dépistage du diabète, mais elle peut être utilisée dans la surveillance des patients diabétiques, en complément ou à la place de l'hémoglobine glyquée dans certaines situations, telles que les hémoglobinopathies (**Gillery, 2013**).

**L'hémoglobine C** est due à une substitution en position 6 de l'acide glutamique par la lysine au niveau de chaîne bêta de la globuline (**Nagara et al., 2009**).

- Profil chromatographique de patient porteurs d'Hb C :

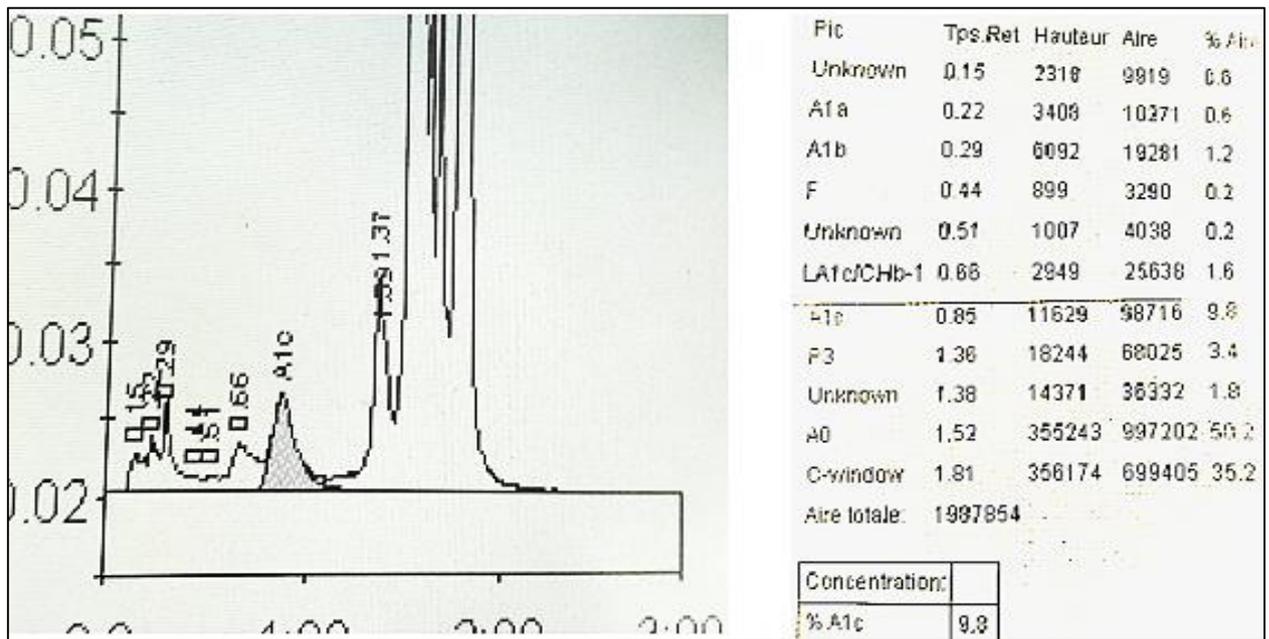


Figure 10 : Profil chromatographique d'un patient présentant un variant d'hémoglobine C (photo originale).

Le profil chromatographique de la figure 11 montre que l'aire de l'HbA0 est de 50.2% et celle de l'Hb C est de 35.2%. Le temps de rétention est 1,52 min pour l'HbA0 et 1,81 pour l'Hb C. L'interprétation de ce cas de figure nous permet de dire que c'est un cas d'hémoglobinose hétérozygote (Hb A / Hb C).

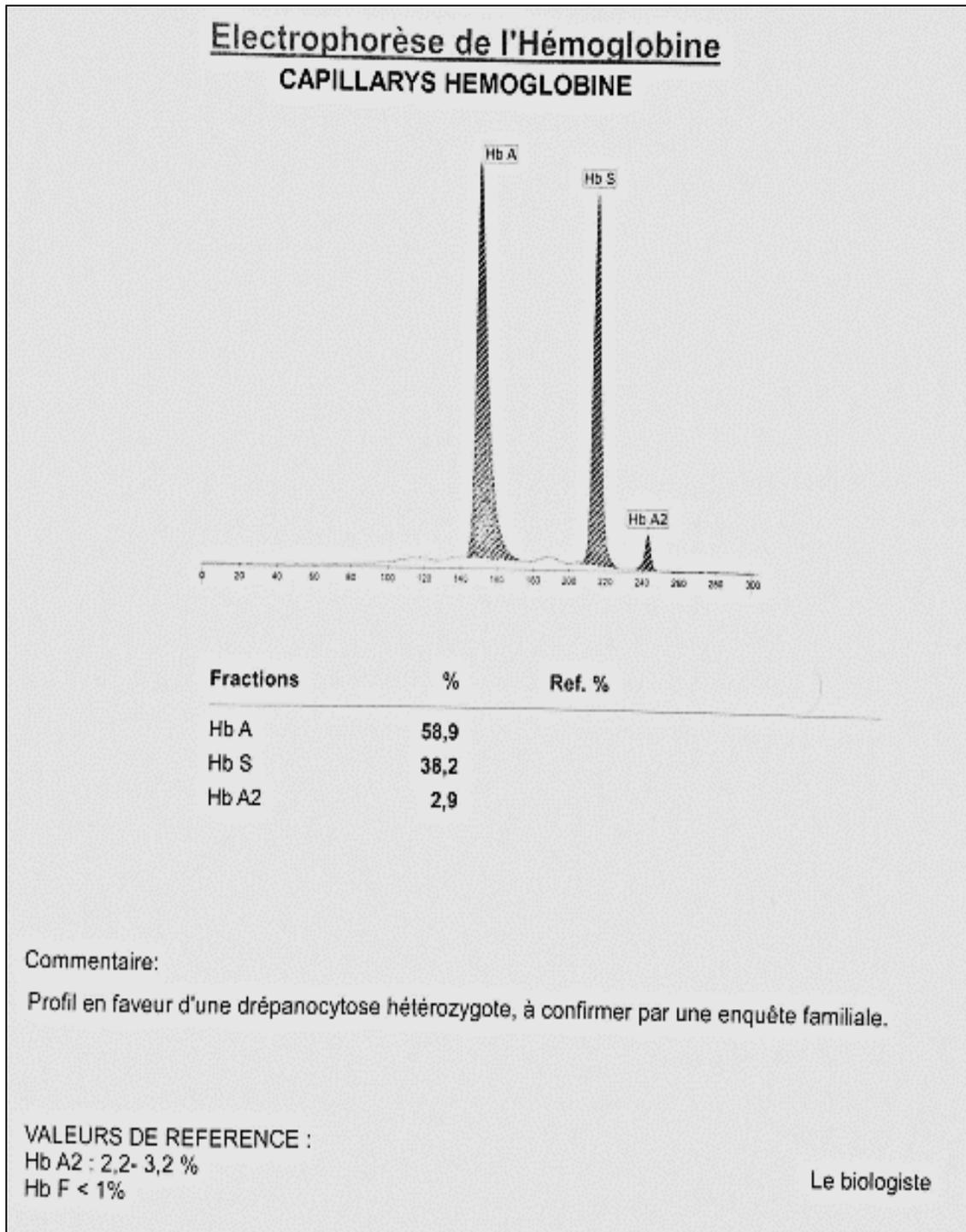
### III.3. Résultats de l'identification des variants de l'hémoglobine par électrophorèse de l'hémoglobine :

Les cas de variants de l'hémoglobine dépistés par HPLC sont confirmés par la technique d'électrophorèse de l'hémoglobine.

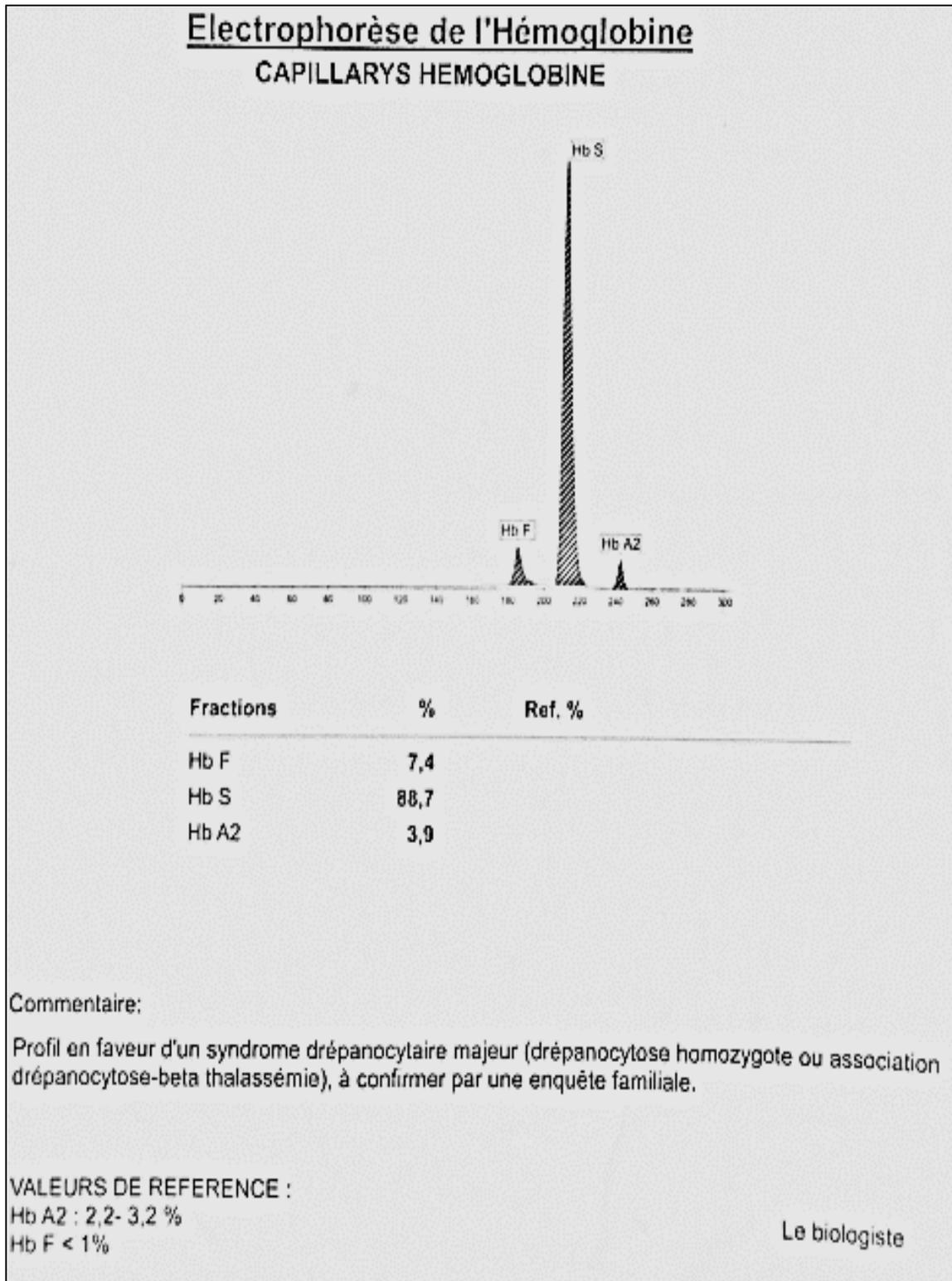
#### III.3.1. Lecture des résultats du profil électrophorétique des variants de l'hémoglobine :

Les principaux variants de l'hémoglobine présentent une charge électrique globale modifiée suite au remplacement d'un acide aminé par un autre, résultant lui-même d'une mutation, délétion ou insertion de nucléotides. Leur séparation des autres fractions de l'hémoglobine et leur identification sont rendues possibles par électrophorèse (Guide capillary 2 Flex Piercing, 2014).

- Profil électrophorétique de l'Hémoglobine S : L'Hb S, présente un point isoélectrique plus élevé que celui de l'Hb A. Elle migre entre les fractions d'Hb A et d'Hb A2.

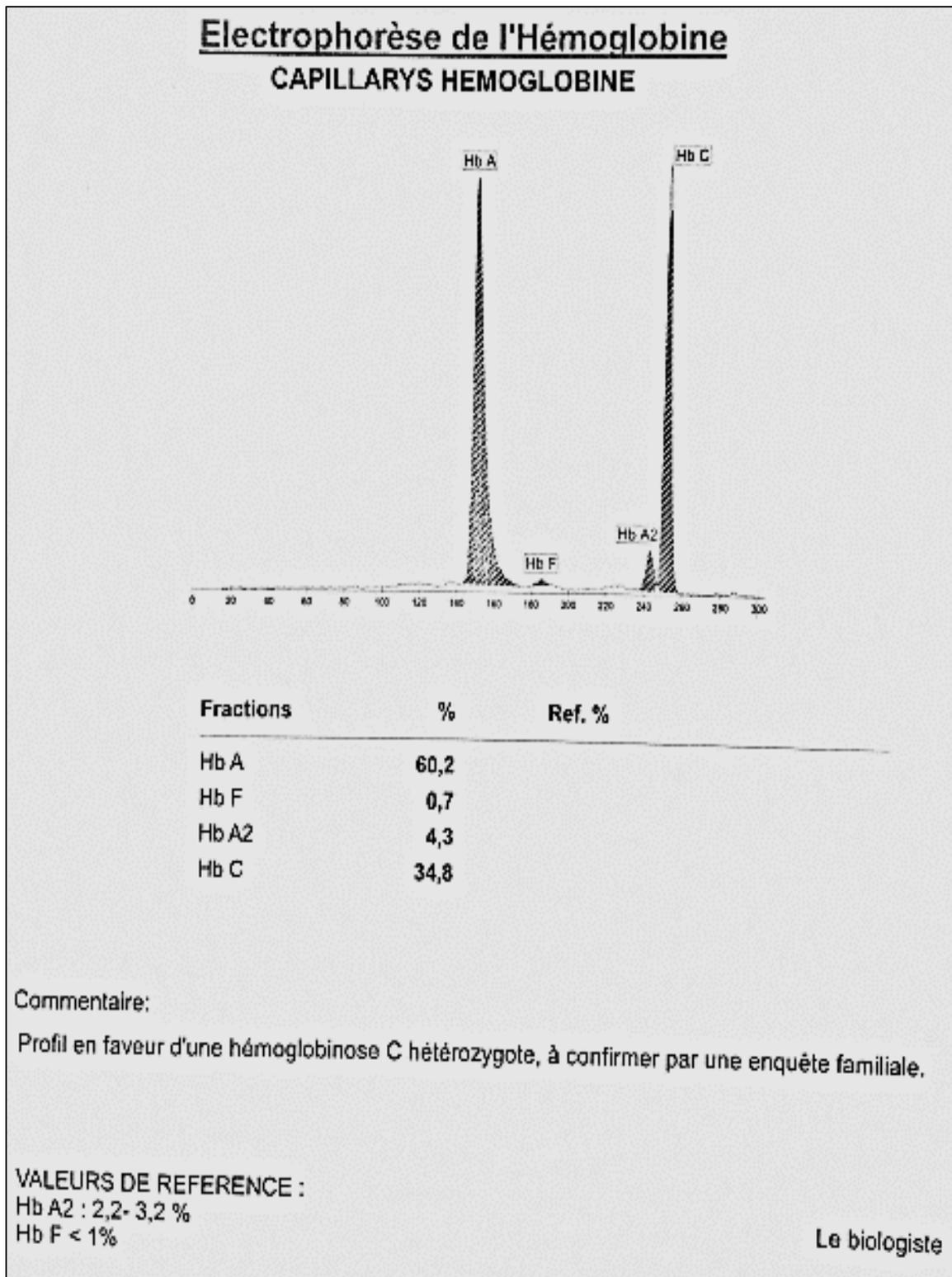


**Figure 11 : Profil électrophorétique d'une hémoglobine hétérozygote (A/S) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine (photo originale).**



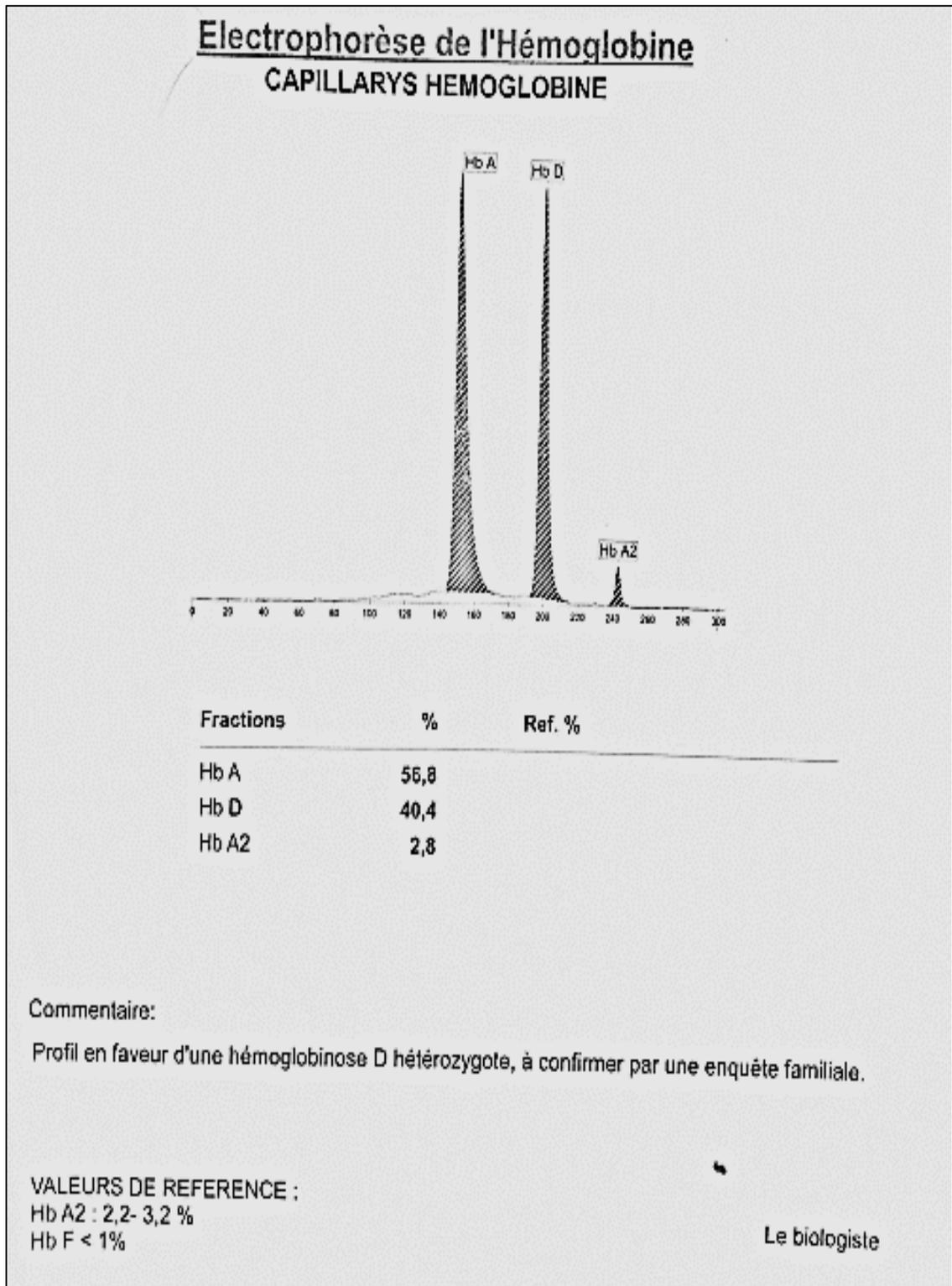
**Figure 12 : Profil électrophorétique d'une hémoglobine S homozygote (S/S) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine (photo originale).**

- **Profil électrophorétique de l'Hémoglobine C :** Le point isoélectrique de l'Hb C est encore plus augmenté que celui de l'Hb S. L'Hb C migre alors plus rapidement que l'Hb A et que l'Hb A2.



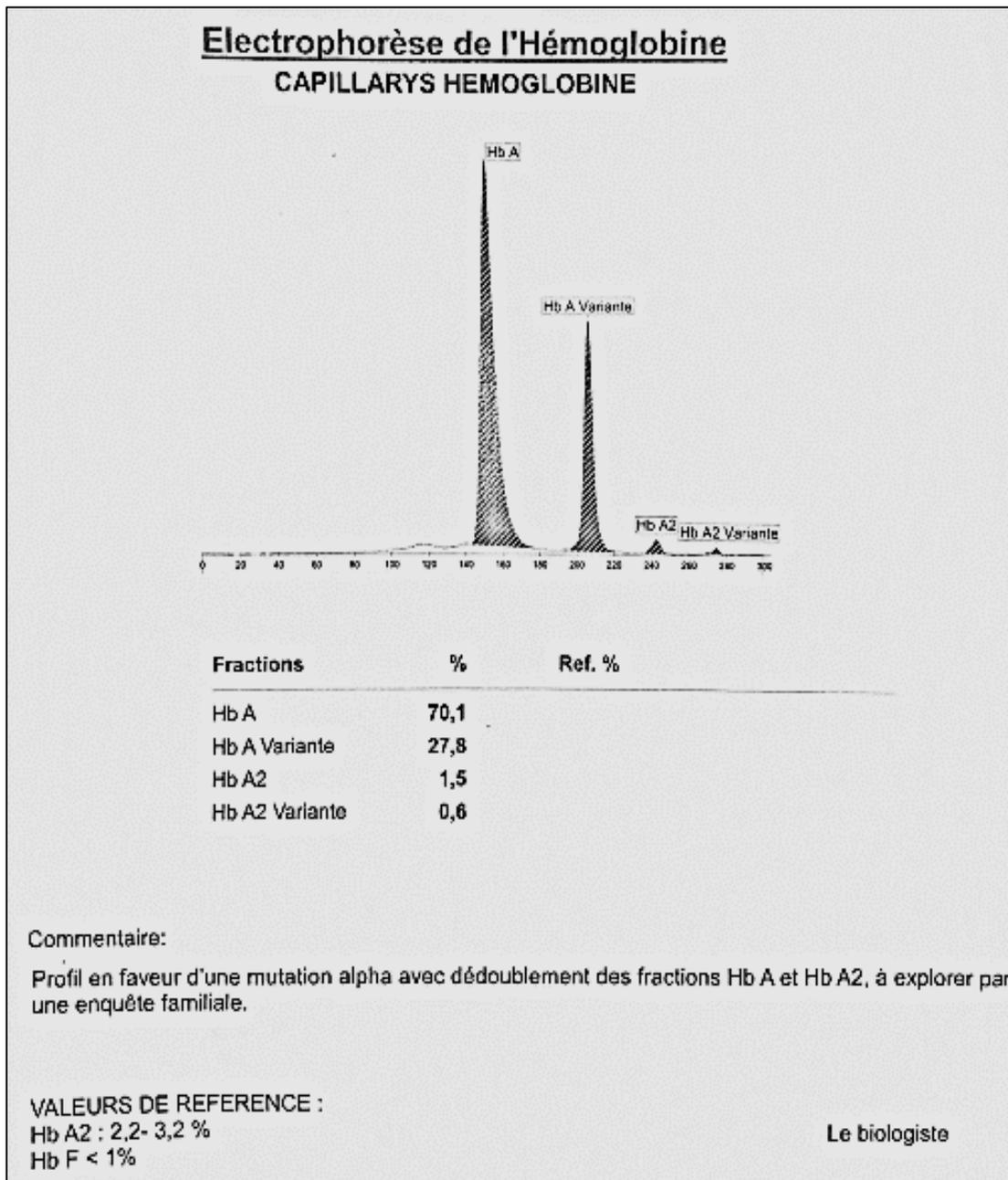
**Figure 13. Profil électrophorétique d'une hémoglobine C hétérozygote (A/C) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine (photo originale).**

- **Profil électrophorétique de l'Hémoglobine D** : L'Hb D migre en position anodique par rapport à l'Hb S en raison de la modification de charge électrique globale qui en résulte.



**Figure 14. Profil électrophorétique d'une hémoglobine D hétérozygote (A/D) obtenus par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine (photo originale).**

- Profil électrophorétique en faveur d'une mutation alpha avec dédoublement de l'Hb A et l'Hb A2 :** Dans le cas du patient n°1234, la HPLC a détecté un variant d'Hb S avec un pourcentage de 30%. Après une confirmation par électrophorèse de l'hémoglobine, nous avons trouvé que ce patient porte une mutation alpha avec dédoublement des fractions HbA et HbA2. Cela peut s'expliquer par le fait que l'électrophorèse capillaire est complémentaire aux méthodes chromatographiques, et sa capacité à quantifier les fractions mineures est plus précise à celle de la chromatographie (Baudin, 2016).



**Figure 15. Profil électrophorétique en faveur d'une mutation alpha avec dédoublement de l'Hb A et l'Hb A2 obtenu par électrophorèse capillaire de l'hémoglobine (photo originale).**

### III.3.2. Interprétation des résultats de l'électrophorèse de l'hémoglobine chez les patients ayant présentés des variants d'hémoglobine.

A l'électrophorèse d'hémoglobine, nous avons obtenu les résultats rapportés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau V. Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobine.**

Type de variant d'hémoglobine	Nombre de sujets	Nombre de sujets	
		Taux du variant d'hémoglobine < 50 %	Taux du variant d'hémoglobine ≥ 50 %
Hémoglobine S	16	15	1
Hémoglobine C	9	9	0
Hémoglobine D	4	4	0
Dédoublement des fractions d'Hb A et Hb A <sub>2</sub> (mutation Alpha)	1	1	0

Les résultats montrent la présence de :

- L'hémoglobine S chez 16 sujets dont 15 avec un taux <50% et 1 sujet avec un taux >50%.
- L'hémoglobine C chez 09 sujets avec un taux <50%.
- L'hémoglobine D chez 04 sujets avec un taux <50%.
- Le dédoublement des fractions d'Hb A et d'Hb A<sub>2</sub> chez 01 sujet porteur d'une mutation alpha.

Les résultats indiquent la présence à l'état hétérozygote de 29 sujets porteurs de variants d'hémoglobine à un taux <50% et à l'état homozygote d'un seul sujet porteur de variant d'hémoglobine à un taux > 50 % (**Guide D-10 hemoglobin A1c program, 2018**). Le pourcentage de l'hémoglobine S hétérozygote est le plus fréquent, par rapport aux autres hémoglobines anormales. Cela peut s'expliquer par le fait que l'Afrique est considérée comme l'un des foyers originels de la mutation drépanocytaire (**Diallo, 2008**).

La présence de **l'hémoglobine S** a été confirmée par la méthode d'électrophorèse de l'hémoglobine chez 16 des 17 sujets dépistés porteurs de fraction de l'Hb S par la méthode d'HPLC. A noter que pour un sujet (n°1234), la technique d'électrophorèse de l'hémoglobine a permis de mettre en évidence la présence d'un dédoublement des fractions HbA et HbA<sub>2</sub> (Cf. figure 15), ce qui indique que ce patient porte une mutation alpha.

**L'hémoglobine C** est la deuxième hémoglobine anormale découverte après l'hémoglobine S. Selon (Caluwé et al., 1993), « si le gène S est largement distribué sur le continent africain, le gène C a au contraire une aire de répartition beaucoup plus limitée », les gènes S et C sont présents parmi les populations noires.

La HPLC a dépisté quatre (4) sujets porteurs de variants de l'Hb E. Après confirmation par électrophorèse de l'hémoglobine, nous avons constaté que ces sujets étaient porteurs de l'Hb D et non de l'Hb E. Cela peut être dû au fait que l'électrophorèse capillaire s'avère être complémentaire des méthodes chromatographiques et que les séparations électrophorétiques sont effectuées dans une veine liquide, sans phase stationnaire, et dans un format miniaturisé ce qui réduit les interactions parasites et augmente l'efficacité de la quantification des fractions (Cottet, 2007).

**L'hémoglobine D** est retrouvée dans notre étude en nombre réduit (4 sujets à l'état hétérozygote), après l'Hb S et l'Hb C. D'après Srinivas et al (2010), l'hémoglobine D est un variant d'hémoglobine fréquent au nord de l'Inde, notamment au Pendjab, La présence de ce variant à l'état homozygote est encore plus rare, Les états homozygote et hétérozygote sont le plus souvent asymptomatiques.

### III.3.3. Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine :

La présente étude a permis d'identifier 30 sujets porteurs de variants de l'hémoglobine sur les 1796 patients qui se sont présentés pour le dosage de l'hémoglobine glyquée, soit un taux de 1,67%. Cette proportion est significative dans notre population.

Ce taux est légèrement inférieur à celui d'une étude similaire menée sur une population tunisienne réalisée par Bouzid et al (2014), qui a révélé que 2,3% des 9792 patients dépistés portaient l'anomalie.

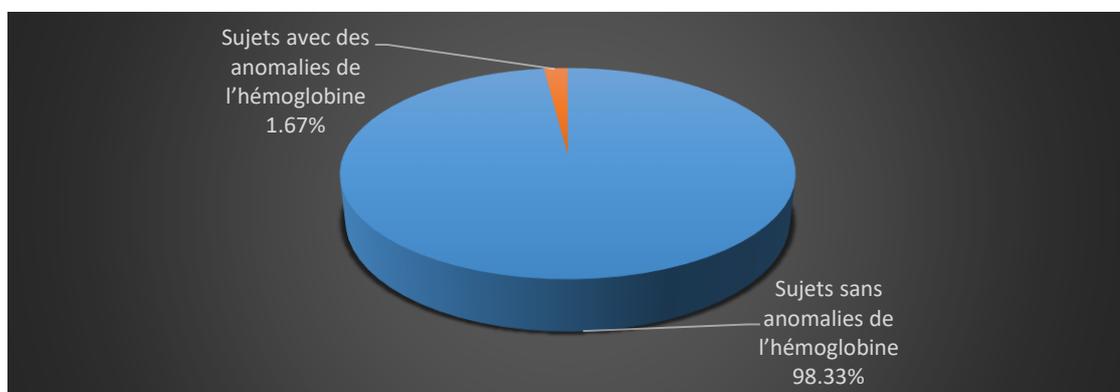


Figure 16. Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine

III.4. Enquête génétique chez une famille porteuse de l'Hb D :

L'électrophorèse d'hémoglobine réalisée dans la même famille d'un sujet porteur du variant d'Hb D a donné l'arbre généalogique rapporté dans la figure ci-dessous.

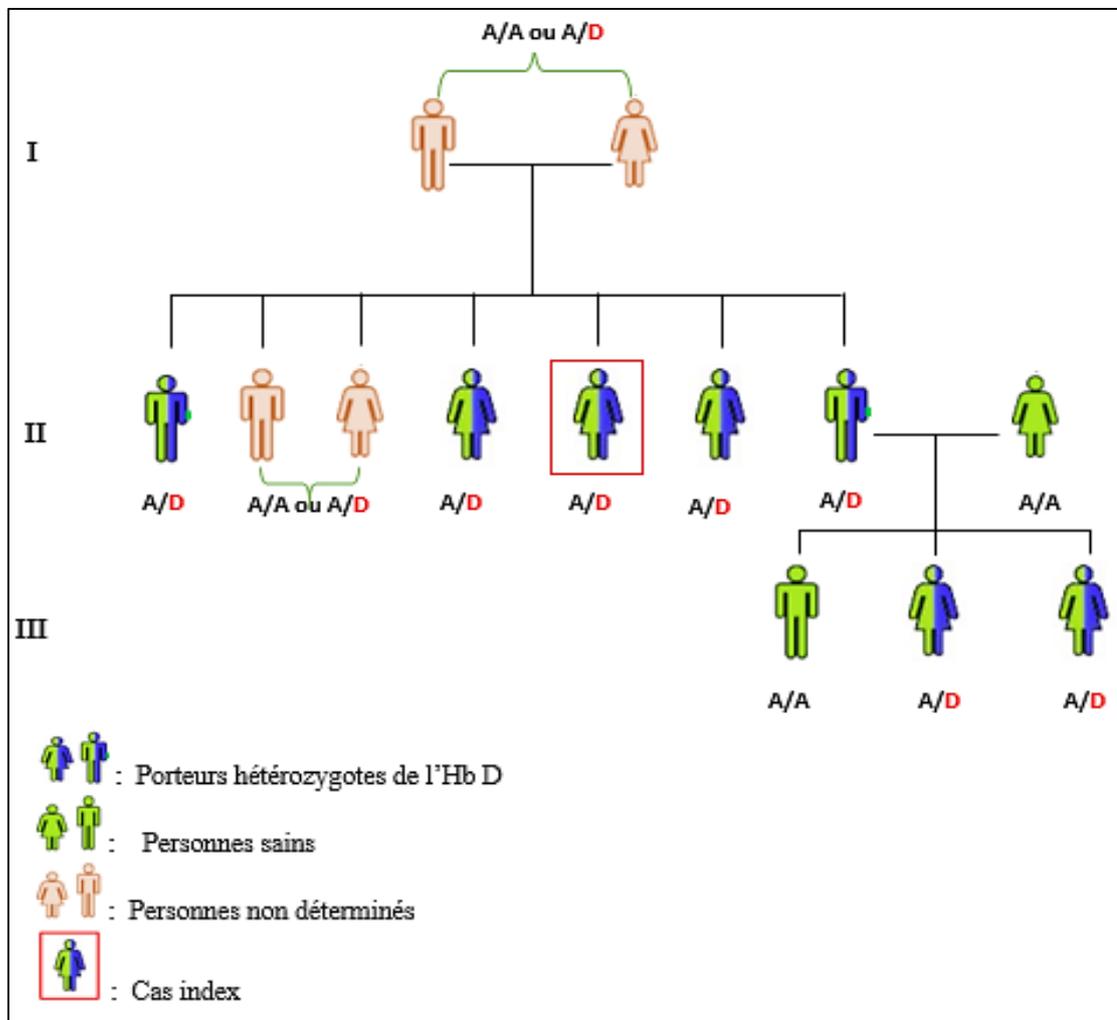


Figure 17 : Exemple d'arbre généalogique d'une famille Porteuse de l'hémoglobinose D.

Comme indiqué sur l'arbre généalogique familiale de trois générations successives, sept (07) personnes sont des porteurs hétérozygotes de l'hémoglobinose D (A/D). Et aucun membre d'eux n'est homozygotes (D/D)

• **Mode de transmission :**

Étant donné que Les hétérozygotes ne présentent pas de symptômes (non malades) et le gène de l'hémoglobine est localisé sur le chromosome 11 (autosome), ce qui suggère que les hémoglobinopathies sont transmises de manière héréditaire par un mode autosomique récessif.

# *Conclusion*

### Conclusion :

L'hémoglobine glyquée est utilisée comme référence pour surveiller l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques. Ce test permet de détecter des variations de l'hémoglobine.

D'après Mechti et al, la présence d'une hémoglobine anormale perturbe le processus de glycation, ce qui rend difficile l'interprétation des résultats.

La présente étude a porté sur 30 cas d'hémoglobinopathies qui ont été dépistées par HPLC, puis confirmées par électrophorèse de l'hémoglobine dans une population de 1796 sujets de la région de Blida. Elle nous a permis de démontrer que la proportion des hémoglobinopathies dans cette région est de 1,67% par rapport à la population étudiée. On a détecté l'existence de différents types d'anomalies d'hémoglobine. Nous avons révélé que l'hémoglobine S est l'anomalie la plus fréquente, puis l'hémoglobine C, puis l'hémoglobine D, et enfin l'hémoglobine alpha.

Les sujets présentant des formes hétérozygotes sont porteurs de la maladie et sont cliniquement asymptomatique, tandis que la drépanocytose homozygote présente des manifestations cliniques majeurs.

Parfois la présence du variant n'est pas clair ou impossible à détecter en raison de la technique, l'attention du biologiste doit être attirée par toute anomalie de forme et de temps d'éluion des pics en HPLC, et évidemment par un taux d'HbA1c trop bas ou, le plus souvent, trop élevé. Si la valeur de l'hémoglobine glyquée est inexacte, elle doit être remplacée par le dosage de la fructosamine dont la valeur ne dépend pas de l'état de l'hémoglobine.

L'intérêt de l'étude de ces pathologies consiste dans le dépistage précoce des porteurs des hémoglobinopathies dans le but d'optimiser la prise en charge des personnes atteintes des formes majeures et de prévenir la survenue des formes homozygotes graves.

En perspective, il serait intéressant d'effectuer un dépistage des hémoglobinopathies sur la population algérienne qui incluent des effectifs de patients plus importants afin d'augmenter la sensibilité de l'étude et de rechercher des cas familiaux pour pouvoir instaurer un conseil génétique dans le but d'éviter au maximum les formes majeures de cette maladie.

# *Références bibliographiques*

### Références bibliographiques :

1. Amemiya, Shin et Hoshino, Tadao. The worldwide standardization of hemoglobin A1c measurement : the current statement from the Japan Diabetes Society and the issues to be solved. *Rinsho byori. The Japanese Journal of Clinical Pathology*, 2013, vol. 61, no 7, p. 594-601.
2. ATKINSON, Mark A., EISENBARTH, George S., et MICHELS, Aaron W. Type 1 diabetes. *The Lancet*, 2014, vol. 383, no 9911, p. 69-82, doi:10.1016/s0140-6736(13)60591-7
3. Baudin, B. (2016). Les hémoglobines normales et pathologiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*, vol. 2016(481), P. 27–34. doi:10.1016/s1773-035x(16)30126-5.
4. Bain BJ. *Haemoglobinopathy diagnosis*. – 2nd edition. Oxford : Blackwell Publishing, 2006 ; 313 p.
5. Bouzid, Kahena, Ahmed, Habib B., Kalai, Eya, et al. Prevalence of hemoglobin variants in a diabetic population at high risk of hemoglobinopathies and optimization of HbA1c monitoring by incorporating HPLC in the laboratory workup. *Libyan Journal of Medicine*, 2014, vol. 9, no 1, p. 25768.
6. CALUWÉ, JP De, ALEXANDER, M., et BONDUE, H. Hemoglobine C ( $\alpha 2\beta 2$  6Glu $\rightarrow$  Lys) Etude De 19 Porteurs Heterozygotes Ac Et De 5 Cas De Double Hemoglobinopathy Sc. *Acta Clinica Belgica*, 1993, vol. 48, no 5, p. 297-306.
7. CAMARA, Alioune. Facteurs associés au mauvais contrôle glycémique dans une population de diabétiques de type 2 de l’Afrique Sub-saharienne. 2014. Thèse de doctorat en biologie et science de la santé. Université de Rennes. P 19.
8. Guide Capillarys 2 Flex Piercing (2014) : Capillarys hemoglobin(e) using the capillarys 2 flex piercing instrument. SEBIA INSTRUCTIONS -American.429 p.
9. COTTET, Hervé. Nouvelles méthodologies analytiques en électrophorèse capillaire. *L’actualité chimique*, 2007, vol. 314, no 4.
10. Cotton, F., Wolff, F., & Gulbis, B. (2013). Automated Capillary Electrophoresis in the Screening for Hemoglobinopathies. *Methods in Molecular Biology*, P. 227–235, doi :10.1007/978-1-62703-296-4\_16
11. Couque, N., Trawinski, E., & Elion, J. (2016). Génétique des maladies de l’hémoglobine. *Revue Francophone Des Laboratoires*, vol 2016(481), p 49–60. doi :10.1016/s1773-035x(16)30128-9 .
12. Davies, S. C., & Gilmore, A. (2003). The role of hydroxyurea in the management of sickle cell disease. *Blood Reviews*, 17(2), 99–109. doi:10.1016/s0268-960x(02)00074-7

13. DE Montalembert, M Et Couque, N. Diagnostic d'une hémoglobinopathie. Feuilles de Biologie, 2013, vol. 311, p. 5-18.
14. Diallo, D. A. (2008). La drépanocytose en Afrique : problématique, stratégies pour une amélioration de la survie et de la qualité de vie du drépanocytaire. Bulletin de l'Académie nationale de médecine, vol. 192, no. 7, P1361-1373.
15. DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C., & Oram, R. A. (2018). Type 1 diabetes. The Lancet, vol. 391, no. 10138, 2449–2462. doi:10.1016/s0140-6736(18)31320-5
16. DRUET, Céline, ROUDIER, Candice, ROMON, Isabelle, et al. Échantillon national témoin représentatif des personnes diabétiques, Entred 2007–2010. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire, 2012, vol. 8.
17. Pasteur cerba. Guide des analyses spécialisées 5ème édition 2007. Edition Elsevier Masson. Date de publication 11/2007, nombre de pages 1048.
18. Erwig, J., & Herbig, E. (2015). Des solutions propres : Eau pour la purification de glutathion-S-transferase (GST) par chromatographie d'affinité. La gazette du laboratoire, no. 215, P. 6.
19. Hay-Lombardie, A., & Bigot-Corbel, E. (2018). Biomarqueurs permettant le suivi de l'équilibre glycémique du patient diabétique. Revue Francophone Des Laboratoires, Vol. 2018(502), P. 33–43. doi :10.1016/s1773-035x(18)30146-1.
20. Godeau B, Galactéros F. Principales hémoglobinopathies. EMC – AKOS (Traité de Médecine) 2003. P. 1-6 (Article 4-0040).
21. Girot, Robert. La drépanocytose. 1<sup>ère</sup> édition, 2003. John Libbey Eurotext, 321 pages. ISBN : 2742004653, 9782742004652.
22. Guide d'interprétation des résultats de porteurs de gènes d'hémoglobinopathies, 2018. Gouvernement du Québec, 8-918- 16W.
23. Guide D-10 hemoglobin A1c program Bio-Rad. (2018). Instruction Manual.
24. GILLERY, Philippe. L'Hémoglobine A1c. BioTribune Magazine, 2002, vol. 2, no 1, p. 22-27.
25. GILLERY, P. Le dosage de l'hémoglobine A1c en 2013. Médecine des maladies Métaboliques, 2013, vol. 7, no 3, p. 256-261. doi :10.1016/s1957-2557(13)70564-9.
26. KOEVI, Kossi-Kuma Agbalebon, MILLOGO, Vinsoun, OUEDRAOGO, Macaire, et al. Diagnostic des causes de complication du diabète et des méthodes de prévention à Bobo-Dioulasso, au Burkina Faso. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2014, vol. 8, no 6, p. 2709-2720.
27. LE CARRER, Didier et BACH-NGOHOU, Kalyane. L'électrophorèse capillaire automatisée en biologie clinique. Spectra biologie, 2005, vol. 24, no 146, p. 47-52.

28. JEANNE, Lucile. Place de l'électrophorèse capillaire dans le diagnostic et le suivi des hémoglobinopathies. *Option/Bio*, 2010, vol. 21, no 434, p. 17-20.
29. Marzullo, Catherine & Minery, M. (2008). Evaluation of D10 (R) hemoglobin testing system for hemoglobin A(1C) assay. *Annales de biologie clinique*. Vol 66. P 95-9. Doi : 10.1684/abc.2008.0194.
30. Mattioni, S., Stojanovic, K. S., Girot, R., & Lionnet, F. (2016). La drépanocytose en France. *Revue Francophone Des Laboratoires*, vol. 2016. No. 481. P., 61–66. doi :10.1016/s1773-035x(16)30129-0
31. COLETTE, Cl et MONNIER, L. Discordance entre HbA1c et résultat de l'autosurveillance glycémique. In : *Diabétologie: 55 Démarches Cliniques en Pratique Médicale Courante*. Elsevier Masson, 2017. p. 79-93.
32. Nagara, M., Alba-Sauviat, C., Simeon, D., et al. L'hémoglobinose C homozygote : à propos d'un cas de découverte fortuite. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 2009, vol. 24, no 4, p. 210-216.
33. NAU, J. Y. Quand et comment dépister le diabète de type 2?(2). *Medecine et Hygiene*, 2003, p. 1884-1885.
34. Ou, C.-N., & Rognerud, C. L. (2001). Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs. HPLC. *Clinica Chimica Acta*, vol. 313, no. 1-2, pages 187–194 ; doi:10.1016/s0009-8981(01)00672-6.
35. Wajcman. Henri. Diagnostic et dépistage de la drépanocytose. *La revue du praticien*, 2004, Vol. 54, P. 1543.
36. Pauline Condom, Marie-Pierre Castex, Frédérique Dubois. Enjeu et difficulté du diagnostic des hémoglobinopathies chez le nouveau-né : à propos d'un cas. *Annales de Biologie Clinique*. 2022. Vol. 80(5). P. 455-459. doi:10.1684/abc.2022.1746.
37. Sacks DB. A1C versus glucose testing : à comparaison. *Diabetes Care*. 2011 Feb ; vol. 34, no. 2, no. 518-23. Doi : 10.2337/dc10-1546. PMID : 21270207 ; PMCID : PMC3024379.
38. Sepulchre, Edith, Lutteri, Laurence, Cavalier, Etienne, et al. A propos de l'hémoglobine glyquée : Les limites de son interpretation. *Revue Médicale de Liège*, 2014, vol. 69, no 9 P. 497-503
39. Srinivas U, Pati HP, Saxena R. Hemoglobin D-Punjab syndromes in India: a single center experience on cation-exchange high performance liquid chromatography. *Hematology*. 2010 Jun ; vol. 15, no. 3, P. 178-81. Doi : 10.1179/102453309X12583347113735. 4.

## Références bibliographiques

40. Steinberg P, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ. Disorders of Hemoglobin : Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. 2 ème Edition. Cambridge University Press Ed. 2009, 846 p.
41. Vionnet, A. Corcillo et Jornayvaz, François R. Classification du diabète : vers une hétérogénéité croissante. Rev Med Suisse, 2015, vol. 11, p. 1234-1237.
42. Wajcman, H., Riou, J., & Yapo, A. P. (2002). Globin chain analysis by reversed phase high performance liquid chromatography : recent developments. Hemoglobin. Vol. 26. No. 3, Pages 271-283.
43. Wajcman, H. (2006). Hémoglobines : structure et fonction. EMC - Hématologie, 1(1), P 1–9. doi :10.1016/s1155-1984(05)41605-2.
44. Williams, Rhys. L’atlas du diabète de la FID 9ème édition 2019. Edition Inís. Le diabète par région de la FID : Moyen–Orient et Afrique du Nord, 2019.163p.
45. Williams, T. N., & Weatherall, D. J. (2012). World Distribution, Population Genetics, and Health Burden of the Hemoglobinopathies. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, vol. 2, no. 9, a011692–a011692. doi :10.1101/cshperspect.a011692.
46. Zendjabil, M. (2015). L’hémoglobine glyquée : indication, interprétation et limites. Annales Pharmaceutiques Françaises, Elsevier Masson. Vol. 73, No. 5, pages 336-339, doi : 10.1016/j.pharma.2015.03

# *Annexes*

**Annexe 1. Matériel de prélèvement.**

- Coton, alcool, épicroâniennes, gants.
- Tubes de 5mL contenant l'anticoagulant EDTA., portoirs de tubes.
- Micropipettes réglables.
- Consommables : Embouts jaunes, bleus, lames, porte-objets.

**Annexe 2. Automate bio-rad D-10™ Hemoglobin A1c (photo originale).**



**Annexe 3. Automate Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia) (Jaisson et al, 2011).**

