

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Saad Dahlab de Blida 1
Faculté de Médecine – Département de Pharmacie



Comparaison de deux méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée
(HbA1c) par technique HPLC et technique immunoturbidimétrique

Thèse d'exercice de fin d'étude
Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie
Session: **Juillet 2019**

Présentée par: **Chicha Abdelghani & El Kebir Oussama**

Devant le jury:

Président:

- Pr. **ABDI S.** Professeur en Biochimie médicale - C.H.U. Frantz Fanon - Blida

Promoteur:

- Dr. **BENHELAL A.** DEMS en Biologie clinique

Examinatrices:

- Dr. **OUNAS S.** Praticien Spécialiste Chef en Biologie clinique – E.S.H Transplantation rénale -
C.H.U. Frantz Fanon - Blida

- Dr. **BENNOUAR S.** Maître-assistante en biochimie - C.H.U. Frantz Fanon - Blida

Résumé

L'hémoglobine glyquée (HbA1c) est le paramètre clé de l'enquête de contrôle de la glycémie chez les patients diabétiques. Son dosage est effectué par des techniques bien contrôlées, dont les avantages et les limites doivent être connus lors de l'interprétation des résultats en pratique clinique. Les tests HbA1c sont standardisés par rapport à une méthode de référence internationale, ce qui permet d'obtenir des résultats comparables d'une méthode et d'un laboratoire à l'autre. Notre étude visait à comparer deux méthodes de dosage de l'HbA1c, une méthode immunoturbidimétrique (sur automate Cobas-integra 400 plus) et méthode chromatographique (HPLC Bio-rad D-10 et Turbo Variant II).

Méthodes: 289 échantillons ont été prélevés chez les patients. L'analyse de HbA1c a été réalisée simultanément avec un test immunoturbidimétrique de première génération sur un Cobas-integra 400 plus (ROCHE) et en utilisant la chromatographie liquide à haute pression par échange ionique cationique (HPLC) sur un système Bio-rad D-10 et Turbo Variant II.

La comparaison des techniques montre une corrélation très significative avec un $r = 0.984$ et une équation de la régression linéaire HbA1c (turbidimétrie) = $0.06 + 0.94 \times \text{HbA1c (HPLC)}$. Les résultats obtenus pour la précision intra-séries sont très satisfaisants avec des CV compris entre 1,36 et 3,7 % (HPLC) et entre 0,37 et 2,89 % (turbidimétrie). La présence des variants hétérozygotes de l'hémoglobine pour les plus couramment rencontrés (HbS, HbC) n'entraîne pas d'impossibilité d'interpréter les résultats par aucune des deux techniques.

En conclusion, les deux méthodes fournissent des résultats avec un niveau conforme aux recommandations des établissements savants. L'ensemble des critères décisionnels pertinents pour le choix doit tenir compte des objectifs prioritaires du laboratoire et de son environnement.

Mots-clés : Diabète – Hémoglobine glyquée HbA1c – HPLC – Immunoturbidimétrie - corrélation.

Abstract

Glycated hemoglobin (HbA1c) is the key parameter of blood glucose level control for diabetic patients, its determination is performed by well-controlled techniques, whose advantages and limitations must be known when interpreting the results during the clinical practice. HbA1c tests are standardized against an international reference method, which allows to obtain comparable results of a method or a laboratory to another. Our study was aimed to compare two methods for the determination of HbA1c, immunoturbidimetric technic (on Cobas-integra 400 plus) and ionic exchange high-performance liquid chromatography (HPLC on a Bio-rad D-10 and Turbo Variant II System).

Methods: 289 samples were collected from the patients, The HbA1c determination was done simultaneously with a first generation immunoturbidimetric technic on Cobas-integra 400 plus (Roche) and using ionic exchange high-performance liquid chromatography (HPLC) on a Bio-rad D-10 and Turbo Variant II System.

Comparison of the two techniques shows a highly significant correlation with $r = 0.984$ and linear regression equation: $\text{HbA1c (turbidimétrie)} = 0.06 + 0.94 \times \text{HbA1c (HPLC)}$. Les résultats obtenus pour la précision intra-séries sont très satisfaisants avec des CV compris entre 1,36 et 3,7 % (HPLC) et entre 0,37 et 2,89 % (turbidimétrie). The results for both methods and the precision between the two tests were satisfactory. The presence of the commonly encountered hemoglobin heterozygous variants (HbS, HbC) does not create a problem while interpreting the results by any of the two techniques.

In conclusion, the two methods provide results with a level in conformity with the recommendations of the expert establishment. All the relevant decision criteria for choosing must consider the priorities of the laboratory and its environment.

Keywords: Diabetes - glycated Hemoglobin HbA1c - HPLC - Immunoturbidimétrie - correlation.

ملخص

الهيموغلوبين السكري HbA1c يمثل المعيار البيولوجي الرئيسي لمراقبة وتتبع نسبة السكر في الدم عند مرضى السكري. يتم حساب قيمه بفضل تقنيات مضبوطة بدقة، والتي يجب معرفة إيجابياتها وسلبياتها عند تحليل النتائج. إختبارات قياس نسبة الهيموغلوبين السكري موحدة ومضبوطة استنادا إلى تقنيات مرجعية عالمية. هذا ما يسمح بالحصول على نتائج مماثلة للنتائج المتحصل عليها بتقنيات أخرى وفي مخابر مختلفة. هذه الدراسة تهدف إلى مقارنة طريقتين لقياس الهيموغلوبين السكري HbA1c.

الطرق: 289 عينة دم أخذت من مرضى السكري، قياس الهيموغلوبين السكري HbA1c تم في نفس الوقت بتقنية القياس المناعي بالعاكارة (Immunoturbidimétrie) من الجيل الأول على جهاز (Cobas-integra 400 plus (Roche)، وتقنية الاستشراب السائلي عالي الأداء (HPLC) على جهاز Bio-rad D10 و Turbo Variant II.

مقارنة التقنيتين تبين وجود ارتباط كبير مع قيمة $r=0.984$ ، وتنتج معادلة الإنحدار الخطي كما يلي
$$\text{HbA1c (HPLC)} = 0.06 + 0.94 \times \text{HbA1c (turbidimétrie)}$$

النتائج التي تم الحصول عليها للدقة داخل السلسلة مرضية، مع معامل التفاضل بين 1.36% و 3.7% بتقنية الاستشراب، وبين 0.37% و 2.89% بتقنية قياس التعكر المناعي. وجود أنواع الهيموغلوبين مختلف الإقتران HbS و HbC لا تغير في طريقة تحليل النتائج لكلا التقنيتين.

كخلاصة، التقنيتين تسمحان بالحصول على نتائج بمستوى من الدقة يتوافق مع إرشادات المؤسسات الخبيرة، مجموعة القرارات التي تسمح بإختيار احدي الطريقتين تأخذ بعين الاعتبار أهداف وألويات المخبر وبيئته.

الكلمات المفتاحية: السكري - الهيموغلوبين السكري (HbA1c) - القياس المناعي بالعاكارة - الاستشراب السائلي عالي الأداء - إرتباط.

Remerciement

Nous avons envie d'adresser nos sincères remerciements à ceux qui ont contribué à l'élaboration de notre mémoire. En premier lieu, On remercie **DIEU** tout puissant de nous avoir permis de mener à bien ce modeste travail. Nous tenons tout particulièrement à remercier notre promoteur Dr. **BENHELAL A.**, qui nous a encadrés, guidés, encouragés, conseillés, et avec qui nous avons établi une relation de confiance.

Nous désirons remercier chaleureusement le chef de département Dr. **Benaziz W.**, et le chef de département-adjoint de pharmacie Dr. **BENCHAKROUNE A.**, ainsi que toutes les personnes qui se sont rendues disponibles au cours de notre cursus.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres du jury, Pr. **ABDI S.**, vous nous faites l'honneur d'avoir bien voulu présider ce jury, cette occasion nous permet de vous présenter nos plus sincères remerciements pour la bienveillance que vous nous avez manifestée. Un grand merci s'adresse aux Dr. **OUNAS S.**, et Dr. **BENNOUAR S.**, nous vous adressons nos plus vifs remerciements pour avoir accepté d'être nos examinatrices.

Notre plus grand merci s'adresse à tous nos enseignants de département de pharmacie de Blida, pour votre don naturel à transmettre vos connaissances et la simplicité avec laquelle vous le faites nous a marqué.

Nos remerciements vont également à Dr. **AMIMER A.**, résident en épidémiologie au CHU de Blida pour son aide à la réalisation des tests statistiques dans ce travail, à Dr. **SERSEG M.**, résident en hématologie à l'HCA pour son aide et son soutien, et au **personnel** du laboratoire d'analyses médicales Dr. **BENHELAL A.**, pour leur aide précieuse et de leur soutien au long de ce travail.

Enfin, Nos remerciements vont aussi à nos amis et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce travail à :

Mes très chers parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi ; pour leurs sacrifices et leur soutien.

Mes chères frères; mes chères sœurs et mes amies.

L'esprit de **Cherif Salem Chahinez (Chouchou)**, repose en paix chère amie.

Tous les membres de la famille, grands et petits.

Mon binôme : **Chicha Abdelghani** et sa famille.

Toute personne m'ayant aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Oussama

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce travail à :

Ma chère mère pour tout ce qu'elle a fait pour moi ; pour leurs sacrifices et leur soutien.

L'esprit de mon cher père, repose en paix.

Mes chères frères; mes chères sœurs et mes amies.

Tous les membres de la famille, grands et petits.

Mon binôme : **El Kebir Oussama** et sa famille.

Toute personne m'ayant aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Ghano

Table des matières

Résumé

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Partie bibliographique

I. Diabète sucré

I.1. Généralité sur le diabète sucré.....	05
--	-----------

I.1.1. Définition.....	05
------------------------	----

I.1.2. Classification du diabète sucré.....	05
---	----

I.1.2.1. Diabète de type 1.....	05
---------------------------------	----

I.1.2.2. Diabète de Type 2.....	06
---------------------------------	----

I.1.2.3. Diabète gestationnel	07
-------------------------------------	----

I.1.2.4. Autres types spécifiques de diabète sucré	07
--	----

I.2. Diagnostic de diabète sucré.....	08
--	-----------

I.2.1. Bilan glycémique	09
-------------------------------	----

I.2.2. Autres bilans	09
----------------------------	----

I.3. Les complications du diabète sucré.....	09
---	-----------

I.3.1. Complication aiguës	10
----------------------------------	----

I.3.2. Complications chroniques	11
---------------------------------------	----

I.4. Traitement du diabète sucré.....	15
--	-----------

I.4.1. Traitement de diabète de type 1.....	15
---	----

I.4.2. Traitement de diabète de type 2	16
--	----

II. L'hémoglobine et hémoglobine glyquée

II.1. Rappel sur l'hémoglobine.....	18
--	-----------

II.1.1. Définition.....	18
-------------------------	----

II.1.2. Structure.....	18
------------------------	----

II.1.3. Les différents types d'hémoglobine.....	19
---	----

II.2. L'hémoglobine glyquée.....	20
---	-----------

II.2.1. Définition.....	20
-------------------------	----

II.2.2. Formation de l'HbA1c.....	21
-----------------------------------	----

II.3. Méthodes de dosage.....	22
--------------------------------------	-----------

II.3.1. Méthodes dosant l'hémoglobine glyquée totale.....	22
---	----

II.3.2. Méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c.....	23
II.4. Standardisation de dosage de l'HbA1c.....	25
II.5. Intérêt du dosage de l'HbA1c.....	27
II.6. Les limites du dosage de l'HbA1c.....	27
II.6.1. Variations physiopathologiques.....	28
II.6.1. Présence d'une hémoglobinopathie.....	29
II.6.3. Anomalies quantitatives d'hémoglobine.....	29
II.7. Les recommandations concernant le suivi du diabète par l'HbA1c.....	31
II.7.1. L'HbA1c dans le suivi du diabète de type 1.....	31
II.7.2. L'HbA1c dans le suivi du diabète de type 2.....	31

Partie pratique

I. Matériel et méthodes

I.1. Echantillonnage et collecte des données.....	34
I.2. Prélèvement sanguin.....	34
I.3. Automates et méthodologies analytiques.....	34
I.3.1. Dosage de la glycémie.....	34
I.3.2. Dosage de l'HbA1c.....	35
. D-10® : Présentation et principe méthodologique.....	36
. Bio-rad Turbo variant II.....	38
. Cobas-Intégra®: Principe méthodologique du dosage de l'HbA1c.....	39
I.4. Etude statistique.....	41

II. Résultats

II.1. Répartition des sujets étudiés selon le sexe.....	45
II.2. Répartition des sujets étudiés en fonction de la tranche d'âge.....	46
II.3. Répartition des patients en fonction du taux de la glycémie.....	47
II.4. Répartition des patients en fonction du taux de l'HbA1c.....	48
II.4.1. Par la méthode HPLC	48
II.4.2. Par la méthode immunoturbidimétrie.....	49
II.5. Corrélation entre la glycémie et l'HbA1c.....	50
II.6. Corrélation entre les deux méthodes.....	52
II.7. Etude de la répétabilité.....	54

II.8. Test t de student.....	55
III. Discussion.....	57
Conclusion.....	62
Références bibliographiques.....	65
Annexes.....	75

Liste des abréviations

- ADA: American Association Diabetes
- ADO : Les antidiabétiques oraux
- AFGP : Alkyl-formyl-3,4-digluco-syl-pyrrole
- AFSSAPS : Agence national de sécurité du médicament et des produits de santé
- AGE : Advanced Glycation End-products
- ALAT : L'alanine Aminotransférase
- AVC : Accident Vasculaire Cérébral
- CEL : Carboxy-éthyl-lysine
- CLBP : Chromatographie Liquide Basse Pression
- CMA : Carboxy-méthyl-arginine
- CML : Carboxy-méthyl-lysine
- 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
- FFI : Furoyl-furanyl-imidazole
- FID : Fédération International Diabétique
- HAS : Haute Autorité de Santé (association européenne)
- Hb : Hémoglobine
- HbA1c : Hémoglobine glyquée
- HbC : Hémoglobine C β -thalassemie
- HbH : Hémoglobine H α -thalassemie
- HbJ : Hémoglobine J Baltimore
- HbS : Hémoglobine S Drépanocytose
- HDL : High-density lipoprotein
- HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale
- HPLC : Haute Performance Liquide Chromatographie
- HTA : Hypertension Artériel
- IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

- IMC : Indice de Masse Corporelle
- JAMA : Journal of the American Medical Association
- LDL : Low-density lipoprotein
- MODY : Maturity Onset Type Diabète of the Young : sont caractérisés par une transmission autosomique dominante et une présentation habituelle sous forme d'un diabète non insulino-dépendant du sujet jeune.
- NGSP : American National Glycohaemoglobin Standardization Program
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PAL : Phosphatase alcaline
- SFBC : Société Française de Biologie Clinique
- SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
- UKPDS: United Kindom Prospective Diabetes Study

Liste des figures et des tableaux

Liste des figures

Figure 1: Réaction de formation des produits de Maillard.....	11
Figure 2 : Etape de formation des protéines glyquées.....	12
Figure 3 : Représentation schématique d'une hémoglobine	18
Figure 4 : Contacts entre les chaines d'hémoglobine.....	19
Figure 5 : L'hémoglobine glyquée : a: représentation schématique; b: structure 3D.....	20
Figure 6 : Représentation schématique de la fixation de glucose sure les globules rouges.....	21
Figure 7 : Processus de glycation de l'hémoglobine.....	22
Figure 8 : Automate SELECTRA ProM.....	35
Figure 9 : L'analyseur D-10® de Bio Rad.....	36
Figure 10 : Exemples de chromatogrammes obtenus avec la méthode Bio-rad D-10.....	38
Figure 11 : Bio-Rad Turbo Variant II.....	39
Figure 12 : L'épitope utilisé dans l'essai Tina-quant® HbA1c permet une identification par l'anticorps indépendamment de la variante de l'hémoglobine (Hb).....	40
Figure 13 : L'analyseur Cobas-Intégra® de Roche.....	41
Figure 14 : Schéma illustrant le principe du dosage de l'HbA1C par immunoturbidimétrie sur le Cobas-Intégra® 400 plus.....	41
Figure 15 : Exemples de chromatogrammes en cas d'anomalie de l'Hb (1a HbS), (1b HbC) obtenus avec la méthode Bio-rad D-10® HbA1c.....	42
Figure 16 : Répartition des sujets étudiés en fonction du sexe.....	45
Figure 17 : Répartition des sujets étudiés en fonction de la tranche d'âge.....	46
Figure 18 : Répartition en pourcentage du taux de la glycémie.....	47
Figure 19 : Répartition en pourcentage de la valeur de l'HbA1c par la méthode HPLC.....	48
Figure 20 : Répartition en pourcentage de l'HbA1c par la méthode immunoturbidimétrie...49	
Figure 21 : Corrélation entre la glycémie et les valeurs de l'HbA1c pour l'HPLC.....	50
Figure 22 : Corrélation entre la glycémie et les valeurs de l'HbA1c pour la turbidimétrie.....	51
Figure 23 : Etude de corrélation pour toutes les valeurs du dosage de l'HbA1c obtenue par l'HPLC et la turbidimétrie.....	52

Figure 24 : Etude de corrélation du taux de l'HbA1c pour une série des patients (20 sujets) ayant une anomalie de l'hémoglobine.....	53
---	----

Liste des tableaux

Tableau I : Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2.....	06
Tableau II : Autres types spécifiques de diabète.....	07
Tableau III : Complications aiguës du diabète (cause, biologie et clinique).....	10
Tableau IV : Les différentes insulines commerciales.....	15
Tableau V : Différentes d'hémoglobines exprimées au cours de la vie.....	19
Tableau VI : Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez un sujet non Diabétique.....	20
Tableau VII: Principaux réactifs disponibles pour le dosage de l'HbA1c.....	25
Tableau VIII: La relation linéaire entre les valeurs de l'HbA1c obtenues par les deux méthodes de standardisation NGSP et IFCC.....	26
Tableau IX: Corrélation entre l'hémoglobine glyquée et le taux de la glycémie moyenne.....	27
Tableau X: Facteurs interférents avec la mesure de l.Hb1Ac.....	30
Tableau XI: Résultats de l'étude de la répétabilité.....	54
Tableau XII: Statistiques des échantillons appariés.....	55
Tableau XIII: Différence des échantillons appariés.....	55

Liste des Annexes

Annexe 1 : Chromatogramme des variants de l'hémoglobine par l'HPLC (Bio-rad Turbo-variant II).....	73
Annexe 2 : Electrophorèse de l'hémoglobine.....	74
Annexe 3 : Tableau des données brutes.....	77
Annexe 4 : Données brutes de la répétabilité (test intra-série).....	82

INTRODUCTION

Le diabète sucré est devenu un problème majeur de santé publique au cours de ces dernières décennies, Il y a 425 millions de personnes atteintes de diabète dans le monde. Près de 3,2 millions de décès sont enregistrés chaque année à travers le monde. On comptera 629 millions de personnes atteintes de diabète dans le monde en 2045. Le nombre de personnes atteintes de diabète est estimé en prenant l'estimation de la prévalence de l'Atlas du diabète de la Fédération International du diabète (FID) et en l'appliquant au nombre de personnes âgées de 20 à 79 ans estimé par la Division de la population des Nations Unies. L'estimation comprend à la fois le diabète diagnostiqué et le diabète non diagnostiqué [1].

En Algérie, Une enquête nationale réalisée par le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, en coordination avec l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la période 2016/2017, a révélé que plus de 14% (plus de 4 millions) des Algériens âgés entre 18 et 69 ans souffraient de diabète. Cette maladie est devenue une véritable pandémie et un enjeu de santé publique majeur.

Le diabète peut se définit comme un état d'élévation anormale (à jeun) et chronique du taux du glucose dans le sang, qui en résulte des complications majeures de deux types, macrovasculaires (infarctus du myocarde, accidents vasculaires cérébraux et ischémie des membres inférieurs) et microvasculaires (rétinopathie, neuropathie et néphropathie).

Un suivi régulier est essentiel pour vérifier l'équilibre du diabète, il permet de contrôler l'évolution de la maladie, de déceler les éventuelles complications et de prévenir leur aggravation. Cette surveillance comprend des examens cliniques et des paramètres biologiques (dosage du glucose, et surtout dosage **d'hémoglobine glyquée**).

Toutes les recommandations actuelles font état de l'intérêt du dosage de l'Hémoglobine glyquée pour la surveillance de l'équilibre glycémique des diabétiques [2]. Ce paramètre est, en effet, très commode puisqu'il reflète grossièrement la moyenne des glycémies des trois derniers mois. Globalement, différentes recommandations officielles placent les objectifs d'HbA1c entre 6,5 et 7 %. [2].

Sa standardisation par des techniques validées permet, de disposer d'un indicateur fiable qui n'impose que peu de contraintes pour les malades.

Au laboratoire de biochimie, le dosage de l'hémoglobine glyquée peut être réalisé par des différentes techniques parmi lesquelles :

- Méthodes immunologiques: Méthodes immunoturbidimétriques et dosage d'inhibition d'agglutination.
- Méthodes chromatographiques: affinité et échange d'ions.
- Méthodes électrophorétique.

Objectifs du travail:

L'objectif de notre présent travail consiste à comparer le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) par deux méthodes, une méthode immunoturbidimétrique (sur automate Cobas-integra 400 plus) et méthode chromatographique (HPLC Bio-rad D-10 et Turbo Variant II), en utilisant les paramètres statistique (corrélation, répétabilité et test t de student) et ce ci dans le but de tester les performances analytiques et la qualité des résultats des deux analyseurs par présentation des étapes de validation, ainsi que les résultats obtenus que nous discuterons avant de conclure.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

DIABÈTE SUCRÉ

I.1. GENERALITE SUR LE DIABETE SUCRÉ

I.1.1. Définition

Le Diabète est défini comme un : « Groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées ». Il s'agit donc d'une pathologie chronique liée à des troubles de la régulation de l'équilibre glycémique. Cette hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [3].

I.1.2. Classification du diabète sucré

La classification et le diagnostic du diabète sont complexes et ont fait l'objet de nombreux débats, consultations et révisions au fil des décennies. Il est aujourd'hui généralement admis qu'il existe trois grands types de diabète : le diabète de Type 1, le diabète de Type 2 et le diabète gestationnel (DG).

Il existe également quelques types moins courants de diabète, dont le diabète monogénique et le diabète secondaire.

I.1.2.1. Diabète de type 1

Anciennement appelée diabète "insulinodépendant" ou diabète "juvénile" est habituellement découvert chez les sujets jeunes : les enfants, les adolescents ou les jeunes adultes. Cette forme qui touche environ 10% des diabétiques, se produit lorsque le pancréas ne produit plus ou pas assez d'insuline pour assurer la régulation de la glycémie. Ceci à cause d'une réaction auto-immune spécifique d'organe, survenant sur un terrain favorable, caractérisé par des gènes de susceptibilité, et provoquée par l'intervention de facteurs liés à l'environnement. L'organe concerné est la cellule β qui est spécifiquement et irrémédiablement détruite par les mécanismes immunologiques. Les autres cellules de l'îlot de Langerhans qui produisent d'autres hormones (glucagon, somatostatine...) restent indemnes de l'infiltration de la structure endocrine par les monocytes [5].

I.1.2.2. Diabète de Type 2

Le diabète de Type 2 (ou diabète non insulino-dépendant) représente environ 90% de tous les cas du diabète, c'est la forme la plus courante de la maladie. Dans ce type l'hyperglycémie est causée par la production inadéquate de l'insuline et l'incapacité de l'organisme à répondre correctement à l'insuline, on appelle cet état une résistance à l'insuline.

Cette résistance à l'insuline, déclenche une hausse de production de l'insuline pour réduire l'augmentation du taux de glycémie. Au fil du temps, une production inadéquate relative d'insuline peut toutefois se développer.

Généralement, le DNID touche les sujets plus âgés, mais est de plus en plus observé chez les enfants, les adolescents et les adultes plus jeunes en raison de l'augmentation des taux d'obésité, de l'inactivité physique et de la mauvaise alimentation.

Les diabètes de type 1 et 2 se différencient par de nombreuses caractéristiques reportées sur le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2 [6]

Caractéristiques	Diabète de type 1	Diabète de type 2
Fréquence relative	10-15%	85-90%
Antécédents familiaux du même type	Rares	Fréquents
Âge de survenue	Avant 30 ans	Après 40 ans
Début	Rapide ou explosif	Lent et insidieux
Facteur déclenchant	Souvent+	Souvent+
Symptomatologie	Bruyante	Pauvre ou absente
Poids	Normal ou maigre	Obésité ou surcharge
Cétone	Souvent présente	Le plus souvent absente
MAI associées	Oui	Non
Complication dégénérative au moment du diagnostic	Absente	Présente dans le 50% des cas
Cause principale de mortalité	Insuffisance rénale	Maladie cardio-vasculaire
Traitement	Insuline	ADO, régime, exercice

I.1.2.3. Diabète gestationnel

Il correspond à un diabète découvert à l'occasion d'une grossesse. Le plus souvent, il se manifeste sous forme d'une hyperglycémie modérée, d'accentuation progressive après la 24^{ème} semaine d'aménorrhée et disparaissant à l'accouchement. Le diabète gestationnel s'accompagne d'un risque de macrosomie fœtale et de diverses complications obstétricales [7]. Son dépistage est actuellement recommandé en présence de facteurs de risque : âge \geq 35 ans, IMC \geq 25kg/m², antécédents familiaux de DT2 ou personnels de DG ou de macrosomie. Après l'accouchement, les femmes ayant présentées un diabète gestationnel devront faire l'objet d'une surveillance et de mesures de prévention hygiéno-diététiques du diabète en évitant la prise de médicaments susceptibles de détériorer la tolérance au glucose

I.1.2.4. Autres types spécifiques du diabète

Tableau II : Autres types spécifiques de diabète [8]

Types du diabète	Manifestation
Anomalies génétiques de la fonction des cellules β	- facteur de transcription nucléaire des hépatocytes (HNF) 4 α (MODY 1) : - glucokinase (MODY 2) - HNF-1 α (MODY 3) - facteur promoteur de l'insuline (IPF) 1 (MODY 4) - HNF-1 β (MODY 5) - ADN mitochondrial - conversion de la pro-insuline ou de l'insuline
Anomalies génétiques de l'action de l'insuline	- insulino-résistance de type A - lepréchaunisme - syndrome de Rabson-Mendenhall - diabète lipo-atrophique
Maladies du pancreas Exocrine	pancréatite, pancréatectomie, cancer, fibrose kystique, hémochromatose
Endocrinopathies	Acromégalie, syndrome de Cushing, glucagonome, phéochromocytome,-

	hyperthyroïdie, somatostatine, syndrome de Conn
Induction médicamenteuse ou par une substance chimique	Vacor, pentamidine, acide nicotinique, glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, diazoxide, agonistes β -adrénergiques, thiazidiques, phénytoïne, interféron α , inhibiteurs des protéases, clozapine, β -bloquants
Infections	Rubéole congénitale, cytomégalovirus, virus coxsackie
Formes rares de diabète auto-immun	Syndrome de l'homme raide, anticorps antirécepteurs à l'insuline
Autres syndromes génétiques associés parfois au diabète	Trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, syndrome de Wolfram, ataxie de Friedreich, chorée de Huntington, syndrome de Laurence-Moon-Bardet-Biedl, dystrophie myotonique, porphyrie, syndrome de Prader-Willi

I.2. Diagnostic du diabète

I.2.1. Bilan glycémique

Le bilan glycémique permet d'évaluer l'équilibre glycémique, de dépister ou de surveiller le diabète [6].

Le bilan glycémique consiste à doser en routine : la glycémie et L'hémoglobine glyquée.

• 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 instantanée de la glycémie.
- La glycémie postprandiale: mesurée 2 heures après le petit déjeuner, permet d'avoir une idée sur la répercussion de ce repas sur l'équilibre glycémique.

- Le cycle glycémique réalisé en 4 temps permet de détecter les fluctuations glycémiques survenant tout au long de la journée.

• L'HbA1c

L'HbA1c représente le marqueur de référence de la surveillance de l'équilibre glycémique en reflétant l'équilibre glycémique sur une période d'environ 6 à 8 semaines précédant le prélèvement pour le suivi des patients diabétiques.

I.2.2 Autres bilans

Il existe aussi d'autres bilans recommandés chez les diabétiques qui sont :

Le bilan lipidique : dosage des taux de : LDL-cholestérol, HDL-cholestérol, Cholestérol total et triglycérides.

Le bilan rénal : dosage des taux de : créatinine, acide urique avec réalisation d'une chimie des urines...etc.

Le bilan hépatique : dosage des taux de : l'alanine Aminotransférase (ALAT), la phosphatase alcaline (PAL) et la bilirubine totale...etc. [6].

I.3. Les complications du diabète

Les complications du diabète sont les effets des hyperglycémies répétées, prolongées, et le déséquilibre du diabète qui provoquent une altération des nerfs et des vaisseaux et par voie de conséquence, une altération de certaines cellules de l'organisme, avec des répercussions sur plusieurs organes [9]. Il existe deux types de complications :

Complications aiguës

- Acidocétose
- Coma hyperosmolaire
- Hypoglycémie
- Complications Infectieuses

Complications chroniques

- Macrovasculaires
- Microvasculaires

I.3.1. Complications aiguës

Tout diabétique peut un jour présenter des désordres métaboliques graves, constituant une urgence thérapeutique. Les diabétiques de type 1 sont exposés à deux types de complications métaboliques aiguës, l'acidocétose et l'hypoglycémie. Les diabétiques de type 2 sont exposés au coma hyperosmolaire, mais aussi aux hypoglycémies et à l'acidose lactique. Un diabétique de type 2 peut enfin développer une acidocétose à l'occasion d'une pathologie intercurrente, et devenir alors insulino-dépendant [10].

Tableau III : complications aiguës du diabète (cause, biologie et clinique) [11]

	Cause	Biologie	Clinique
Coma acéto cétonique (observe lors du DT1)	Carence accrue en insuline	Hyperglycémie, glycosuria, cétonémie + cétosurie, acidose, bicarbonates basse, hyperkaliémie	Perte de conscience ; Asthénie, déshydratation responsable ; tachycardie, nausée ; trouble visuel
Coma acido-lactique	Prise de Glucophage : celui-ci empêche le recyclage des lactates	Acidose sanguine Augmentation du lactate	Douleur abdominale, nausée, vomissement ; Tachycardie, hypotension
Coma hyperosmolaire (observe lors du DT2)	Due à une hyperglycémie avec polyurie osmotique	Hyperglycémie >6 g/l Hyper natrémie Absence de cétosurie et d'acidose	Déshydratation, sécheresse buccale ; Fatigue intense
Coma hypoglycémique	Repas insuffisant Exercice physique Surdosage des anti-diabétiques	Glycémie <0.6 g/l	Faim impérieuse, tremblement, sueurs ; Céphalée, palpitation ; Trouble visuel, pâleur, crise convulsive

I.3.2. Complications chroniques

L'hyperglycémie chronique ou diabète sucré s'accompagne de pathologies qui contribuent chaque année à l'augmentation des micro- et macro-angiopathies et/ou neuropathies dégénératives. La connaissance des mécanismes moléculaires et cellulaires de leur développement devrait bénéficier à l'approche quotidienne de leur prévention, de leur diagnostic et de leur traitement [12].

Modifications moléculaires induites par la glycation

La cascade d'événements de la glycation commence par l'interaction entre l'aldéhyde d'un glucose et le groupement NH_2 libre et électrophile de son environnement, notamment la partie amino-terminale et les radicaux NH_2 libres de la chaîne peptidique de diverses macromolécules. Elle conduit à la formation de dérivés d'addition glyqués au terme d'une suite de réactions non enzymatiques caractéristiques [13].

Les facteurs de formation

Cette formation met en jeu quatre cinétiques de réaction très différentes les unes des autres.

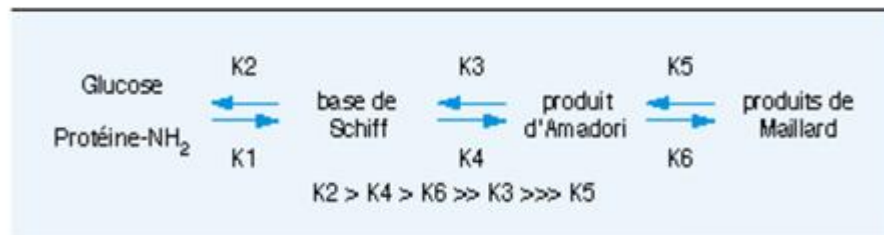


Figure I : réaction de formation des produits Maillard [14]

Les produits de Maillard

Les produits de Maillard ne sont pas spécifiques du diabète sucré. Ils apparaissent dans le monde de la boulangerie lors de la cuisson du pain, en cuisine lors de la cuisson des viandes, etc. Ils sont donc ingérés lors de la consommation de ces aliments et seront épurés par les reins [46].

Les mécanismes moléculaires de formation des dérivés glyqués ne sont pas complètement élucidés. Ils émergent au terme de réactions chimiques de déshydratation et d'oxydation qui se développent lentement [49].

L'oxydation peut être de deux types :

Une oxydation vive par les radicaux libres transforme le résidu hydrate de carbone du produit d'Amadori en carboxy-méthyl-lysine (CML) et/ou carboxy-méthyl-arginine (CMA) [50].

Une oxydation ménagée qui conduit à la formation d'un intermédiaire carbonylé, le déoxyglucosone, dont trois isomères ont été identifiés : le 1DG, le 3DG, le 4DG.

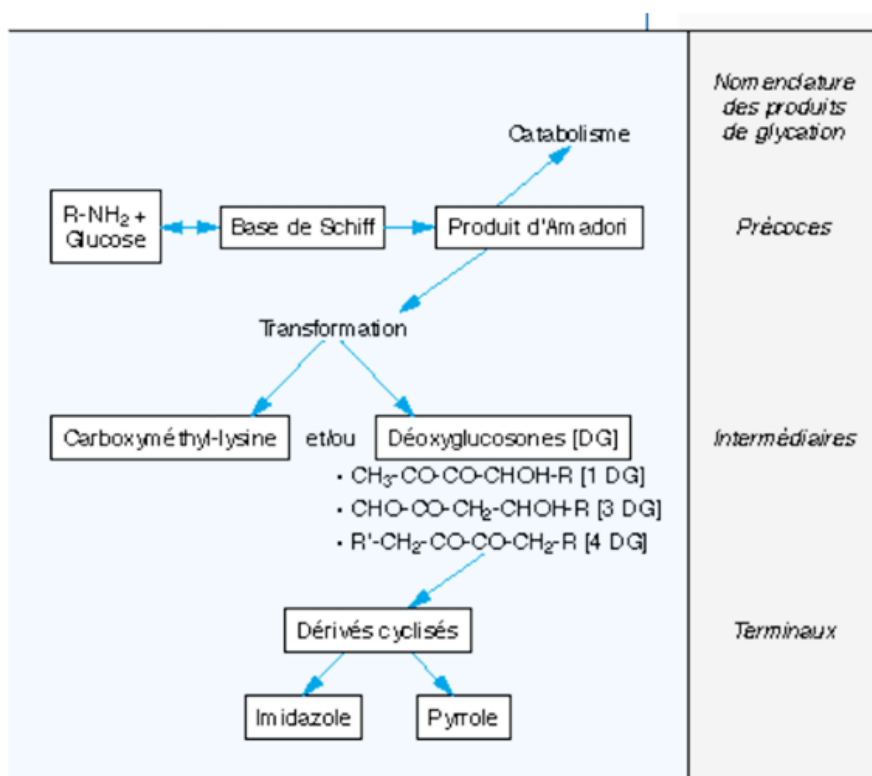


Figure 2 : étape de formation des protéines glyquées

Nature des produits de Maillard

Si les produits d'Amadori sont bien caractérisés, en particulier avec la connaissance que nous avons de la structure, des conditions de formation et du devenir de l'hémoglobine A1c [51], celle des produits de Maillard progresse. De nouveaux hétérocycles azotés néoformés par l'organisme humain diabétique à une concentration détectable sont régulièrement identifiés, notamment des dérivés à noyau imidazole, pyridine, pyrrole. Parmi ces produits,

citons le furoyl-furanyl-imidazole (FFI), l'alkyl-formyl-3,4-digluco-syl-pyrrole (AFGP), la pyrroline, le carboxy-méthyl-lysine (CML), la carboxy-éthyl-lysine (CEL), le 4 méthyl-imidazolium, le 5-méthyl-imidazole-4-one et la pentosidine [52, 53].

Glycation et complications chroniques du diabète sucré

Un lien étroit a été établi depuis quelques années par **Brownlee et al.** [13]. Entre la formation des produits de Maillard dans la matrice extracellulaire et le développement des complications chroniques du diabète sucré. Ces produits s'accumulent chez le sujet diabétique dans différents tissus, notamment l'aorte et la matrice du glomérule rénal. Une corrélation positive est établie entre leur concentration et la survenue de micro et macro-angiopathies [15].

Ces complications concernent principalement le cœur et les vaisseaux qui entraînent ainsi des lésions vasculaires qui augmentent le risque d'athérosclérose, d'infarctus du myocarde, d'AVC ou encore d'artérite des membres inférieurs (**les macro-angiopathies**).

Le diabète altère également les reins (néphropathies), les nerfs (neuropathies) des membres inférieurs et les rétines (rétinopathies) (**les micro-angiopathies**) [16].

Ces altérations du tissu vasculaire apparaissent déterminantes dans la physiopathologie de la néphropathie et/ou de la rétinopathie, de la neuropathie et de l'athérosclérose du diabétique.

Produits de Maillard et néphropathies

La néphropathie diabétique est devenue l'étiologie majeure des nouveaux cas annuels d'insuffisance rénale [41, 42]. Elle est caractérisée par l'accumulation de CML et de pentosidine au niveau du glomérule. Aux premiers stades de la néphropathie, les produits de Maillard sont localisés dans l'espace mésangial et dans les parois des capillaires sanguins. À un stade plus avancé, ils s'accumulent dans les nodules. On observe aussi l'absence de pyrroline dans les glomérules, d'où l'hypothèse que la formation de produits de Maillard est associée à un taux élevé de produits d'Amadori et que la transformation en produits de Maillard est accélérée par une décharge oxydatante locale augmentée. La pentosidine et la carboxyméthyl-lysine seraient des marqueurs à la fois de la glycation des protéines et d'un stress oxydatif augmenté [43].

Produits de Maillard et rétinopathie

Le Diabetes Control and Complications Trial Research Group (DCCT) a désigné l'hyperglycémie comme facteur de risque majeur du développement et de la progression de la rétinopathie [43]. Ce symptôme est marqué par un œdème et des hémorragies de la rétine, des micro-anévrismes, une néovascularisation et une ischémie des capillaires de ce territoire. Une activation de la voie de l'aldose-réductase de ces cellules a été mise en cause. En effet l'hyperglycémie augmente le taux de glucose au-delà de leur besoin dans les cellules de la rétine dépourvues de Glut4. La voie de l'aldose-réductase accroît la formation de sorbitol, qui ne peut ressortir de la cellule à l'inverse du glucose. Il crée une hyperosmolalité, puis une hyperhydratation intracellulaire. Cette situation fragilise et nécrose les cellules. Des inhibiteurs de l'aldose-réductase ont été suggérés. Depuis, Adamis et al. [46] ont montré que l'induction du facteur de croissance de la cellule endothéliale (VEGF) du capillaire rétinien est corrélée à la néovascularisation de ce territoire et que son inhibition réduit le rythme de progression de cette micro-angiopathie [44].

Lu et al. [44] ont montré que, chez l'homme, le VEGF induit les produits de Maillard, faisant là encore ressortir leur rôle décisif dans la pathogénie de cette redoutable complication chronique du diabète sucré.

Produits de Maillard et athérosclérose

Parmi les protéines vasculaires, les lipoprotéines sont susceptibles de glycation. L'augmentation des LDL glyquées a d'ailleurs été démontrée chez le diabétique [45, 46]. Ces LDL glyquées stimulent la production de radicaux libres et des molécules d'adhésion des cellules endothéliales. Des mécanismes modifiant la composition lipidique des LDL en leur conférant une structure et une composition voisines de celles des LDL des hyperlipidémies sont envisagées par Graier et al. [47]. Cette athérosclérose est une macro-angiopathie.

Produits de Maillard et neuropathie

La neuropathie est une complication dégénérative handicapante du diabète sucré. Elle affecte potentiellement tout le système nerveux, excepté le cerveau. La neuropathie périphérique est la plus fréquente et/ou s'accompagne de paresthésie et d'hyperesthésie. Le premier mécanisme moléculaire a suspecté la voie du phosphatidyl-inositol. Ce phospholipide mem-

branaire, sous l'action de phospholipase, libère un diacylglycérol et l'inositol-phosphate, médiateur intracellulaire de l'influx nerveux sympathique. L'inositol, aussi dénommé myo-inositol, ainsi libéré regagne le pool général de cet hexose d'où il participera au renouvellement du phosphatidyl-inositol membranaire. Dans la circulation, l'inositol est au préalable filtré au niveau glomérulaire puis réabsorbé par le tubule, grâce à un site qu'il partage avec le glucose. Chez le diabétique, la compétition avec le glucose au niveau de la réabsorption tubulaire se traduit par une élimination excessive de l'inositol qui fera défaut et réduira la répartition membranaire du médiateur nerveux potentiel qu'est le le phosphatidyl-inositol. Des suppléments en inositol ont été tentés [48].

I.4. TRAITEMENT DU DIABETE

I.4.1. DIABETE DE TYPE 1

L'insulinothérapie constitue le traitement essentiel pour le diabète de type 1.

Les principales insulines disponibles au Algérie sont l'Insuline rapide, les analogues d'insulines, les intermédiaires avec ou sans mélange.

Tableau IV : Les différentes insulines commerciales [17]

Insuline	Nom commercial	Délai d'action	Durée d'action
Insuline d'action très rapide	Fiasp ®	5min	3 à 4h
	NovoRapid ® Humalog ® Apidra ®	10mn	3 à 4h
Insulines d'action Rapide	Umuline ® Rapide Actrapid ®	20 à 30 mn	4 à 6h
Insulines d'action Intermédiaire	Insulatard ® Umuline ® NPH	1 h	10 à 12h
Analogues d'insuline d'action lente	Levemir ® Lantus ® Toujéo ® Abasaglar ®	1h30	Action > à 14h et jusqu'à 36h selon dose d'insuline et type de diabète Ne pas mettre en contact avec autres insulines

I.4.2 Diabète de type 2

Le traitement varie selon que le diabétique soit obèse ou de poids normal.

Il comprend : le régime, les antidiabétiques oraux (Les biguanides, les glitazones, les sulfamides hypoglycémiants, les glinides, inhibiteur des alphaglucohydrolases) [18], le sport et l'insuline.

L'insuline est indiquée dans le diabète de type 2 en cas de complications aiguës, dégénératives, infection, grossesse et en cas d'échec de la thérapie par les antidiabétiques oraux.

CHAPITRE II :
L'HÉMOGLOBINE ET
HÉMOGLOBINE
GLYQUÉE

II.1. Rappel sur l'hémoglobine

II.1.1 Définition

L'hémoglobine (Hb) est le pigment respiratoire du globule rouge, fixant réversiblement l'oxygène, le transporte des poumons et le délivre aux tissus.

L'Hb est une chromoprotéine qui a une structure globuleuse hétérotétramérique, d'un poids moléculaire de 64500 Da faite de 4 sous-unités (S/U) identiques 2 à 2 qui se distinguent en S/U de type α et S/U de type non α , chaque S/U comporte :

- ❖ Une partie protéique : la globine qui correspond à une chaîne polypeptidique dont il existe 2 familles : famille α et famille non α .
- ❖ Une partie non protéique : l'hème (ou groupement prosthétique), qui est une ferroporphyrine de type IX dont le centre est occupé par un atome de fer ferreux (Fe^{2+}) qui fixe l' O_2 [19].

II.1.2 Structure

L'hémoglobine présente une structure primaire définie par la séquence en acides aminés des chaînes de globine, une structure secondaire (alternance d'hélices alpha et non-alpha), une structure tertiaire définie par l'arrangement tridimensionnel du monomère de globine qui permet de délimiter une poche à hème, et une structure quaternaire définie par les interactions entre les monomères au sein du tétramère.

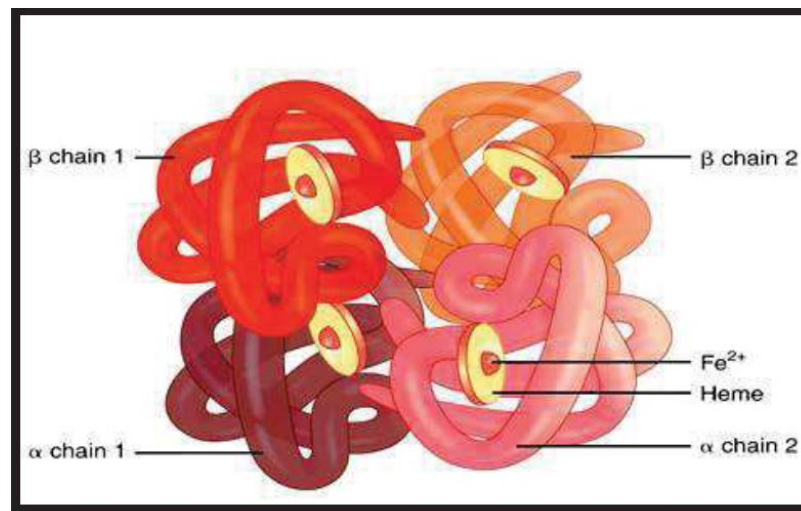


Figure 3 : Représentation schématique d'une hémoglobine [20]

Les chaînes alpha et beta sont assemblées entre elles par des liaisons fortes (liaisons $\alpha 1\beta 1$ et $\alpha 2\beta 2$) et par des liaisons faibles (liaisons $\alpha 1\beta 2$ et $\alpha 2\beta 1$), les premières jouant un rôle essentiel dans la stabilité de la molécule et les secondes dans le processus de transition allostérique [21].

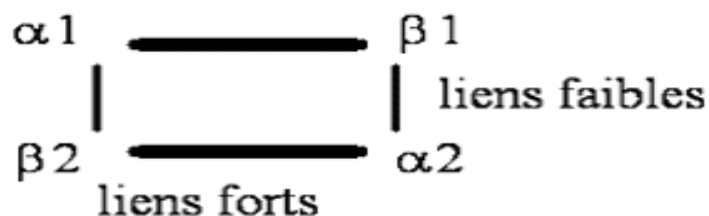


Figure 4: Contacts entre les chaînes d'hémoglobine

II.1.3 Les différents types d'hémoglobine

Il existe différentes variétés d'Hb synthétisées à des périodes différentes de la vie et dont la composition en Hb n'est pas la même.

Tableau V : Différentes d'hémoglobines exprimées au cours de la vie [22]

Age	Types d'hémoglobines rencontrées	Proportion des différentes hémoglobines	Chaînes de globine	Lieu de synthèse
Adulte	Hb A	97 %	$\alpha 2\beta 2$	La moelle osseuse.
	Hb A2	2,2 – 3,2 %	$\alpha 2\delta 2$	
	Hb F	< 1 %	$\alpha 2\gamma 2$	
Fœtus	Hb F	80 – 95 %	$\alpha 2\gamma 2$	Le foie et de la rate
	Hb A	5 – 20 %	$\alpha 2\beta 2$	
Embryon	Hb Gower 1		$\xi 2\varepsilon 2$	Le sac vitellin
	Hb Gower 2		$\alpha 2\varepsilon 2$	
	Hb Portland		$\xi 2\gamma 2$	

II.2. L'hémoglobine glyquée

II.2.1. Définition

L'hémoglobine glyquée correspond à l'ensemble des molécules d'hémoglobine modifiées par glycation non enzymatique (figure 5). Elle est le reflet des glycémies moyennes des 120 jours (2 à 3 mois) précédents, correspondant à la durée de vie des globules rouges. Elle n'est ni un marqueur de dépistage, ni un marqueur diagnostique du diabète ; son utilisation est actuellement réservée à la surveillance du diabète.

Son résultat est exprimé en pourcentage de l'Hb totale et son dosage est indispensable tous les 3 mois [22].

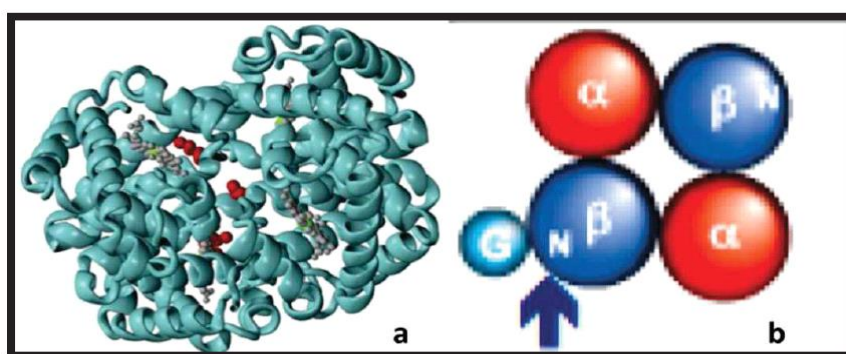


Figure 5 : L'hémoglobine glyquée : a: représentation schématique; b: structure 3D

Tableau VI : Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez un sujet non diabétique [23]

Hémoglobine	% de l'Hb totale	Structure
HbA0	90%	Deux chaînes protéiques α et β non glyquées.
HbA1c	4%	Glucose fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne β .
HbA1a1	0.2%	Fructose -1.6- diphosphate fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne β .
HbA1a2	0.2%	Glucose -6- phosphate fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé a situé à l'extrémité de la chaîne β .

HbA1b	0.5%	Acide pyruvique fixé sur le NH ₂ terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne β .
Hb glyquées diverses	1 à 1.5%	Hb glyquées sur différents acides aminés des chaîne α et β de l'HbA.
HbA2	2.5%	Deux chaînes protéiques $\alpha \delta$ non glyquées.
HbF	0.5%	Deux chaîne α et γ non glyquées

II.1.2. Formation de l'HbA1c

L'HbA1c est une hémoglobine glyquée formée par la fixation d'une molécule de glucose à l'extrémité N-terminale d'au moins une chaîne bêta de l'HbA (figure 6).

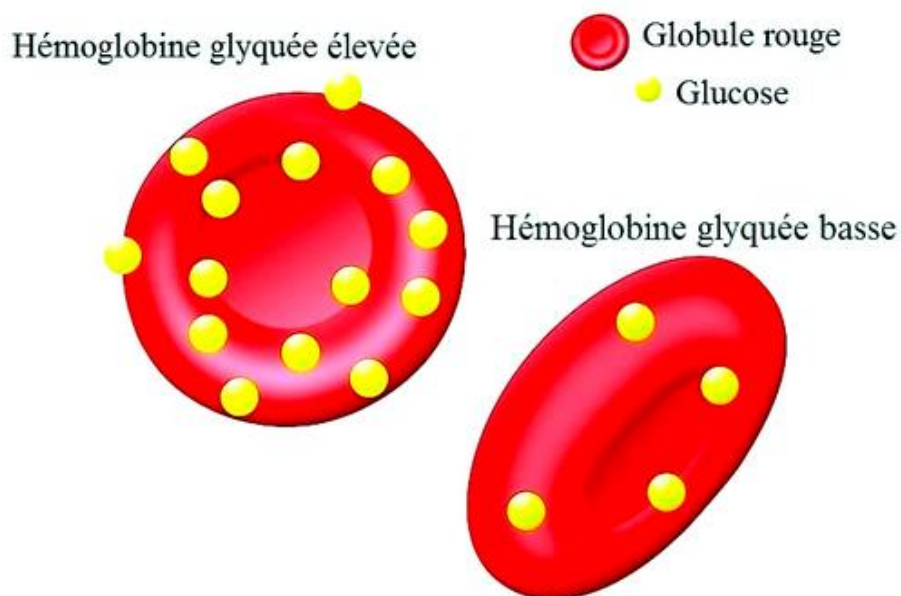


Figure 6 : Représentation schématique de la fixation de glucose sur les globules rouges

La glycation est un phénomène physiologique lent dont la première étape réversible correspond à la formation d'une base de Schiff ou Hb glyquée labile. D'autres oses, que le glucose, peuvent se fixer et génèrent une multitude de formes glyquées de l'Hb [24].

Le site principal de glycation est l'Hb majoritaire de l'adulte, l'HbA constituée de 2 chaînes α et 2 chaînes β de globine, se situe sur la valine N-terminale de la chaîne β [25]. Cette fixation est suivie de réarrangements moléculaires conduisant à la formation de produits

complexes appelés «Produits de glycation avancée» ou «Advanced Glycation End-products» (AGE) [26].

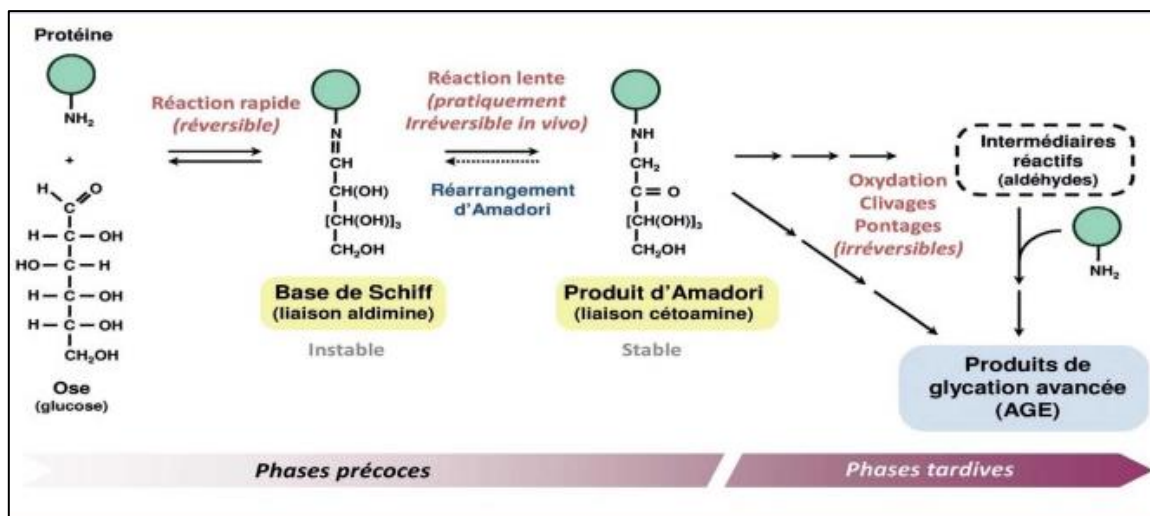


Figure 7 : Processus de glycation de l'hémoglobine [26]

II.3 Méthodes de dosage

II.3.1 Méthodes dosant l'hémoglobine glyquée totale

- **Chromatographie d'affinité**

Les groupements 1-2 cis-diol des molécules d'hexoses fixées sur l'hémoglobine forment un complexe avec l'acide phénylboronique immobilisé sur une matrice d'agarose. Une première solution tampon élue la fraction non glyquée, une deuxième solution contenant du sorbitol ou de l'acide citrique élue la fraction glyquée fixée sur la colonne. Ces techniques peuvent être sensibles à la concentration du ligand d'un lot de colonne à l'autre. Seules les hémoglobines normales ou anormales ayant fixées irréversiblement le glucose sont dosées, la fraction labile d' Hb n'interférant pas. La température et les hémoglobines carbamylées ou acétylées sont sans influence [27].

Cette méthode a été appliquée à des techniques automatisées. Après hémolyse du sang, l'Hb glyquée est fixée sur un réactif d'affinité poly -anionique, puis le complexe est capté par une matrice cationique.

La détection utilise une réaction d'inhibition par l'hème, de la fluorescence d'un fluorophore.

Les résultats sont corrigés par rapport à une courbe d'étalonnage mémorisée qui a été titrée en HbA1c par une méthode CLHP. Ces techniques qui dosent l'hémoglobine glyquée totale, fournissent des résultats corrigés exprimés en HbA1c [28].

II.3.2 Méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c

- **Méthodes immunologiques**

Les anticorps monoclonaux ou poly clonaux anti-HbA1c utilisés sont spécifiques à la liaison du glucose avec l'extrémité N terminale de la chaîne β .

Différents systèmes sont commercialisés :

- Techniques immunoturbidimétriques en phase homogène adaptée à différents analyseurs de biochimie.

Après hémolyse manuelle le pourcentage d'HbA1c est calculé par rapport à l'Hb totale dosée en parallèle.

- Technique d'immunoinhibition sur analyseur (BAYER DCA 2000 ou DCA Vantage).

- Technique ELISA sur microplaques avec des anticorps monoclonaux.

La spécificité de ces méthodes dépend de l'épitope reconnu qu'il convient de connaître pour déterminer leurs limites d'utilisation. Les fractions d'hémoglobines labiles ou modifiées ne sont pas dosées, mais les hémoglobines anormales et leurs dérivées glyquées peuvent ou non être pris en compte en fonction de la séquence glyquée reconnue et de sa longueur. En cas de présence d'une HbF ou d'une Hb anormale, la glycation de ces formes n'étant pas reconnue, il s'en suit des résultats par défaut puisque le dosage de l'hémoglobine totale inclut des formes non glyquées. Ce type de méthode ne permet pas d'identifier les hémoglobines anormales.

- **Electrophorèse**

L'électrophorèse en gel d'agarose ou acétate de cellulose (électro-endosmose) permet la migration en bloc de toutes les fractions d'HbA1. Certains systèmes peuvent également séparer spécifiquement la fraction HbA1c. Cette technique permet de mettre en évidence la plupart des Hb anormales sauf les hémoglobines modifiées (Hb carbamylées). L'obtention de résultats re-

productibles exige une transparisation homogène du gel pour permettre une lecture correcte. Ces techniques délicates fournissent en général des résultats plus élevés.

- L'isoélectrofocalisation permet une très bonne séparation des fractions.

C'est cependant une technique délicate, qui nécessite un appareillage très spécialisé. Elle n'est pas utilisée en pratique courante [29].

- **Chromatographie d'échange d'ions**

La séparation est fondée sur le fait que la charge nette des hémoglobines glyquées sur l'extrémité N-terminale des chaînes α est plus négative que celle de l'HbA₀, à pH neutre. Cette méthode a été mise au point par Trivelli en 1971. L'hémolysât est déposé sur une colonne remplie de résines chargées négativement. On élue d'abord les hémoglobines rapides : HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c} puis la fraction principale HbA₀.

Le pourcentage de ces différentes fractions est déterminé par mesure spectrophotométrique [30].

Cette méthode est utilisée dans différentes techniques :

- mini colonnes remplies de résines échangeuses d'ions pour les techniques manuelles,

- **Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)**

De nombreux appareils de CLHP spécialisés pour le dosage de l'HbA_{1c} sont commercialisés. Ils utilisent une colonne d'échange ionique et permettent un dosage automatisé,

- **Chromatographie Liquide Basse Pression (CLBP)**

Des systèmes automatisés de CLBP ont également été proposés par différents industriels. D'utilisation réputée moins coûteuse, ces appareils doivent fournir une bonne séparation HbF/HbA_{1c} [31].

Le tableau VII présente la plupart des réactifs disponibles pour le dosage de l'HbA_{1c}, classés par méthode d'analyse, et leurs caractéristiques colligées à partir des notices d'utilisation.

Tableau VII : Principaux réactifs disponibles pour le dosage de l'HbA1c [27]

Méthode	Fabricant (gamme)	Certification	Mode de calcul	Interférences décrites dans les notices
Chromatographie d'échange d'ions				
CLHP	Bio-Rad (Varian®, D10®)	NGSP	HbA1c/ ensemble HbA	Séparation/pas d'interférences avec HbA1c labile, HbF, variants de l'Hb de charges différentes de l'HbA0 et de l'HbA1c (dont Hb S,C,D,et E) .
	Tosoh Bioscience (G7)			
	Menarini (HA)			
CLBP	Bio-Rad (Diastal®)	NGSP		Protocole d'hémolyse adapté pour éviter l'interférence de l'HbA1c labile (co-migration), mauvaise séparation de l'HbF, séparation des Hb S et C.
	Bayer Diagnostic (glycomal®)	Notice non communiquée par le fabricant		
Microcolone				
Electrophorèse	Sebia	Non précisée	HbA1/Hb totale	Co-migration HbA1c et HbF
Chromatographie d'affinité	Progen (Nycocard)	Non précisée	Hb glyquées/ Hb non glyquées Calcul HbA1c	Pas de description des interférences
Méthode immunologique: inhibition d'agglutination	ABX Pentra	NGSP	HbA1c/ Hb totale	Augmentation de la valeur d' HbA1c en présence d'Hb S et C. Résultat d' HbA1c< résultat attendu en présence d'HbF > à10%. Pas d'interférence de HbA1c labile.
	Roche Diagnostics (Tina-Quant®, Integra®)	IFCC formule pour NGSP		
	Beckman Coulter (Synchron)			

II.4. Standardisation de dosage de l'HbA1c

Au moment de la publication des études DCCT et UKPDS (en 1993 et 1998, respectivement), il n'y avait aucune cohérence dans la communication des résultats d'HbA1c. La diversité dans la biochimie de la glycation, les exigences cliniques et de gestion ont donné lieu à un large éventail de méthodes de dosage de l'HbA1c depuis les années 1960.

Ainsi des laboratoires différents pouvaient communiquer des résultats d'HbA1c différents pour une même personne, selon le type d'analyseur utilisé pour doser l'échantillon. Il

était absolument impossible de fixer une cible d'HbA1c unique pour les citoyens d'un même pays et encore moins au niveau mondial. Aussi, de nombreuses personnes atteintes de diabète étaient déconcertés par le terme HbA1c ou A1c et voudraient pouvoir les mettre en relation avec leur taux de glycémie moyen.

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. L'atout majeur 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 [32].

La conversion des valeurs IFCC en valeurs DCCT/NGSP est réalisée avec l'équation IFCC suivante :

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

Tableau VIII : La relation linéaire entre les valeurs de l'HbA1c % obtenues par les deux méthodes de standardisation NGSP et IFCC [33]

NGSP%	IFCC%
4.0	2.0
6.0	4.2
7.0	5.5
8.0	6.4

II.5 Intérêt du dosage de l'HbA1c

La mesure de l'HbA1c permet :

- L'obtention facile d'une mesure de la glycémie moyenne ;
- La prédiction du risque de complications (macrovasculaires et microvasculaires) ;
- L'évaluation de l'efficacité thérapeutique (et du risque d'hypoglycémie) ;
- La fixation des objectifs thérapeutiques.

On considère qu'un diabète est bien équilibré quand l'HbA1c est inférieure à 6,5 %. Le diabète est moyennement équilibré si l'HbA1c est compris entre 6,5 % et 7,5 %. Il est mal équilibré si HbA1c est au-delà de 8 %.

Malgré certaines limitations, la mesure de l'HbA1c reste le moyen le plus simple et le plus fiable actuellement pour obtenir un reflet de la glycémie moyenne [34].

Tableau IX : Corrélation entre l'hémoglobine glyquée et le taux de la glycémie moyenne

Valeur HbA1c (%)	Taux de la glycémie moyenne (g/l)
6	1.26
7	1.54
8	1.83
9	2.12
10	2.41
11	2.68

II.6. Les limites du dosage de l'HbA1c

La connaissance de l'ensemble des facteurs pouvant influencé le dosage de l'HbA1c est essentiel pour pouvoir interpréter le résultat et pour une prise en charge optimale du patient diabétique. La valeur d'HbA1c est indépendante de l'état de jeune, des variations journalières de glycémie, de l'exercice physique et du sexe.

Pour que le résultat d'Hb glyquée soit interprétable, il faut :

- une durée de vie des globules rouges normale (120 jours)

- une synthèse normale (qualitative et quantitative) de l'Hb (97 à 99% d'HbA).

Si l'un de ces paramètres est modifié, l'équilibre entre réaction de synthèse/dégradation et réaction de glycation non enzymatique est perturbé et l'interprétation du dosage devient délicate voire impossible.

II.6.1 Variations physiopathologiques [37]

Lorsque la durée de vie du globule rouge est inférieure à 120 jours, la glycation ayant lieu au cours de toute la vie du globule rouge dès les stades érythropoïétiques (phénomène cumulatif), celle-ci se fera sur une plus courte durée donc l'HbA1c sera diminuée. Toute situation d'hémolyse (auto-immune, mécanique, toxique, médicamenteuse), toute hémorragie ou spoliation sanguine importante entraîne par conséquent une diminution du taux d'HbA1c.

De même, une transfusion récente ou la prise de traitement stimulant l'érythropoïèse rajeunit la population de globule rouge et entraîne une diminution de l'HbA1c. Un allongement de la durée de vie des globules rouges (splénectomie) augmente l'HbA1c. Ces situations peuvent fausser le dosage quel que soit la méthode employée.

Voici quelques exemples de patients pour lesquels une vigilance sera requise lors de l'interprétation du résultat d'HbA1c :

- Chez la **femme enceinte** : Au premier trimestre, les valeurs d'HbA1c ont tendance à être plus basses, ce qui peut être expliqué par l'hémodilution et une plus faible valeur de glycémie à jeun (phase d'anabolisme pour le développement fœtal avec augmentation de l'insulinémie et de l'insulinosensibilité). Au deuxième et troisième trimestre, les valeurs d'HbA1c sont plus élevées.

- Chez le **patient insuffisant rénal** : Cette situation est fréquente chez le patient diabétique (néphropathie diabétique). Trois situations peuvent avoir une influence sur la valeur de l'HbA1c :

- La durée de vie du globule rouge est réduite en cas d'hémodialyse.
- La prise d'un traitement par l'EPO provoque un rajeunissement de la population érythrocytaire.

Dans ces deux situations, la valeur de l'HbA1c sera sous-estimée.

- La présence d'une Hb carbamylée (fixation de cyanate en position amino-terminale des chaînes alpha et beta de l'Hb) peut surestimer le résultat.

Chez les **patients ayant une pathologie hépatique** :

- En cas de cirrhose, une hémolyse, une augmentation de la séquestration splénique des globules rouges ou encore une modification de l'érythropoïèse peuvent modifier la durée de vie des globules rouges.
- En cas d'hépatite C, les résultats d'HbA1c peuvent être sous-estimés chez les patients traités par ribavirine qui peut provoquer une anémie régénérative.

II.6.2. Présence d'une hémoglobinopathie [38]

L'Hb est soit qualitativement soit quantitativement anormale.

L'hémoglobinopathie peut entraîner une hémolyse (variable et difficile à quantifier) et/ou une stimulation anormale de la production d'Hb. De même, une modification de la glycation et la formation éventuelle de produits glyqués différents peuvent se produire.

La présence de variants de l'Hb peut être à l'origine de résultats sur ou sous-estimés selon la technique utilisée, les rendant difficilement interprétables. Il est par conséquent important d'identifier la présence d'une Hb anormale chez un patient. Plus de 800 variants de l'Hb ont été décrits. par exemple la présence d'une Hb C ou S.

II.6.3. Anomalies quantitatives d'hémoglobine [39]

- Augmentation de l'Hb F (au cours de myélome, lymphome, thalassémie) : elle peut entraîner une sous-estimation du taux d'HbA1c avec les techniques immunologiques (pas de reconnaissance par les anticorps des chaînes de l'HbF et qui mesurent strictement l'HbA1c par rapport à l'Hb totale). Par contre, les taux d'HbA1c obtenus par chromatographie resteront interprétables (si la durée de vie des globules rouges n'est pas affectée).

- les bêta-thalassémies qui s'accompagnent d'une augmentation du taux d'HbF et d'HbA2 circulantes et d'une hémolyse chronique. Dans ce cas la valeur d'HbA1c ne peut pas être interprétée.

Toute interprétation du dosage doit être prudente dans ces situations, il peut être utile d'utiliser le dosage des fructosamines (protéines circulantes ayant subies un réarrangement d'Amadori dû à la glycation).

Le tableau X résume les situations influençant les valeurs de l'HbA1c.

Tableau X : Facteurs interférents avec la mesure de l'Hb1Ac [40]

	Situation avec HbA1c		
	Faussement élevée	Faussement abaissée	Pouvant être faussement élevée ou abaissée
· Variante de l'HbA1c			
Variation génétique de l'hémoglobine (Hémoglobinopathies : HbS, HbC, HbF, HbE)			+
Dérivée de l'HbA1c modifiées chimiquement : Hb carbamylée formée lors d'insuffisance rénale	+		
· Réduction de durée de vie des érythrocytes			
Anémie hémolytique		+	
Anémie hémolytique		+	
Hypersplénisme		+	
· Médicaments et toxiques			
Ethylisme chronique	+		
Abus d'aspirine ou d'opiacés	+		
Abus de vitamine C et E	+		
· Autres facteurs			
Hyperbilirubinémie	+		
Hypertriglycémie	+		
Anémie ferriprive	+		
Splénectomie	+		
Anémie aplastique	+		
Age (>70 ans)	+		
Grossesse		+	

II.7. Les recommandations concernant le suivi du diabète par l'HbA1c

II.7.1. L'HbA1c dans le suivi du diabète de type 1

Selon le guide ALD édité par la HAS en juillet 2007 « diabète de type 1 de l'adulte », le dosage de l'HbA1c doit être réalisé 4 fois/an [60].

II.7.2. L'HbA1c dans le suivi du diabète de type 2

D'après les recommandations de l'ANAES de janvier 1999, « suivi du patient diabétique de type 2 à l'exclusion du suivi des complications » :

- Le dosage de l'HbA1c doit être effectué tous les 3 à 4 mois.
- Pour un patient donné, le dosage de l'HbA1c doit être pratiqué dans le même laboratoire, pour permettre la comparaison des résultats successifs.
- Les objectifs glycémiques se traduisent en objectifs de l'HbA1c. Les critères suivants doivent être pris comme référence :
- L'objectif optimal à atteindre est une valeur de l'HbA1c inférieure à 6,5 % ;
- Lorsque l'HbA1c est égale à 6,5 %, il n'y a pas lieu de modifier le traitement (sauf en cas d'effets indésirables).
- Lorsque l'HbA1c se situe entre 6,6 % et 8 % sur deux contrôles successifs, une modification du traitement peut être envisagée, en fonction de l'appréciation par le clinicien du rapport avantages/inconvénients du changement de traitement envisagé. Lorsque la valeur de l'HbA1c est supérieure à 8 % sur deux contrôles successifs, une modification du traitement est recommandée [60].

PARTIE
PRATIQUE

CHAPITRE I :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

I.1. Echantillonnage et collecte des données

L'étude a porté sur 289 sujets de la région de Blida. L'étude a été réalisée durant la période d'avril jusqu'au juin 2019, au niveau du laboratoire d'analyses de biologie médicale (**Dr. Benhelal**). Pour chaque sujet ont été notés son : identification, âge, sexe.

Les sujets ont fait l'objet de dosage du taux de glycémie à jeun (160 sujets) et du taux de la HbA1c par les deux méthodes (HPLC et turbidimétrie) (annexe 3).

I.2. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins sont effectués à partir des veines (sang veineux) en général au pli du coude après au moins 08 heures de jeûne. Il est à noter que pour la mesure de l'HbA_{1c}, il n'est pas nécessaire que le sujet soit à jeun puisque le jeun n'influence pas le résultat de l'analyse.

Pour doser la glycémie, le sang est déposé dans des tubes fluorure de l'oxalate de couleur gris, et Pour doser l'HbA_{1c} le sang total est déposé dans des tubes EDTA (Acide éthylène diamine tétra-acétique) de couleur mauve.

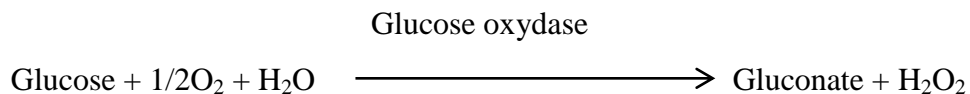
I.3. Automates et méthodologies analytiques

I.3.1. Dosage de la glycémie

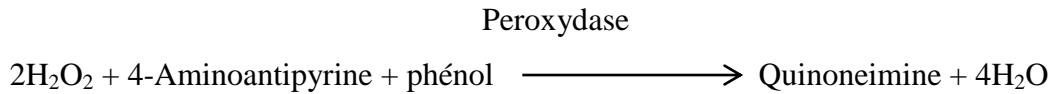
Le dosage de la glycémie a été effectué par l'automate **SELECTRA PRO M** après centrifugation à 2000 RPM pendant 10 min afin de séparer le sérum du reste des constituants sanguins.

Principe :

Le dosage du glucose de plasma sanguin est réalisé par une méthode enzymatique colorimétrique, en présence de la glucose-oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène, selon la réaction suivante :



Ce dernier, en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine selon la réaction suivante :



L'intensité de la coloration (quinonéimine), mesurée à 505 nm, est proportionnelle à la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

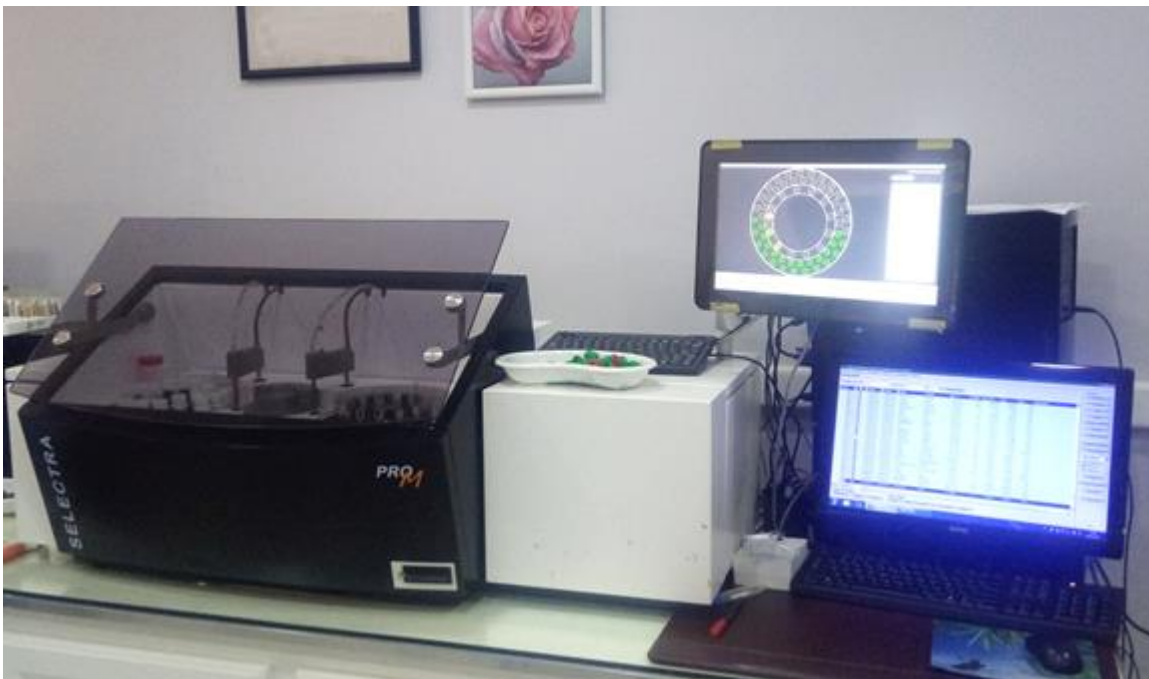


Figure 8 : Automate SELECTRA PRO M

I.3.2. Dosage de l'HbA1c

Le dosage de l'HbA1c a été réalisé simultanément sur les deux automates suivants :

- Le Cobas-Intégra® de la société Roche diagnostics, automate multiparamétrique de biochimie qui dose l'HbA1c par immunoturbidimétrie,
- Le D-10 et Turbo Variant II chez Bio-Rad, utilisant l'HPLC

➤ **D-10® : Présentation et principe méthodologique**

Le D-10® est un analyseur compact. Il s'agit d'un système de CLHP par échange d'ions utilisable pour le dosage des hémoglobines A1c (HbA1c), et le dépistage des variants de l'hémoglobine. Il comporte :

- un système de prélèvement, de dilution des échantillons et de lavage ; un module chromatographique contenant une pompe double piston, une vanne et une boucle d'injection de 25 µL, une enceinte thermostatée contenant la colonne échangeuse d'ions, un détecteur (diode électroluminescente) ; un module électronique comprenant une imprimante, un écran tactile et un PC équipé d'un logiciel permettant une connexion bidirectionnelle avec l'informatique du laboratoire.
- un module électronique comprenant une imprimante, un écran tactile et un PC équipé d'un logiciel permettant une connexion bidirectionnelle avec l'informatique du laboratoire.



Figure 9 : L'analyseur D-10® de Bio Rad

Le passeur d'échantillons permet le chargement en continu et le stockage après analyse des échantillons autorisant une capacité de chargement de 10 tubes par série. Le résultat est obtenu en 3 minutes.

Le système D-10® envoie un gradient programmé de tampon de force ionique croissante dans la cartouche, les molécules d'hémoglobine sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la cartouche. Elles traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance à 415 nm.

Un compte rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon. Il comporte les informations suivantes : date et heure du dosage, identification de l'échantillon (calibrant, contrôle, patient), identification de l'injection (numéro de la série, numéro de l'injection, position de l'échantillon sur le rack), le chromatogramme, les surfaces et les temps de rétention des différents pics identifiés et le taux de l'HbA1c en %. La Figure 10 illustre des exemples de chromatogrammes obtenus avec la méthode D-10® HbA1c.

Pour un sang normal, six fractions sont identifiées dans l'ordre de leur élution : HbA1a, HbA1b, HbF, HbA1c labile identifiée « LA1c » sur le chromatogramme, HbA1c, HbA0. La surface de l'hémoglobine A1c est calculée à l'aide d'un algorithme gaussien exponentiellement modifié qui permet d'exclure la surface des pics dus à l'HbA1c labile et à l'hémoglobine carbamylée de la surface du pic A1c.

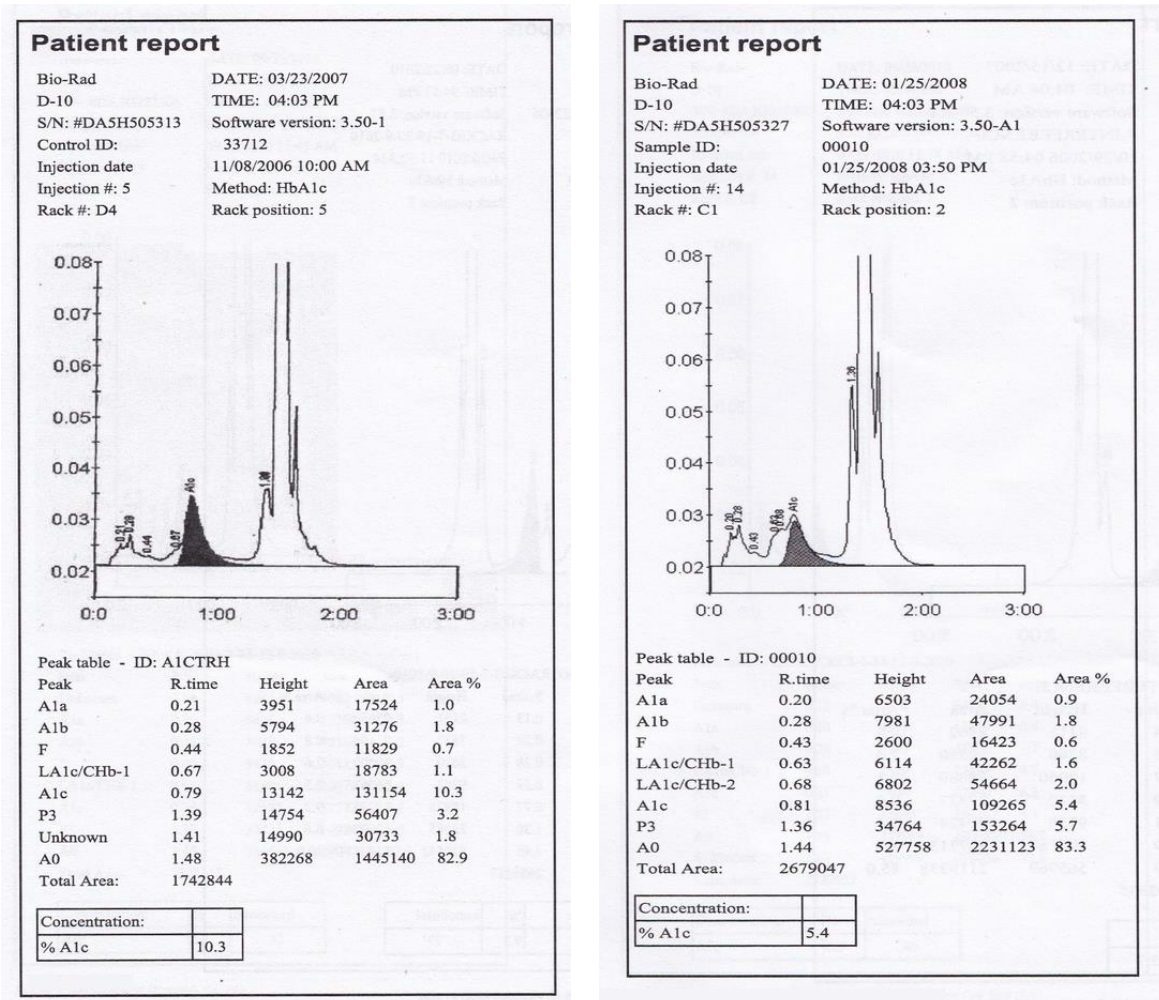


Figure 10 : Exemples de chromatogrammes obtenus avec la méthode Bio-rad D-10® HbA1c

➤ Bio-rad Turbo variant II

Le système VARIANT™ II TURBO combine un système CLHP Bio-Rad à une cadence analytique de 97 secondes par test avec détection des variants de l'hémoglobine pour le dosage de l'HbA1c (Annexe 2). Conçu pour des volumes d'analyses élevés, automatisé, le système VARIANT II TURBO fournit des résultats avec une analyse en 1,5 minute.

Le coffret VARIANT II TURBO permet le dosage automatisé de l'HbA1c avec une identification positive des échantillons et une gestion des données.

Aucune préparation manuelle des échantillons n'est nécessaire.



Figure 11 : Bio-Rad Turbo Variant II

➤ **Cobas-Intégra®: Principe méthodologique du dosage de l'HbA1c**

Le Cobas-Intégra® 400 de Roche (figure 13), est un automate multiparamétrique dont le panel d'analyse s'étend à la biochimie, La technique de dosage de l'HbA1C sur le Cobas-Intégra® 400 repose sur le principe de l'immunoturbidimétrie. Après hémolyse, l'Hb libérée subit une dégradation protéique par la pepsine pour permettre la réaction immunologique avec la partie N-terminale de la chaîne β .

Pour le dosage de l'Hb, les hèmes sont oxydés. L'Hb totale est déterminée dans l'hémolysat à l'aide d'une méthode colorimétrique n'utilisant pas le cyanure et fondée sur la formation d'un chromophore brun-vert dans une solution détergente alcaline. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en Hb de l'échantillon et déterminée par la me-

sure de l'augmentation de l'absorbance à 552 nm. Le résultat du dosage est calculé à l'aide d'une constante déterminée à partir du calibrateur primaire chlorohémine.

Le dosage de l'HbA1c utilise des anticorps monoclonaux fixés à des particules de latex. Les anticorps se lient à la partie N-terminale de la chaîne β de l'HbA1c. Les anticorps encore libres sont agglutinés à l'aide d'un polymère synthétique présentant plusieurs répliques de la partie N-terminale de la chaîne β et son fraction de valine glyquée (2-déoxyfructosevaline).

L'INTEGRA détecte spécifiquement les quatre premiers acides aminés de l'extrémité N-terminale de la chaîne β -globine (figure 12)

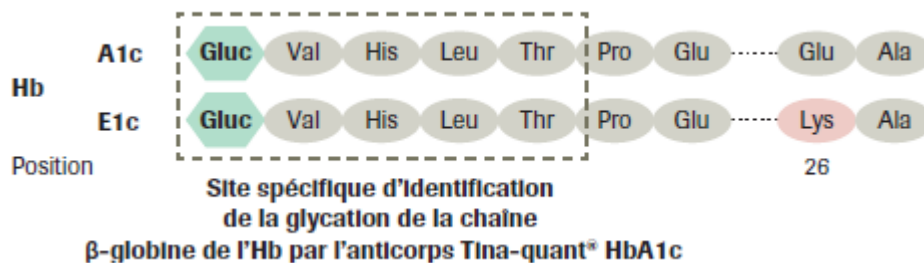


Figure 12 : L'épitope utilisé dans l'essai Tina-quant® HbA1c permet une identification par l'anticorps indépendamment de la variante de l'hémoglobine (Hb)

De plus, ce choix d'anticorps explique pourquoi les variants de l'Hb comme l'HbS, l'HbE, l'HbC et l'HbD n'affectent pas les résultats de l'HbA1c générés par ce test. Les mutations générant les variants courants de l'Hb ne sont pas contenues dans la région détectée par l'anticorps (les quatre premiers acides aminés de l'extrémité N-terminale de la chaîne β -globine) et la séquence d'acides aminés est donc préservée et identifiée indépendamment de variant.

L'INTEGRA comprend les variantes de l'hémoglobine dans le calcul de l'HbA1c

$$\%HbA1c = \frac{\text{HbA1c (incl. HbX1c)}}{\text{Total hémoglobine (incl. HbX)}} \times 100$$



Figure 13 : L'analyseur Cobas-Intégra® 400 plus de Roche

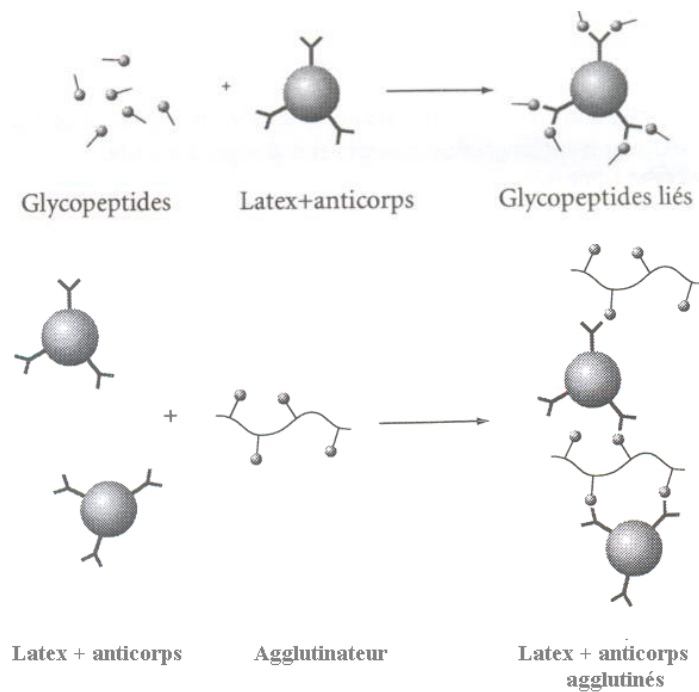


Figure 14 : Schéma illustrant le principe du dosage de l'HbA1c par immunoturbidimétrie sur le Cobas-Intégra® 400 plus.

I.4. Etude statistique

- Etude de l'influence des variants

Vingt échantillons présentant une anomalie de l'hémoglobine : HbC (9 sujets), HbS (9 sujets), HbJ (1 sujet), HbH (1sujet)

Les variants HbC et HbS ont été confirmé par Bio-rad D-10 (Figure 15), les autres anomalies HbH et HbJ ont été confirmé par l'électrophorèse de l'hémoglobine (Annexe 2).

On a effectué une corrélation entre les taux de l'HbA1c qui présentant des hémoglobi-nopathies dosé par les deux méthodes.

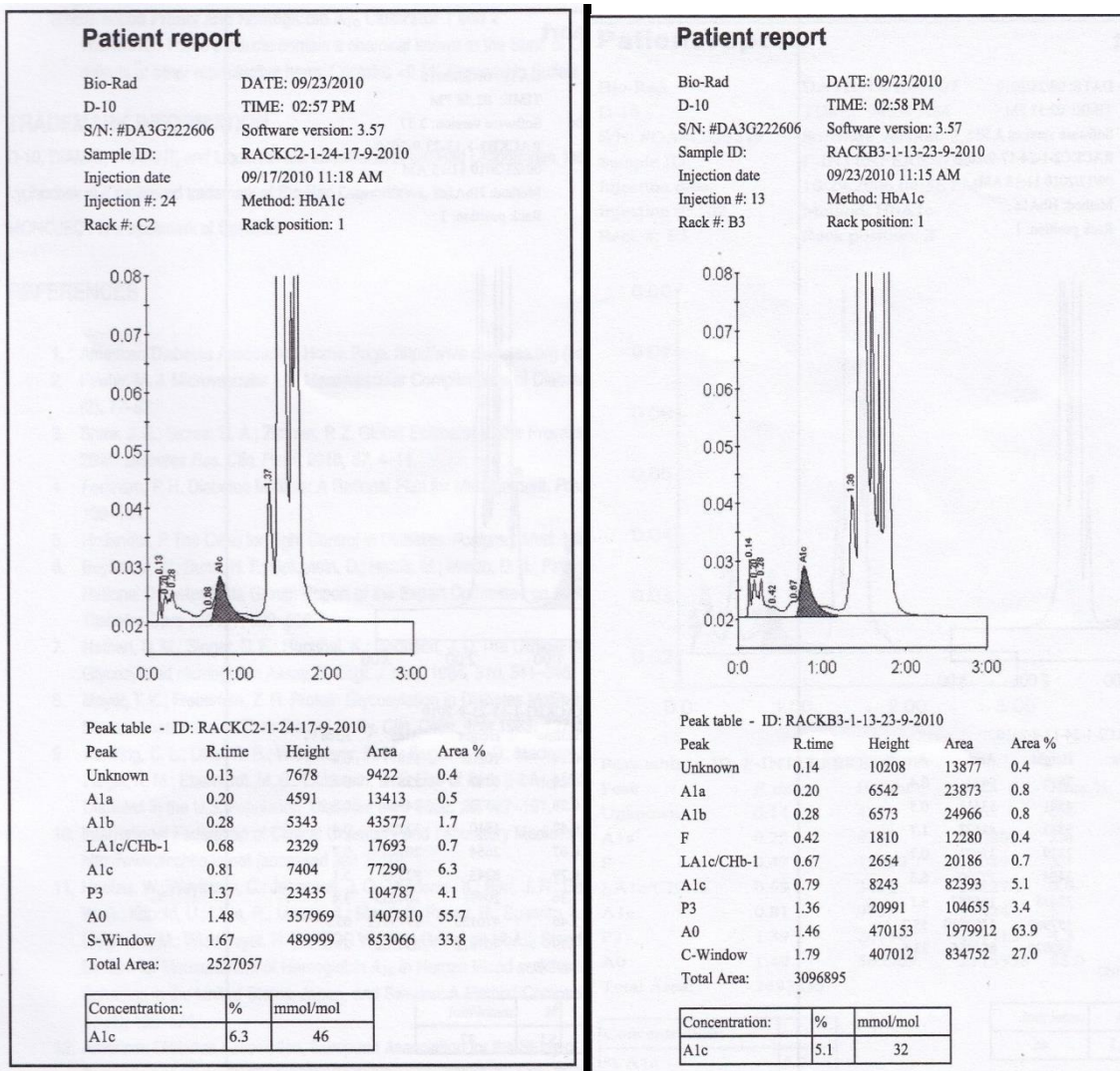


Figure 15 : Exemples de chromatogrammes en cas d'anomalie de l'Hb (1a HbS), (1b HbC) obtenus avec la méthode Bio-rad D-10® HbA1c

- **Etude de la corrélation**

- Corrélation entre les valeurs de la glycémie et taux de l'HbA1c dosé par HPLC.
- Corrélation entre les valeurs de la glycémie et taux de l'HbA1c dosé par la turbidimétrie.
- Corrélation entre les deux méthodes.

- **Analyse statistique**

L'analyse des données a été effectuée à l'aide de logiciel IBM[®] SPSS[®] Statistics.

Pour l'évaluation de la précision nous avons calculé les coefficients de variation pour la répétabilité (Annexe 4).

Pour la comparaison des moyennes, nous avons utilisé le test t de student.

CHAPITRE II :

RÉSULTATS

II.1. Répartition des sujets étudiés selon le sexe

Dans cette étude, la répartition des sujets étudiés selon le sexe est représentée dans la figure 16 :

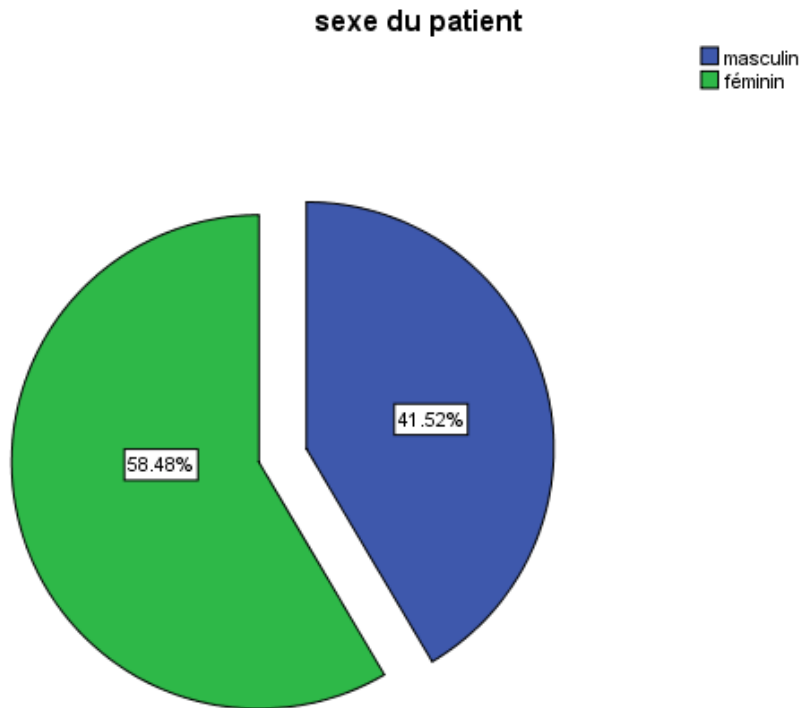


Figure 16 : Répartition des sujets étudiés en fonction du sexe

D'après la figure on remarque : sexe féminin 58.48%, sexe masculin 41.52% avec une sex-ratio (H/F) de 0.71 (pour 100 patients de sexe féminin on a eu 71 patients de sexe masculin).

II.2. Répartition des sujets étudiés en fonction de la tranche d'âge

La répartition des sujets étudiés en fonction de la tranche d'âge est représentée dans la figure 17 :

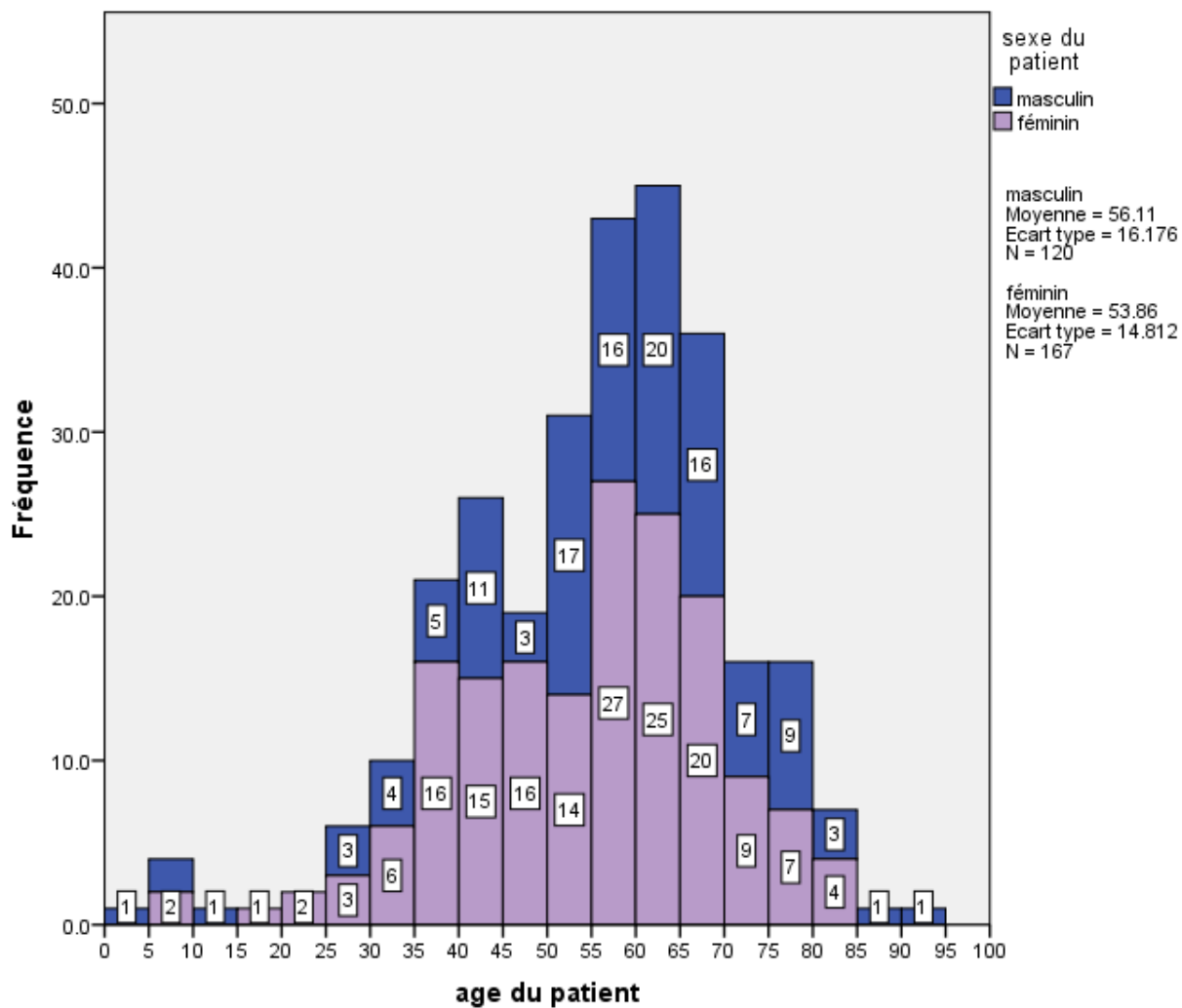


Figure 17 : Répartition des sujets étudiés en fonction de la tranche d'âge

L'âge des patients est compris entre 4 et 90 ans avec une médiane de 57 ans, une moyenne de 54.80 ans et un écart type de ± 15.41 ans. La classe d'âge la plus importante (55-60 ans) chez les femmes et (60-65 ans) chez les hommes.

II.3. Répartition des patients en fonction du taux de la glycémie

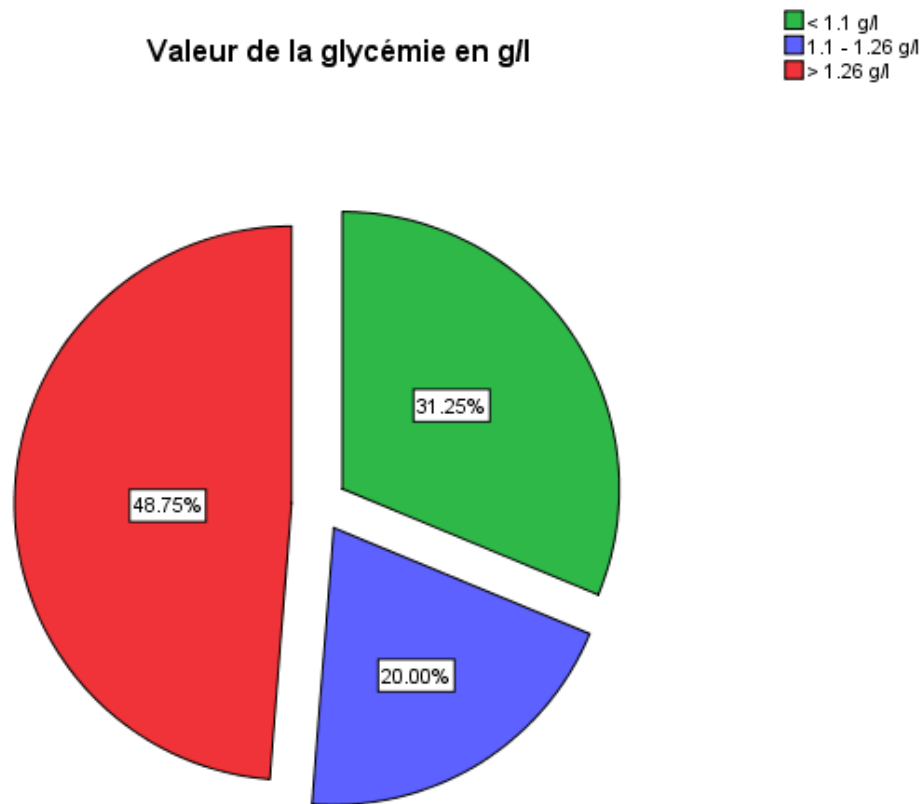


Figure 18 : Répartition en pourcentage du taux de la glycémie

D'après les résultats du taux de la glycémie on remarque : les patients >1.26 g/l représente le pourcentage le plus important 48.75%, <1.10 g/l représente 31.25%, et 1.10-1.26 g/l représente 20%

II.4. Répartition des patients en fonction de la valeur de l'HbA1c

II.4.1. Par la méthode HPLC

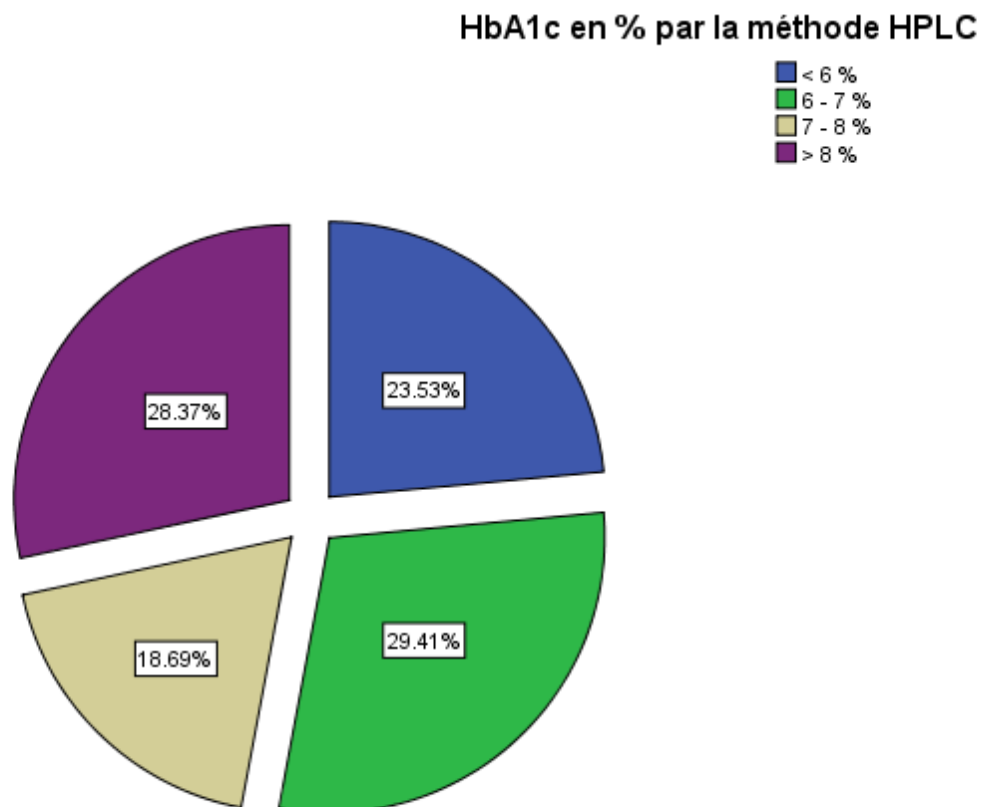


Figure 19 : Répartition en pourcentage du taux de l'HbA1c par la méthode HPLC

D'après les résultats de l'HbA1c par l'HPLC on remarque :

Les patients ont de l'HbA1c < 6% représente 23.53%, 6-8% représente 29.41%, 7-8% représente 18.69%, >8 représente 28.37%.

II.4.2. Par la méthode immunoturbidimétrie

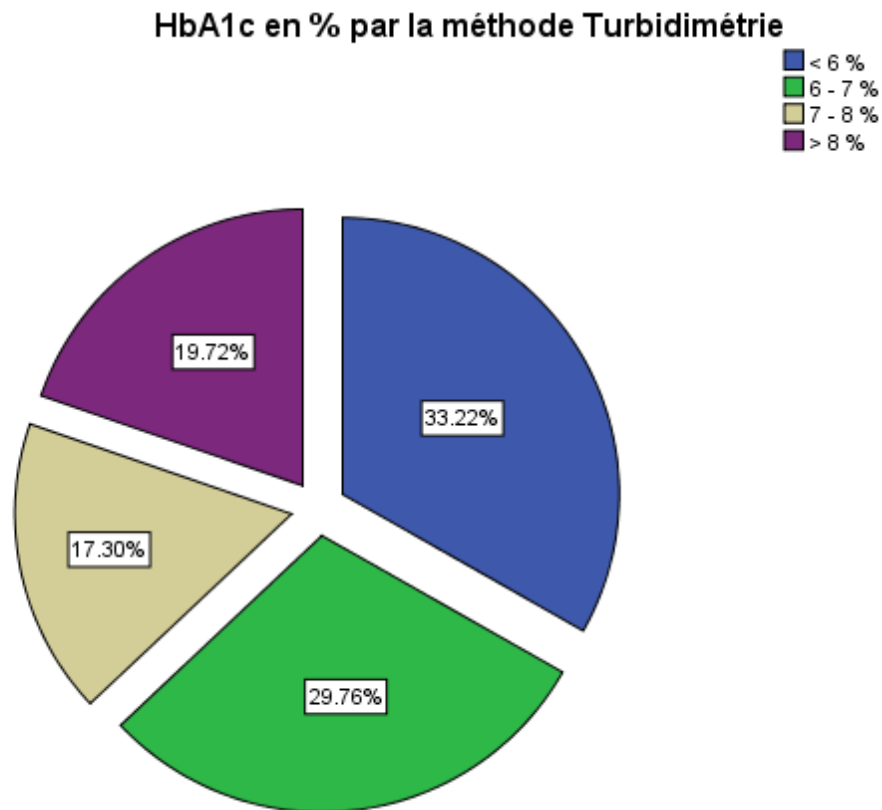


Figure 20 : Répartition en pourcentage de l'HbA1c par la méthode immunoturbidimétrie

D'après les résultats de l'HbA1c par la méthode immunoturbidimétrie on remarque :

Les patients ont de l'HbA1c <6% représente 33.22%, 6-7% représente 29.76, 7-8% représente 17.30%, et >8% représente 19.72%.

II.5. Corrélation entre la glycémie et la HbA1c

Il s'agit d'une étude de corrélation entre le taux de la glycémie et l'HbA1c pour chaque méthode (HPLC, turbidimétrie), les résultats sont représentés dans les figures 21, 22 :

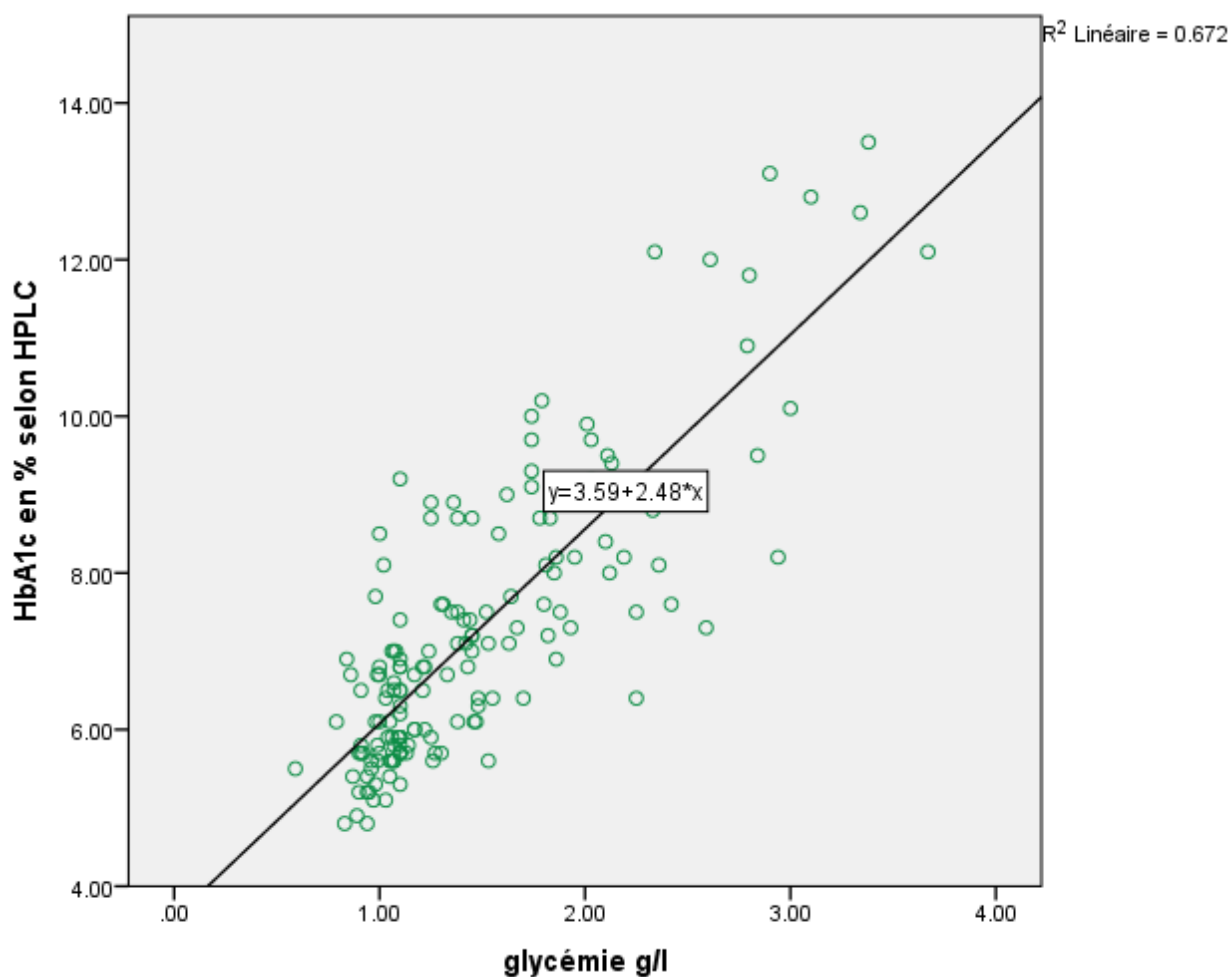


Figure 21 : Tracé comparatif des résultats observés entre la glycémie et l'HbA1c par l'HPLC

La corrélation entre la glycémie et l'HbA1c par l'HPLC est positive (HPLC r de **Bra-**
vais Pearson = 0.82) et significative avec un $p < 0.001$. L'équation de la régression linéaire est:

$$\text{HbA1c} = 2.48 \times (\text{glycémie à jeun}) + 3.59$$

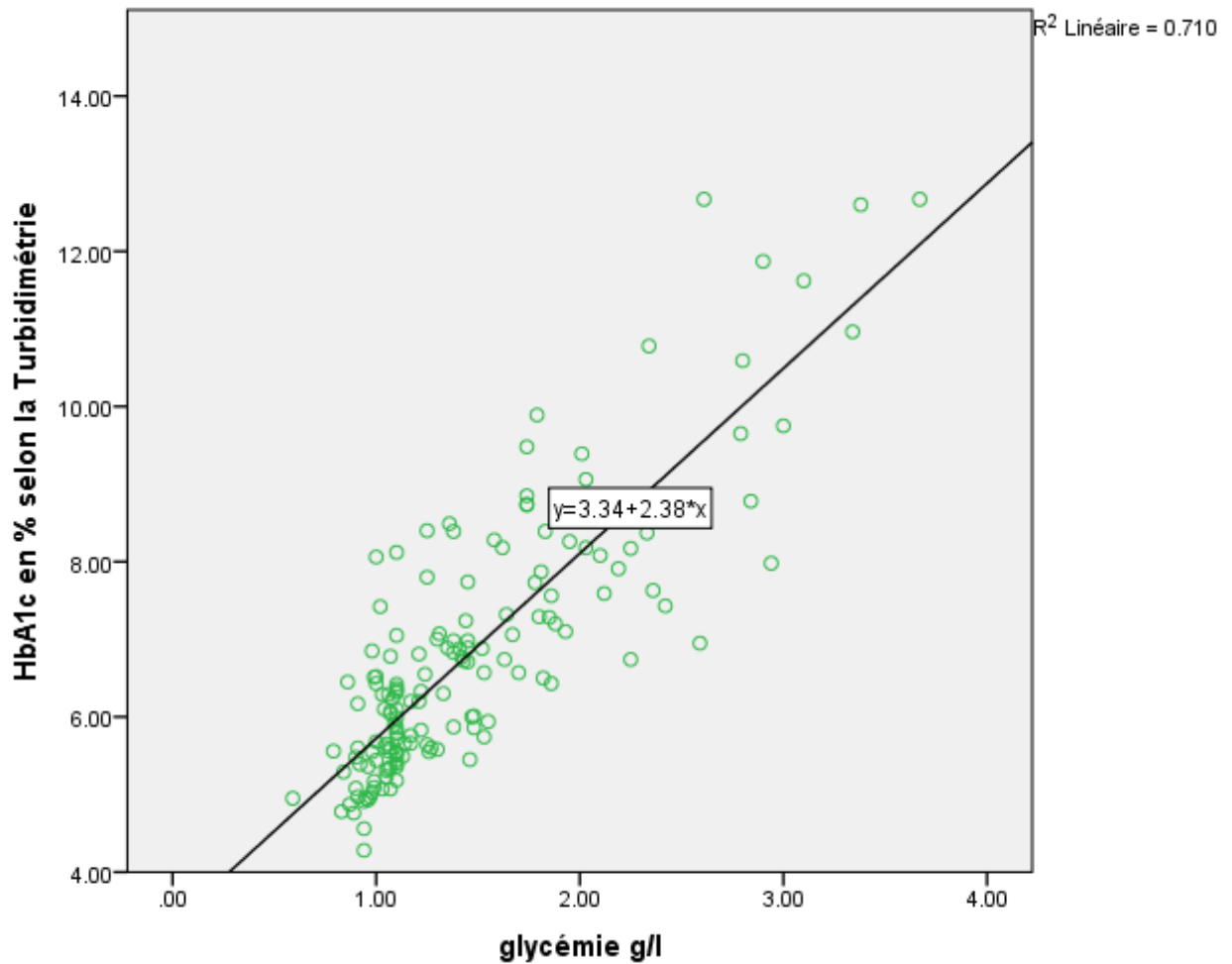


Figure 22 : Tracé comparatif entre la glycémie et l'HbA1c par la turbidimétrie

La corrélation entre la glycémie et l'HbA1c par la turbidimétrie est positive (r de **bravais pearson** = 0.843) et significative avec un $p < 0.001$. L'équation de la régression linéaire est :

$$\text{HbA1c} = 2.38 \times (\text{glycémie à jeun}) + 3.34 (\text{turbidimétrie})$$

II.6. Corrélation entre les deux méthodes

Il s'agit d'une étude de corrélation pour toutes les valeurs du dosage de l'HbA1c obtenue par deux méthodes (HPLC et turbidimétrie) ainsi que pour une série des patients (20 sujets) ayant une anomalie de l'hémoglobine.

Les résultats de cette étude représentée dans les figures suivantes :

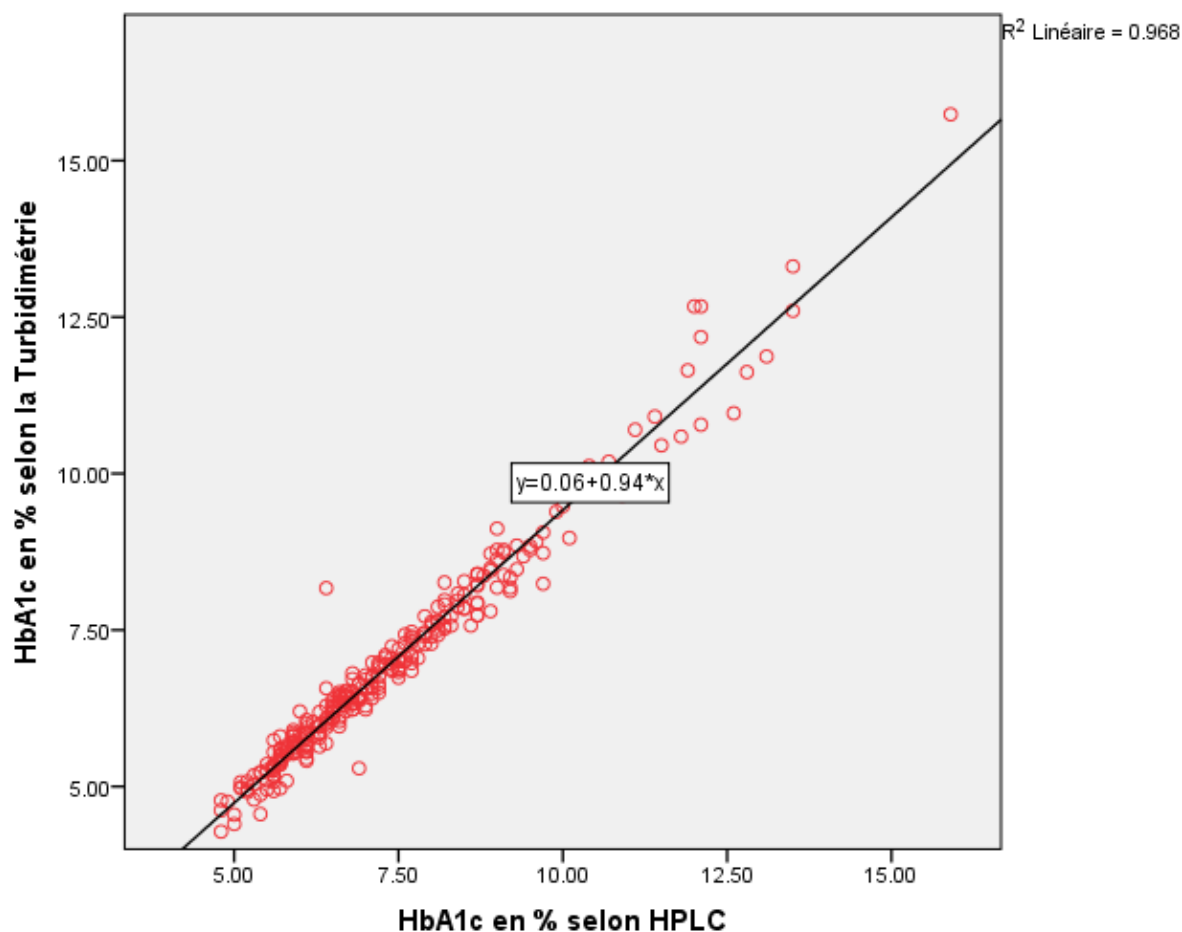


Figure 23 : Tracé comparatif pour toutes les valeurs du dosage de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes (HPLC et la turbidimétrie)

La corrélation l'HbA1c est très positive (r de **Bravais Pearson** = 0.984) et très significative avec un $p < 0.001$. L'équation de la régression linéaire : $\text{HbA1c (turbidimétrie)} = 0.06 + 0.94 \times \text{HbA1c (HPLC)}$

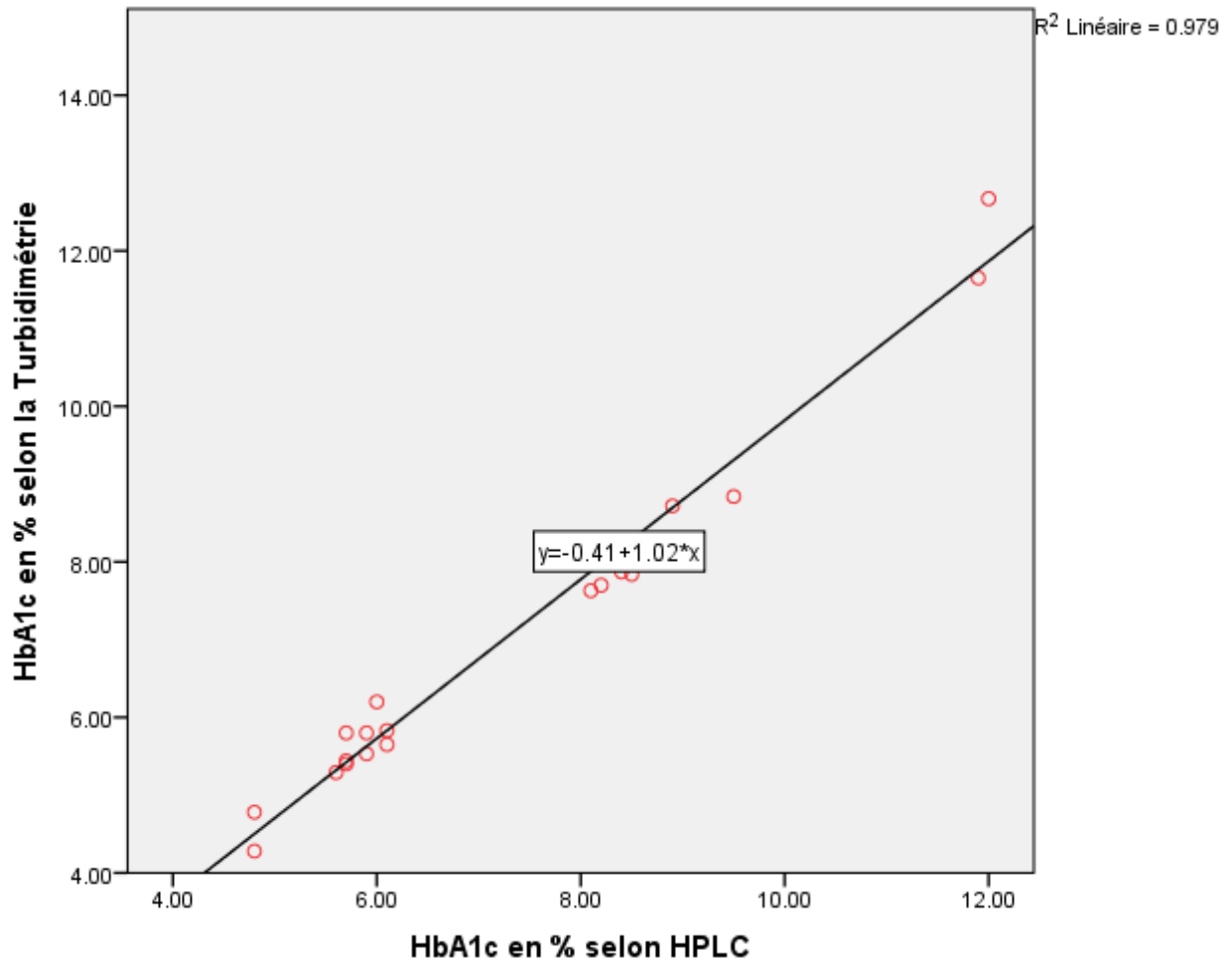


Figure 24 : Tracé comparatif du taux de l'HbA1c pour une série des patients (20 sujets) ayant une anomalie de l'Hb par les deux méthodes (HPLC et la turbidimétrie)

La corrélation est très positive (r de **Bravais Pearson** =0.989) et très significative avec un $p < 0.001$.

L'équation de la régression linéaire : $\text{HbA1c (turbidimétrie)} = 0.41 + 1.02 \times \text{HbA1c (HPLC)}$

II.7. Etude de la répétabilité

Pour l'étude de l'imprécision intra série (répétabilité) nous avons dosé l'HbA1c par les deux méthodes 10 fois dans la même série pour chacun des deux niveaux de contrôle : bas (5.5%) et haut (10).

Les coefficients de variation sont reportés dans le tableau XI:

Tableau XI : Résultats de l'étude de la répétabilité

Echantillon de contrôle de qualité	HbA1c (HPLC)		HbA1c (turbidimétrie)	
	Bas	Haut	Bas	Haut
N	10	10	10	10
Moyenne	5.72	11.15	5.18	9.49
Ecart-type	0.078	0.42	0.15	0.036
Coefficient de variation (CV) %	1.36 %	3.7 %	2.89 %	0.37 %
Limites acceptable	3.8 %	3.8 %	3.8 %	3.8 %

Coefficients de variation respectifs sont de 1,36 % et 3.7 % (HPLC), 2.89% et 0.37% (turbidimétrie).

II.8. Test t de student :

Tableau XII : Statistiques des échantillons appariés

	Moyenne	N	Ecart type
HbA1c en % selon HPLC	7.3176	289	1.78666
HbA1c en % selon la Turbidimétrie	6.9078	289	1.69921

Tableau XIII : statistique différentiel des échantillons appariés

Test des échantillons appariés									
		Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatéral)
		Moyenne	Ecart type	Moyenne erreur standard	Intervalle de confiance de la différence à 95 %				
					Inférieur	Supérieur			
Paire 1	HbA1c en % selon HPLC - HbA1c en % selon la Turbidimétrie	.40985	.32457	.01909	.37227	.44743	21.467	288	.000

D'après les deux tableaux on a pu constater que :

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode turbidimétrique = 6.9078 %

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC = 7.3176 %

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0.40985

Signification : valeur-p < 0.001

CHAPITRE III :

DISCUSSION

Le diabète est une maladie aggravant l'invalidité, provoquant la diminution de l'espérance de vie, et engendrant de forts coûts médicaux. L'HbA1c joue un rôle important, non seulement dans le suivi de l'équilibre du diabète, mais aussi dans la prévention des complications du diabète.

Dans notre étude, les femmes représentent 58.48% de notre population. Nous ne pouvons pas affirmer à partir de ce pourcentage une prévalence plus élevée des sujets du sexe féminins comparés à ceux du sexe masculin. Ceci peut être en relation avec notre petit échantillon choisi et par occurrence à la période d'étude. En effet, la prédominance du sexe féminin dans la population diabétique de type 2 avait été rapportée par plusieurs études en l'occurrence celle de **[Glitho, S. 2006] [54]** son étude montre que huit (8) contre sept (7) hommes sont diabétique soit des pourcentage respectifs de 53.33% et de 46.67%, **Habi, M. A.(2015) [55]** qui a démontré que 73% des sujets atteints de diabète sont des femmes contre 27% d'hommes, **RAHAL Fouzia, BELMEHDI Amina (2017) [56]**, l'analyse des résultats montre qu'il existe significativement plus de sujets féminins dans l'échantillon soit 53 % de l'effectif total que de sujets masculins 47 %.

La tranche d'âge la plus fréquente est de 55 à 60 ans chez les sujets de sexe féminin avec une moyenne de 53.86 ans et de 60 à 65 ans chez les hommes avec une moyenne de 56.11 ans. Pour les deux sexes la tranche d'âge de 55-65 est la plus fréquente avec une moyenne de 54.80 ans. L'âge moyen de nos malades est légèrement supérieur à celui observé par **(Youssouf, 2007) [57]** au Mali (51,5 ans) avec des extrêmes de 24 à 79 ans et **(Mohammed et al., 2007) [58]** au Maroc (53 ans) avec des extrêmes de 17 à 84 ans, une étude réalisé par **Parfait et Faoziath Doffon et Bakary university d'Abomey Calavi (2009) [59]** a démontré que 14 patients sur 25 ont un âge compris entre 40 et 50 ans soit 56.66% des patients ayant composé son cohorte. Ces résultats confirment nos études bien que la tranche d'âge la plus fréquente est de 60 à 65 ans.

Le taux de la glycémie montre que 48.75% > 1.26 g/l (diabétique), et 20% 1.10-1.26 (intolérance au glucose). Il est très connu que le diagnostic du diabète repose sur la glycémie à jeun. Pour la première fois, un comité d'experts internationaux s'est réuni afin de définir les normes de l'hémoglobine glyquée qui pourraient servir pour le diagnostic de diabète.

Ce travail a été publié dans le **Journal of the American Medical Association (JAMA)**, revue très lue par les médecins.

Une étude multicentrique internationale menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la relation existant entre la valeur de l'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents a montré une corrélation significative entre la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée [61].

Nos résultats ont montré qu'il existe une corrélation très significative entre le pourcentage d'hémoglobine glyquée et la glycémie ($r = 0,82$ HPLC, $r = 0.843$ turbidimétrie). A priori, cela laisse penser que la détermination de l'HbA1c suffit pour préjuger de l'évolution de la maladie.

L'hémoglobine glyquée est un bon indicateur de la présence du glucose dans notre organisme. Il témoigne de certains mécanismes qui peuvent conduire à des complications oculaires, rénales, vasculaires ou neurologiques. souligne le **Pr Reach**.

« En-dessous de 7%, c'est un diabète équilibré, entre 7% et 8% mal équilibré, entre 8% et 10% intervention thérapeutique et au-delà de 10% c'est catastrophique. »

La répartition des patients en fonction du taux de l'hémoglobine glyquée chez nos sujets étudiés donne des pourcentages élevés entre 7 et 8% et supérieur à 8%. Ce résultat montre que la majorité de ces patients étudiés ont un diabète mal équilibré.

Le dosage de l'HbA1c bénéficie actuellement d'une vingtaine de techniques différents disponible sur le marché, cette variabilité des méthodes d'analyse considéré parmi les facteurs favorisant la variation des valeurs de l'HbA1c, notre étude basée sur la comparaison entre deux méthodes qui sont la méthode HPLC (bio-rad D-10, Turbo Variant II) et immunoturbidimétrie (Cobas-integra 400 plus).

Les résultats obtenus avec le Bio-rad D-10 et turbo variant II sont nettement élevés qu'avec le Cobas-integra 400 plus. Pour assurer la transférabilité des résultats fournis par les deux analyseurs, il est nécessaire d'appliquer l'équation de régression comme le recommandent l'IFCC et le NGSP, en vue de ne pas rendre un résultat pathologique à un patient sain et modifier ainsi la décision clinique et la prise en charge thérapeutique.

Délai de réponse des résultats pour Bio-rad D-10 est 3 min et Turbo Variant II 1.5 min pour chaque échantillon ; le Cobas-integra donne une réponse après 13 min pour le premier échantillon et 1 min pour les résultats suivants.

La technique chromatographique permet la mise en évidence des variants de l'hémoglobine sur les tracés chromatographique, ces anomalies de l'hémoglobine peuvent passer inaperçue en cas de dosage de l'hémoglobine glyquée par la méthode immunoturbidimétrie sur le Cobas-integra 400 plus et ne seront donc pas prises en considération lors de l'interprétation des résultats.

Nous n'avons signalé aucune différence entre les deux appareils dans le dosage de l'HbA1c en cas de la présence de variants (corrélation très significative $r=0.99$).

Certains auteurs, **Lenters-Westra, E., Siebelder, C., Slingerland, R.J., Weykamp, C.W.**, laboratoire de Référence IFCC/NGSP (Laboratoire de Référence Européen, Pays-Bas) ont conclu que la méthode parfaite de mesure de l'HbA1c (en cas des variants S, D, H, E et J) n'a pas encore été élaborée et le choix entre les différentes méthodes existantes se fera en fonction des priorités du laboratoire.

Le calcul de la régression linéaire montre une excellente corrélation ($r = 0,98$), statistiquement très significative ($p < 0.001$) entre les deux techniques, résultat concordant avec l'étude de (**Anton Szymanowicz, Marie-Jo Neyron, Ann Biol Clin** 2010 ; 68 (2) : 227-33) qui ont trouvés ($r = 0,996$) [62].

Les équations obtenues sont comparables à la relation reliant les deux méthodes de standardisation NGSP du programme américain certifiant le D-10®, et IFCC qui certifie la technique adapté sur le Cobas-Intégra®, rappelée ici : $NGSP = (0,915x IFCC) + 2,15$. Cette relation a été établie par les membres des deux groupes d'experts **NGSP** et **IFCC** dans un souci de standardisation et de transférabilité des résultats.

Nos résultats montrent que les coefficients de variation sont inférieurs à 3.8%, le critères de précision (répétabilité) est satisfaisant et réponde aux exigences émises par la **SFBC** (Société Française de Biologie Clinique) et les sociétés scientifiques de diabétologie et l'AFSSAPS (Agence national de sécurité du médicament et des produits de santé). Les résultats objectivés par la présente étude sont comparables à ceux obtenus avec d'autres analyseurs.

La comparaison des moyennes de l'HbA1c des 289 patients donne une moyenne de 7,32 % (HPLC), 6,9 % (immunoturbidimétrique) avec un $p < 0.001$, résultat concordant avec l'étude de (**Lamri.M.A**, Congres de biologie médicale et de médecine de laboratoire 6 et 7 Mai 2018) [63] qui a trouvé une moyenne de 7,46 % (HPLC), 6,78 % (immunoturbidimétrique) avec un $p < 0.001$ et conclu qu'il y a une différence significative d'où l'intérêt de garder la même technique de dosage de l'HbA1c pour le bon suivi des malades diabétiques.

CONCLUSION

Le dosage de l'HbA1c représente un paramètre de référence pour la surveillance de l'équilibre glycémique. Il revient au biologiste de connaître les limites de la méthode utilisée afin d'avoir un regard critique sur les résultats et d'apporter une aide à l'interprétation.

L'objectif de ce travail consiste à l'évaluation d'un analyseur de HbA1c : le Bio-rad D-10 et Turbo Variant II utilisant la méthode chromatographique et à comparer ses performances analytiques à celle de l'analyseur Cobas-integra 400 plus utilisant une méthode immunoturbidimétrique.

Le Bio-rad D-10 et Turbo Variant II permet un dosage de l'HbA1c facile et d'une praticabilité satisfaisante. Sa simplicité d'emploi et sa cadence en font un automate particulièrement adapté aux laboratoires traitant une grande quantité de prélèvements.

Il présente l'avantage de fournir des graphiques pour le contrôle qualité et des résultats exploitables d'HbA1c en présence des variants d'hémoglobine les plus courants notamment l'HbS et l'HbC.

Le principal inconvénient que nous avons relevé lors de cette validation est la nécessité d'effectuer une pré dilution pour les échantillons de faible volume et d'identifier manuellement tous les échantillons pré dilués.

Sous ce type de réserve, le D-10 et Turbo Variant II est donc des appareils intéressants puisqu'il permet à de nombreux laboratoires de disposer d'un petit automate d'HPLC à la fois fiable et facile d'utilisation répondant aux exigences des critères de certification NGSP. Il semble donc répondre aux attentes des biologistes et aux exigences des cliniciens et paraît compétitif au sein des analyseurs d'HbA1c présents sur le marché.

Le Cobas-integra 400 plus, ce test ne donne aucune indication quant à la présence ou non d'une variante. Cependant, l'essai immunologique ne nécessite pas d'identifier les variantes individuelles de l'Hb car toutes les formes de l'Hb sont comprises dans le calcul de l'HbA1c. Ces limites de l'utilisation dépendent de l'épitope reconnu.

Mais concernant le taux de l'HbA1c donnée par les deux analyseurs, on a trouvé une corrélation très significative, même dans le cas des variants hétérozygotes de l'hémoglobine.

Certains laboratoires pourront opter pour l'utilisation d'un essai immunologique afin d'obtenir un résultat rapide et fiable de l'HbA1c sans tenir compte de la présence ou de l'absence d'une variante de l'hémoglobine. D'autres laboratoires en revanche chercheront à

identifier la présence d'une variante et opteront pour une CLHP à échange de cations accompagnée (dans le meilleur des cas) d'un algorithme de vérification associé afin d'éviter tout résultat erroné. Chaque laboratoire pourra donc avoir donc une approche différente quant aux avantages/ inconvénients des différentes méthodes de mesure de l'HbA1c.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. International Diabetes Federation (IFD). Diabetes. Atlas, third edition 2006
2. **Bauduceau B., Bordier L., Dupuy C., Mayaudon H.** 2010. La prise en charge du diabète type 2 : l'HbA1c reste-t-elle le seul objectif. *Médecine Nucléaire* 34. pp 561
3. American Diabetes Association. (2008) Standards of Medical Care in Diabetes; *Diabetes*; 31 (1); S12-S54
4. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 2017; 40(Supplement 1): S11-S24; DOI: <https://doi.org/10.2337/dc17-S005>.
5. **Wémeau J.L.** 2014. Chapitre 15- Le diabète de type 1. *Endocrinologie, Diabète, Métabolisme et Nutrition pour le Praticien* ; pp 215-225.
6. **GAMOUEH C., KEDISSA S.** (2016). Etude comparative des différents paramètres biochimiques chez les diabétiques de type 1 et de type 2. Mémoire de master Université des Frères Mentouri Constantine. Pp 3 29.
7. **Blickle J.F.** 2011. Chapitre 15 - Diabète. *Nutrition clinique pratique* ; pp 183-200.
8. **Blickle J.F.** 2014. Chapitre 17 - Diabète. *Nutrition Clinique Pratique (2ème édition)*. pp 189-206.
9. Classification and Diagnosis of Diabetes. American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2016 Jan; 39(Supplement 1): S13-S22.
10. Rapport mondial sur le diabète. Organisation mondiale de la Santé, Genève, 2016.
11. **Blickle J.F.** .Complications métaboliques aiguës(comas chez le diabétique) .Livre,Masson éd.292-296 Buffet C ,Vatier C. *Endocrinologie diabétologie nutrition* .Paris : Elsevier Masson ;2010.
12. **West KM.** Substantial differences in the diagnostic criteria used by diabetes experts. *Diabetes* 1975; 24: 641-4.
13. **Pandit MK, Burke J, Gustafson AB, Minocha A, Peiris AN.** Drug-induced disorders of glucose tolerance. *Ann Int Med* 1993 ; 118 : 529-40.

14. **Zimmet P, King H, Raylor R, et al.** The high prevalence of diabetes mellitus, impaired glucose tolerance and diabetic retinopathy in Nauru. *Diabetes Res* 1984 ; 1 : 13-8.
15. **Phelps G, Chapman I, Hall P, Braund W, Mackinnon M.** Prevalence of genetic haemochromatosis among diabetic patients. *Lancet* 1989 ; ii : 233-4.
16. **Assan R, Perrone C, Assan D, et al.** Pentamidine-induced derangements of glucose homeostasis. *Diabetes Care* 1995 ; 18 : 47-55.
17. Vidal, mis à jour le 24/01/2019, Les différentes insulines commerciales
18. **Elgrably F.** Prise en charge du diabète de type 2. *Médecine Thérapeutique Médecine Re-prod.* 1 janv 2005;7(1):45-7.
19. **WAJCMAN H.** Hémoglobines : structure et fonction. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie (2005), 13-000-R-60.
20. **SOBHANIFAR S. (2015).** Blood Substitute Anyone. Faculty of medicine-Centre for Blood Research (CRB), Canada.
21. **WAJCMAN H.** Hémoglobines : structure et fonction. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie (2005), 13-000-R-60.
22. **PROCOPIOU M. (2006).** Hémoglobine glyquée : mise au point et nouveautés. *Revue Médicale Suisse.* 31392
23. **MONNIER L., COLLETE C. (2017).** Discordance entre l.HbA1c et résultat de l'auto surveillance glycémique. Elsevier Masson.
24. **DB Sacks.,** Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Textbook of clinical
25. **MF Rossier.** Nature et dosage de l'HbA1c Formation ICHV ; 2014
26. **Revue Francophone des Laboratoires**, volume 2018, Issue 502, Pages 48-55. Les produits de glycation avancée des protéines. **Bunn et ses collaborateurs** en 1975.
27. **QIRAOUANI-BOUCETTA H. (2015).** Dosage de l'Hémoglobine glyquée (HbA1c). Mémoire de Licence, université Sidi Mohamed Ben Abdallah – FES, Maroc. Pp 1-9

28. **RAZZOUKIL. (2016).** Étude de la corrélation entre la glycémie postprandiale et la glycémie moyenne calculée à partir de l'HbA1c chez une population de diabétiques. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc. Pp 30.32.
29. **DM Nathan, J Kuenen, R Borg, H Zheng, et al.** Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care.* 2008; 31: 1473–8.
30. **C Marzullo et M Minery.** Évaluation de l'analyseur D10® pour le dosage de l'hémoglobine A 1C. In : *Annales de Biologie Clinique.* 2008. p. 95-99.
31. **R Hanas, G John.** International HbA(1c) Consensus Committee. 2010 consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement. *Clin Chem.* 2010; 56 :1362–4.
32. **Amemiya S, et al. Rinsho Byori.** 2013The worldwide standardization of hemoglobin A1c measurement.
33. **Dr. Edith Bigot, C.** 2012, Méthodes de dosage de l'Hba1c surveillance du sujet diabétique, Université de NANTES, France. pp 30.
34. **PROCOPIOU M.** (2006). Hémoglobine glyquée : mise au point et nouveautés. *Revue Médicale Suisse.* 31392.
35. **Constans T.** 2005. Plasma glucose goals and therapeutic management in elderly diabetic patients. *Diabetes Metab;* 31:5S58–61.
36. **M Fonfrede.** Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable?. *Spectra biologie.* 2006 ; 152 : 48-53.
37. **P Gillery, G Hue, et al.** Dosage de l'hémoglobine A1C et hémoglobinopathies: problèmes posés et conduite à tenir. *Annales de Biologie Clinique.* 2000 ; 58 : 425-429.
38. **WJ Schneddl, R Krause, G Halwachs – Baumann, et al.** Evaluation of HbA1c determination methods in patients with hemoglobinopathies. *Diabetes Care.* 2000; 23 : 339-344.
39. **MP Hermans et D Amoussou.** Complications métaboliques de l'obésité. *LOUVAIN MED.* 2000 ; 119: S283-S287.

40. **ALIOUNE C.** (2014). Facteurs associés au mauvais contrôle glycémique dans une population de diabétiques de type 2 de l'Afrique Sub-saharienne. Thèse de doctorat, Université Européenne de Bretagne Rennes 1, France. Pp 20 – 47.
41. **Cersosimo E, Pister PWT, Pesola G, McDermott K, Bajorunas D, Brennan MF.** Insulin secretion and action in patients with pancreatic cancer. *Cancer* 1991 ; 67 : 486-93.
42. **Robert JJ, Grasset E, De Montalembert M, Chevenne D, Deschamps I, Boitard C, Lenoir G.** Recherche des facteurs d'intolérance au glucose dans la mucoviscidose. *Arch Fr Pediat* 1992 ; 49 : 17-22.
43. **Berelowitz M, Eugene HG.** Non-insulin dependent diabetes mellitus secondary to other endocrine disorders. In : *Diabetes mellitus*. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM eds, Lippincott-Raven, New York 1996, p. 496-502.
44. **Assan R, Perrone C, Assan D, et al.** Pentamidine-induced derangements of glucose homeostasis. *Diabetes Care* 1995 ; 18 : 47-55.
45. **Fabris P, Betterle C, Floreani A, et al.** Development of type 1 diabetes mellitus interferon alpha therapy for chronic HCV hepatitis. *Lancet* 1992 ; 340 : 548.
46. **Solimena M, Butler MH, De Camilli P.** GAD, diabetes and stiff-man syndrome : some progress and more questions. *J Endocrinol Invest* 1994 ; 17 : 509-20.
47. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979 ; 28 : 1039-57.
48. **Rimoin DL.** Genetic syndromes associated with glucose intolerance. In : *The genetics of diabetes mellitus*, Berlin, Springer-Verlag, 1976.
49. **Ongagna JC, Lévy-Marchal C.** Sensitivity at diagnosis of combined beta-cell autoantibodies in insulin-dependent diabetic children. *Diabetes & Metabolism* 1997 ; 23 : 155-60.
50. **Christie MR, Roll U, Payton MA, Hatfield ECI, Ziegler AG.** Validity of screening for individuals at risk for type 1 diabetes by combined analysis of antibodies to recombinant proteins. *Diabetes care* 1997 ; 20 : 965-70.

51. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997 ; 20 : 1183-97.
52. **Brunzell JD, Robertson RP, Lerner RL, et al.** Relationships between fasting plasma glucose levels and insulin secretion during intravenous glucose tolerance tests. *J Clin Endocrinol Metab* 1976 ; 42 : 222-9.
53. **McCartney, Keen P, Jarrett RJ. The Bedford Survey** : observations on retina and lens of subjects with impaired glucose tolerance and in controls with normal glucose tolerance. *Diabetic Med* 1983 ; 9 : 303-5.
54. **Glitho S. 2006.** Trouble digestif au cours du diabète, une étude épidémiologique au sein de la population des diabétiques suivis à Cotonou et à Porto-Novo. Thèse med. Cotonou, Faculté des sciences et de la santé, n°1282 : 103
55. **Habi, M. A. (2015)** Dosage de l'hémoglobine glyquée dans une population de Tlemcen : Étude transversale.
56. **RAHAL Fouzia, BELMEHDI Amina.(2017)** Etude comparative d'hémoglobine glyquée et du glucose sanguin chez les diabétiques type 2 dans la région de Mostaganem
57. **Youssouf, 2007** Etude épidémiologique sur les facteurs de risque associés au diabète de type 2
58. **Mohammed et al., 2007** A comparative study on diabetes disease diagnostic using neural network
59. **Parfait et Faoziath Doffon et Bakary university d'Abomey Calavi (2009)** étude comparative de l'hémoglobine glyquée et du glucose sanguin chez les hyperglycémies diabétiques.
60. HAS : Haute Autorité de Santé (association européenne) en juillet 2007.
61. **Nathan et al, 2008,** Value of Risk Stratification to Increase the Predictive Validity of HbA1c in Screening for Undiagnosed Diabetes in the US Population.
62. **Anton Szymanowicz, Marie-Jo Neyron, Ann Biol Clin 2010 ; 68 (2) : 227-33** qui ont trouvés ($r = 0,996$). Etude comparative du dosage de l'hémoglobine glyquée par la méthode CLHP sur G8 ® versus Intégra 800 ®.

63. **Lamri.M.A**, Congrès de biologie médicale et de médecine de laboratoire 6 et 7 Mai 2018 ; l'intérêt de garder la même technique de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) pour le suivi du diabète en Algérie.

ANNEXES

Annexe 1 : chromatogramme des variants de l'hémoglobine par l'HPLC (Turbo Variant II)

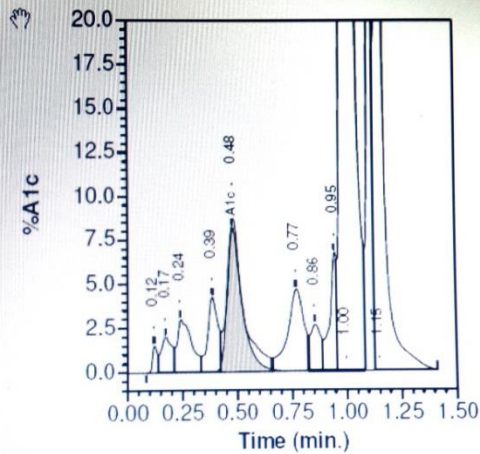
Sample ID: 221041904054 **Analysis Performed:** 21/04/2019 14:44:47
Patient ID: **Injection Number:** 2489
Name: **Run Number:** 141
Physician: **Rack ID:**
Sex: **Tube Number:** 3
DOB: **Report Generated:** 23/04/2019 11:38:19
 Operator ID:

Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.3	0.118	5025
A1a	---	0.8	0.169	15454
A1b	---	1.6	0.238	30136
LA1c	---	1.6	0.385	31997
A1c	8.2*	---	0.481	86561
P3	---	2.8	0.771	53865
P4	---	1.0	0.856	19051
Unknown	---	1.7	0.947	32672
Ao	---	50.9	0.997	988661
Variant Window	---	34.9	1.147	677336

*Values outside of expected ranges

Total Area: 1,940,760

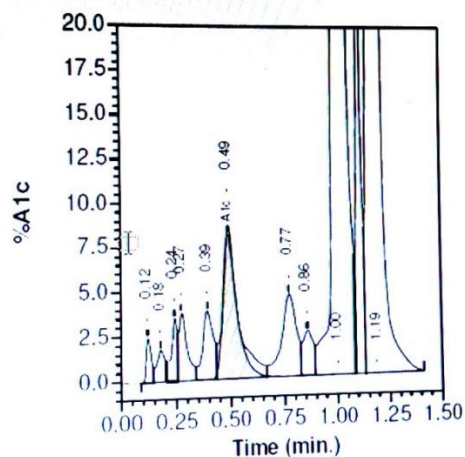
HbA1c (NGSP) = 8.2%*

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.4	0.118	4944
A1a	---	0.5	0.176	5876
A1b	---	0.7	0.240	8794
F	---	1.0	0.273	12653
LA1c	---	1.3	0.392	16394
A1c	8.2*	---	0.491	48091
P3	---	2.4	0.774	29173
P4	---	0.9	0.858	10719
Ao	---	48.5	1.005	592101
C	---	40.3	1.191	491087

*Values outside of expected ranges

Total Area: 1,219,832

HbA1c (NGSP) = 8.2* %



Inj #	RackID	Tube #	Type	Sample ID / Lot Number	Injection Time
3151	0003	1	BL	BL	15:37:09
3152	0003	2	P	205051900854	15:38:45
3153	0003	3	P	205051900855	15:40:21

Expand
 Original
 Auto Scale

The chromatogram shows a similar profile to the first one, with peaks at 0.121, 0.140, 0.176, 0.240, 0.272, 0.394, 0.495, 0.775, 0.860, 1.006, and 1.193 minutes. The peak at 1.006 min is the most prominent.

Peak Name	RT	Area	Area %	Concentration [% NGSP]	Calibrated Area % [% NGSP]
Unknown	0.121	3647	0.4		
Unknown	0.140	4803	0.5		
Unknown	0.176	5338	0.5		
A1a	0.240	6087	0.6		
A1b	0.272	11958	1.1		
F	0.394	12483	1.2		
LA1c	0.495	29740		5.9	5.9
A1c	0.775	21283	2.0		
P3	0.860	7723	0.7		
P4	1.006	553819	53.3		
Ao	1.193	383014	36.8		
C					

Total Area: 1,039,894

Annexe 2 : Electrophorèse de l'hémoglobine

LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0794478357

L.A.B.M: BENHELAL@

Examen du : 16/05/2019

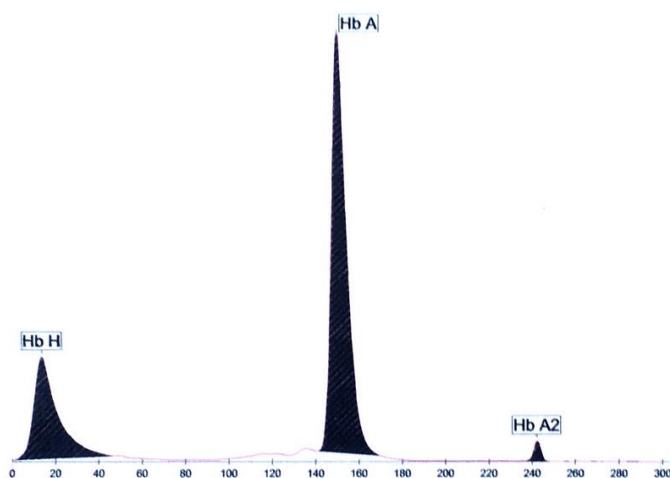
N°: 27

Age 81 ans



Electrophorèse de l'Hémoglobine

CAPILLARYS HEMOGLOBINE



Fractions	%	Ref. %
Hb H	27,3	
Hb A	71,0	
Hb A2	1,7	

Commentaire:

Profil en faveur d'une alpha thalassémie intermédiaire (hémoglobinose H), à confirmer par une enquête familiale.

VALEURS DE REFERENCE : âge supérieur à 6 mois :

Hb A2 : 2,2- 3,2 %

Hb F < 1%

Le biologiste

LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N° 0794450225

L.A.B.M: BENHELAL@

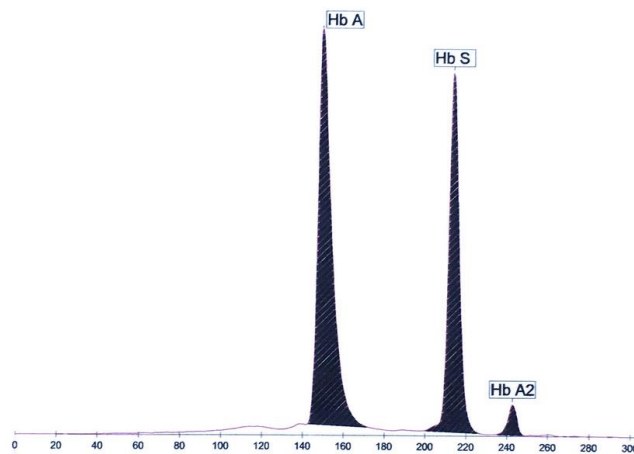
Examen du : 23/04/2019

N° 39

Age 26 ans

**Electrophorèse de l'Hémoglobine**

CAPILLARYS HEMOGLOBINE



Fractions	%	Ref. %
Hb A	57,4	
Hb S	39,7	
Hb A2	2,9	

Commentaire:

Profil en faveur d'une drépanocytose hétérozygote, à confirmer par une enquête familiale.

VALEURS DE REFERENCE : âge supérieur à 6 mois :

Hb A2 : 2,2- 3,2 %

Hb F < 1%

Le biologiste

LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

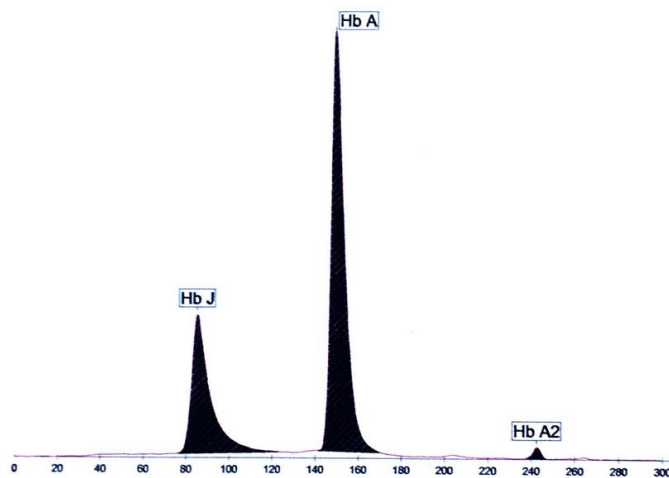
Dossier N°: 0794471141

L.A.B.M: BENHELAL@

Examen du : 08/05/2019

N°: 33

Age 25 ans

**Electrophorèse de l'Hémoglobine****CAPILLARYS HEMOGLOBINE**

Fractions	%	Ref. %
Hb J	31,3	
Hb A	67,6	
Hb A2	1,1	

Commentaire:

Profil en faveur d'une hémoglobinose J, à confirmer par une enquête familiale.

Le biologiste

Annexe 3 : Tableau des données brutes

N°	Sexe	Age	% HbA1c (HPLC)	HPLC Classes	% HbA1c (Turbid)	Turbid Classes	Glycémie g/l	Classes Glycémie	Anomalies Hb
1	M	55	7.9	7 - 8 %	7.4	7 - 8 %			
2	F	56	7.6	7 - 8 %	7.43	7 - 8 %	2.42	> 1.26 g/l	
3	F	62	8.7	> 8 %	8.39	> 8 %	1.38	> 1.26 g/l	
4	M	44	6.8	6 - 7 %	6.72	6 - 7 %	1.43	> 1.26 g/l	
5	M	70	5.7	< 6 %	5.58	< 6 %	1.3	> 1.26 g/l	
6	M	67	7.2	7 - 8 %	6.94	6 - 7 %			
7	F	17	11.4	> 8 %	10.91	> 8 %			
8	F	55	6.6	6 - 7 %	6.36	6 - 7 %			
9	F	80	6.9	6 - 7 %	6.39	6 - 7 %			
10	M	90	8.5	> 8 %	8.06	> 8 %	1	< 1.1 g/l	
11	M	55	6.8	6 - 7 %	6.33	6 - 7 %	1.22	1.1 - 1.26 g/l	
12	F	82	6.3	6 - 7 %	5.96	< 6 %			
13	F	44	5.2	< 6 %	5.08	< 6 %	0.9	< 1.1 g/l	
14	F	70	6.6	6 - 7 %	6.51	6 - 7 %			
15	M	52	6.1	6 - 7 %	6.06	6 - 7 %			
16	F	53	10.2	> 8 %	9.89	> 8 %	1.79	> 1.26 g/l	
17	F	58	8.7	> 8 %	8.39	> 8 %	1.83	> 1.26 g/l	
18	F	25	5.8	< 6 %	5.66	< 6 %	1.14	1.1 - 1.26 g/l	
19	M	39	6.1	6 - 7 %	5.87	< 6 %	1.38	> 1.26 g/l	
20	M	25	12.1	> 8 %	12.67	> 8 %	3.67	> 1.26 g/l	
21	M	76	8.7	> 8 %	7.92	7 - 8 %			
22	F	69	8.7	> 8 %	8.23	> 8 %			
23	F	46	8.4	> 8 %	8.08	> 8 %	2.1	> 1.26 g/l	
24	F	55	5.9	< 6 %	5.64	< 6 %	1.25	1.1 - 1.26 g/l	
25	F	34	6.1	6 - 7 %	5.55	< 6 %	0.98	< 1.1 g/l	
26	F	51	6.9	6 - 7 %	6.65	6 - 7 %			
27	F	50	6.6	6 - 7 %	6.47	6 - 7 %			
28	F	38	5.6	< 6 %	5.18	< 6 %			
29	M	44	5.6	< 6 %	5.74	< 6 %	1.53	> 1.26 g/l	
30	M	66	7.4	7 - 8 %	6.88	6 - 7 %	1.41	> 1.26 g/l	
31	F	60	6.3	6 - 7 %	5.78	< 6 %			
32	M	51	5.8	< 6 %	5.55	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
33	M	39	9.1	> 8 %	8.78	> 8 %	1.93	> 1.26 g/l	
34	F	40	6.8	6 - 7 %	6.33	6 - 7 %			
35	F	46	5.7	< 6 %	5.6	< 6 %	1.27	> 1.26 g/l	
36	M	66	6.6	6 - 7 %	6.42	6 - 7 %			
37	F	45	6.5	6 - 7 %	6.17	6 - 7 %	0.91	< 1.1 g/l	
38	M	53	7.4	7 - 8 %	7.05	7 - 8 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
39	F	26	5.4	< 6 %	4.56	< 6 %	0.94	< 1.1 g/l	
40	M	60	12.1	> 8 %	12.18	> 8 %			
41	F	76	8.2	> 8 %	7.98	7 - 8 %	2.94	> 1.26 g/l	
42	F	64	7.2	7 - 8 %	6.64	6 - 7 %			
43	M	74	7.7	7 - 8 %	7.32	7 - 8 %	1.64	> 1.26 g/l	
44	M	61	7.3	7 - 8 %	7.1	7 - 8 %	1.93	> 1.26 g/l	
45	F	46	6.4	6 - 7 %	6.01	6 - 7 %	1.48	> 1.26 g/l	
46	F	63	6.4	6 - 7 %	6.57	6 - 7 %	1.7	> 1.26 g/l	
47	F	67	5.9	< 6 %	5.81	< 6 %			
48	M	66	6.4	6 - 7 %	6.09	6 - 7 %			
49	F	35	5.8	< 6 %	5.6	< 6 %	0.91	< 1.1 g/l	
50	M	44	7.8	7 - 8 %	7.28	7 - 8 %			
51	F	31	5.4	< 6 %	4.87	< 6 %	0.87	< 1.1 g/l	
52	F	62	5.4	< 6 %	5.23	< 6 %	1.05	< 1.1 g/l	
53	F	58	6.1	6 - 7 %	5.94	< 6 %			
54	M	58	8	> 8 %	7.59	7 - 8 %	2.12	> 1.26 g/l	
55	F	33	5.3	< 6 %	5.03	< 6 %	0.98	< 1.1 g/l	

56	F	30	5.6	< 6 %	5.31	< 6 %	1.05	< 1.1 g/l	
57	M	10	5.2	< 6 %	4.95	< 6 %	0.95	< 1.1 g/l	
58	M	84	6.7	6 - 7 %	6.45	6 - 7 %	0.86	< 1.1 g/l	
59	F	67	6.9	6 - 7 %	6.43	6 - 7 %			
60	M	79	9	> 8 %	8.78	> 8 %			
61	M	4	5.3	< 6 %	4.79	< 6 %			
62	F	40	6.9	6 - 7 %	5.29	< 6 %	0.84	< 1.1 g/l	
63	F	52	10.7	> 8 %	10.19	> 8 %			
64	M	30	8	> 8 %	7.39	7 - 8 %			
65	M	79	10.1	> 8 %	8.97	> 8 %			
66	F	54	6.3	6 - 7 %	5.84	< 6 %			
67	M	72	6.6	6 - 7 %	6.42	6 - 7 %			
68	M	76	7.7	7 - 8 %	7.47	7 - 8 %			
69	M	65	6.7	6 - 7 %	6.2	6 - 7 %	1.17	1.1 - 1.26 g/l	
70	M	54	6.7	6 - 7 %	6.53	6 - 7 %			
71	F	63	6.6	6 - 7 %	6.28	6 - 7 %			
72	F	60	5.9	< 6 %	5.69	< 6 %			
73	M	60	8.7	> 8 %	8.4	> 8 %	1.25	1.1 - 1.26 g/l	
74	M	51	6.9	6 - 7 %	6.43	6 - 7 %	1.86	> 1.26 g/l	
75	F	68	6.8	6 - 7 %	6.23	6 - 7 %			
76	F	35	7.5	7 - 8 %	7.03	7 - 8 %			
77	F	52	12.1	> 8 %	10.78	> 8 %	2.34	> 1.26 g/l	
78	M	65	6.2	6 - 7 %	6.03	6 - 7 %			
79	M	61	8.2	> 8 %	7.91	7 - 8 %	2.19	> 1.26 g/l	
80	F	60	7.1	7 - 8 %	6.98	6 - 7 %	1.38	> 1.26 g/l	
81	F	53	6.9	6 - 7 %	6.64	6 - 7 %			
82	M	50	7.4	7 - 8 %	6.96	6 - 7 %			
83	F	48	6.1	6 - 7 %	5.67	< 6 %			
84	F	57	6.5	6 - 7 %	6.1	6 - 7 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
85	F	63	7	7 - 8 %	6.78	6 - 7 %	1.07	< 1.1 g/l	
86	F	79	6.7	6 - 7 %	6.43	6 - 7 %	1	< 1.1 g/l	
87	F	40	5	< 6 %	4.55	< 6 %			
88	F	69	7	7 - 8 %	6.71	6 - 7 %	1.45	> 1.26 g/l	
89	F	39	5.6	< 6 %	5.17	< 6 %			
90	M	64	13.5	> 8 %	13.31	> 8 %			
91	F	43	5.2	< 6 %	4.91	< 6 %	0.94	< 1.1 g/l	
92	M	8	7.7	7 - 8 %	7.4	7 - 8 %			
93	M	62	8.8	> 8 %	8.37	> 8 %	2.33	> 1.26 g/l	
94	M	43	6	6 - 7 %	5.76	< 6 %	1.17	1.1 - 1.26 g/l	
95	F	43	5.9	< 6 %	5.9	< 6 %	1.09	< 1.1 g/l	
96	F	47	5.9	< 6 %	5.86	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
97	M	45	7.2	7 - 8 %	6.89	6 - 7 %	1.45	> 1.26 g/l	
98	F	68	8.1	> 8 %	7.87	7 - 8 %	1.81	> 1.26 g/l	
99	F	62	6.1	6 - 7 %	5.84	< 6 %			
100	M	63	8.5	> 8 %	8.28	> 8 %	1.58	> 1.26 g/l	
101	F	59	6	6 - 7 %	5.66	< 6 %	1.17	1.1 - 1.26 g/l	
102	F	37	5.9	< 6 %	5.53	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
103	F	78	8.2	> 8 %	7.7	7 - 8 %			HbC 40.3%
104	M	55	6.5	6 - 7 %	6.28	6 - 7 %			
105	M	47	5.7	< 6 %	5.49	< 6 %	1.13	1.1 - 1.26 g/l	
106	F	38	5.4	< 6 %	5.22	< 6 %			
107	F	62	5.6	< 6 %	5.33	< 6 %			
108	M	51	7.3	7 - 8 %	7.06	7 - 8 %	1.67	> 1.26 g/l	
109	F	84	6.5	6 - 7 %	6.34	6 - 7 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
110	M	62	9.1	> 8 %	8.74	> 8 %	1.74	> 1.26 g/l	
111	F	53	6.4	6 - 7 %	6.29	6 - 7 %	1.03	< 1.1 g/l	
112	F	54	6.7	6 - 7 %	6.3	6 - 7 %	1.33	> 1.26 g/l	
113	F	49	6.1	6 - 7 %	5.85	< 6 %			
114	M	77	15.9	> 8 %	15.74	> 8 %			

115	M	54	6.6	6 - 7 %	6.44	6 - 7 %			
116	F	59	7.2	7 - 8 %	6.98	6 - 7 %	1.45	> 1.26 g/l	
117	F	38	7.9	7 - 8 %	7.72	7 - 8 %			
118	F	38	5.9	< 6 %	5.72	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
119	F	67	6.4	6 - 7 %	5.69	< 6 %			
120	M	35	6.4	6 - 7 %	8.17	> 8 %	2.25	> 1.26 g/l	
121	M	60	9	> 8 %	8.63	> 8 %	2.25	> 1.26 g/l	
122	M	52	6.8	6 - 7 %	6.42	6 - 7 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
123	F	78	8.9	> 8 %	8.49	> 8 %	1.36	> 1.26 g/l	
124	F	58	7.1	7 - 8 %	6.77	6 - 7 %	1.42	> 1.26 g/l	
125	M	7	8	> 8 %	7.63	7 - 8 %			
126	F	69	7.4	7 - 8 %	7.24	7 - 8 %	1.44	> 1.26 g/l	
127	M	65	6.6	6 - 7 %	6.35	6 - 7 %			
128	M	40	5.9	< 6 %	5.81	< 6 %			
129	F	37	6.6	6 - 7 %	6.04	6 - 7 %	1.07	< 1.1 g/l	
130	F	72	8.2	> 8 %	8.26	> 8 %	1.95	> 1.26 g/l	HbS 39.7%
131	F	76	5.5	< 6 %	4.95	< 6 %	0.59	< 1.1 g/l	
132	F	52	6.8	6 - 7 %	6.81	6 - 7 %	1.21	1.1 - 1.26 g/l	
133	M	44	11.1	> 8 %	10.7	> 8 %			
134	F	57	5	< 6 %	4.4	< 6 %			
135	F	41	9.9	> 8 %	9.39	> 8 %	2.01	> 1.26 g/l	
136	F	42	10.1	> 8 %	9.75	> 8 %	3	> 1.26 g/l	
137	M	43	9	> 8 %	9.12	> 8 %			
138	F	36	5.6	< 6 %	5.33	< 6 %	1.06	< 1.1 g/l	
139	F	56	6.7	6 - 7 %	6.51	6 - 7 %	0.99	< 1.1 g/l	
140	F	37	5.5	< 6 %	5.26	< 6 %			
141	M	67	10.4	> 8 %	10.12	> 8 %			
142	M	66	8.6	> 8 %	7.57	7 - 8 %			
143	M	60	8.7	> 8 %	7.74	7 - 8 %	1.45	> 1.26 g/l	
144	M	67	6.6	6 - 7 %	5.96	< 6 %			
145	M	58	6.3	6 - 7 %	5.86	< 6 %	1.48	> 1.26 g/l	
146	M	41	8.2	> 8 %	7.52	7 - 8 %			
147	F	49	10.9	> 8 %	9.65	> 8 %	2.79	> 1.26 g/l	
148	F	73	7.2	7 - 8 %	6.5	6 - 7 %	1.82	> 1.26 g/l	
149	M	60	5.5	< 6 %	5.36	< 6 %	0.96	< 1.1 g/l	
150	F	60	8.7	> 8 %	7.73	7 - 8 %	1.78	> 1.26 g/l	
151	F	66	9.4	> 8 %	8.68	> 8 %	2.13	> 1.26 g/l	
152	M	67	7.7	7 - 8 %	6.85	6 - 7 %	0.98	< 1.1 g/l	
153	M	63	7.2	7 - 8 %	6.76	6 - 7 %			
154	M	76	6.6	6 - 7 %	6.1	6 - 7 %			
155	M	55	5.5	< 6 %	5.1	< 6 %			
156	M	51	9.3	> 8 %	8.47	> 8 %			
157	F	46	8.3	> 8 %	7.57	7 - 8 %			
158	M	32	7.1	7 - 8 %	6.41	6 - 7 %			
159	F	49	9.1	> 8 %	8.38	> 8 %			
160	F	72	9.7	> 8 %	8.73	> 8 %	1.74	> 1.26 g/l	
161	M	87	7.6	7 - 8 %	7	7 - 8 %	1.3	> 1.26 g/l	
162	M	50	6.5	6 - 7 %	6.1	6 - 7 %	1.04	< 1.1 g/l	
163	M	70	8	> 8 %	7.28	7 - 8 %	1.85	> 1.26 g/l	
164	M	84	6.5	6 - 7 %	6.2	6 - 7 %	1.21	1.1 - 1.26 g/l	
165	F	60	6.4	6 - 7 %	5.94	< 6 %	1.55	> 1.26 g/l	
166	M	34	5.7	< 6 %	5.36	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
167	F	74	8.7	> 8 %	7.94	7 - 8 %			
168	F	20	8.7	> 8 %	8.21	> 8 %			
169	F	69	8.5	> 8 %	7.85	7 - 8 %			
170	F	60	9	> 8 %	8.18	> 8 %	1.62	> 1.26 g/l	
171	M	63	7.6	7 - 8 %	7.29	7 - 8 %	1.8	> 1.26 g/l	
172	F	52	5.7	< 6 %	5.39	< 6 %	0.92	< 1.1 g/l	
173	M	55	7.1	7 - 8 %	6.6	6 - 7 %			

174	F	70	7	7 - 8 %	6.55	6 - 7 %	1.24	1.1 - 1.26 g/l	
175	F	53	9.5	> 8 %	8.84	> 8 %	2.11	> 1.26 g/l	HbS 28.8%
176	F	59	9.5	> 8 %	8.78	> 8 %	2.84	> 1.26 g/l	
177	F	58	7.5	7 - 8 %	6.88	6 - 7 %	1.52	> 1.26 g/l	
178	M	53	4.8	< 6 %	4.62	< 6 %			
179	F	62	6.3	6 - 7 %	6.19	6 - 7 %			
180	M	60	8.1	> 8 %	7.42	7 - 8 %	1.02	< 1.1 g/l	
181	M	25	5.1	< 6 %	4.97	< 6 %	0.97	< 1.1 g/l	
182	F	67	11.8	> 8 %	10.59	> 8 %	2.8	> 1.26 g/l	
183	F	41	13.5	> 8 %	12.6	> 8 %	3.38	> 1.26 g/l	
184	F	65	9.7	> 8 %	8.24	> 8 %			
185	F	51	9.2	> 8 %	8.18	> 8 %	2.03	> 1.26 g/l	
186	F	48	7.5	7 - 8 %	6.87	6 - 7 %			
187	M	36	5.6	< 6 %	5.35	< 6 %	1.07	< 1.1 g/l	
188	F	65	6.8	6 - 7 %	6.31	6 - 7 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
189	F	58	5.7	< 6 %	5.4	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
190	M	54	6.9	6 - 7 %	6.37	6 - 7 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
191	F	66	8.3	> 8 %	7.72	7 - 8 %			
192	F	56	11.5	> 8 %	10.45	> 8 %			
193	F	77	5.8	< 6 %	5.09	< 6 %	0.99	< 1.1 g/l	
194	F	67	9.3	> 8 %	8.85	> 8 %	1.74	> 1.26 g/l	
195	F	72	7.5	7 - 8 %	6.74	6 - 7 %	2.25	> 1.26 g/l	
196	F	40	5.7	< 6 %	5.48	< 6 %	0.9	< 1.1 g/l	
197	F	68	6.6	6 - 7 %	6.36	6 - 7 %			
198	F	25	4.8	< 6 %	4.78	< 6 %	0.83	< 1.1 g/l	HbJ 31.3%
199	M	56	7.5	7 - 8 %	7.2	7 - 8 %	1.88	> 1.26 g/l	
200	M	53	9.7	> 8 %	9.06	> 8 %	2.03	> 1.26 g/l	
201	F	61	7.7	7 - 8 %	7.37	7 - 8 %			
202	M	52	6.1	6 - 7 %	5.78	< 6 %			
203	F	46	5.6	< 6 %	5.17	< 6 %	0.99	< 1.1 g/l	
204	F	56	6.3	6 - 7 %	5.99	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
205	M	65	6.8	6 - 7 %	6.42	6 - 7 %			
206	F	30	6.5	6 - 7 %	6.39	6 - 7 %			
207	M	42	5.8	< 6 %	5.6	< 6 %	1.07	< 1.1 g/l	
208	F	39	5.9	< 6 %	5.53	< 6 %			HbC 36.8%
209	F	58	5.9	< 6 %	5.8	< 6 %			HbC 28.2%
210	M	70	7.9	7 - 8 %	7.46	7 - 8 %			
211	F	8	5.7	< 6 %	4.97	< 6 %	0.91	< 1.1 g/l	
212	M	47	8.9	> 8 %	7.8	7 - 8 %	1.25	1.1 - 1.26 g/l	
213	M	33	5.1	< 6 %	4.99	< 6 %			
214	F	60	13.1	> 8 %	11.87	> 8 %	2.9	> 1.26 g/l	
215	F	57	8.2	> 8 %	7.56	7 - 8 %	1.86	> 1.26 g/l	
216	M	69	8.4	> 8 %	7.97	7 - 8 %			
217	M	55	7.4	7 - 8 %	6.85	6 - 7 %			
218	F	46	6.7	6 - 7 %	6.35	6 - 7 %			
219	F	62	6.4	6 - 7 %	6.06	6 - 7 %			
220	F	24	4.9	< 6 %	4.76	< 6 %	0.89	< 1.1 g/l	
221	M	39	5.7	< 6 %	5.51	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
222	M	64	5.1	< 6 %	5.07	< 6 %	1.03	< 1.1 g/l	
223	M	71	9.2	> 8 %	8.34	> 8 %			
224	M	56	12.6	> 8 %	10.96	> 8 %	3.34	> 1.26 g/l	
225	M	59	7.1	7 - 8 %	6.49	6 - 7 %			
226	M	65	7.8	7 - 8 %	7.05	7 - 8 %			
227	F	59	9.2	> 8 %	8.12	> 8 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
228	M	82	6.2	6 - 7 %	5.79	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
229	F	36	5.6	< 6 %	5.26	< 6 %			
230	M	63	7.9	7 - 8 %	7.27	7 - 8 %			
231	M	62	7.7	7 - 8 %	7.07	7 - 8 %			
232	F	36	7	7 - 8 %	6.23	6 - 7 %	1.08	< 1.1 g/l	

233	M	57	12	> 8 %	12.67	> 8 %	2.61	> 1.26 g/l	HbS 31.9%
234	M	29	5.9	< 6 %	5.56	< 6 %	1.06	< 1.1 g/l	
235	F	76	6.1	6 - 7 %	5.63	< 6 %			
236	F	37	5.8	< 6 %	5.51	< 6 %			
237	F	63	7.1	7 - 8 %	6.74	6 - 7 %	1.63	> 1.26 g/l	
238	F	44	5.6	< 6 %	5.07	< 6 %	1.07	< 1.1 g/l	
239	F	49	9.6	> 8 %	8.91	> 8 %			
240	F	57	6.9	6 - 7 %	6.42	6 - 7 %			
241	F	62	12.8	> 8 %	11.62	> 8 %	3.1	> 1.26 g/l	
242	F	69	5.7	< 6 %	5.44	< 6 %	1	< 1.1 g/l	
243	M	79	6.1	6 - 7 %	5.68	< 6 %	1	< 1.1 g/l	
244	M	66	7.1	7 - 8 %	6.57	6 - 7 %	1.53	> 1.26 g/l	
245	M	56	7.5	7 - 8 %	6.89	6 - 7 %	1.35	> 1.26 g/l	
246	M	59	10.5	> 8 %	9.84	> 8 %			
247	F	47	7.6	7 - 8 %	7.07	7 - 8 %	1.31	> 1.26 g/l	
248	F	58	8.1	> 8 %	7.5	7 - 8 %			
249	F	70	8.1	> 8 %	7.65	7 - 8 %			
250	M	54	6.8	6 - 7 %	6.23	6 - 7 %			
251	F	63	6.3	6 - 7 %	5.64	< 6 %			
252	F	57	5.6	< 6 %	5.29	< 6 %			HbS 34.4%
253	F	36	6.1	6 - 7 %	5.41	< 6 %			
254	M	56	5.9	< 6 %	5.61	< 6 %	1.04	< 1.1 g/l	
255	F	73	6.5	6 - 7 %	6.07	6 - 7 %	1.07	< 1.1 g/l	
256	M	59	7.5	7 - 8 %	6.83	6 - 7 %	1.38	> 1.26 g/l	
257	M	68	7.5	7 - 8 %	7	7 - 8 %			
258	F	59	5.7	< 6 %	5.35	< 6 %			
259	F	50	6.1	6 - 7 %	5.56	< 6 %	0.79	< 1.1 g/l	
260	F		7	7 - 8 %	6.29	6 - 7 %	1.06	< 1.1 g/l	
261	F		7.7	7 - 8 %	6.97	6 - 7 %			
262	F	81	8.9	> 8 %	8.72	> 8 %			HbH 27.3%
263	F	65	6.1	6 - 7 %	5.83	< 6 %			HbC 33.4%
264	M	43	11.9	> 8 %	11.65	> 8 %			HbC 38.8%
265	F	43	8.5	> 8 %	7.84	7 - 8 %			HbC 36.6%
266	M	51	7.3	7 - 8 %	6.95	6 - 7 %	2.59	> 1.26 g/l	
267	F	69	7.9	7 - 8 %	7.45	7 - 8 %			
268	F	42	6.8	6 - 7 %	6.52	6 - 7 %	1	< 1.1 g/l	
269	F	63	5.6	< 6 %	5.55	< 6 %	1.26	> 1.26 g/l	
270	F	63	7.7	7 - 8 %	7.1	7 - 8 %			
271	M	40	7.2	7 - 8 %	6.58	6 - 7 %			
272	F	32	5.3	< 6 %	5.18	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	
273	M	62	6.1	6 - 7 %	6	6 - 7 %	1.47	> 1.26 g/l	
274	M	70	6.1	6 - 7 %	5.45	< 6 %	1.46	> 1.26 g/l	
275	F	43	6.5	6 - 7 %	6.25	6 - 7 %			
276	F	59	6.7	6 - 7 %	6.46	6 - 7 %			
277	F	5	6.4	6 - 7 %	6	6 - 7 %			
278	M	60	8.9	> 8 %	8.45	> 8 %			
279	M	63	6	6 - 7 %	5.83	< 6 %	1.22	1.1 - 1.26 g/l	
280	F	40	4.8	< 6 %	4.28	< 6 %	0.94	< 1.1 g/l	HbS 38.61%
281	M	77	5.7	< 6 %	5.4	< 6 %			HbS 37.2%
282	F	64	5.7	< 6 %	5.8	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	HbC 34.6%
283	F	65	6.1	6 - 7 %	5.65	< 6 %	1.05	< 1.1 g/l	HbS 31.8%
284	F	59	6	6 - 7 %	6.2	6 - 7 %			HbC 28.3%
285	F	56	8.1	> 8 %	7.63	7 - 8 %	2.36	> 1.26 g/l	HbS 34.3%
286	F	58	5.7	< 6 %	5.44	< 6 %	1.1	1.1 - 1.26 g/l	HbS 35.5%
287	F	45	5.6	< 6 %	4.93	< 6 %	0.96	< 1.1 g/l	
288	F	60	10	> 8 %	9.48	> 8 %	1.74	> 1.26 g/l	
289	M	75	8.4	> 8 %	7.87	7 - 8 %			HbC 35%

Annexe 4 : Données brutes de la répétabilité (test intra-série)

HPLC %		Turbidimétrie %	
bas	haut	bas	haut
5.6	10	4.93	9.48
5.9	11.1	5.13	9.5
5.7	11.3	5.2	9.53
5.8	11.3	5.25	9.51
5.7	11.6	5.3	9.49
5.7	11.2	5.33	9.53
5.7	11.2	5.41	9.48
5.7	11.2	4.95	9.48
5.7	11.3	5.13	9.55
5.7	11.3	5.2	9.42

Comparaison de deux méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) par technique HPLC et technique immunoturbidimétrique

Thèse d'exercice de fin d'étude présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie
Session: Juillet 2019

Résumé :

L'hémoglobine A1C (HbA1c) est le paramètre clé de l'enquête de contrôle de la glycémie chez les patients diabétiques. Son dosage est effectué par des techniques bien contrôlées, dont les avantages et les limites doivent être connus lors de l'interprétation des résultats en pratique clinique. Les tests HbA1c sont standardisés par rapport à une méthode de référence internationale, ce qui permet d'obtenir des résultats comparables d'une méthode et d'un laboratoire à l'autre. Notre étude visait à comparer deux méthodes de dosage de l'HbA1c.

Méthodes: 289 échantillons ont été prélevés chez les patients. L'analyse de HbA1c a été réalisée simultanément avec un test immunoturbidimétrique de première génération sur un Cobas-integra 400 plus (ROCHE) et en utilisant la chromatographie liquide à haute pression par échange ionique cationique (HPLC) sur un système Bio-rad D-10 et Turbo Variant II.

La comparaison des techniques montre une corrélation très significative avec un $r = 0.984$ et une équation de la régression linéaire $HbA1c$ (turbidimétrie) = $0.06 + 0.94 \times HbA1c$ (HPLC). Les résultats obtenus pour la précision intra-séries sont très satisfaisants avec des CV compris entre 1,36 et 3,7 % (HPLC) et entre 0,37 et 2,89 % (Turbidimétrie). La présence des variants pour les plus couramment rencontrés (HbS, HbC) n'entraîne pas d'impossibilité d'interpréter les résultats par aucune des deux techniques.

En conclusion, les deux méthodes fournissent des résultats avec un niveau conforme aux recommandations des établissements savantes. L'ensemble des critères décisionnels pertinents pour le choix doit tenir compte des objectifs prioritaires du laboratoire et de son environnement.

Mots-clés : Diabète - Hémoglobine A1c – HPLC – Immunoturbidimétrie.

Chicha Abdelghani

ghano.ch3192@gmail.com

El Kebir Oussama

ousskebir@gmail.com

Membres de jury:

Président: Pr. **ABDI S.** Professeur en Biochimie médicale - C.H.U. Frantz Fanon - Blida

Promoteur: Dr. **BENHELAL A.** DEMS en Biologie clinique

Examinatrices: Dr. **OUNAS S.** Praticien Spécialiste Chef en Biologie clinique - C.H.U. FF - Blida

Examinatrices: Dr. **BENNOUAR S.** Maitre-assistante en biochimie - C.H.U. Frantz Fanon - Blida