

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**

**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -**



**FACULTE DE MEDECINE.**

**DEPARTEMENT DE PHARMACIE.**

**DETECTION FORTUITE DES ANOMALIES DE  
L'HEMOGLOBINE LORS DU DOSAGE DE  
L'HbA1C PAR UNE TECHNIQUE D'HPLC CHEZ  
UNE POPULATION DE BLIDA**

**Thèse d'exercice**

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie**

**Session : juillet 2017.**

**Présentée par :**

**Abdessemed Meriem**

**Gheliem Imane**

**Encadrée par :**

**Pr S.ABDI**

**Devant le jury :**

**Dr M.MAHFODH : Maitre-Assistant en Microbiologie**

**Président**

**Pr S.ABDI: Professeur en Biochimie médicale**

**Promotrice**

**Dr A.BENHELAL : Pharmacien spécialiste en Biologie clinique**

**Examineur**

**Dr S.OUNAS : Praticien spécialiste Chef**

**Examinatrice**



## *Remerciements*

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons à présenter notre gratitude et nos remerciements à notre encadrante Pr S.Abdi pour son orientation et précieux conseils pendant toute la durée de ce travail.

Notre grande gratitude au Dr A.Benhelal qui nous a permis d'effectuer notre thèse de fin d'étude au sein de son laboratoire d'analyses médicales, ainsi que pour les moyens qu'il nous a mis à notre disposition tout au long de la réalisation de ce travail. Sans oublier de remercier tout le personnel du laboratoire pour leur aide et leur soutien, en leur souhaitant une bonne continuation.

Nous présentons aussi nos remerciements aux respectables membres du jury pour bien vouloir nous accorder de leur temps précieux pour commenter, discuter et juger notre travail.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent tous ici l'expression de notre gratitude et notre parfaite considération.

En fin, nous ne pouvons achever ce mémoire sans exprimer notre gratitude à tous les professeurs du département de Pharmacie pour leur dévouement et leur assistance tout au long de nos études universitaires.

# Dédicaces

## A ma **mère**

« Tu m’as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t’offrir ne pourra exprimer l’amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, je t’offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l’affection dont tu m’as toujours entourée »

## A mon **père**

« L’épaule solide, l’œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie »

A mon frère **Abderrahmene**

A mes deux sœurs **Zahra** et **Ihcene**

A mon oncle **Abdelkrim**

A ma famille **Abdessemed** et **Benhellal**

A mon binôme **Imane**

A tous mes amis...

Abdessemed Meriem

## *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, en témoignage et en gratitude de leur dévouement et leur soutien permanent durant toutes mes années d'études, leurs sacrifices illimités, leur réconfort moral et tous les efforts qu'ils ont consentis pour mon éducation. Que Dieu les garde InchAllah,

À mes sœurs et A mon frère,

À ma famille,

A Professeur S.Abdi et Dr A.Benhelal

À mon binôme Abdessedmed Meriem,

À tous mes amies et mes collègues

Gheliem Imane

**Résumé :**

L'hémoglobine glyquée est le paramètre clé de la surveillance de l'équilibre glycémique des diabétiques. Il est défini par la fixation lente et irréversible de glucose à la valine N-terminale des deux chaînes bêta de l'hémoglobine A. Son évaluation peut être réalisée selon différentes méthodes dont la chromatographie liquide haute performance (HPLC). Ce dosage fréquemment prescrit, permet par ailleurs de mettre en évidence fortuitement des anomalies de l'hémoglobine dépistées sur les chromatogrammes de l'HbA1c des patients ; La présence d'une hémoglobine anormale perturbe le processus normal de glycation de l'Hb A en HbA1c et le biologiste dans ce cas a un rôle primordial de détection de ces anomalies.

Le but de notre travail est d'identifier ces hémoglobinopathies, d'estimer leur prévalence et de montrer leur influence sur le dosage de l'HbA1c.

Pour cela nous avons dosé pendant 3 mois l'HbA1c chez 3042 patients par une technique d'HPLC et on a trouvé que 2% de cette population présentent des anomalies de l'hémoglobine qui sont majoritairement représentées par les hémoglobinoses Set C, (26 patients pour chaque type). D'autres hémoglobinoses ont été révélées : l'Hb O-Arab (3 patients), Hb D, Hb j, Hb H et l'Hb alpha. Tous ces variants ont été retrouvés à l'état hétérozygote sauf un cas d'hémoglobinose C homozygote.

Il est à noter que toutes ces anomalies ont été confirmées par électrophorèse capillaire.

**Mots clés :** Diabète sucré, HbA1c, Hémoglobinopathies, HPLC et Electrophorèse Capillaire.

## **Abstract**

Glycated hemoglobin or HbA1C represents a key parameter to the assessment of glycemic control of diabetic patients. It is defined as the slow and irreversible fixation of glucose on the valine N-terminal of one or both  $\beta$  chains of hemoglobin. The evaluation is realized by different methods including high-performance liquid chromatography (HPLC).

This frequently prescribed test also makes it possible to detect accidentally hemoglobin abnormalities on HbA1c chromatograms of diabetic patients. The presence of abnormal hemoglobin disrupts the normal glycation process of HbA into HbA1c and the laboratory in this case has primary role in pointing out these abnormalities.

The aim of our work is to identify these hemoglobinopathies, to estimate their prevalence and to show their influence on the HbA1c test.

For this reason, we have measured the HbA1c for 3042 patients using an HPLC method and we have found that 2% of the studied population has abnormalities of hemoglobin which are predominantly represented by hemoglobinosis S and C (26 patient for each type).

Other hemoglobinoses have been revealed : Hb O-Arab (3 patients), Hb D, Hb j, Hb H and Hb alpha. All these variants were found in the heterozygous state except one case of homozygous hemoglobin C.

It should be noted that all these abnormalities were confirmed by capillary electrophoresis.

**Keywords** :Diabetes HbA1c, HPLC, Hemoglobinopathy and Capillary Electrophoresis .

## الملخص

يمثل الهيموغلوبين السكري عاملاً رئيسياً في تقييم السيطرة على نسبة السكر في الدم لمرضى السكري و يعرف بأنه تثبيت بطني وغير قابل للرجوع للجلوكوز في المحطة النهائية N\_ فالين لسلسلتي الهيموغلوبين، يتم تحقيق التقييم من خلال أساليب مختلفة بما في ذلك الاستشراب السائلي عالي الأداء (CLPH). هذا الاختبار الدارج الاستعمال يسمح أيضاً باكتشاف طفرات الهيموغلوبين بالصدفة بفضل اختلال كروماتوغرام الهيموغلوبين السكري للمرضى. وجود هذه الطفرات يعرقل عملية التشعب السكري للهيموغلوبين A و في هذه الحالة يلعب عالم الأحياء دوراً رئيسياً في الإشارة إلى هذه التشوهات.

الهدف من عملنا هذا هو التعرف على طفرات الهيموغلوبين، تقدير انتشارها وإظهار تأثيرها على اختبار cAbH1.

لهذا قمنا بمعايرة الهيموغلوبين السكري لدى 3042 مريض باستعمال تقنية (CLPH) ووجدنا أن 2٪ من العينة المدروسة تحمل بديل الهيموغلوبين وتمثل الطفرات S و C أغلبية الحالات (52 من أصل 61 حالة). كل هذه الطفرات كانت مغايرة الزيغوت باستثناء حالة واحدة متماثلة الزيغوت.

تجدر الإشارة إلى أنه تم التحقق من طبيعة الطفرات باستعمال الرحلان كهربائي.

**الكلمات المفتاحية:** داء السكري، الهيموغلوبين السكري، أمراض الهيموغلوبين، CLPH و الرحلان كهربائي.

## Table des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE THEORIQUE</b>	
<b>I- DIABETE :.....</b>	<b>1</b>
I.1 Définition :.....	1
I.2 Classification :.....	1
I.2.1 Diabète type 1 :.....	1
I.2.2 Le Diabète type 2 :.....	2
I.2.3 Autres types spécifiques : .....	2
I.3 Diagnostic positif :.....	2
I.4 Manifestations cliniques et complications :.....	3
I.4.1 Atteintes micro-vasculaires :.....	3
I.4.2 Neuropathie diabétique :.....	3
I.4.3 Atteintes macro-vasculaires :.....	3
I.5 Surveillance :.....	4
I.5.1 L'hémoglobine glyquée :.....	4
I.6 Traitement :.....	6
I.6.1 Traitement du diabète type 1 : .....	6
I.6.2 Traitement du diabète type 2 : .....	6
<b>II- HEMOGLOBINE GLYQUEE.....</b>	<b>7</b>
II.1 Généralité.....	7
II.1.1 Etapes de glycation de l'hémoglobine : .....	7
II.1.2 Différentes fractions glyquée de l'hémoglobine :.....	8
II.2 Impacts de la glycation des protéines :.....	10
II.3 Méthodes de dosage :.....	11
II.3.1 Méthodes basées sur la modification de la structure :.....	11

II.3.2	Méthodes basées sur la modification de la charge : .....	11
II.4	Standardisation : .....	12
II.5	Difficultés d'interprétation d'HbA1c : .....	13
II.5.1	Les facteurs altérant la glycation de l'hémoglobine : .....	13
II.5.2	Les limites dues au turn over de l'hémoglobine : .....	14
II.5.3	La présence d'hémoglobine anormale : .....	14
II.5.4	Les autres conditions qui peuvent influencer le dosage de l'HbA1c : .....	14
<b>III-</b>	<b>LES HEMOGLOBINOPATHIES .....</b>	<b>16</b>
III.1	L'Hémoglobine : .....	16
III.1.1	Structure de l'hémoglobine : .....	17
III.1.2	Les gènes responsables de la synthèse de l'hémoglobine : .....	17
III.1.3	Les différents types d'hémoglobine humaine : .....	18
III.2	Classification des hémoglobinopathies : .....	20
III.2.1	Hémoglobines anormales : .....	20
III.2.2	Les Thalassémies : .....	27
III.3	Exploration des hémoglobinopathies : .....	28
III.3.1	Techniques électrophorétiques : .....	28
III.3.2	Techniques chromatographiques : .....	29
<b>PARTIE PRATIQUE</b>		
<b>IV-</b>	<b>MATERIELS ET METHODES : .....</b>	<b>30</b>
IV.1	Matériels : .....	30
IV.1.1	Matériel biologique : .....	30
IV.1.2	Matériel de laboratoire : .....	30
IV.2	Méthodes .....	36
IV.2.1	PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS .....	36
IV.3	RECOMMANDATIONS POUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS : .....	37

IV.4	LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	38
IV.4.1	Dilution des échantillons.....	38
IV.4.2	Anomalie de la durée de vie des hématies .....	38
IV.4.3	Variants de l'hémoglobine .....	38
IV.5	EXEMPLES DE FORMAT DE COMPTE RENDU : .....	40
<b>V-</b>	<b>RESULTATS : .....</b>	<b>42</b>
V.1	Répartition de la population étudiée :.....	42
V.1.1	Répartition en fonction du sexe :.....	42
V.1.2	Répartition des patients en fonction de l'âge :.....	44
V.1.3	Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge :.....	45
V.3	Répartition de la cohort en fonction du taux de l'hémoglobine glyquée :.....	47
V.3.1	Répartition des patients diabétique en fonction du sexe :.....	49
V.4	Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine :.....	50
V.4.1	Répartition de patients présentant une hémoglobinose en fonction du taux de l'Hb total : 51	
V.4.2	Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction du sexe et de l'âge : 52	
<b>VI-</b>	<b>DISCUSSION :.....</b>	<b>57</b>
	<b>Conclusion .....</b>	<b>61</b>

**Liste des tableaux:**

<b>Tableau 1:</b> Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez in sujet non diabétique, exprimées en pourcentage de l'Hb totale.....	9
<b>Tableau 2:</b> Situations qui perturbent le dosage de l'hémoglobine glyquée .....	15
<b>Tableau 3 :</b> Répartition des patients en fonction du sexe.....	42
<b>Tableau 4 :</b> La moyenne d'âge de la population étudiée.....	44
<b>Tableau 5 :</b> Répartition en fonction de la tranche d'âge. ....	45
<b>Tableau 6:</b> Répartition en fonction de la valeur de l'HbA1c .....	47
<b>Tableau 7:</b> Répartition des patients diabétique en fonction du sexe .....	49
<b>Tableau 8:</b> Répartition des patients en fonction de l'hémoglobinose .....	50
<b>Tableau 9:</b> Moyenne de l'Hb chez les porteurs d'anomalie de l'Hb.....	51
<b>Tableau 10:</b> Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction du sexe ....	52
<b>Tableau 11:</b> Répartition des patients présentant une anomalie en fonction de la tranche d'age.....	53
<b>Tableau 12:</b> Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobinose.....	55

## Liste des figures:

<b>Figure 1:</b> Réaction de Maillard .....	7
<b>Figure 2:</b> Structure quaternaire de l'hémoglobine.....	16
<b>Figure 3 :</b> Carte de la famille des gènes codant les chaînes de type a et b.....	18
<b>Figure 4:</b> Expression des gènes de globine au cours du développement ontogénique .....	19
<b>Figure 5:</b> Adulte A/S : l'HbS est éluee en zone S en CLHP et en ECAP .....	21
<b>Figure 6:</b> Adulte A/C : l'HbC est éluee en zone C en CLHP et en ECAP.....	22
<b>Figure 7:</b> Adulte A/E : l'HbE est éluee avec l'Hb A2 en CLHP et le logiciel identifie et quantifie comme HbA2 la somme (HbA2 + HbE) ; l'HbE migre en zone E en ECAP. ....	23
<b>Figure 8:</b> Adulte A/O-Arab: l'HbO-Arab est éluee tardivement en CLHP et migre avec l'HbA2 en ECAP. ....	24
<b>Figure 9:</b> Adulte A/D-Punjab : l'HbD-Punjab est éluee après l'HbA2 en CLHP et en zone D en ECAP. ....	25
<b>Figure 10:</b> Chromatogramme d'une Hb j .....	26
<b>Figure 11:</b> Principe d'un système d'électrophorèse capillaire .....	28
<b>Figure 12:</b> Profile électrophorétique d'un sujet normal. ....	29
<b>Figure 13:</b> Automate Bio-Rad VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0.....	32
<b>Figure 14:</b> Automate Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia). ....	33
<b>Figure 15 :</b> Profile électrophorétique A/S (l'HbS est éluee en zone S) par rapport à un profile normale. ....	34
<b>Figure 16:</b> Sysmex KX-21N™ Automated Hematology Analyzer.....	35
<b>Figure 17:</b> Chromatogramme d'un patient non diabétique. ....	40
<b>Figure 18:</b> Chromatogramme d'un patient diabétique avec un taux HbA1c élevé. ....	41
<b>Figure 19:</b> Répartition des patients en fonction du sexe. ....	43
<b>Figure 20:</b> Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge. ....	46
<b>Figure 21:</b> Répartition en fonction du taux de l'hémoglobine glyquée.....	48
<b>Figure 23:</b> Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine.....	50
<b>Figure 24:</b> Repartition des patients présentant une anomalie en fonction du sexe. ....	52
<b>Figure 25:</b> Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction la tranche d'âge.....	54
<b>Figure 26:</b> Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobinose. ....	56

## Liste des abréviations :

- 2,3DPG : 2,3-diphosphoglycerate
- ADA : American Diabetes Association, : l'American Diabetes Association
- AGE : Advanced glycosylation end products
- ANAES : Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé, Voir l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
- CDM : Clinical Data Management
- DCCT : Diabetes Control and Complications Trials
- DPP : Diabetes prevention program
- DT1 diabète de type 1
- ECAP : Électrophorèse capillaire
- ECBU : Examen cyto bactériologique des urines
- ECG : Électrocardiogramme
- EDTA : Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic acid
- EMG : Gauss exponentiellement modifié
- EPO : érythropoïétine
- Glu : Acide glutamique
- Gly : Glycine
- HAS : Haute Autorité de Santé
- Hb: Hémoglobine
- HbA : Hémoglobine adulte
- HbA1c : Hémoglobine glyquée
- HbF : Hémoglobine fœtale
- HDL : Lipoprotéine de haute densité
- HPLC Chromatographie Liquide Haute Performance
- IFCC : l'International Federation of Clinical Chemistry
- LADA:Latent Autoimmune Diabetes in Adults, 2
- Lys : Lysine
- NGSP : National Glycohemoglobin Standardization Program

- OMS : l'organisation mondiale de la santé
- ONS l'office national des statistiques
- pH : Potentiel Hydrogène
- RBC : Red Blood Cell
- UKPDS : l'United Kingdom Prospective Diabetes Study
- Val :Valine

## GLOSSAIRE :

- **Acide 2,3-bisphosphoglycérique** ou **2,3-bisphosphoglycérate** sous forme déprotonée, abrégée en **2,3-BPG** est un composé organique, isomère de l'acide 1,3-bisphosphoglycérique, un important intermédiaire métabolique de la glycolyse. Il intervient, chez l'Homme, dans la régulation du transport de l'oxygène dans le sang, en stabilisant la forme *désoxy* de l'hémoglobine.
- **Anasarque** est un état grave dans lequel on trouve des quantités anormales d'accumulation de liquide dans deux ou plusieurs parties du corps d'un fœtus ou nouveau-né.
- **Anémie** est définie par une diminution des globules rouges, ou du taux d'hémoglobine.
- **Anémie ferriprive** est une anémie due à une carence des réserves en fer de l'organisme.
- **Anémie hémolytique** englobe différents types d'anémie où les globules rouges sont détruits prématurément dans le sang.
- **Erythrocyte** aussi appelée **hématie**, ou plus communément **globule rouge**, fait partie des éléments figurés du sang. C'est une cellule anucléée (dépourvue de noyau).
- **Erythropoïèse** est l'ensemble des processus de production des érythrocytes dans la moelle osseuse rouge à partir de cellules souches hématopoïétiques pluripotentes, sous la dépendance de l'érythropoïétine (ou EPO).
- 
- **Erythropoïétine (EPO)** est une hormone de nature glycoprotéique. Cette hormone est une cytokine pour les précurseurs des érythrocytes dans la moelle osseuse (c'est un facteur de croissance). Elle entraîne ainsi une augmentation du nombre de globules rouges dans le sang.
- **Fructosamines** sont l'ensemble des protéines plasmatiques glyquées.
- **Hémoglobinopathies** correspondent aux pathologies liées à une anomalie de l'hémoglobine, La cause de ces maladies est souvent héréditaire.
- **Insuline** est une hormone protéique sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans dans le pancréas. Elle a un effet important sur le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines en favorisant l'absorption du glucose depuis le sang vers les cellules adipeuses, les cellules du foie et celles des muscles squelettiques.
- **Mutant** est un organisme ou une cellule présentant un caractère nouveau dû à une mutation génétique .

- **Ontogenèse** (ou *ontogénie*) décrit le développement progressif d'un organisme depuis sa conception jusqu'à sa forme mûre, voire jusqu'à sa mort.
- **Polydipsie** est un symptôme rencontré le plus souvent en endocrinologie et caractérisé par une soif excessive avec augmentation de l'absorption de liquide, causée par la polyurie dans le cas du diabète et même pour autres pathologies.
- **Polyphagie** est un symptôme ou une maladie caractérisé(e) par une faim excessive avec une absence de sensation de satiété, traduisant un excès dans le comportement alimentaire.
- **Polyurie** est un symptôme ou une maladie caractérisée par des urines abondantes, fréquemment rencontrée dans le cas du diabète insipide et du diabète sucré. On parle généralement de polyurie quand le débit urinaire est supérieur ou égal à 3 litres par jour chez l'adulte, alors que chez un individu sain, la diurèse est comprise entre 0,8 et 1,5 litre.
- **Protoporphyrines** sont les précurseurs des porphyrines, protéines extrêmement répandues et nécessaires à un grand nombre d'espèces, jouant un rôle majeur de transport de l'oxygène dans le sang.
- **Réticulocyte** est la cellule précédant le stade d'érythrocyte dans l'érythropoïèse.
- **Splénectomie** est une ablation chirurgicale de la rate. La rate n'est pas indispensable à la vie. Pour cette raison la splénectomie peut être indiquée dans différentes situations.

# **Introduction**

## **Introduction :**

Le diabète sucré est défini par une glycémie à jeun supérieure à 1.26g/L (7 mmol/L), à deux reprises ou par une glycémie, quel que soit le moment du prélèvement, supérieure à 2g/L (11 mmol/L). [N.Mario et al ; 2006]

La prévalence mondiale du diabète a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 % à 8,5 % chez la population adulte. Ces chiffres indiquent une augmentation des facteurs de risque associés tels que le surpoids ou l'obésité.[Alberti et al ; 1998]

En Algérie, la prévalence du nombre de diabétiques en 2010 était de (7 à 9 %). Cette prévalence va augmenter en 2030 pour atteindre (9 à 12 %) et elle peut même dépasser 15 %. [Selon ONS]

Les complications du diabète sont graves et responsables de séquelles lourdes et invalidantes, en particulier les complications microvasculaires qui sont très liées à la durée d'évolution du diabète et au contrôle glycémique.

Le dosage de l'hémoglobine glyquée chez les patients diabétiques est reconnu comme marqueur d'évaluation de l'équilibre glycémique au long cours et la Haute Autorité de Santé (HAS) française recommande de le pratiquer tous les 3-4 mois chez les diabétiques de type 2.

Les méthodes disponibles pour le dosage de l'HbA1c sont basées sur les propriétés physicochimiques ou sur la reconnaissance par un anticorps spécifique.

Malgré des progrès dans la qualité et la standardisation de ces méthodes, des interférences analytiques dues à des mutants de l'hémoglobine (Hb) ou à l'existence d'autres dérivés de l'Hb existent. De plus, l'interprétation des seuils de suivi du diabète n'est possible que lorsque diverses conditions physiologiques sont respectées. La méconnaissance de ces facteurs peut conduire à l'interprétation erronée des dosages d'HbA1c.[Alberti et al ; 1998]

Les objectifs de notre étude consistent à :

- Identifier les hémoglobinopathies lors de dosage de l'hémoglobine glyquée par l'HPLC ;
- Déterminer la prévalence des hémoglobinopathies dans notre population étudiée ;
- Connaître l'influence de l'hémoglobine anormale sur le dosage de l' HbA1c ;
- Conseil génétique pour éviter toute association dangereuse.

# Partie Théorique

## **I- DIABETE :**

Le diabète sucré est une maladie qui progresse de façon alarmante dans le monde [1]. En Algérie, il représente un problème de santé publique, sa prévalence se situerait entre 8 et 12 % selon différentes études épidémiologiques ; il y représente, par ailleurs, la quatrième cause de décès [2]. Le vieillissement de la population mondiale est l'une des causes principales de cette pandémie, ce phénomène concerne également l'Algérie, qui connaît une transition épidémiologique dont l'un des aspects est l'augmentation de la proportion des sujets âgés. Selon les données de l'office national des statistiques (ONS) d'Algérie, en 2011, les personnes âgées de 60 ans et plus représentaient 7,7 % de la population totale, soit 2 785 000 personnes [3]. Il est prévu que ce chiffre atteindra 4,3 millions en 2020, 6,7 millions en 2030.

### **I.1 Définition :**

Le diabète sucré est une affection métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique liée à une déficience, soit de la sécrétion de l'insuline, soit de l'action de l'insuline, soit des deux. Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de graves complications touchant le cœur, les vaisseaux, les yeux, les reins et les nerfs. [4]

### **I.2 Classification :**

#### **I.2.1 Diabète type 1 :**

Le diabète de type 1 (DT1) est caractérisé par une carence absolue en insuline, due à la destruction des cellules bêta pancréatiques dont le mécanisme habituel est l'auto-immunité. L'ancienne définition fondée sur des critères cliniques (diabète insulino-dépendant, ou DID) n'est pas opératoire car certaines formes cliniques n'exigent pas un traitement par l'insuline.

On distingue dans la classification de l'American Diabetes Association (ADA), qui fait référence, deux sous-types :

- le diabète de type 1 auto-immun, le plus fréquent (il représente plus de 90 % des cas en Europe), incluant le type 1 lent ou LADA ;
- le diabète de type 1 idiopathique (caractérisé par l'absence d'auto-anticorps). Il s'agit d'un cadre nosologique mal défini, incluant les diabètes cétoacidotiques du sujet noir originaire d'Afrique subsaharienne et les diabètes suraigus japonais. [5]

### **I.2.2 Le Diabète type 2 :**

Le diabète de type 2 (DT2) est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique dont les éléments physiopathologiques comprennent une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles) à l'action de l'insuline, une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des incrétines, (hormones intestinales stimulant la sécrétion post-prandiale de l'insuline). [6]

### **I.2.3 Autres types spécifiques :**

- Diabète dû à des causes spécifiques (médicaments, pancréatite chronique ; hyperthyroïdie, syndrome de cushing, hémochromatose, acromégalie ou phéochromocytome.)
- Diabète gestationnel : mis en évidence lors d'une grossesse. [6]

### **I.3 Diagnostic positif :**

- glycémie à jeun  $\geq 1,26$  g/l, contrôlée à 2 reprises

Ou - glycémie 2 heures après une charge orale de 75g de glucose :  $\geq 2$ g/l

Ou - glycémie à n'importe quel moment de la journée :  $> 2$ g/l avec des symptômes

La présence d'auto-anticorps est un élément en faveur du diabète de type 1, mais leur absence n'élimine pas le diagnostic. Dans certains cas, seule l'évolution permet d'affirmer le caractère insulino-dépendant du diabète. [7]

#### **I.4 Manifestations cliniques et complications :**

Les symptômes liés à une hyperglycémie chronique sont les suivants : fatigue, polyurie, polydipsie, perte pondérale, parfois polyphagie, vision trouble, ainsi qu'une susceptibilité accrue aux infections.

L'hyperglycémie chronique entraîne à long terme des **atteintes micro et macro-vasculaires**, ayant pour conséquence des **atteintes d'organes** :

##### **I.4.1 Atteintes micro-vasculaires :**

- rétinopathie avec risque de perte de la vision.
- néphropathie avec insuffisance rénale chronique.

##### **I.4.2 Neuropathie diabétique :**

- neuropathie périphérique, avec risque d'ulcères (mal perforant plantaire), d'amputation, de « Pied de Charcot ».
- Neuropathie du système autonome, avec symptômes gastro-intestinaux, génito-urinaires, cardio-vasculaires, et troubles sexuels.

##### **I.4.3 Atteintes macro-vasculaires :**

Liées au phénomène de l'athérosclérose qui touche les artères de gros et moyen calibre :

- cardiopathie ischémique.
- insuffisance artérielle des membres inférieurs et dysfonction érectile.
- accidents vasculaires cérébraux.

Le diagnostic précoce est d'une importance capitale, puisque environ 1/3 des patients présentent déjà des complications au moment du diagnostic et ainsi potentiellement des atteintes au niveau des organes cibles, conduisant à une morbidité et mortalité substantielles. [6]

## **I.5 Surveillance :**

### **I.5.1 L'hémoglobine glyquée :**

C'est un marqueur biologique indispensable pour le suivi du patient diabétique. Il permet d'évaluer le contrôle glycémique et d'ajuster la thérapeutique. [8].D'après les recommandations de l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES) de janvier 1999.

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 par la même technique, pour permettre la comparaison des résultats successifs.

Les objectifs glycémiques se traduisent en objectifs d'HbA1c. Ils doivent être individualisés en fonction de l'âge du patient, des comorbidités et du contexte psychosocial. Les critères suivants doivent être pris comme référence :

- ❖ l'objectif optimal à atteindre est une valeur d'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. [9]

Le dosage de fructosaminémie peut avoir un intérêt certain dans 3 circonstances :

- Lorsque l'hémoglobine glyquée est ininterprétable (anémie hémolytique, hémoglobinopathie) ;
- Lors de l'évaluation à court terme d'un changement thérapeutique
- Et au cours de la grossesse. [5]

### **I.1.1 Autres éléments de surveillance :**

Consultation spécialisée au moins 3 à 4 fois par an et surveillance des éléments suivants :

- Profil lipidique, créatinine, micro-albuminurie, ECBU et ECG (une fois par an) ;
- Examen ophtalmologique (fond d'œil ou rétinographie par caméra non mydriatique) au moins une fois par an pour ce qui est du dépistage. Dès qu'il y a des lésions de rétinopathie diabétique, la prise en charge par l'ophtalmologiste peut être plus rapprochée. [5]

## I.6 Traitement :

Un très grand nombre de diabétiques de type 2 associent hyperglycémie, hypertension artérielle, dyslipidémies en général mixtes (cholestérol modérément élevé, HDL bas, triglycérides hauts). Ce sont donc des patients à haut risque cardiovasculaire. Le traitement vise donc à corriger l'hyperglycémie et à maîtriser de façon très exigeante l'ensemble des autres facteurs de risque.

Il a récemment été recommandé par l'ANAES d'atteindre une hémoglobine glyquée à 6,5 % le plus souvent possible, à maintenir ou renforcer le traitement entre 6,5 et 8 % d' HbA1c selon le contexte. Au-delà de 8 %, le traitement devra toujours être rediscuté. Certes, les objectifs doivent être adaptés au contexte, en particulier : âge, espérance de vie du sujet et risque hypoglycémique propre à un individu. [10]

### I.6.1 Traitement du diabète type 1 :

Il existe plusieurs types d'insuline qui se combinent et sont administrés selon le traitement personnel de chaque malade :

- L'insuline **ultra-rapide** ;
- L'insuline **rapide** ;
- L'insuline **lente** ;
- L'insuline **ultra-lente**. [11]

### I.6.2 Traitement du diabète type 2 :

Le traitement du diabète type 2 est basé d'abord sur des mesures hygiéno-diététique (régime alimentaire pauvre en sucre et graisse) et activité physique régulière ; lorsqu'elles ne sont pas suffisantes, un traitement médical doit être instauré.

Les médicaments sont représentés par les antidiabétiques oraux (ADO) dont ils existent plusieurs classes.

## II- HEMOGLOBINE GLYQUEE

### II.1 Généralité

La glycation touche toutes les protéines et correspond à une fixation irréversible de sucre. Non enzymatique, elle est directement fonction du temps d'exposition et du niveau de la glycémie. Le glucose n'est pas le seul à se fixer mais il est le principal ose impliqué.

Il s'agit de la fixation de glucose, fructose ou pyruvate sur une fonction amine N-terminale des protéines, elle se fait en plusieurs étapes.

#### II.1.1 Etapes de glycation de l'hémoglobine :

- L'étape initiale de fixation (sucre + protéine) forme de manière réversible des bases de Schiff.
- Leurs réarrangements (clivage, auto-oxydation) conduisent à des composés plus stables dits produits d'Amadori.
- L'établissement de liaisons croisées entre ces produits, avec cyclisation, donne des produits de glycation avancée ou AGE (Advanced glycosylation end products).[12]

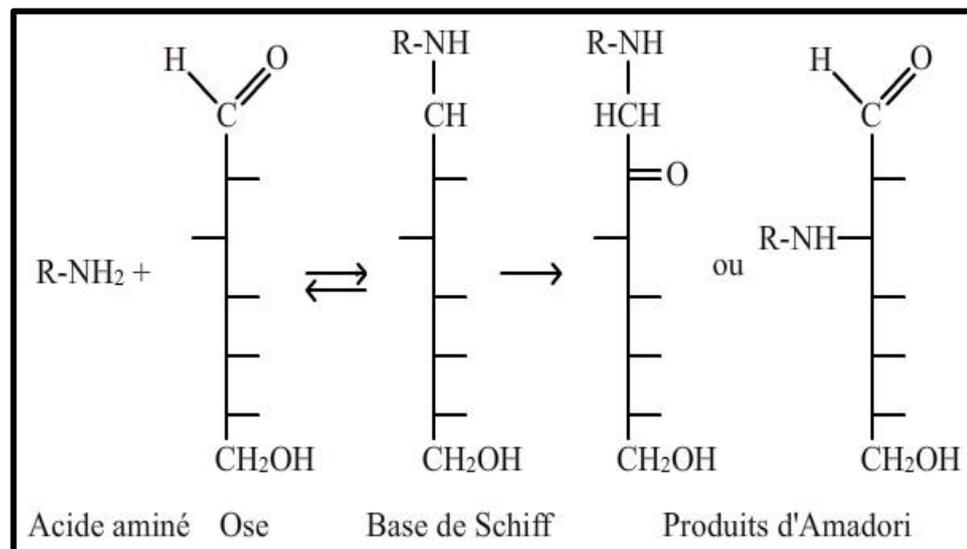


Figure 1: Réaction de Maillard[13]

La stabilisation du réarrangement induit demande plusieurs jours, et plus la protéine vit longtemps, plus sa forme glyquée vit longtemps également. Différents facteurs impactent les vitesses de réarrangement d'Amadori [12]

La glycation se produit d'autant plus aisément que le site de fixation du sucre réducteur à NH<sub>2</sub> est libre d'accès ; s'il est présent au niveau d'une poche par exemple, la glycation sera relativement faible. C'est la raison pour laquelle le site le plus fréquemment glyqué sur l'hémoglobine est la valine en position 1 de la chaîne bêta. Cependant, différentes lysines des chaînes alpha et bêta, ainsi que la valine en alpha peuvent également être glyquées. La modification de pH liée à la glycation sur le NH<sub>2</sub> terminal de la chaîne bêta conduit à l'HbA1c.

### II.1.2 Différentes fractions glyquée de l'hémoglobine :

On parle d'hémoglobine A1 quand la fixation d'ose est localisée à l'extrémité N-terminale des chaînes  $\beta$  et comporte plusieurs fractions selon la nature de l'ose.

Ainsi, on distingue la fraction HbA1a1 (fixation du fructose 1, 6 biphosphate), HbA1a2 (fixation du glucose-6-phosphate), HbA1b (pyruvate) et surtout HbA1c, dont la valine N-terminale des chaînes  $\beta$  a fixé une molécule de glucose. L'HbA1c représente la forme majoritaire de l'hémoglobine glyquée et son dosage constitue un examen clé de la prise en charge du patient diabétique. [14]

- Le degré de glycation de l'hémoglobine est directement fonction de la durée de l'hyperglycémie, la demi-vie de l'hémoglobine, le pH, la température...
- On considère ainsi que la concentration en HbA1c est l'historique de la glycémie des 120 jours précédents, elle traduit bien l'imprégnation glycémique chronique. [12]

**Tableau 1: Répartition des différentes fractions de l'hémoglobine chez un sujet non diabétique, exprimées en pourcentage de l'Hb totale (d'après Bunn et al., 1976, Sacks, 2012) [15]**

Hémoglobine	% de l'Hb totale	Structure
HbA0	≈ 90 %	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\beta$ non glyquées
HbA1c	≈ 4 %	Glucose fixé sur le $\text{NH}_2$ terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$
HbA1a1	0,2 %	Fructose-1,6-diphosphate fixé sur le $\text{NH}_2$ terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$
HbA1a2	0,2 %	Glucose-6-phosphate fixé sur le $\text{NH}_2$ terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$
HbA1b	0,5 %	Acide pyruvique fixé sur le $\text{NH}_2$ terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaîne $\beta$
Hb glyquées diverses	1 à 1,5 %	Hb glyquées sur différents acides aminés des chaînes $\alpha$ et $\beta$ de l'HbA
HbA2	2,5 %	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\delta$ non glyquées
HbF	0,5 %	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\gamma$ non glyquées

La structure de chaque fraction est indiquée dans la colonne de droite.

## II.2 Impacts de la glycation des protéines :

Un lien étroit a été établi depuis quelques années par Brownlee *et al.* 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. 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.

Des travaux ont montré le caractère thrombogène des produits de Maillard ainsi que des déviations du métabolisme du glucose et la diminution de la capacité d'épuration des radicaux libres qu'ils provoquent. Des perspectives thérapeutiques se dessinent. [16]

### II.3 Méthodes de dosage :

Ces méthodes peuvent être classées en deux catégories, selon qu'elles se basent sur une modification de la charge ou une modification de la structure.

#### II.3.1 Méthodes basées sur la modification de la structure :

##### II.3.1.1 La chromatographie d'affinité:

Un groupement cis-diol de l'HbA1c réagit avec le boronate. Il n'y a pas d'interférences avec les fractions labiles, carbamylées ou acétylées ;

##### II.3.1.2 Les techniques immunologiques:

Elles font appel à des anticorps dirigés contre l'extrémité N-terminale de la chaîne  $\beta$  de la globine. Elles existent sous forme de module qui équipe les analyseurs multiparamétriques de biologie clinique. Elles ont l'inconvénient d'être limitées par la nature de l'épitope reconnu. [14]

#### II.3.2 Méthodes basées sur la modification de la charge :

##### II.3.2.1 Chromatographie d'échange d'ions:

Dans la chromatographie d'échange d'ions, les protéines interagissent avec la phase stationnaire par interactions de charges. Les protéines ayant une charge nette positive à un pH donné adhèrent fermement aux billes porteuses de groupements fonctionnels chargés négativement comme les carboxylates ou les sulfates (échangeurs de cations). De même, les protéines à charge nette négative adhèrent aux billes porteuses de groupements fonctionnels positivement chargés qui sont en général des amines tertiaires ou quaternaires (échangeuses d'anions). Les protéines qui n'adhèrent pas passent à travers la matrice et sont entraînées par le flux. Les protéines fixées sont ensuite sélectivement détachées en augmentant graduellement la force ionique de la phase mobile, diminuant ainsi les interactions entre charges. Les protéines sont éluées de façon inversement proportionnelle à leur force d'interaction avec la phase stationnaire. [18]

##### II.3.2.2 L'électrophorèse capillaire:

C'est la seule technique électrophorétique retenue elle est commercialisée par les laboratoires Sebia®.[14]

#### II.4 Standardisation :

En biologie clinique, la standardisation est indispensable pour permettre une comparaison inter-laboratoire des résultats. Plusieurs sociétés scientifiques ont consacré leurs travaux à l'atteinte de cet objectif. [14]

Le Diabetes Control and Complications Trials (DCCT) est une société savante américaine dont les travaux sur l'HbA1c ont débuté à la fin des années 1980. Elle a permis d'établir un lien entre les valeurs de ce marqueur et les complications survenant lors du diabète.

Le National Glycohemoglobin Standardization Program(NGSP) a établi une méthode de référence qui consiste en une chromatographie liquide à haute pression (HPLC) échangeuse de cations. Cette standardisation se base sur les études prospectives réalisées par le DCCT et l'United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Cette technique ne définissant l'étalon que par des critères chromatographiques, elle est sujette à de nombreuses interférences. [19]

Un groupe de travail de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) a décrit en 2002 une méthode de référence qui repose sur une HPLC en phase inverse couplée à la spectrométrie de masse ou à l'électrophorèse capillaire. Ici, l'étalon est défini chimiquement : l'hexapeptide N-terminal glyqué de la chaîne  $\beta$ . Cette technique est plus spécifique et donne des résultats 1 à 2 % plus bas que ceux de la NGSP/DCCT. Une équation directrice permet la conversion entre les deux systèmes [20] :

$$\text{NGSP} = [0,09148 \times \text{IFCC}] + 2,152$$

Les résultats de la NGSP sont exprimés en % et ceux de l'IFCC en mmol/mol (depuis 2007), ce qui a l'avantage de marquer clairement le type de standard. De plus, il est actuellement recommandé d'exprimer les résultats d'HbA1c selon les deux unités dans les comptes rendus d'analyses médicales. Une étude réalisée sur 507 sujets diabétiques de 10 pays différents a permis d'établir une relation mathématique entre la valeur de l'HbA1c et la glycémie moyenne [21] :

$$\text{Glycémie (g/L)} = [(35,6 \times \% \text{HbA1c}) - 77,3] \times 0,01$$

## II.5 Difficultés d'interprétation d'HbA1c :

La mesure de l'HbA1c permet :

- D'obtenir facilement une mesure de la glycémie moyenne ;
- De prédire le risque de complication (macrovasculaire et surtout microvasculaire) ;
- Une évaluation de l'efficacité thérapeutique et du risque d'hypoglycémie ;
- De fixer les objectifs thérapeutiques. [17]

Cependant plusieurs **facteurs physiopathologiques** interfèrent sur la mesure de l'HbA1c ce qui compromet l'interprétation de ce paramètre.

### II.5.1 Les facteurs altérant la glycation de l'hémoglobine :

La mesure de l'hémoglobine glyquée n'est pas exactement le reflet de la moyenne glycémique des deux ou trois derniers mois : les taux plasmatiques de glucose les plus récents influencent plus fortement le taux d'HbA1c.

Ainsi, les glycémies des 30 derniers jours avant son dosage sont responsables de 50 % de sa valeur, alors que les taux de glucose datant des 90 à 120 jours précédents ne sont responsables que de 10 % de sa valeur. Cela peut expliquer les variations des taux d'HbA1c parfois observées lors de l'amélioration ou de la détérioration rapide de l'équilibre glycémique d'un patient.

La vitesse même du processus de glycation est de plus propre à chaque individu : il existe ainsi des "glycateurs rapides" et des "glycateurs lents" qui, même s'ils ont la même glycémie moyenne, présenteront des taux différents d'HbA1c.

La glycation, initialement décrite comme un processus lent et irréversible, peut-être plus labile. L'exposition de globules rouges à des concentrations très élevées de glucose pendant 6 à 12 heures peut en augmenter la valeur de façon transitoire mais très significative : c'est le concept d'hémoglobine glyquée labile, nouvelle source d'erreurs dans les dosages d'HbA1c. L'incubation des globules rouges en solution saline (pour "laver" cette fraction labile) est donc recommandée avant le dosage de l'HbA1c. Le processus de déglycation encore peu décrit, peut également intervenir. [22]

### **II.5.2 Les limites dues au turn over de l'hémoglobine :**

En dehors de toute situation pathologique, la durée de vie et l'âge moyen des globules rouges peuvent être des facteurs confondants dans la mesure de l'HbA1c. Les "jeunes" érythrocytes sont moins chargés en hémoglobine glyquée que les "vieux", car moins longuement exposés au glucose circulant.[22]

### **II.5.3 La présence d'hémoglobine anormale :**

Les hémoglobinopathies peuvent également être source d'erreurs de dosage. La présence d'une hémoglobine fœtale peut majorer le dosage de l'HbA1c tandis que les hémoglobines S (drépanocytose) et C vont sous-estimer sa valeur. Ces deux derniers variants sont plus fréquemment présents dans les populations d'origine africaine. Les populations noires sont donc plus sujettes à ce type d'anomalies et peuvent par ce biais présenter plus souvent des valeurs faussées d'HbA1c. Pour la méthode HPLC, la vérification manuelle des chromatogrammes permet de visualiser la présence d'une hémoglobine anormale, donc d'une probable interférence. [22]

### **II.5.4 Les autres conditions qui peuvent influencer le dosage de l'HbA1c :**

L'ethnie est un facteur de variabilité important des valeurs d'HbA1c. Dans l'étude DPP chez les patients souffrant d'intolérance au glucose mais non diabétiques, l'HbA1c différait de façon significative entre Caucasiens (5,78 %) et Afro-Américains (6,18 %). Une étude récente a montré la possible sur-estimation des diagnostics de diabète chez 1,8 % de la population noire-américaine (contre 0,3 % de surestimation chez les "Blancs" non hispaniques) selon les critères récemment entérinés par l'ADA.

Les conditions pathologiques qui influencent la durée de vie des érythrocytes peuvent fausser les mesures d'hémoglobine glyquée : une anémie hémolytique, une hémorragie aiguë, par exemple, peuvent être la cause de dosages anormalement bas. L'anémie ferriprive aurait plutôt tendance à majorer les résultats des dosages d'HbA1c par un mécanisme non encore totalement élucidé.

La présence de réticulocytes, nouveaux érythrocytes dont l'hémoglobine n'a pas encore été glyquée, après le traitement d'une anémie par fer, érythropoïétine ou vitamine B12, peut sous-estimer la valeur de l'HbA1c. En revanche, les patients splénectomisés présentent des taux plus élevés d'HbA1c en raison de la durée de vie plus longue de leurs érythrocytes. [22]

**Tableau 2: Situations qui perturbent le dosage de l'hémoglobine glyquée [22]**

Les situations qui surestiment le dosage de l'HbA1c	Les situations qui sous-estiment le dosage de l'HbA1c
Hypertriglycémie, Insuffisance rénale (Hb carbamylée), Déficit en:fer, vitamine B12, folates, Splénectomie, Abus d'opiacés, d'alcool ou d'acide acétylsalicylique, Hyperbilirubinémie, Présence d'Hb fœtale, Ethnie (africain/africain-américain)	Vitamines C et E, Maladie hépatique chronique, Hémodialyse, hémolyse, Transfusion sanguine, Présence d'Hb S et C, Splénomégalie, Médicaments : dapsone , antiviraux, interferon,fer,EPO, Grossesse.

### III- LES HEMOGLOBINOPATHIES

Selon les données de l'organisation mondiale de la santé (OMS) ,7 % de la population mondiale est porteuse d'un gène anormal de globine et dans certaines régions du monde jusqu'à 1 % des nouveau-nés sont atteints d'une pathologie de l'hémoglobine. [23] Ces pathologies sont surtout répandues dans les régions tropicales et se sont étendues à la majorité des pays du fait des migrations de populations. [24]

#### III.1 L'Hémoglobine :

L'hémoglobine appartient à la famille des pigments respiratoires qui sont des macromolécules protéiques fixant réversiblement l'oxygène et qui se sont développées aussi bien chez les vertébrés que chez les invertébrés. Outre son rôle principal dans le transport de l'oxygène des poumons aux tissus, l'hémoglobine est impliquée dans l'élimination du gaz carbonique et le maintien du pH intra-érythrocytaire.[25]

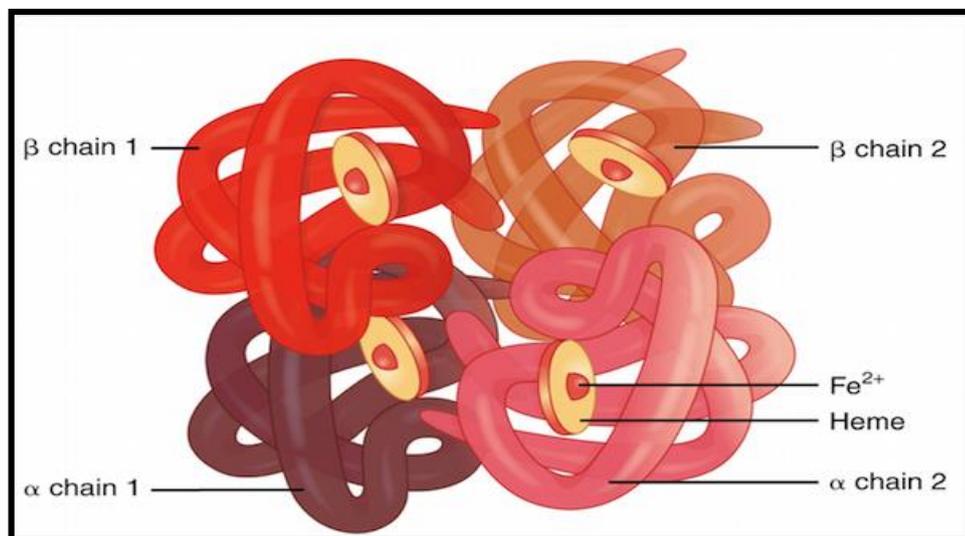


Figure 2: Structure quaternaire de l'hémoglobine. [26]

### III.1.1 Structure de l'hémoglobine :

L'hémoglobine comporte une partie protéique : les chaînes de globine, au nombre de quatre et identiques deux à deux (deux chaînes de type  $\alpha$  et deux chaînes non  $\alpha$ ), unies par des liaisons non covalentes et une partie non protéique : l'hème.

Dans la structure tétramérique, les dimères sont disposés de telle sorte que la sous-unité  $\alpha 1$  soit en contact avec la sous-unité  $\beta 2$  et  $\alpha 2$  de  $\beta 1$ . Le contact est rigide entre les sous-unités d'un même dimère ( $\alpha 1\beta 1$  ou  $\alpha 2\beta 2$ ). Le contact entre les chaînes, au niveau de la cavité centrale, est établi par l'intermédiaire d'une molécule de 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) et stabilise la configuration désoxygénée. Lors de la transition de l'état désoxygéné, le 2,3-DPG est expulsé de la cavité centrale. La molécule d'hème est logée dans une cavité en forme de V de chaque sous-unité de globine. C'est une protoporphyrine ayant à son centre un atome de fer sous forme réduite, qui peut fixer de façon réversible un atome d'oxygène. [25]

### III.1.2 Les gènes responsables de la synthèse de l'hémoglobine :

Les chaînes de type  $\alpha$  correspondent à des chaînes poly-peptidiques de 141 résidus dont la synthèse est sous le contrôle de gènes situés sur le chromosome 16.

Les chaînes de type  $\beta$  (auxquelles se rattachent les chaînes  $\gamma$ ,  $\sigma$  et  $\epsilon$ ) comportent 146 résidus et dépendent de gènes situés sur le chromosome 11. [27]

L'organisation des familles des gènes  $\alpha$  et  $\beta$ -globine est présentée schématiquement dans la figure 3.

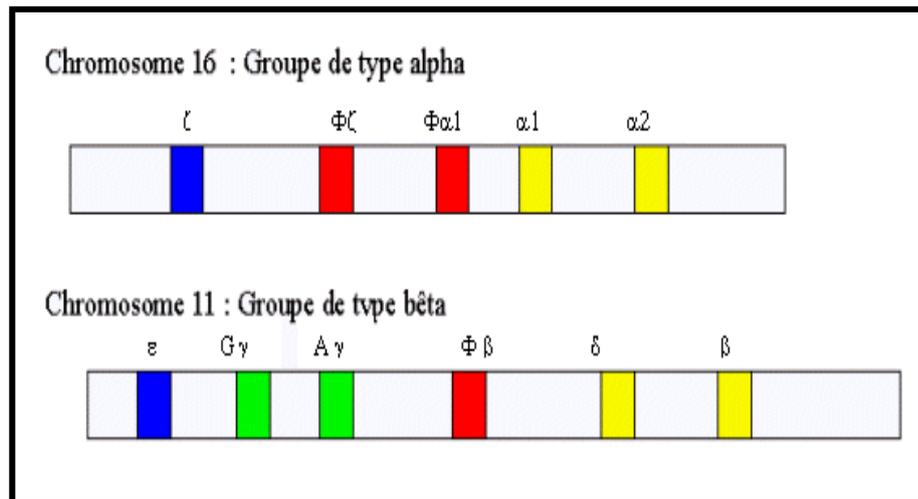


Figure 3 : Carte de la famille des gènes codant les chaînes de type a et b. [28]

### III.1.3 Les différents types d'hémoglobine humaine :

Différentes hémoglobines se succèdent et se chevauchent au cours des étapes de la vie ; il en existe toujours plusieurs simultanément. Elles se distinguent par la nature des chaînes qui les constituent. La figure 4 représente la succession de ces diverses sous-unités au cours de l'évolution ontogénique. La proportion relative des diverses Hb évolue parallèlement au changement du lieu de l'érythropoïèse : sac vitellin chez l'embryon, foie, rate et moelle osseuse chez le fœtus, moelle osseuse chez l'adulte normal.

- Pendant les 3 premiers mois de la gestation, les globules rouges contiennent des Hb embryonnaires Gower 1 ( $\zeta_2\varepsilon_2$ ), Gower 2 ( $\alpha_2\varepsilon_2$ ) et Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) ;
- Chez le fœtus, à partir du 37<sup>ème</sup> jour, l'Hb fœtale HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) apparaît pour devenir le composant hémoglobinique principal. Sa proportion atteint 90 % entre la 8<sup>ème</sup> et la 10<sup>ème</sup> semaine. L'HbF a une affinité intrinsèque pour l'oxygène identique à l'HbA de l'adulte, mais ses liaisons au 2,3-DPG sont beaucoup plus faibles. Ainsi, les hématies fœtales ont une affinité pour l'oxygène sensiblement supérieure à celle des hématies maternelles, ce qui favorise le transport d'oxygène de la mère vers le fœtus. Peu avant la naissance, entre la 32<sup>ème</sup> et la 36<sup>ème</sup> semaine de gestation, l'HbF commence à décliner au profit de l'HbA ( $\alpha_2, \beta_2$ ). À la naissance, le pourcentage d'HbA est de 15 à 30 %.

Chez l'adulte, le profil caractéristique s'observe à partir de l'âge de 6 mois. Le Switch  $\gamma\beta$  est effectué à 90% à 6 mois, et à 95% à 1 an. Il est terminé vers 5–6 ans.

L'HbA représente plus de 95 % de la totalité des Hb. Il existe un constituant mineur, l'HbA2, dont la synthèse débute pendant la période néonatale et qui est exprimée à un taux d'environ 2,5 %. L'HbF ne subsiste plus qu'à l'état de traces (< 1 %) . [27]

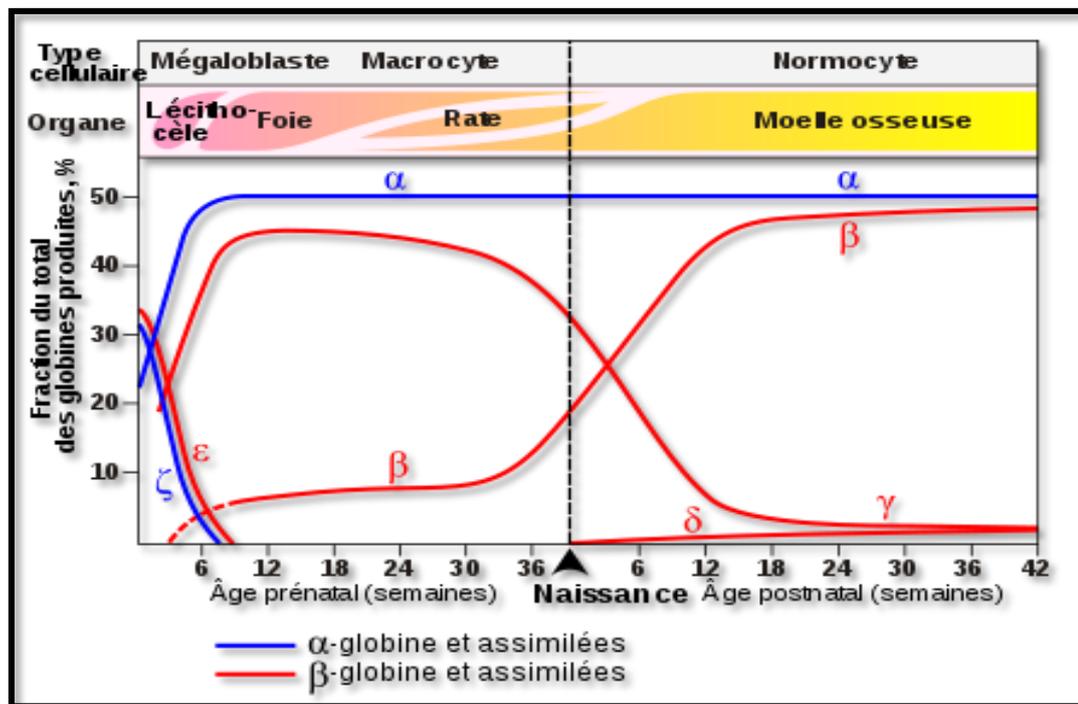


Figure 4: Expression des gènes de globine au cours du développement ontogénique [29]

### III.2 Classification des hémoglobinopathies :

Les hémoglobinopathies sont classiquement séparées en deux grandes catégories :

- Les variants de l'Hb avec anomalie qualitative : synthèse en quantité normale d'une hémoglobine «anormale » ;
- Les variants de l'Hb avec anomalie quantitative : défaut quantitatif de production d'une hémoglobine normale ce qui correspond à **une thalassémie**. [30]

Ce sont des pathologies différentes dans leur expression clinique et leur physiopathologie.

#### III.2.1 Hémoglobines anormales :

**Les Hb anormales peuvent être classées en 4 groupes :**

- les mutants qui sont à l'origine de problèmes de santé publique majeurs. Il s'agit surtout des HbS dans la population africaine et des HbE dans les populations du Sud-Est asiatique ;
- les variants plus rares, mais présents dans les populations où l'HbS a une forte prévalence. C'est le cas des HbC, O-Arab et D-Punjab, qui par elles-mêmes n'ont qu'un effet pathogène minime, mais qui, associées à l'HbS, conduisent à des syndromes drépanocytaires majeurs;
- les variants rares, à l'origine de désordres hématologiques variés : Hb instables (qui sont la cause d'anémies hémolytiques chroniques), Hb hyperaffines (responsables de polyglobulies), Hb hypoaffines (responsables d'anémies avec cyanose), HbM (cause de méthémoglobinémies) ;
- les polymorphismes ou les mutations privées, habituellement totalement silencieux sur le plan clinique. Ils ont été découverts lors d'études systématiques de population ou parce qu'ils interfèrent avec le dosage de l'Hb glyquée. Ces mutants doivent être caractérisés et rapportés dans les banques de données pour éviter qu'ils ne soient confondus avec des mutants aux conséquences cliniques sévères. [27]

III.2.1.1 L'Hémoglobine S:

L'HbS ( $\beta 6\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$ ) est fréquente en Afrique sub-saharienne et également retrouvée aux Antilles, au Maghreb, en Sicile, en Grèce, dans tout le Moyen-Orient et aux Indes. Sa répartition actuelle est mondiale en raison des flux migratoires. L'HbS présente une charge différente de l'HbA en raison du remplacement d'un acide glutamique de surface par un acide aminé neutre, la valine. Il se révèle par une fraction en fenêtre S en CLHP et en ECAP, électrophorèse alcaline ou isoélectrofocalisation. La confirmation peut se faire par une électrophorèse acide qui montrera une bande, en position S. Le taux de l'HbS chez le sujet hétérozygote est de 35 à 45 % chez l'adulte et chez le nouveau-né il est inférieur au taux d'HbA. [31]

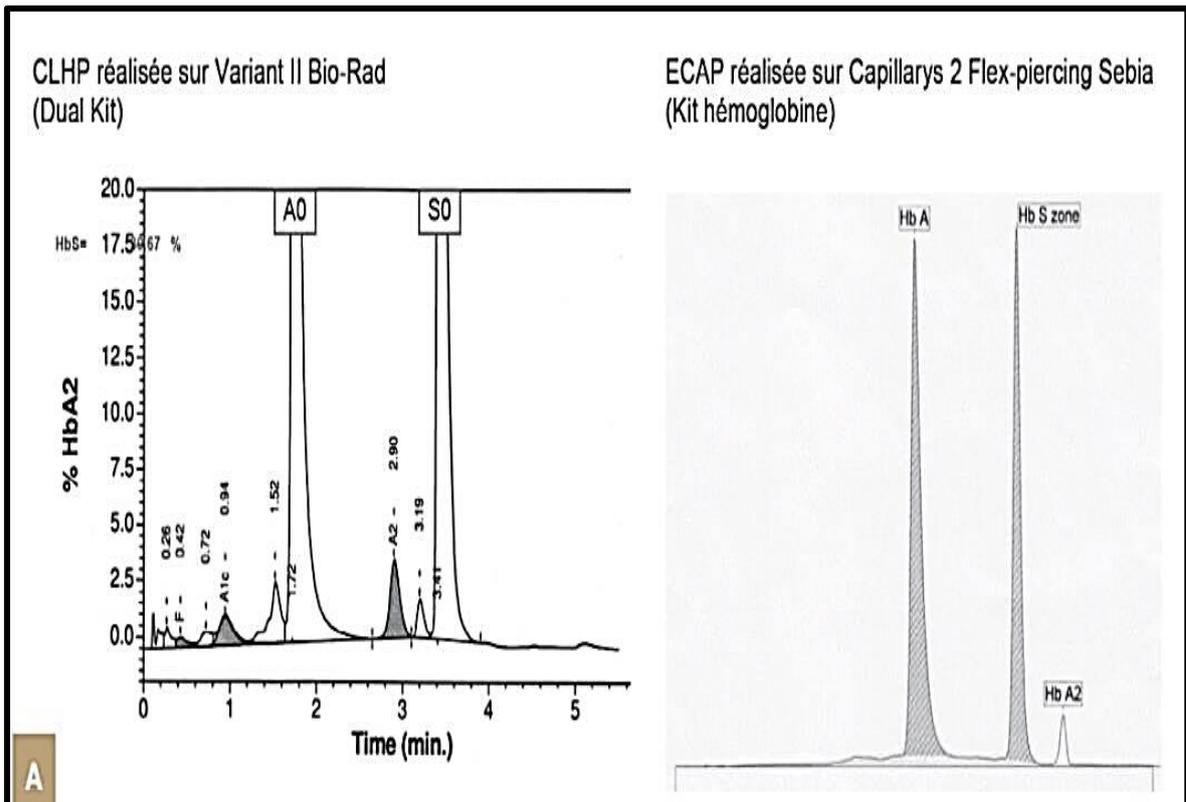


Figure 5: Adulte A/S : l'HbS est éluee en zone S en CLHP et en ECAP [31]

### III.2.1.2 Hemoglobine C:

L'HbC ( $\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ ) est le deuxième variant de l'hémoglobine le plus fréquemment rencontré, initialement originaire d'Afrique de l'Ouest. L'HbC présente une charge différente de l'HbA en raison du remplacement d'un acide glutamique de surface par un acide aminé basique, la lysine. Il se révèle par une fraction en fenêtre C en CLHP et en ECAP, électrophorèse alcaline ou isoélectrofocalisation. Le taux d'HbA2 est augmenté en ECAP en raison d'une séparation incomplète entre l'HbC et l'HbA2. Le taux d'HbA2 n'est pas affecté par l'HbC en CLHP.

La confirmation d'une HbC peut se faire par une électrophorèse acide qui montrera une bande en position C. Comme pour l'HbS, le taux d'expression de l'HbC à l'état hétérozygote est de l'ordre de 35 à 45 % [31]

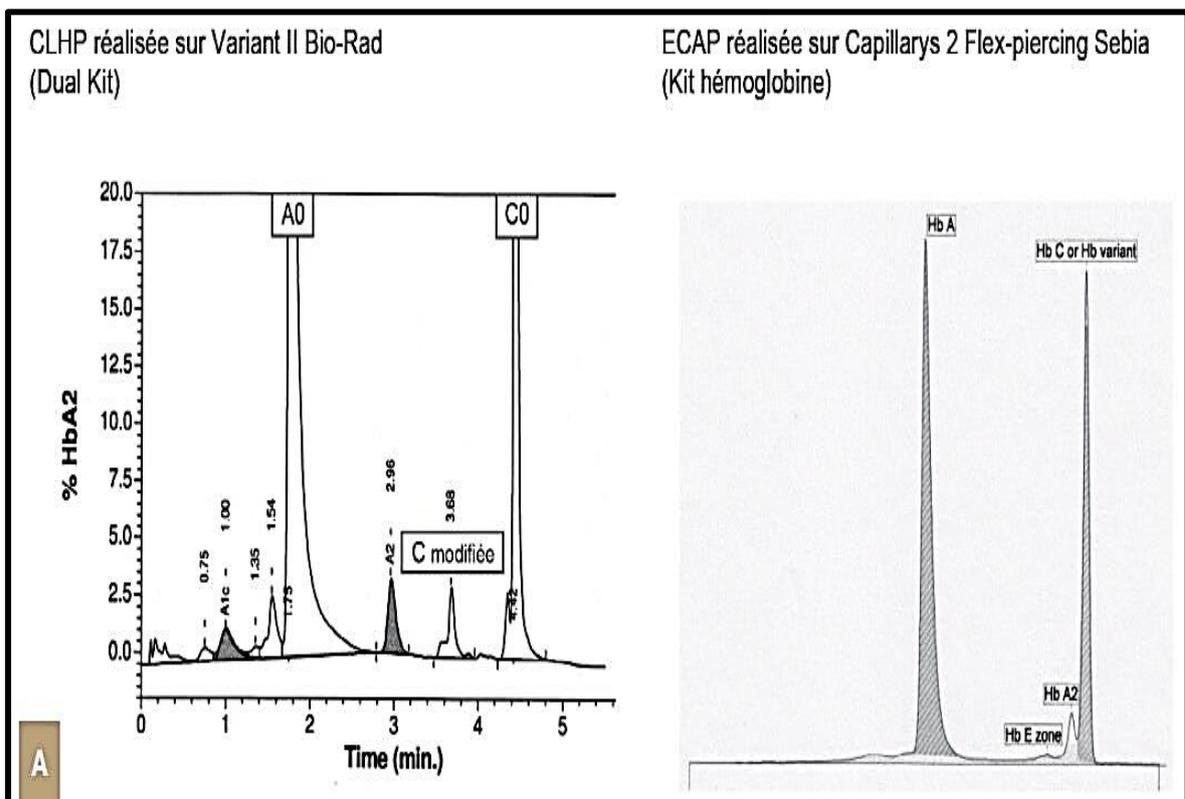
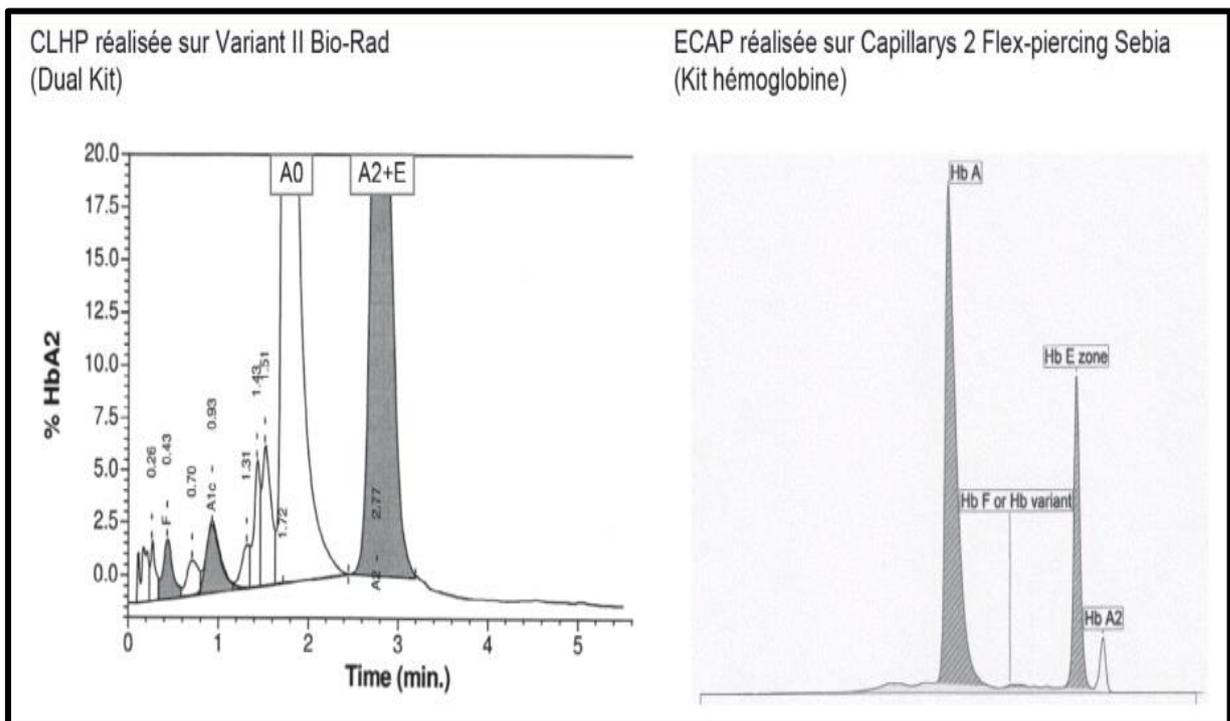


Figure 6: Adulte A/C : l'HbC est élue en zone C en CLHP et en ECAP [31].

### III.2.1.3 Hémoglobine E:

L'HbE ( $\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ ) est un mutant de la chaîne  $\beta$  il présente une charge différente de l'HbA en raison du remplacement d'un acide glutamique de surface par un acide aminé basique, la lysine. [31]

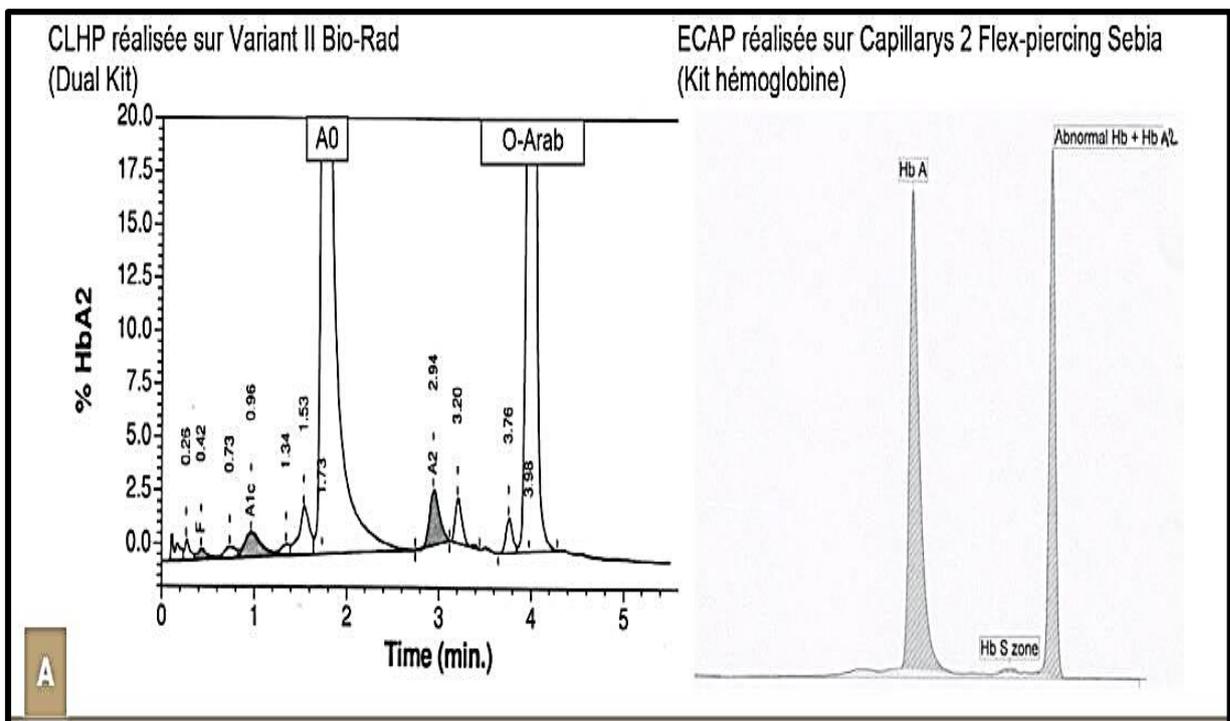
L'hémoglobine E se révèle par une fraction en HbA2 en CLHP, en zone E devant l'HbA2 en ECAP ou isoélectrofocalisation et en zone C en électrophorèse alcaline. En CLHP, l'HbE co-élué avec l'HbA2 qui n'est donc pas mesurable et la valeur indiquée pour l'HbE correspond en fait à la somme Hb E + Hb A2. En ECAP, l'HbE est séparée de l'HbA2 et le taux d'HbE mesuré est plus faible puisqu'il n'inclut pas l'HbA2. La confirmation d'une HbE peut se faire par une électrophorèse acide où l'HbE co-migre avec l'HbA. [31]



**Figure 7: Adulte A/E : l'HbE est éluée avec l'Hb A2 en CLHP et le logiciel identifie et quantifie comme HbA2 la somme (HbA2 + HbE) ; l'HbE migre en zone E en ECAP. [31]**

## III.2.1.4 HbO-Arab:

L'HbO-Arab ( $\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ ), peu fréquente, est retrouvée en Europe orientale, en Afrique et dans le Moyen-Orient. L'Hb-OArab présente une charge différente de l'HbA en raison du remplacement d'un acide glutamique de surface par un acide aminé basique, la lysine. L'HbO se révèle par une fraction migrant juste avant l'HbC en CLHP, en zone C en ECAP, isoélectrofocalisation ou électrophorèse alcaline (**figure 8**). En électrophorèse acide l'HbO-Arab comigre avec l'HbS. L'HbO-Arab est responsable en association avec l'HbS d'un SDM et il est important de la détecter. [31]

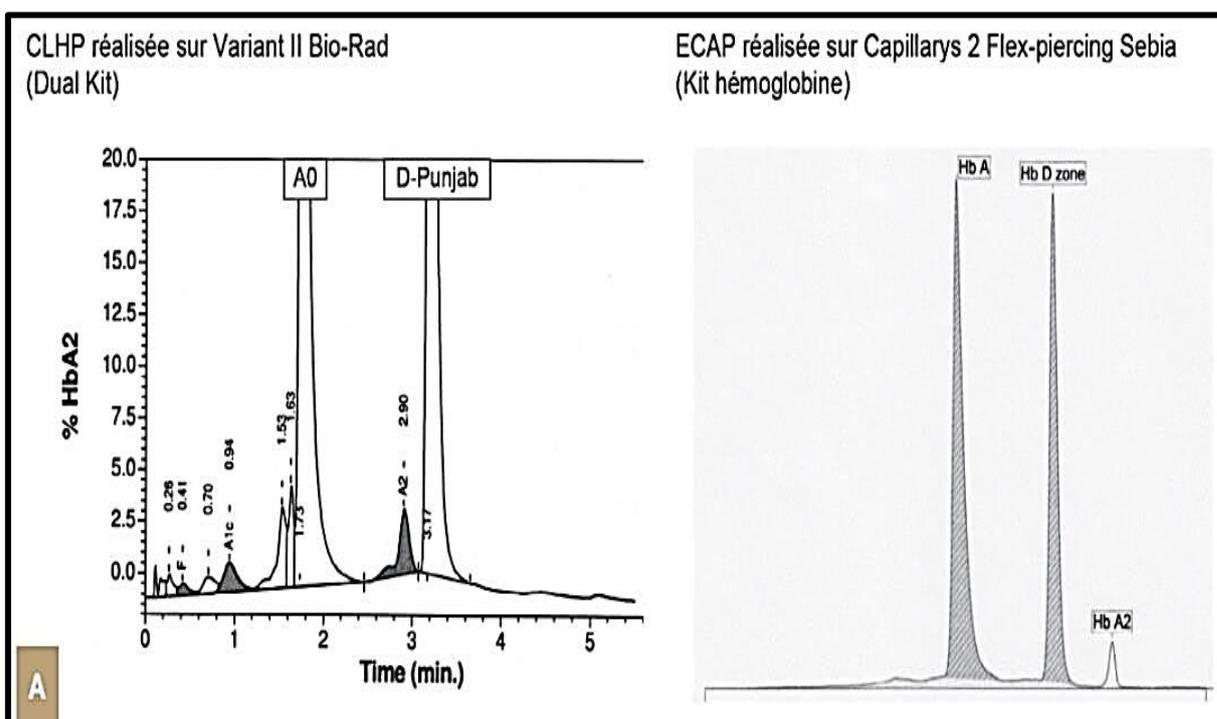


**Figure 8: Adulte A/O-Arab: l'HbO-Arab est élue tardivement en CLHP et migre avec l'HbA2 en ECAP.[31]**

### III.2.1.5 Hémoglobine D:

L'HbD est un terme générique recouvrant plusieurs variants de l'hémoglobine et constitue le quatrième variant de l'Hb le plus courant. Parmi ceux-ci, l'HbD Punjab (L'HbD-Punjab est un mutant de la chaîne  $\beta$  où l'acide glutamique est remplacé par un acide aminé neutre : la glutamine). [24] ; Est de loin le variant le plus fréquent et les autres variants de l'HbD comprenant aussi l'HbD Iran, l'HbD Ouled Rabah et l'HbD Granada. L'HbD est décelé le plus souvent auprès d'individus vivant en Inde, au Pakistan, en Angleterre, en Irlande, aux Pays-Bas, en Australie, en Chine, en Iran, en Turquie et auprès de leurs descendants. [32]

L'HbD migre juste après l'HbA2 en CLHP, en zone D en ECAP ou isoélectrofocalisation et en zone S en électrophorèse alcaline. Le taux d'expression de l'HbD-Punjab à l'état hétérozygote est de l'ordre de 40 %. [31]



**Figure 9: Adulte A/D-Punjab : l'HbD-Punjab est éluée après l'HbA2 en CLHP et en zone D en ECAP.[31]**

## III.2.1.6 Hémoglobine j:

Hémoglobine J-Baltimore ( $\beta 16(A13) \text{ Gly} \rightarrow \text{Asp}$ ) :Est une hémoglobinose qui a été décrit pour la première fois en 1963 chez une famille africaine-américaine par Baglioni et Weatherall .[33]

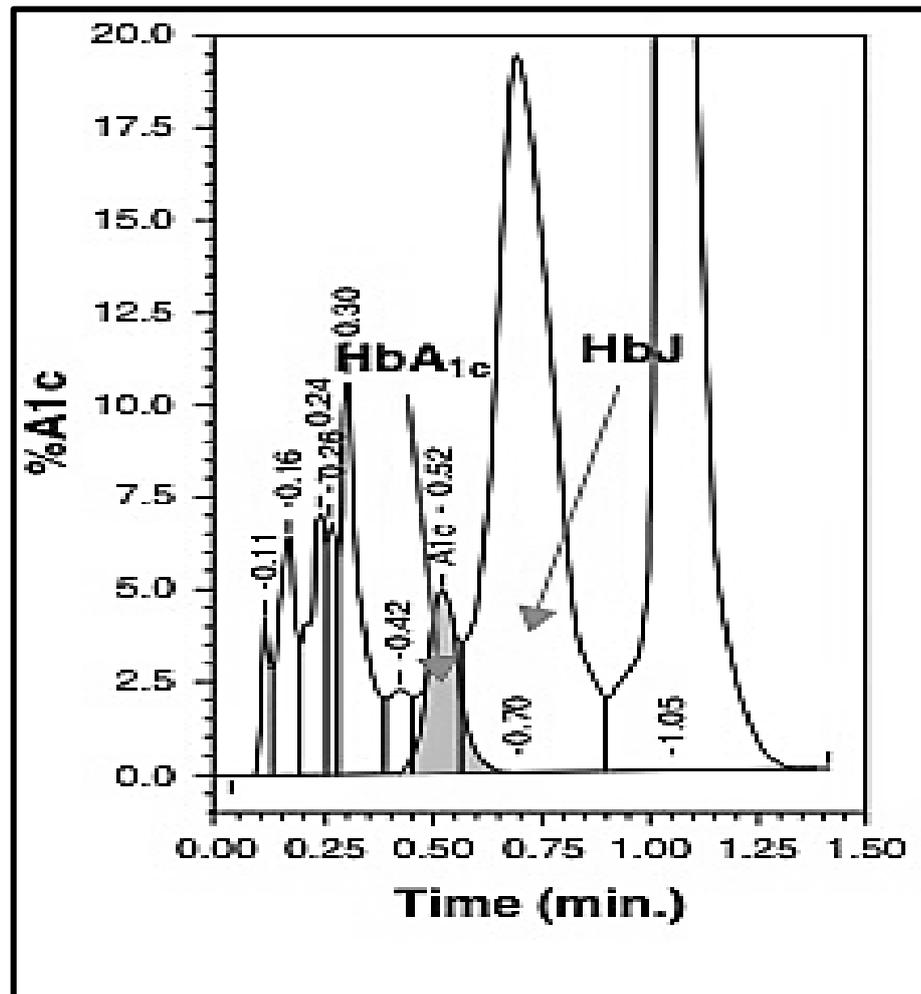


Figure 10: Chromatogramme d'une Hb j .[34]

### III.2.2 Les Thalassémies :

#### Les syndromes thalassémiques :

Ils se caractérisent par une anomalie quantitative par défaut de synthèse des chaînes de globines  $\alpha$  ou non  $\alpha$  ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ). on distingue :

#### III.2.2.1 Les $\alpha$ thalassémies (délétion de 1 à 4 gènes $\alpha$ ):

- $\alpha^+$  thalassémie hétérozygote (1 gène délété) ;
- $\alpha^+$  thalassémie homozygote (2 gènes délétés en trans) ou  $\alpha^0$  thalassémie hétérozygote (2 gènes délétés en cis) ;
- Hémoglobinoses H (3 gènes délétés),
- Anasarque fœto-placentaire (4 gènes délétés) [35]
- **L'hémoglobinoses H :**

Trois gènes sur les quatre sont mutés : trop peu de chaînes  $\alpha$  sont fabriquées pour assurer une production suffisante d'hémoglobine. De plus, il y a un déséquilibre entre le nombre de chaînes alpha produites (qui est très insuffisant) et le nombre de chaînes bêta (qui est normal) Ces chaînes bêta ( $\beta$ ) en excès s'assemblent entre elles pour former l'hémoglobine H. [36]

#### III.2.2.2 Les $\beta$ thalassémies:

- Défaut de synthèse totale ou partielle des chaînes  $\beta$  :  $\beta^0$  ou  $\beta^+$  thalassémie,
- Les  $\delta$ - $\beta$  thalassémies : défaut de synthèse des deux gènes  $\delta$  et  $\beta$ . [35]

### III.3 Exploration des hémoglobinopathies :

#### III.3.1 Techniques électrophorétiques :

##### III.3.1.1 Electrophorèse capillaire:

L'hémoglobine est fractionnée et les courbes obtenues sont comparables à celles sur cellulose d'acétate. La modification essentielle réside dans le fait que la migration se fait à un très haut voltage (9000 V environ) et s'effectue à travers un tube capillaire très fin de 20  $\mu\text{m}$  à 200  $\mu\text{m}$ . Ce système permet de séparer très rapidement les fractions (quelques minutes) avec une excellente résolution, puisque les fractions séparées sont détectées directement dans le spectre ultraviolet lorsqu'elles passent devant la cellule du photomètre incorporée dans l'appareil. Par ailleurs, il serait possible de séparer sans confusion plusieurs variants d'Hb. [37]

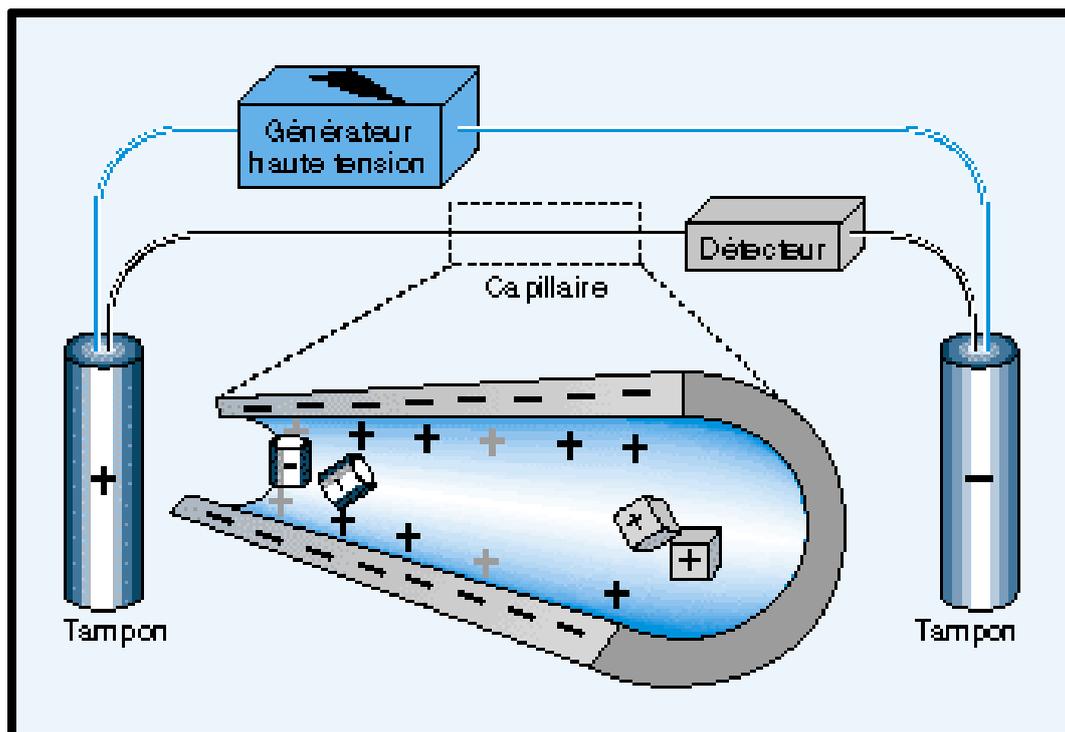


Figure 11: Principe d'un système d'électrophorèse capillaire [38]

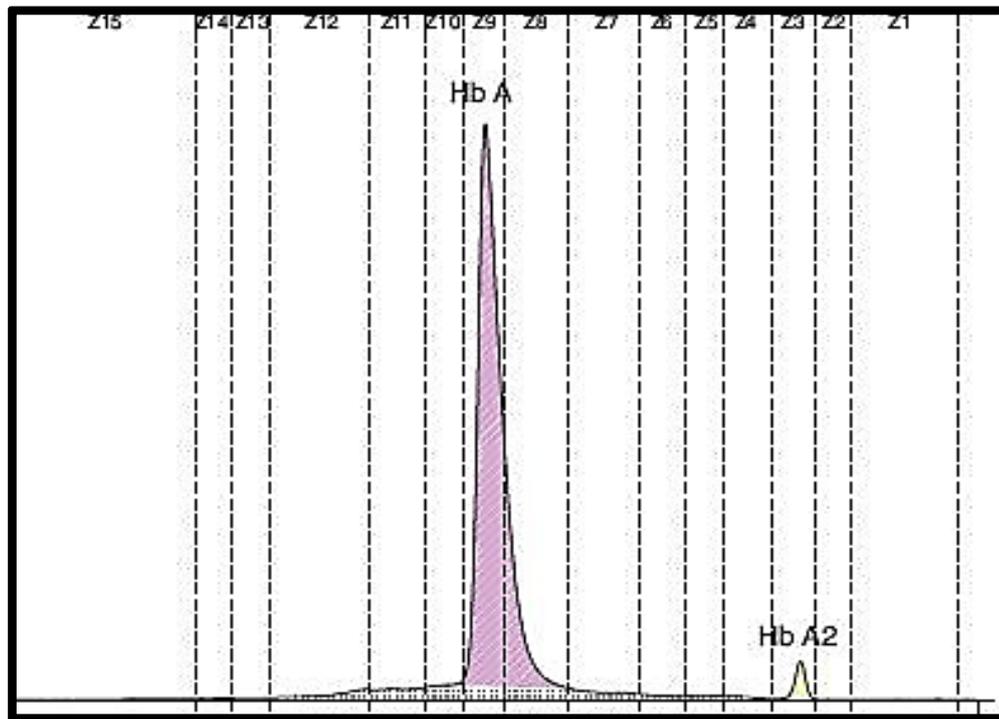


Figure 12: Profile électrophorétique d'un sujet normal. [39]

### III.3.2 Techniques chromatographiques :

#### III.3.2.1 Chromatographie liquide à haute performance:

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse.

A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC). Très rapidement le P de pression est devenu le P de performance lorsque l'on a optimisé la technique (diminution de la taille de particules de la phase stationnaire, régularité de cette phase...).

**Principe :**

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

Des systèmes complètement automatisés peuvent être utilisés, comme le Variant qui est une CLHP par échange de cation avec détection des composés élués à double longueur d'onde (415 /690 nm).

Des fenêtres sont établies pour les hémoglobines les plus fréquentes en fonction de leur temps de rétention. L'identification de ces variant spécifiques nécessite cependant des techniques additionnelles. [41]

# **Partie pratique**

## **IV- MATERIELS ET METHODES :**

Il s'agit d'une étude descriptive prospective s'étalant sur une durée de 3 mois allant de Janvier 2017 à Mars 2017, portant sur 3042 sujets dont l'âge varie de 2 ans à 97 ans.

Ces sujets ont été recrutés au niveau du laboratoire d'analyse médicale (LAM) Dr A.Benhelal à Ouled Yaich Blida.

### **IV.1 Matériels :**

#### **IV.1.1 Matériel biologique :**

Le dosage est réalisé sur des échantillons de sang total, prélevé par ponction veineuse franche au niveau de la veine du pli du coude et recueilli sur des tubes contenant de l'EDTA.

Pour chaque échantillon, l'identité du patient ainsi que **la date et l'heure** de prélèvement sont notées sur les tubes.

#### **IV.1.2 Matériel de laboratoire :**

- Matériel de prélèvement (Coton, alcool, épicroaniennes, gants...etc)
- Tubes de 5mL contenant l'anticoagulant EDTA.
- Portoirs de tubes.
- Micropipettes réglables pour les volumes allant de 10 à100  $\mu$ L et de 100à1000  $\mu$ L
- Consommables : Embouts 200 $\mu$ L jaunes et 1000 $\mu$ L bleus, lames porte-objets.

#### **IV.1.2.1 Automates et leurs réactifs:**

##### **IV.1.2.1.1 Chromatographie liquide à haute performance marque VARIANT™ II**

###### **TURBO Bio-Rad :**

Le Bio-Rad VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0 repose sur le principe de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) par échange d'ions. Les échantillons sont automatiquement dilués dans la station d'échantillonnage VARIANT II TURBO, puis injectés dans la cartouche analytique. Les pompes à double piston de la station chromatographique VARIANT II TURBO (VCS) envoient un gradient programmé de tampon de force ionique croissante dans la cartouche où les molécules d'hémoglobine sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la cartouche.

Les molécules d'hémoglobine séparées traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance à 415 nm.

Un filtre supplémentaire à 690 nm permet de corriger le résultat pour tenir compte de l'absorbance due au bruit de fond.

Le logiciel de gestion des données cliniques VARIANT II TURBO Clinical Data Management (CDM™) simplifie les données brutes recueillies lors de chaque analyse. Un étalonnage à deux niveaux est employé pour ajuster les valeurs calculées de l'HbA1c. Un compte rendu d'analyse, comprenant un chromatogramme et les temps de rétention des pics détectés, est généré par CDM pour chaque échantillon.

Le pic A1c est indiqué en gris. Sa surface est calculée à l'aide d'un algorithme de Gauss exponentiellement modifié (EMG) qui permet d'exclure la surface des pics dus à l'A1c labile et à l'hémoglobine carbamylée de la surface du pic A1c.



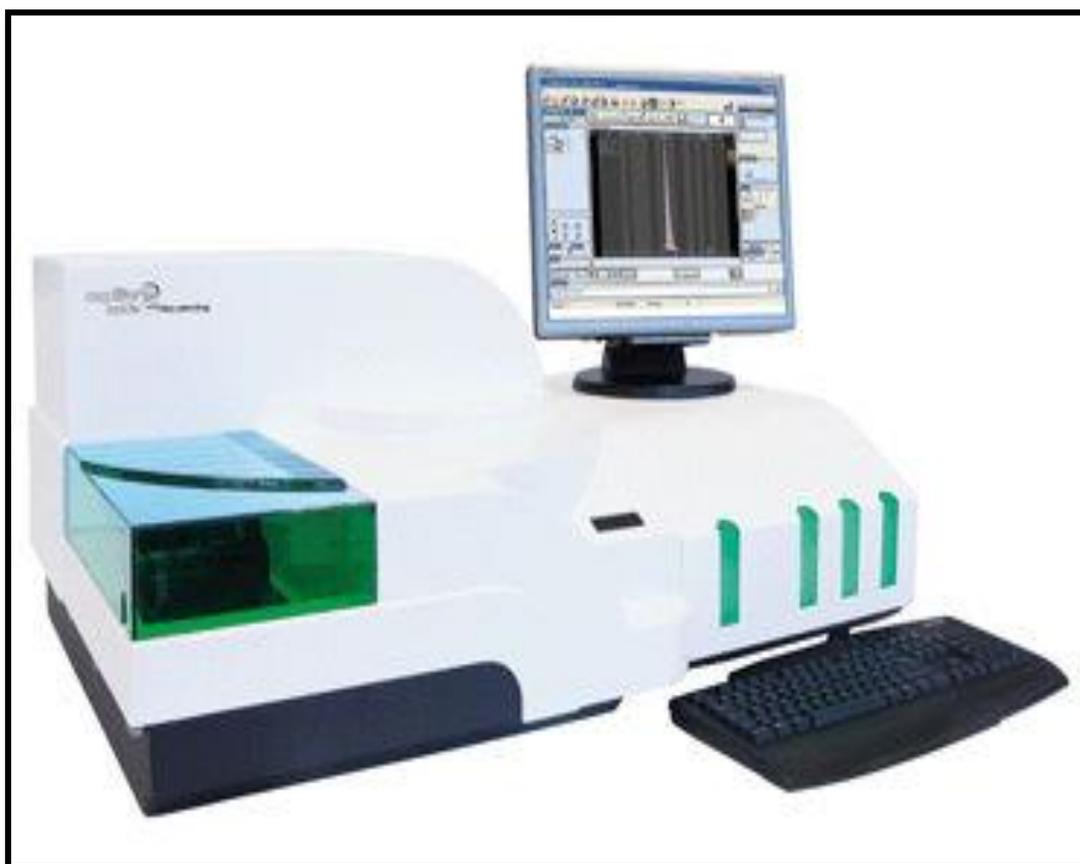
**Figure 13: Automate Bio-Rad VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0.**

#### IV.1.2.1.2 Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia) :

Le système Capillarys utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre, qui représente la forme la plus courante d'électrophorèse capillaire.

Les migrations se font simultanément dans 8 capillaires en silice de 25 µm de diamètre. La technologie permet la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique dans un tampon de pH donné, et selon le pH de l'électrolyte. La température est contrôlée par effet Peltier à 35,5 °C, ce qui évite les problèmes de migration liés à certaines cryoglobulines qui peuvent précipiter à température ambiante.

Les molécules sont détectées directement à une longueur d'onde d'absorption spécifique (200 nm pour les protéines sériques et la CDT, et 415 nm pour les hémoglobines et l'HbA1c). Cette détection directe permet une quantification précise de chaque fraction individualisée.



**Figure 14: Automate Capillarys 2 Flex Piercing (Sebia).**

La séparation et la quantification des principaux variants de l'hémoglobine (HbS, HbC, HbD, HbE) et la quantification des fractions d'hémoglobine d'intérêt pour le diagnostic de bêta-thalassémie (HbA2 et HbF) se font à l'aide du tampon de la Trousse Capillarys Hb (figure 15 C).

Le Capillarys 2 Flex Piercing permet la séparation et la quantification de l'HbA1c avec une expression en mmol/mol et/ou en % par le rapport HbA1c/ (HbA1c + HbA0) (figure 15 D).

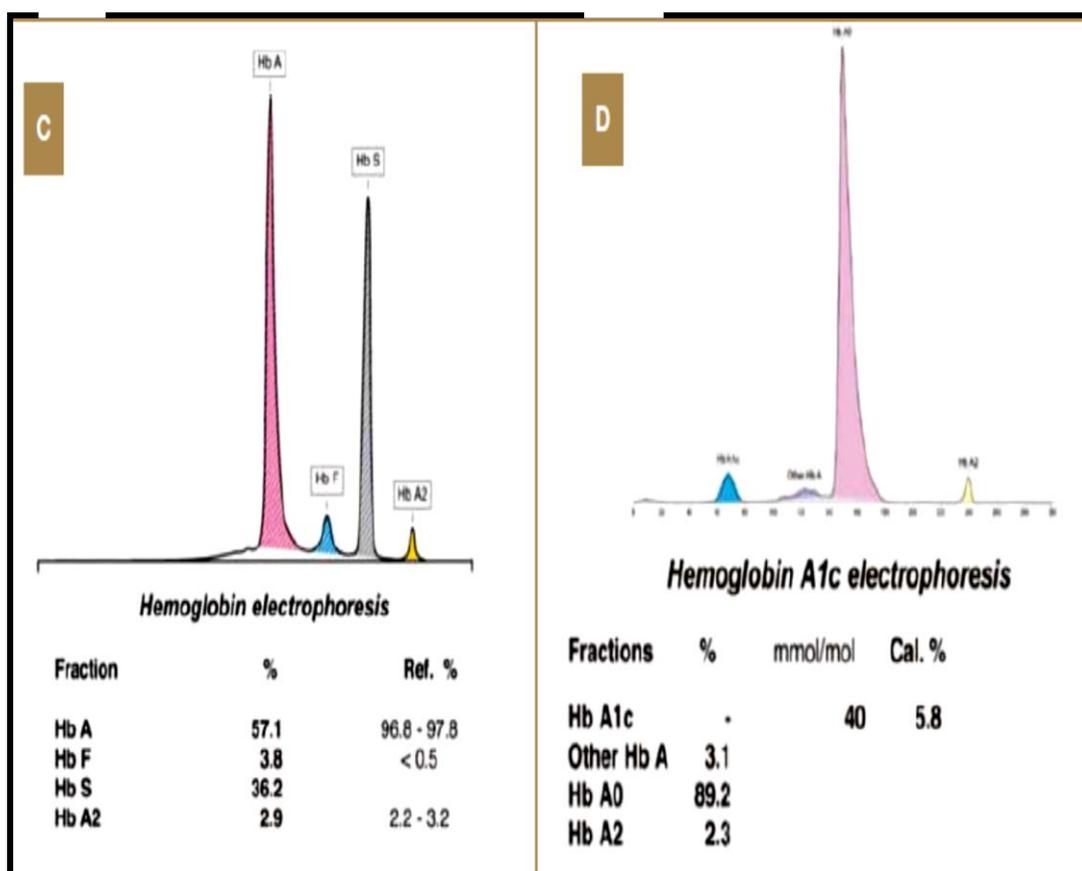
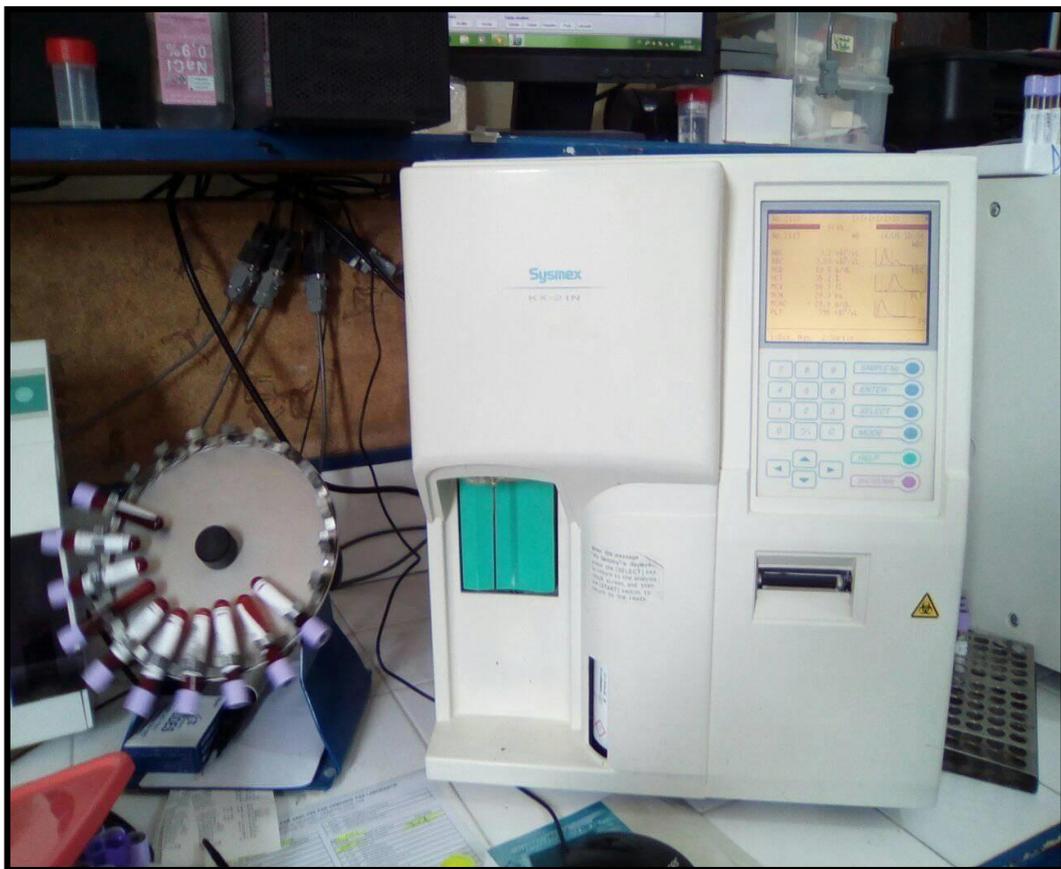


Figure 15 : Profile électrophorétique A/S (l'HbS est éluée en zone S) par rapport à un profile normale. [40]

#### IV.1.2.1.3 Sysmex KX-21N™ Automated Hematology Analyzer :

Les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes sont comptés en utilisant la méthode de détection de courant continu avec correction de coïncidence. Les discriminateurs automatiques séparent les populations de cellules en fonction d'algorithmes complexes. L'intensité de l'impulsion électronique de chaque cellule analysée est proportionnelle au volume cellulaire. L'hématocrite (HCT) est directement déterminé en fonction du nombre de globules rouges et de la détection du volume de chaque RBC (globule rouge) individuel. Même avec des échantillons à des concentrations extrêmement faibles ou exceptionnellement élevées, les compteurs de cellules Sysmex analysent les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes avec une précision et une précision sans compromis.



**Figure 16: Sysmex KX-21N™ Automated Hematology Analyzer.**

## **IV.2 Méthodes**

### **IV.2.1 PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS**

#### **IV.2.1.1 Type d'échantillon**

Sang total.

#### **IV.2.1.2 Additifs et agents conservateurs des échantillons**

Les échantillons de sang total doivent être recueillis dans un tube sous vide contenant de l'EDTA.

#### **IV.2.1.3 Conservation des échantillons**

Les échantillons de sang total peuvent être conservés jusqu'à 7 jours entre 2 et 8 °C ou pendant 1 jour à la température ambiante (entre 15 et 30 °C).

#### **IV.2.1.4 Préparation des échantillons**

1. Aucune préparation particulière des échantillons n'est nécessaire. Il n'est pas nécessaire d'agiter les tubes avant le chargement. Les tubes d'échantillons sont chargés dans les portoirs du VARIANT II TURBO et placés sur la courroie de transport de la station d'échantillonnage

Utiliser des inserts de portoirs spéciaux pour les tubes de 12, 13 et 14 mm de diamètre et des adaptateurs spéciaux pour les tubes pédiatriques de 10 mm. Retirer tous les adaptateurs pour les tubes de 16 mm de diamètre. Les tubes dont la hauteur est comprise entre 75 et 100 mm peuvent être utilisés.

2. Si l'échantillon se trouve dans un tube de taille ou de type anormal ou si le niveau de l'échantillon dans le tube semble inférieur à 25 mm, une prédilution de l'échantillon à 1/300 est nécessaire avant l'analyse. Avant le prélèvement à la pipette, bien mélanger l'échantillon en retournant doucement le tube. Pour prédiluer, pipeter 1,5 ml de solution de lavage/dilution dans un microtube étiqueté de 1,5 ml, puis ajouter 5 µl d'échantillon de sang total. Boucher le tube et bien mélanger. Utiliser un adaptateur pour microtubes pour les échantillons prédilués.

### **IV.3 RECOMMANDATIONS POUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS :**

1. La surface totale de chaque analyse doit être comprise entre 1,0 et 3,5 millions de  $\mu\text{volts/seconde}$ .

Ne pas prendre le résultat en compte si la surface se trouve en dehors de cette plage.

2. Les pics A1c et A0 doivent être correctement identifiés. Pour référence, les fenêtres de temps de rétention des analytes figurent sur la notice de la cartouche du VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0.

3. Les valeurs de contrôle de la qualité doivent être comprises dans la plage indiquée.

4. La plage indiquée pour l'HbA1c a été déterminée sur la base des données présentées à la section Paramètres de performance, Linéarité. Si le résultat d'HbA1c tombe en dehors de la plage indiquée, il ne doit pas être utilisé.

5. Tout échantillon contenant plus de 15 % ou plus de 140 mmol/mol d'HbA1c doit être considéré comme pouvant contenir un variant d'hémoglobine.

6. Tout échantillon ayant une surface combinée  $\geq 60$  % dans les fenêtres Variant et C doit être considéré comme l'indication du phénotype d'une  $\beta$ -thalassémie ou d'un variant homozygote. Le résultat d'HbA1c ne doit pas être indiqué pour ces échantillons.

## **IV.4 LIMITES DE LA PROCÉDURE**

### **IV.4.1 Dilution des échantillons**

Les taux normaux d'hémoglobine totale correspondent à des surfaces totales d'environ 2,5 millions de  $\mu\text{volts/seconde}$ . La plage de surface totale recommandée du VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0 va de 1,0 à 3,5 millions de  $\mu\text{volts/seconde}$ .

Les échantillons avec des surfaces totales inférieures à 1,0 million de  $\mu\text{volts/seconde}$  ou supérieures à 3,5 millions de  $\mu\text{volts/seconde}$  doivent être dilués manuellement.

Pour prédiluer, pipeter 1,5 ml de solution de lavage/dilution dans un microtube étiqueté de 1,5 ml, puis ajouter 5  $\mu\text{l}$  d'échantillon de sang total.

Boucher le tube et bien mélanger. Utiliser un adaptateur pour microtubes pour les échantillons prédilués. Si la surface de l'échantillon se trouve encore en dehors de la plage prévue, l'échantillon doit être dilué une nouvelle fois pour obtenir une surface totale comprise entre 1,0 et 3,5 millions et l'analyse doit être répétée.

### **IV.4.2 Anomalie de la durée de vie des hématies**

Les échantillons issus de patients atteints d'anémie hémolytique présentent des taux réduits d'hémoglobine glyquée du fait de la courte durée de vie de leurs hématies. Cet effet dépend de la gravité de l'anémie. Les échantillons provenant de patients atteints de polycythémie ou ayant subi une splénectomie peuvent présenter des taux accrus d'hémoglobine glyquée du fait de la durée de vie sensiblement plus longue de leurs hématies.

### **IV.4.3 Variants de l'hémoglobine**

Les valeurs d'HbA1c obtenues à l'aide du VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0 pour des spécimens porteurs du trait de l'hémoglobine S, du trait de l'hémoglobine C, du trait de l'hémoglobine E et du trait de l'hémoglobine D ne diffèrent pas de manière cliniquement significative des valeurs obtenues par une méthode d'affinité au boronate, certifiée NGSP. Les chromatogrammes caractéristiques de ces variants sont représentés par les figures 9 à 12.

**REMARQUE :**

L'élution des hémoglobines E, D et S se produit dans la fenêtre Variant (Variant Window). Dans les rares cas où ces hémoglobines sont sous forme homozygote (SS ou CC par exemple), il n'y a pas d'HbA ; aucune valeur d'HbA1c ne peut donc être déterminée.

Les autres variants d'hémoglobine anormaux et leurs effets sur la détermination du pourcentage d'HbA1c n'ont pas été évalués sur le VARIANT II TURBO HbA1c Kit - 2.0. Pour confirmer sans ambiguïté la présence d'un variant particulier de l'hémoglobine, d'autres méthodes de séparation sont nécessaires.

**IV.5 EXEMPLES DE FORMAT DE COMPTE RENDU ARCHIVE :**

<b>Bio-Rad CDM System</b>		<b>PATIENT REPORT</b>	
<b>CDM 5.1 VII TURBO Instrument</b>		<b>V2TURBO_A1c_2.0</b>	
<u><b>Patient Data</b></u>		<u><b>Analysis Data</b></u>	
Sample ID:	Unknown-1-39	Analysis Performed:	09/06/2010 18:55:19
Patient ID:		Injection Number:	39
Name:		Run Number:	11
Physician:		Rack ID:	0006
Sex:		Tube Number:	2
DOB:		Report Generated:	11/06/2010 14:35:46
Operator ID:			
Comments:			

Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	---	1.0	0.161	32941
A1b	---	---	1.2	0.232	39666
F	---	---	0.8	0.287	25659
LA1c	---	---	1.3	0.433	42133
A1c	30	4.9	---	0.523	109277
P3	---	---	3.0	0.786	95651
P4	---	---	1.1	0.877	35576
Ao	---	---	88.1	1.040	2814708

Total Area: 3,195,611

**HbA1c (IFCC) = 30 mmol/mol**      **HbA1c (NGSP) = 4.9 %**

**Figure 17: Chromatogramme d'un patient non diabétique.**

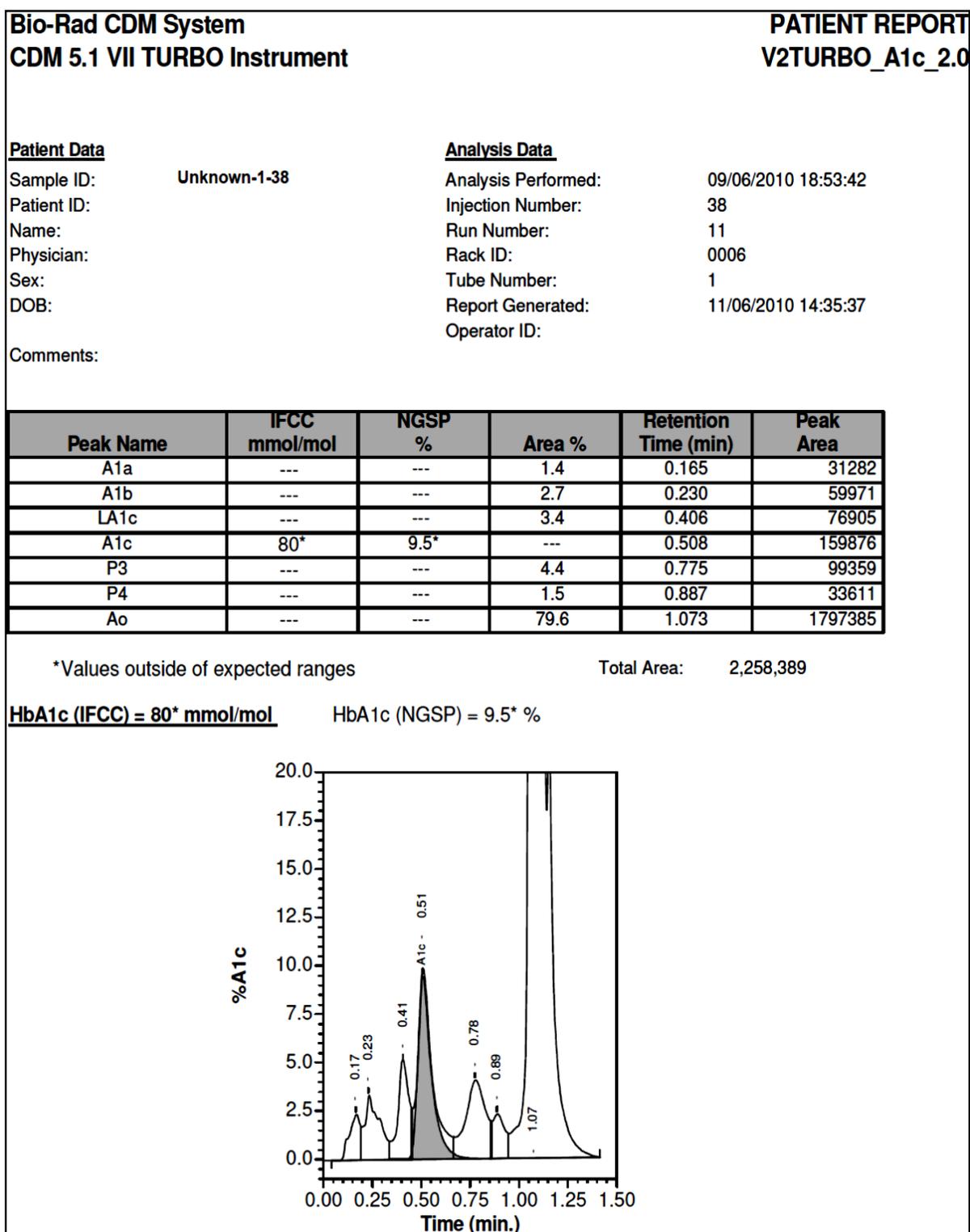


Figure 18: Chromatogramme d'un patient diabétique avec un taux HbA1c élevé.

**V- RESULTATS :**

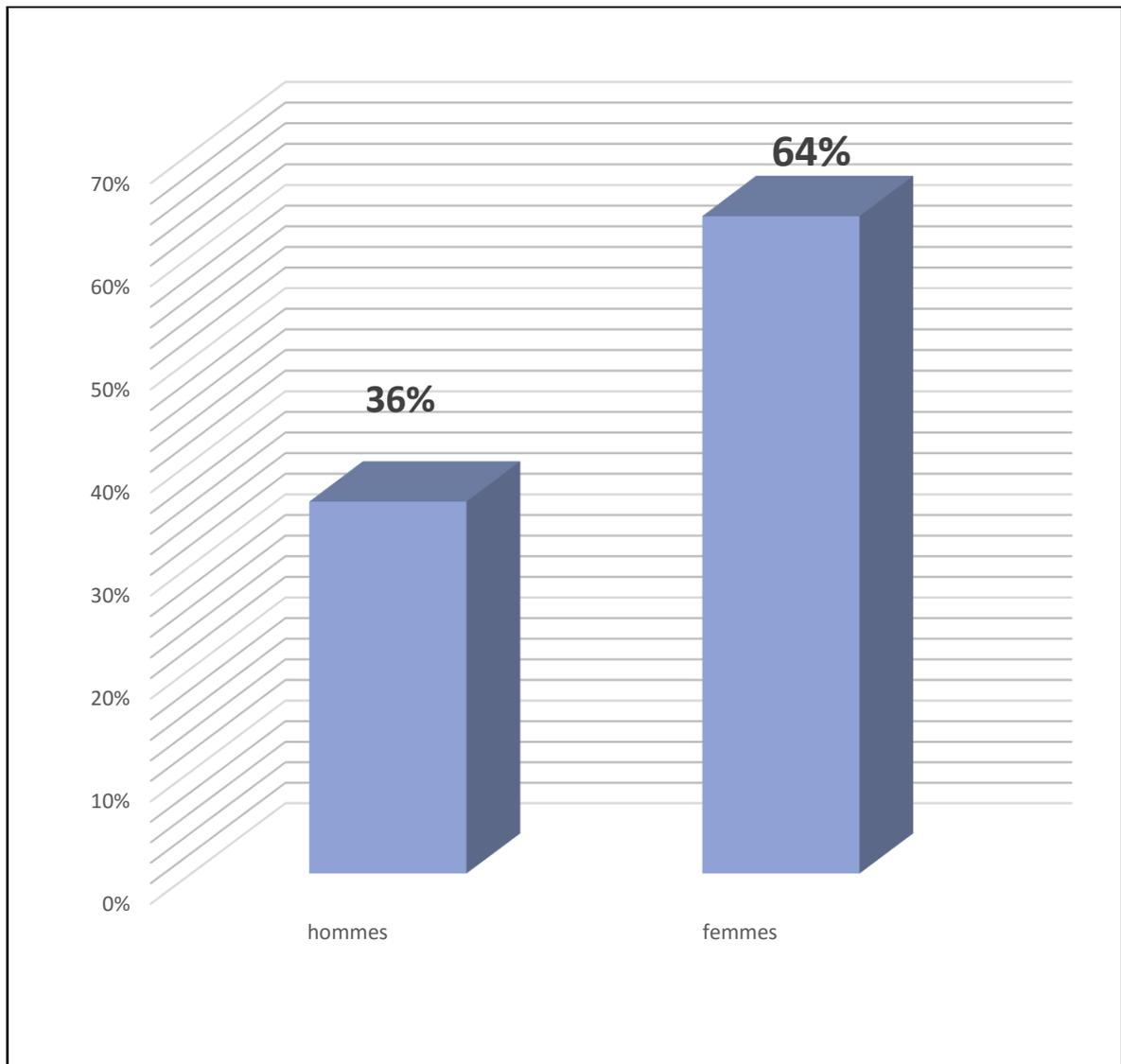
Ce travail a nécessité un nombre total de 3042 patients dont l'âge varie entre 2 et 97 ans.

**V.1 Répartition de la population étudiée :****V.1.1 Répartition en fonction du sexe :**

Nombre de patients est de : 3042 repartisen (1100 hommes / 1942 femmes).

**Tableau 3 : Répartition des patients en fonction du sexe.**

<b>Sexe</b>	<b>Hommes</b>	<b>Femmes</b>
<b>Nombre</b>	<b>1100</b>	<b>1942</b>
<b>Pourcentage (%)</b>	<b>36</b>	<b>64</b>



**Figure 19: Répartition des patients en fonction du sexe.**

Les résultats représentés par la figure 19 montrent que les femmes sont majoritaires dans notre population d'étude.

**V.1.2 Répartition des patients en fonction de l'âge :****Tableau 4 : La moyenne d'âge de la population étudiée.**

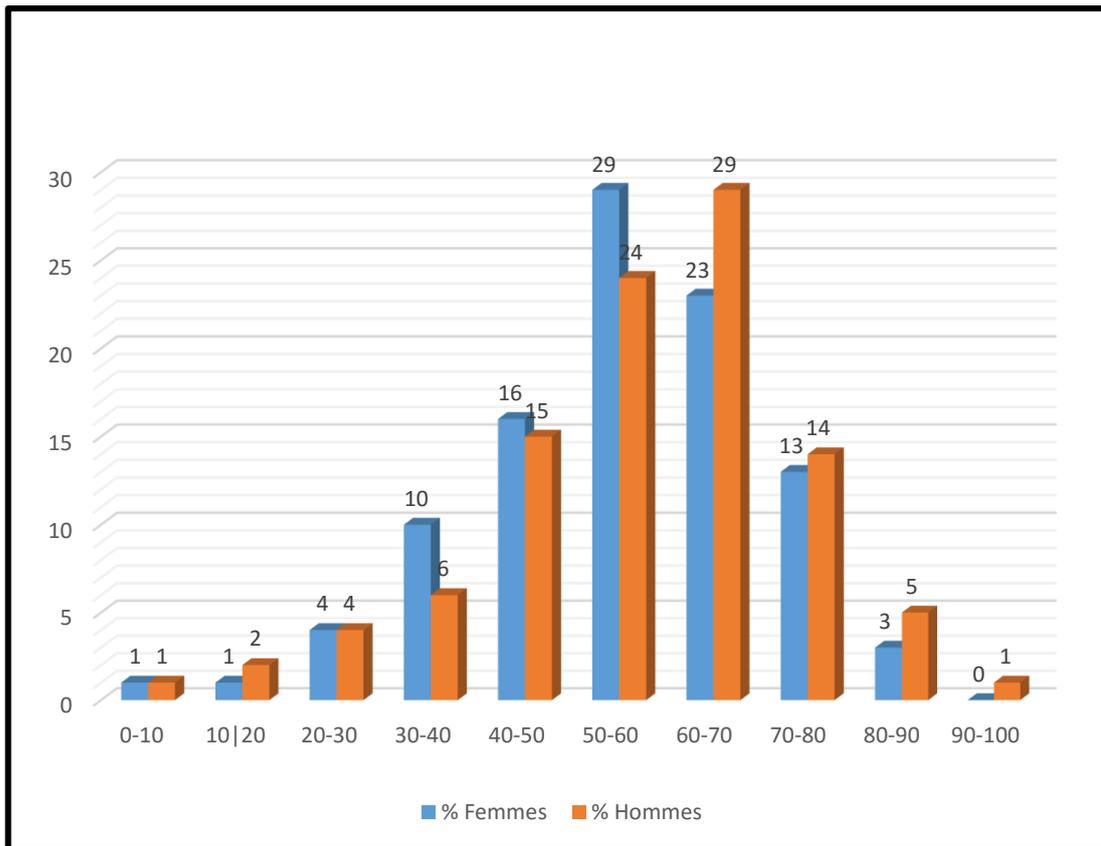
	<b>Nombre total de patients</b>	<b>Hommes</b>	<b>Femmes</b>
<b>Moyenne/écartype</b>	<b>56.1 ± 15.63</b>	<b>57.8 ± 16.11</b>	<b>55.13 ± 15.27</b>

La moyenne d'âge des patients est de  $56.1 \pm 15.63$  ; dont  $57.8 \pm 16.11$  pour les hommes et  $55.13 \pm 15.27$  pour les femmes.

## V.1.3 Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge :

Tableau 5 : Répartition en fonction de la tranche d'âge.

<b>Tranche d'âge</b>	<b>Hommes</b>	<b>% Hommes</b>	<b>Femmes</b>	<b>% Femmes</b>
<b>0-10</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>13</b>	<b>1</b>
<b>10-20</b>	<b>18</b>	<b>2</b>	<b>28</b>	<b>1</b>
<b>20-30</b>	<b>40</b>	<b>4</b>	<b>80</b>	<b>4</b>
<b>30-40</b>	<b>61</b>	<b>6</b>	<b>186</b>	<b>10</b>
<b>40-50</b>	<b>168</b>	<b>15</b>	<b>310</b>	<b>16</b>
<b>50-60</b>	<b>264</b>	<b>24</b>	<b>572</b>	<b>29</b>
<b>60-70</b>	<b>319</b>	<b>29</b>	<b>440</b>	<b>23</b>
<b>70-80</b>	<b>153</b>	<b>14</b>	<b>254</b>	<b>13</b>
<b>80-90</b>	<b>53</b>	<b>5</b>	<b>59</b>	<b>3</b>
<b>90-100</b>	<b>14</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

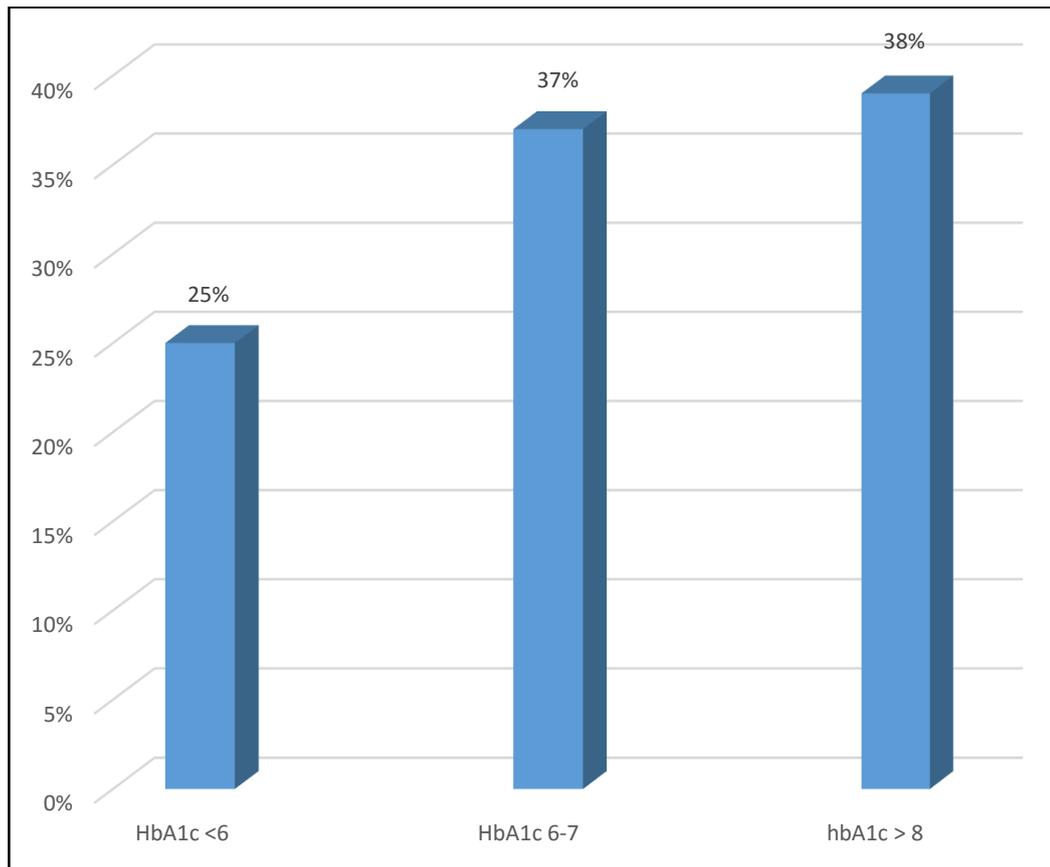


**Figure 20: Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge.**

Les résultats représentés par la figure 20 montrent que la majorité des patients de notre population d'étude ont un âge compris entre 50 et 60 ans.

**V.2 Résultats de l'hémoglobine glyquée HbA1c :****V.3 Répartition de la cohort en fonction du taux de l'hémoglobine glyquée :****Tableau 6: Répartition en fonction de la valeur de l'HbA1c**

<b>HbA1c (%)</b>	<b>Nombre de patients</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
<b>HbA1c &lt;6</b>	<b>770</b>	<b>25%</b>
<b>HbA1c 6-7</b>	<b>1111</b>	<b>37%</b>
<b>hbA1c &gt; 8</b>	<b>1161</b>	<b>38%</b>

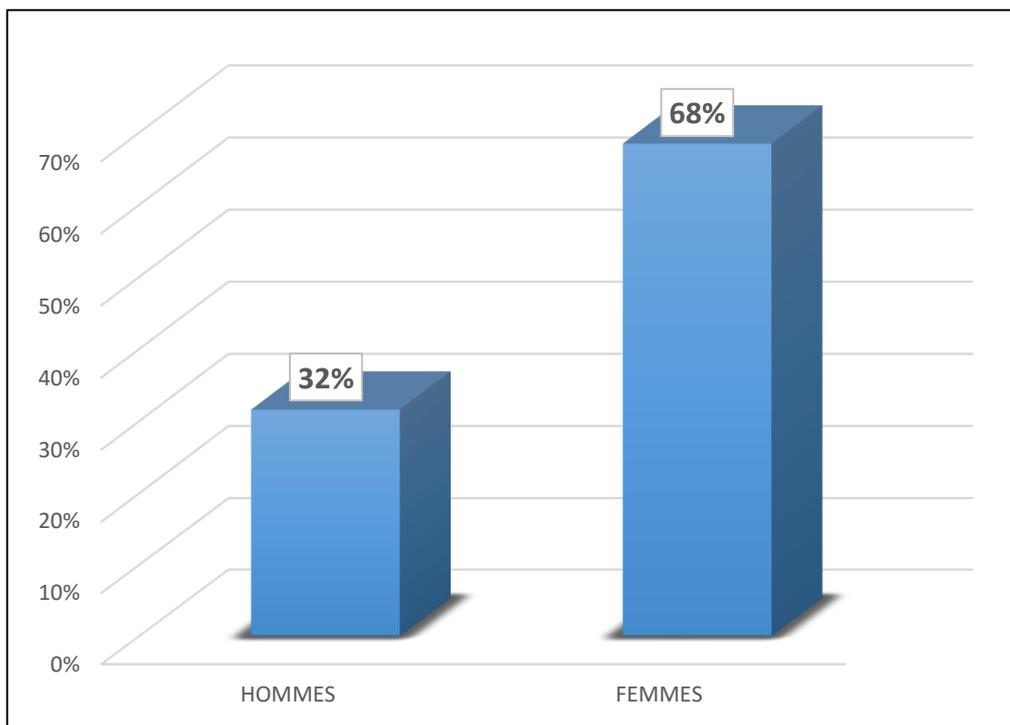


**Figure 21: Répartition en fonction du taux de l'hémoglobine glyquée.**

Les résultats représentés par la figure 21 montrent que 36% de nos patients présentent un taux d'HbA1c compris entre 6 et 7 % (avec une moyenne de 7.42 %).

**V.3.1 Répartition des patients diabétique en fonction du sexe :****Tableau 7: Répartition des patients diabétique en fonction du sexe**

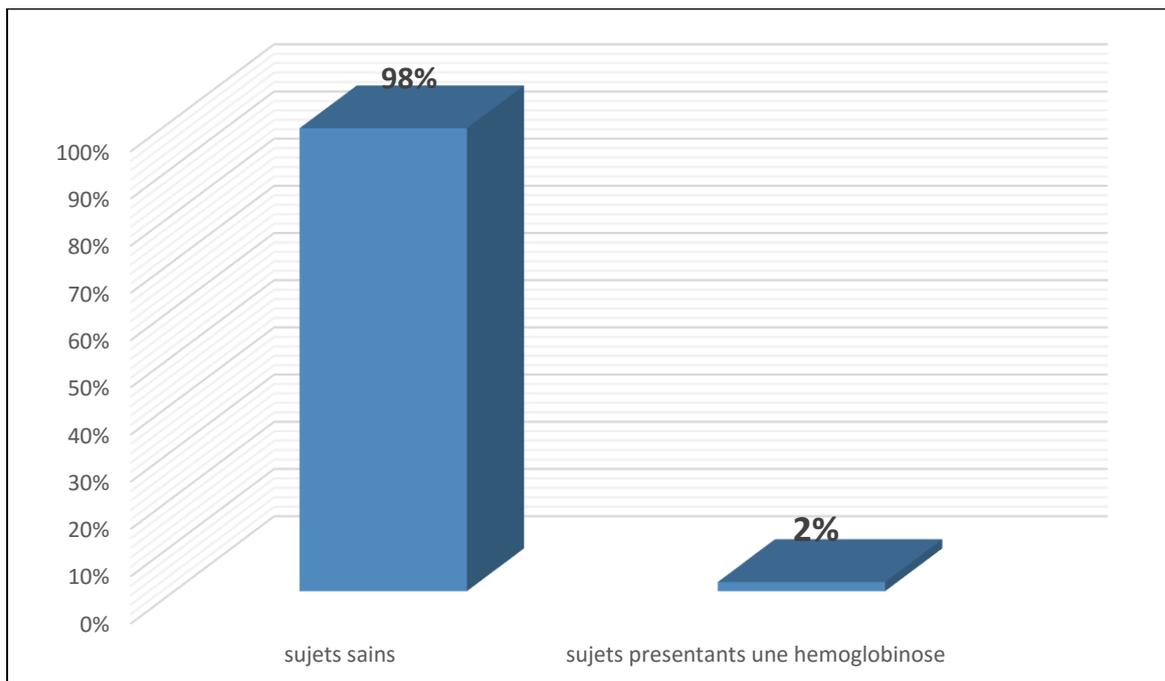
<b>Sujets diabétiques HbA1c&gt; 6%</b>	<b>Nombre</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Hommes</b>	<b>717</b>	<b>32%</b>
<b>Femmes</b>	<b>1555</b>	<b>68%</b>

**Figure 22 : Répartition des patients diabétique en fonction de sexe.**

Les résultats représentés sur la figure 22 montrent que 68% des diabétiques sont des femmes.

**V.4 Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine :****Tableau 8: Répartition des patients en fonction de l'hémoglobinose**

	Nombre total	Pourcentage (%)
<b>Sujets sains</b>	<b>2983</b>	<b>98</b>
<b>Sujets présentant une hémoglobinose</b>	<b>59</b>	<b>2</b>

**Figure 22: Répartition des patients en fonction de l'anomalie de l'hémoglobine.**

Les résultats représentés dans la figure 23 montrent que 2% de la population étudiée présentent une anomalie de l'hémoglobine.

**V.4.1 Répartition de patients présentant une hémoglobinose en fonction du taux de l'Hb total :**

Tous les patients présentant une anomalie de l'hémoglobine ont subi une numération de formule sanguine.

**Tableau 9: Moyenne de l'Hb chez les porteurs d'anomalie de l'Hb.**

	<b>Hommes</b>	<b>Femmes</b>
<b>La moyenne de l'Hb (g/l) chez les patients présentant un variant de l'Hb</b>	<b>13.45</b>	<b>12.8</b>

Le tableau 9 montre que les porteurs d'anomalie de l'Hb des deux sexes présentent une anémie modérée de 12.8 g/l chez les femmes, et 13.45 g/l chez les hommes.

V.4.2 Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction du sexe et de l'âge :

Tableau 10: Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction du sexe :

Patients présentant une anomalie	Nombre
<b>Hommes</b>	<b>15</b>
<b>Femmes</b>	<b>46</b>

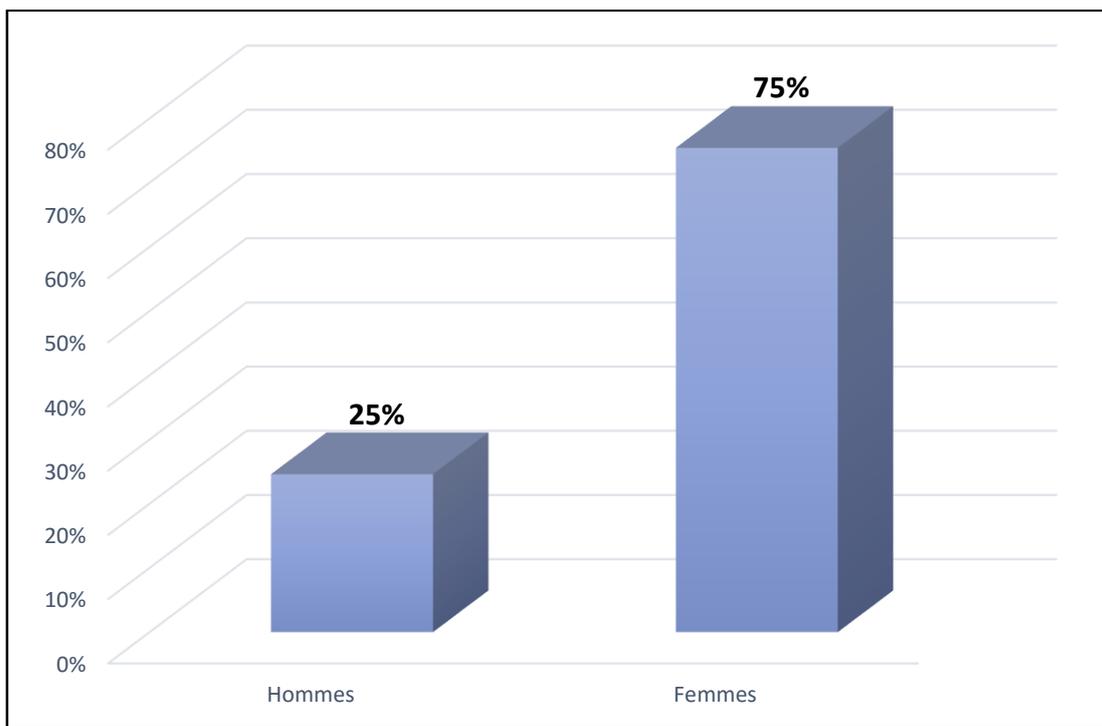


Figure 23: Repartition des patients présentant une anomalie en fonction du sexe.

**Tableau 11: Répartition des patients présentant une anomalie en fonction de la tranche d'age.**

<b>La tranche d'âge</b>	<b>Nombre de patients</b>
<b>[0-10[</b>	<b>2</b>
<b>[10-20[</b>	<b>1</b>
<b>[20-30[</b>	<b>1</b>
<b>[30-40[</b>	<b>5</b>
<b>[40-50[</b>	<b>15</b>
<b>[50-60[</b>	<b>15</b>
<b>[60-70[</b>	<b>14</b>
<b>[70-80[</b>	<b>6</b>
<b>[80-90[</b>	<b>2</b>
<b>[90-100[</b>	<b>0</b>
<b>total</b>	<b>61</b>

Les figures 23 et 24 montrent que les anomalies de l'hémoglobine sont plus fréquentes chez les femmes dont l'intervalle d'âge est compris entre 40 et 60 ans.

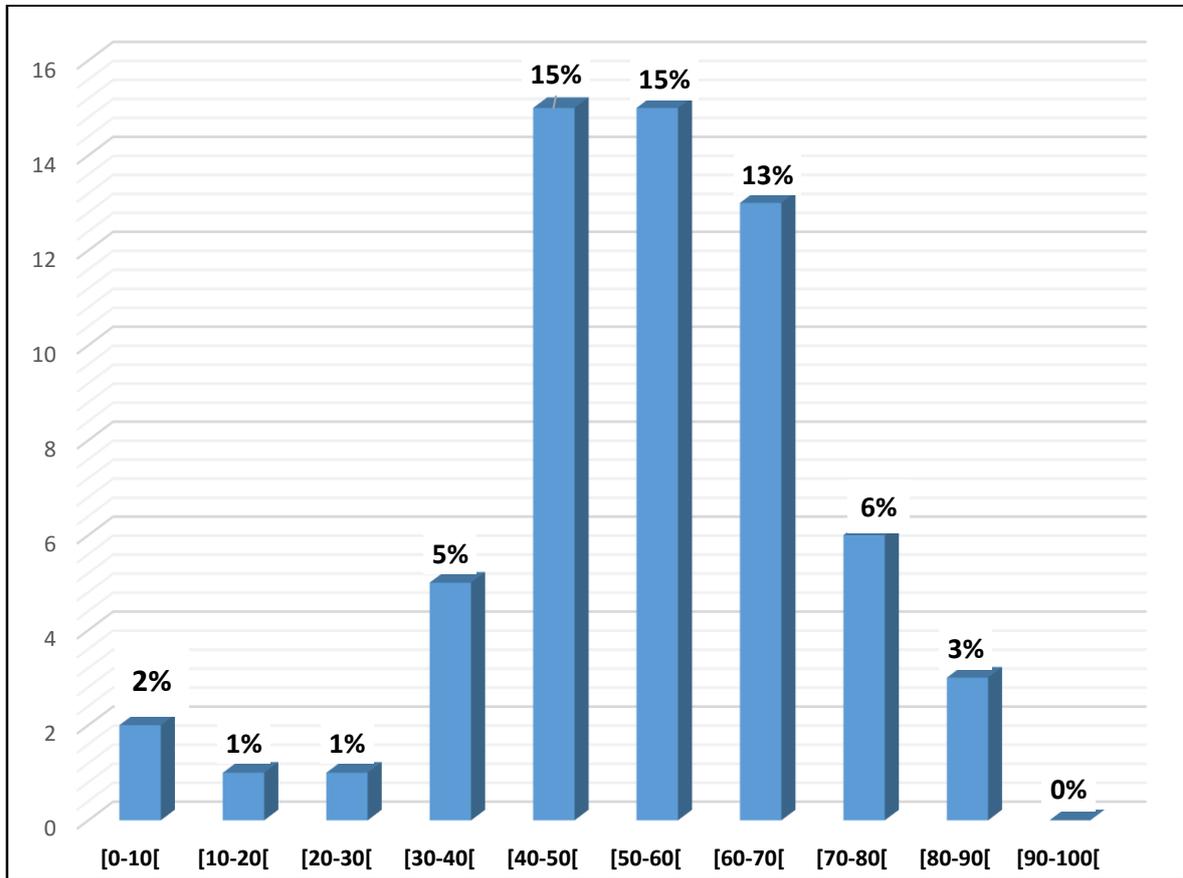
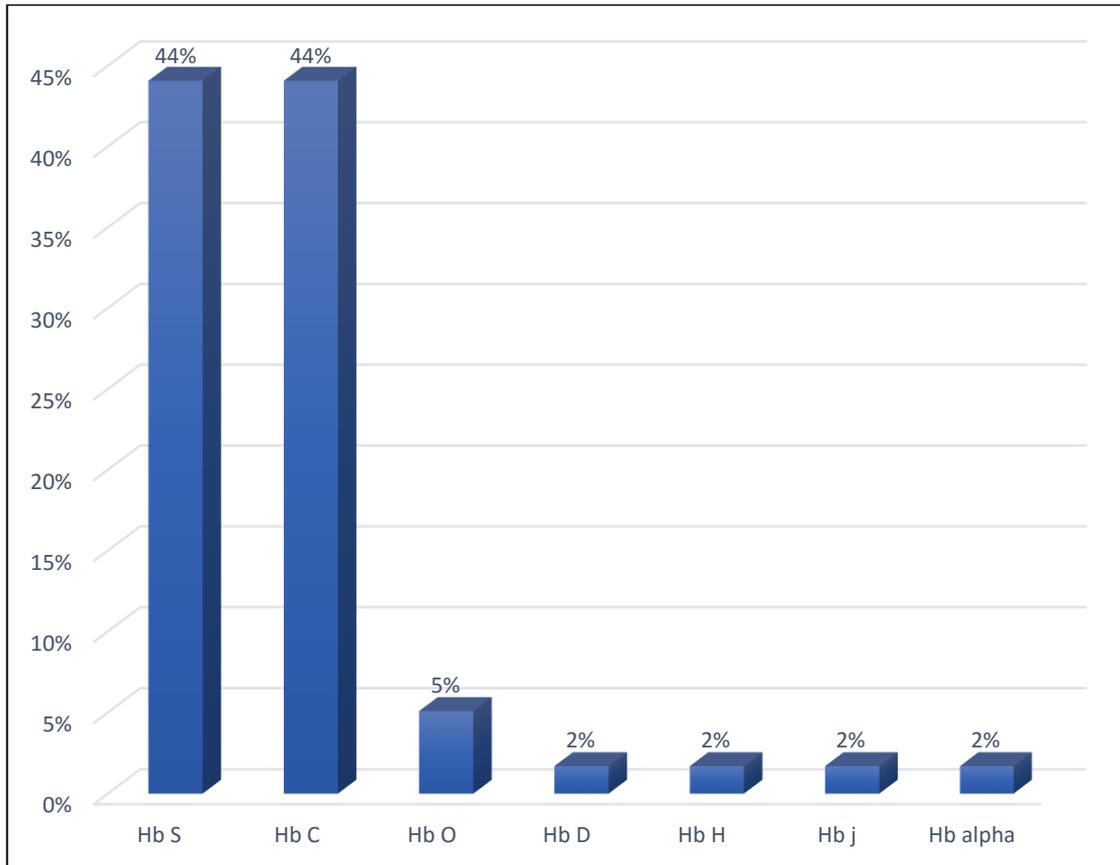


Figure 24: Répartition des patients présentant une hémoglobinose en fonction la tranche d'âge.

**V.4.3 Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobinosé après identification par électrophorèse capillaire :**

**Tableau 12: Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobinosé**

<b>Type de variant</b>	<b>Nombre</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
<b>Hb S</b>	<b>26</b>	<b>44%</b>
<b>Hb C</b>	<b>26</b>	<b>44%</b>
<b>Hb O</b>	<b>3</b>	<b>5%</b>
<b>Hb D</b>	<b>1</b>	<b>2%</b>
<b>Hb H</b>	<b>1</b>	<b>2%</b>
<b>Hb J</b>	<b>1</b>	<b>2%</b>
<b>Hb alpha</b>	<b>1</b>	<b>2%</b>
<b>Total</b>	<b>59</b>	<b>100%</b>



**Figure 25: Répartition des patients en fonction de type de l'hémoglobine.**

Les résultats représentés par la figure 26 montrent que la drépanocytose et l'hémoglobine C ont le même pourcentage de 44% suivis par l'hémoglobine O Arabe avec un pourcentage de 5%, et en dernier un même pourcentage de 2 % pour Hb D, Hb H, Hb j et Hb  $\alpha$ .

# Discussion

## VI- DISCUSSION :

La discussion ne saurait être entamée sans rappeler la gravité de l'hyperglycémie sur l'état des vaisseaux sanguins quel que soit leur calibre et la place de l'HbA1C comme outil de surveillance du diabétique et dont le dosage nous permet d'avoir le profil glycémique des 3 derniers mois précédant le prélèvement.

L'hyperglycémie est la cause principale des complications dégénératives du diabète, elle est à l'origine de la glycation de toutes les protéines tissulaires qui entraîne une modification de leurs propriétés physicochimiques et delà une perte de leurs fonctions.

Cette hyperglycémie est évaluée principalement par les valeurs de l'HbA1C.

Donc des résultats de ce paramètre dépendent de l'ajustement du traitement oral ou injectable du diabétique ou carrément un changement du schéma thérapeutique.

Il est donc impératif que le dosage de ce paramètre soit exact et reproductible de l'état glycémique réel du patient.

Le présent travail qui s'est étalé sur une population hétérogène de 3042 patients qui ont subi un dosage de l'HbA1C par HPLC (méthode de référence selon l'ADA, standardisée selon la méthode NGSP) vise à découvrir les anomalies rencontrées lors du dosage de ce paramètre qui compromettent l'interprétation des résultats et delà des répercussions néfastes sur le suivi thérapeutique des diabétiques.

La moyenne d'âge de cette population est de  $56 \pm 15,63$  ans, avec une nette prédominance féminine. Cette répartition est similaire aux données de la littérature, en effet selon une étude française [C.Druet et al 2007] l'âge moyen du diabète est de 65ans.

D'après les résultats de l'HbA1C, cette population est répartie en 2 catégories : une population non diabétique (25%) dont les valeurs de l'HbA1C sont inférieures à 6% et une population majoritaire diabétique (75%) dont les valeurs de l'HbA1C sont soit comprises entre 6-7% dans 37% des cas, soit supérieur à 8% avec une moyenne de 7,42%.

Ce résultat montre que la majorité de ces patients ont un diabète mal équilibré qui s'explique par le non-respect des prescriptions hygiéno-diététiques ou du traitement prescrit.

La majorité de la population diabétique est représentée par le sexe féminin (68%), cela peut être expliqué par le syndrome métabolique de la femme de cet âge (ménopausée) qui inclue : une HTA traitée ou non, une accumulation de graisse abdominale, une insulino-résistance et une glycémie à jeun supérieure à 1.10 g/l. [Fernande lamisse]. Ces différentes anomalies biochimiques sont liées à l'état hormonal de la femme mais aussi au commencement de l'épuisement rénal par diminution de la filtration glomérulaire chez la personne âgée surtout quand elle est associée à des maladies qui ont un impact néfaste sur les vaisseaux.

Quant aux anomalies de l'Hb, elles sont mis en évidence dans un contexte asymptomatique, les valeurs de l'Hb total sont d'ailleurs presque normales avec une moyenne de 13.45g/l chez l'homme et de 12.8g/l chez la femme.

C'est une anémie modérée souvent retrouvée chez le sujet diabétique, son étiologie semble être dominée par la maladie de Biermer dans le diabète type 1 (association de maladies auto-immunes) alors que la cause inflammatoire occupe la première place dans le diabète type 2. [K. amani et al]. Ces valeurs ne remettent pas en cause les valeurs de l'HbA1c [E. Guillard, et al.]

Ces anomalies où la présence de variants rencontrées lors du dosage de ce paramètre ne sont pas négligeables et elles représentent dans notre expérience 2% des dosages effectués (cf. Tableau 8). Cette probabilité a été également retrouvée dans des études similaires tunisienne et française.

En effet, en Tunisie, une étude portée sur 9792 (4291 hommes et 5501 femmes) a permis de révéler sur les chromatogrammes des variants chez 2,3% de cette population [Kahena bouzid et al.]. Une étude française qui a porté sur 6636 dosages provenant principalement des services de diabétologie adulte et pédiatrique et réalisés sur une période de deux années a révélé 76 chromatogrammes (1%) présentant des anomalies. [V. Lemée et al.]

La méthode de chromatographie liquide haute performance (CLHP), permet de détecter les variants les plus courants. Hb S et Hb C qui sont le plus souvent identifiées par les analyseurs présents sur le marché.

Ces anomalies atteignent surtout le sexe féminin avec une répartition de 75% de femmes contre 25 % d'hommes et un sexe ratio de 3.34 (cf. tableau 10), et la majorité des patients ont un âge compris entre 40 et 60 ans, Ceci peut être expliqué par la prédominance féminine et de cette tranche d'âge dans notre population étudiée.

Ces hémoglobinopathies qui sont révélées par HPLC puis confirmées par électrophorèse capillaire sont prédominées par la drépanocytose et l'hémoglobine C qui représentent chacune 44% de l'ensemble des anomalies retrouvées ceci est en accord avec les données de la littérature. (cf. tableau 12)

Les 26 patients ayant la drépanocytose sont tous hétérozygotes comme ce qui a été rapporté par l'étude tunisienne suscitée dont 191 cas d'hémoglobine S parmi 228 variants sont hétérozygotes. [**Kahena bouzid et al.**]

L'âge moyen de la population ayant ce trait (l'Hb S) est de 51 ans et seulement un cas de découverte précoce (le patient n° 2561 âgé de 5 ans) a été noté. (annexe 8)

La présence de ce type d'anomalie a été suspectée lors du dosage de l'HbA1C par des chromatogrammes particuliers présentant des pics surnuméraires qui se révèlent en fenêtre S (annexe 7) et qui donnent des valeurs légèrement basses de l'HbA1C.

Les autres 26 patients atteints d'hémoglobine C ont un âge moyen de 49,8 ans et comme pour l'Hb S un seul cas à un âge de 6 ans (patient 3027 voir annexe 11)

Ils sont hétérozygotes à part un seul cas homozygote (patient n°9161 âgé de 24 ans-annexe 9), cette constatation a été également vérifiée dans l'étude tunisienne qui a rapporté 27 cas d'Hb C hétérozygotes parmi les 228 variants retrouvés. [**Kahena bouzid et al.**]

L'HbA1c ne peut pas être déterminé pour la forme homozygote de l'Hb C. Car il y a une absence totale de fraction Ao qui correspond à la forme non glyquée d'hémoglobine.

Dans ce type de situation, le contrôle du diabétique doit se faire par d'autres paramètres tel que la fructosamine.

D'autres problèmes d'ordre analytique sont à évoquer dans cette étude : en effet quelques variants de l'Hb peuvent coéluer avec l'HbAo ou l'HbA1c [**P.Gillery et al**]

S'il s'agit d'une coélution avec l'HbA1c, les valeurs de ce dernier sont tellement incompatibles avec les possibilités physiopathologiques que la présence d'un variant doit être suspecté et que l'attention du biologiste doit être attirée. C'est effectivement le cas du patient n°

« 1474 » de notre cohorte où la valeur de l'HbA1c est surestimée (23%), elle est par ailleurs revenue normale (HbA1c = 6.5%) avec l'utilisation d'un autre appareil dont le temps d'élution est plus lent. Cette situation qui est rarement rencontrée, est identifiée comme une hémoglobinoses H par électrophorèse capillaire. (annexe14)

L'anomalie peut être plus difficile à détecter si le variant est co-élué avec l'HbA<sub>0</sub>. C'est le cas du patient n°« 4955 » dont la valeur de l'HbA1c est très sous-estimée (HbA1C= 3.8%). L'électrophorèse capillaire a éclairé cette situation en identifiant une Hémoglobinoses J qui est assez rarement rencontrée (annexe15)[P.Gillery *et al.*]

Les autres variants retrouvés dans notre étude se révèlent en fenêtre W (variant window-annexe 16) en HPLC, ils sont par la suite identifiés par électrophorèse capillaire qui a révélée 3 HbO-Arabe, 1 Hb D, 1 Hb alpha. Il faut noter par ailleurs que 2 variants W n'ont pas pu être identifiés. Ces variants sont asymptomatiques à l'état hétérozygote ou homozygote. Leur importance clinique tient au fait que l'hétérozygotie composite  $\beta S/\beta O$ -Arabe constitue un Syndrome Drépanocytaire Majeur.[N.Mario]

Deux autres cas de notre cohorte dont la valeur de l'HbA1C est normale ont un taux d'HbF supérieure à la normale (3.8% et 4.4%) ; Cette élévation n'a normalement aucune influence sur la valeur de l'HbA1C, en effet selon NGSP l'augmentation légère (inférieur à 30%) de l'Hb F associée à quelques variants, ne nécessite pas l'invalidation du résultat de l'HbA1c.

Quant aux formes glyquées du variant, elles peuvent migrer à tout endroit du chromatogramme, en amont, avec ou en aval de l'HbA1c, suivant leur charge. Elles peuvent également être totalement masquées par l'HbA<sub>0</sub>, Ceci peut être associé soit à des vitesses de glycation différentes des variants par rapport à celle de l'HbA, mais aucune donnée robuste sur ce phénomène n'est en effet disponible dans la littérature, soit à une possible **compétition** entre les différentes formes de l'Hb pour la glycation, qui peuvent conduire à une mauvaise appréciation de l'équilibre glycémique, dont la surveillance doit être très rigoureuse. [P.Gillery, *et al*]

# Conclusion

## Conclusion :

La valeur sémiologique de l'hémoglobine A1c (HbA1c) en tant que marqueur rétrospectif cumulatif de l'équilibre glycémique chez le patient diabétique est prise en défaut en cas d'hémoglobinopathie.

La présence d'une hémoglobine anormale engendre des problèmes méthodologiques en raison des interférences provoquées dans la plupart des dosages, mais surtout perturbe le processus normal de glycation de l'HbA en HbA1c, et provoque souvent un certain degré d'hémolyse, très variable et impossible à quantifier.[P. Gillery *et al* ; 2000]

Notre travail nous a permis de conclure que :

- La prévalence des anomalies de l'hémoglobine dans la région de Blida, commune Ouled yaich est de 2% par rapport à la population étudiée.
- Les différents types d'anomalies de l'hémoglobine retrouvées dans cette région sont :
  - ✓ Les hémoglobinoses : S – C – E – D – J – O – alpha et H.
- L'influence de ces variants sur le dosage de l'hémoglobine glyquée est variable selon l'anomalie.

Lorsque la présence du variant n'est pas évidente ou impossible à détecter en raison de la technique, l'attention du biologiste doit être attirée par toute anomalie de forme et/ou de temps d'éluion des pics en HPLC, et évidemment par un taux d'HbA1c trop bas ou, le plus souvent, trop élevé.

Sur le plan hématologique, l'attention peut être attirée par une simple numération globulaire assortie du calcul des paramètres érythrocytaires, et, en cas de suspicion de l'existence d'un variant, la recherche peut être complétée par l'appréciation plus quantitative de l'âge moyen de la population érythrocytaire, et par une étude de l'hémoglobine en isoélectrofocalisation et/ou électrophorèse en agarose à pH acide.

L'attention du clinicien doit être particulièrement alertée par une éventuelle discordance entre le résultat d'HbA1c et les autres éléments du bilan de surveillance diabétique, comme l'autocontrôle glycémique, dans ce type de situation il est judicieux de demander le dosage de la fructosamine dont la valeur ne dépend pas de l'état de l'hémoglobine.

Enfin, toute détection d'une hémoglobinopathie qui est obligatoirement héréditaire doit pousser le médecin à faire le conseil génétique aux familles qui présentent ces anomalies.

**Références**

**bibliographiques**

## **Références:**

- [1] International Diabetes Federation (IDF). IDF Diabetes Atlas, Sixth edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013.
- [2] Malek R. Épidémiologie du diabète en Algérie : revue des données, analyse et perspectives. Médecine des maladies Métaboliques 2008 ; 2:298-302.
- [3] Office National des Statistiques (ONS). Démographie algérienne 2012. Collections statistiques N°600 ; 2012.
- [4] A.Grimaldi Université Pierre et Marie Curie. 1999/2000
- [5] Item 233 a : Diabète sucré de type1 Collège des Enseignants d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (CEEDMM) 2010/2011.
- [6] Diabète de type II – HUG – Service de médecine de premier recours – DMCPRU ; hôpitaux universitaires de Genève.
- [7] P. GOURDY II - DIABETE DE TYPE 1 : ÉPIDÉMIOLOGIE - PHYSIOPATHOLOGIE - DIAGNOSTIC- DÉPISTAGE ; DCEM 2 PURPAN DCEM 3 RANGUEIL  
ENSEIGNEMENT DE DIABETOLOGIE : LE DIABETE ET SES COMPLICATIONS
- [8] DEI Léa « Comment expliquer aux patients le concept d'hémoglobine glyquée : analyse des représentations des patients et des soignants et création d'outils pédagogiques interactifs »
- [9] ANAES/Service des Références Médicales. Suivi du patient diabétique de type 2 à l'exclusion du suivi des complications. Janvier 1999.
- [10] S. HALIMI Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble  
Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant(DNID) (223b) Avril 2003 (Mise à jour Février 2005)
- [11] Louis et Monique Gonthier Canadian Diabetes Association GEOFFROY, Le diabète chez l'enfant, Éditions du CHU Sainte-Justine, Montréal, 2009 L'aide aux jeunes diabétiques
- [12] R.LEBLANC Consultant biologiste, Bordeaux ;OptionBio | mardi 24 septembre 2013 | n° 495 .D'après une communication de S. Moutereau (CHU Henri-Mondor, Créteil). 41e colloque CNBH, Toulouse, octobre 2012.

- [13] : Eur. J. Biochem, IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, 1986, 159:1-6. Glycosylation et glycation : quelles différences ?, Planet-Vie, Jeudi 20 février 2014.
- [14] M. Zendjabil ,Laboratoire de biochimie, établissement hospitalier universitaire d'Oran 1er-Novembre-1954, BP 4166 Ibn Rochd, Oran, Algérie Annales Pharmaceutiques Françaises (2015)
- [15] A. Nonnotte Discordance entre HbA1c et résultat de l'auto-surveillance glycémique 2017, Elsevier Masson SAS.
- [16] F.Trivin, D. Chevenne, M. Haute couverture Produits de Maillard et complications chroniques du diabète sucré .John Libby ; Volume 57, numéro 4, Juillet - Août 1999.
- [17] K. Gariani Service de médecine interne générale Dr Christel Tran Pr Jacques Philippe Service d'endocrinologie, diabétologie et nutrition HUG, 1211 Genève 14 Revu Med Suisse 2011 ; 7 : 1238-42
- [18] : Murray, Kennelly, Bender, Botham, Rodwell ,Wei Biochimie de Harper 5e édition traduction de la 29e édition américaine par Lionel Domenjoud De Boeck Supérieur s.a.2013 Rue des Minimes, 39 B-1000 Bruxelles
- [19] Gillery P, et al. Propositions pour l'expression standardisée des résultats d'HbA1C. Ann Biol Clin 2009 ; 67:669—71.
- [20] Geistanger A, Arends S, Berding C, Hoshino T, JeppssonJO, Little R, et al. Statistical methods for monitoring the relationship between the IFCC reference measurement procedure for hemoglobin A1c and the designated comparison methods in the United States, Japan and Sweden. Clin Chem 2008 ; 54(8) :1379—88.
- [21] Nathan DM, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, HeineRJ, et al. Translating the hemoglobin A1c assay into estimated average glucose values. Diabetes Care 2008 ; 31:1473—8.
- [22] A. WOJTUSCISZYN Département d'Endocrinologie, Diabète et Nutrition, Institut de Recherche en Biothérapie, Laboratoire de Thérapie Cellulaire du Diabète, CHRU, MONTPELLIER. Revues générales.
- [23] Report of Joint WHO-TIF Meeting ,Nicosia, Cyprus, 16-18 November 2007 Management of haemoglobin disorders, WorldHealthOrganization, 2008.eng.pdf

- [24] HbVar : A Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias.
- [25] N. COUPRIE Laboratoire Marcel Mérieux – Hématologie Spécialisée. Formation Continue du 10/02/2000 FC\_Hémoglobinopathie.doc
- [26] D.Dimer : Definition & Formation study.com
- [27] BJ.Bain Haemoglobinopathy diagnosis ,Hemoglobinopathies 2nd edition. Oxford : Blackwell Publishing, 2006 ; 313 p.Bardakdjian-Michau J, Dhondt JL, Ducrocq R, Galactéros F, Guyard A, Huchet FX, et al. Bonnes pratiques de l'étude de l'hémoglobine. Ann Biol Clin 2003 ; 61 : 401-409. Wajcman H.Hémoglobines et hémoglobinopathies
- [28] J. Barrère : La famille multigénique des globines (Lycée Paul Louis Courier, Tours)
- [29] Gene expression of hemoglobin before and after birth. Also identifies the types of cells and organs in which the gene expression (data on Wood W.G., (1976). Br. Med. Bull. 32, 282.)
- [30] N. COUQUE<sup>1</sup>, M. DE MONTALEMBERT<sup>2</sup> , Diagnostic d'une hémoglobinopathie feuillet de Biologie VOL LIV N° 311 - MARS 2013
- [31] N.Marioa, N. SalaaLES MALADIES DE L'HÉMOGLOBINE: Diagnostic biologique des hémoglobinopathies , REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - AVRIL 2016 - N°481
- [32] Mesure de l'HbA1c et interférences dues aux troubles de l'hémoglobine  
Document de travail scientifique, COBAS, ©2014 Roche
- [33] Valéry Brunel<sup>\*1</sup>, Agnès Lahary<sup>2</sup>, Abdeslam Chagraoui<sup>1</sup>, Christian Thuillez<sup>1, 3</sup>. Haemoglobin J-Baltimore can be detected by HbA1c electropherogram but with underestimated HbA1c value. Biochemia Medica 2016; 26(2):240-2.
- [34] E. Lavalard J. Szymezak N. Leroy P. Gillery ;Laboratoire de biochimie et de recherche pédiatriques, American Memorial Hospital, CHU de Reims Ann Biol Clin, vol. 67, no 1, janvier-fe´vrier 2009
- [35] M.-L.North, M.-C Piffaut, et I.Duwig.Hémoglobinopathies: Actualisation du diagnostique biologique,

- [36] L'alpha-thalassémie Encyclopédie Orphanet Grand Public Maladies Rares, Alphathalassemie-FRfrPub50v01.pdf | Avril 2010
- [37] DESPONT, 2000. Electrophorèse capillaire. Information scientifique.
- [38] L'électrophorèse capillaire : principe et applications au laboratoire de biologie clinique Volume 57, numéro 6, Novembre - Décembre 1999 ; John Libbey
- [39] Hemoglobin analysis by capillary electrophoresis; SEBIA.
- [40] L.Guisa , A.Chaumiera, V. Le Galla, S.Havreza Service de biochimie Laboratoire Biomnis 78, av. de Verdun 94200 Ivry-sur-Seine REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - FÉVRIER 2013 - N°449.
- [41] Y.Kazakevich , H. McNair : **HPLC for Pharmaceutical Scientists** ;January 2007

# Annexes

## Liste des annexes

### Annexe I: Partie theorique

Annexe 1: American diabetes association. Diabetes Care 2011 .....	67
Annexe 2: Comparaison entre le diabète type 1 et le diabète type 2.....	67
Annexe 3: Mutations de variantes de l'hémoglobine (Hb) et manifestations cliniques.....	68
Annexe 4: L'hémoglobine S à l'état hétérozygote, substitution d'un acide glutamique par la valine, un autre acide aminé, dans la sixième position de la chaîne b-globine. ....	68
Annexe 5: Moyennes glycémiées estimées à partir des valeurs d'HbA1c.....	69
Annexe 6: Variations des valeurs d'HbA1c pour une même moyenne glycémiée en fonction de l'âge moyen des érythrocytes d'après Cohen. MG: moyen glycémiée, GR : globules rouges. ....	69

### Annexe II: Partie pratique

Annexe 7: Chromatogramme d'un patient présentant une hémoglobinose S.....	70
Annexe 8: Profil électrophoretique d'une hémoglobinose S à l'état hétérozygote.. ..	71
Annexe 9: Chromatogramme d'une hémoglobinose C homozygote. (patient 9161).....	72
Annexe 10: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose C homozygote. ....	73
Annexe 11: Chromatogramme d'un patient présentant une hémoglobinose C heterozygote....	74
Annexe 12: Profil électrophoretique d'une hémoglobinose C à l'état heterozygote.....	75
Annexe 13: Chromatogramme d'une hémoglobinose H .....	76
Annexe 14: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose H.....	77
Annexe 15: Profil électrophoretique d'un patient présentant l'hémoglobinose j à l'état heterozygote.....	78
Annexe 16: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose D à l'état heterozygote.....	79
Annexe 17: Profil électrophoretique d'un patient présentant un variant alpha de l'hémoglobine à l'état heterozygote.....	80
Annexe 18: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose O-Arab à l'état heterozygote.....	81
Annexe 19: Chromatogramme en faveur d'un variant non-identifié. ....	82

## Annexe I : Partie théorique

<b>Tableau 1. Critères pour le diagnostic du diabète</b> (Selon l'American diabetes association – ADA). <sup>1</sup>	
1. HbA1c $\geq 6,5\%$ . Le test doit être effectué par un laboratoire utilisant une méthode certifiée NGSP et standardisée au DCCT	
	ou
2. Glycémie plasmatique à jeun $\geq 7$ mmol/l (126 mg/dl)	
	ou
3. Glycémie plasmatique $\geq 11,1$ mmol/l 2 heures après la prise de 75 g de glucose (TTG) (200 mg/dl)	
	ou
4. Présence des symptômes classiques d'hyperglycémie avec une glycémie à n'importe quel moment de la journée $\geq 11,1$ mmol/l	
<b>Critères pour le diagnostic de prédiabète</b>	
Glycémie plasmatique à jeun entre 5,6 et 6,9 mmol/l (100-125 mg/dl)	
	ou
Test de tolérance au glucose 7,8-11 mmol/l (140-199 mg/dl)	
	ou
HbA1c 5,7-6,4%	
NGSP: National glycohemoglobin standardization program; DCCT: Diabetes control and complication trial; TTG: test de tolérance au glucose.	

## Annexe 1: American diabetes association. Diabetes Care 2011

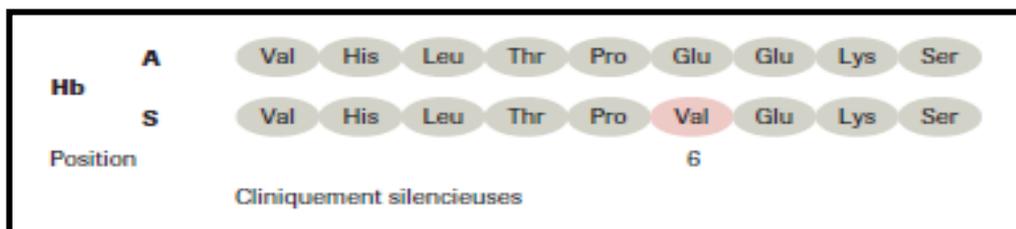
	Diabète de type 1	Diabète de type 2
<b>Fréquence relative</b>	10-15%	85-90%
<b>ATCD familiaux</b>	+	+++
<b>Age de début</b>	avant 30 ans	après 40 ans
<b>Mode de début</b>	brutal	progressif
<b>Surpoids</b>	absent	présent
<b>Symptômes</b>	+++	—
<b>Insulinosécrétion</b>	néant	persistante
<b>Cétose</b>	fréquente	absente
<b>MAI associées*</b>	oui	non
<b>Auto-anticorps</b>	présents	absents
<b>Groupe HLA</b>	oui	non
<b>Traitement</b>	insuline	régime, exercice, ADO**

\* MAI : maladies auto-immunes - \*\*ADO : anti-diabétiques oraux

## Annexe 2: Comparaison entre le diabète type 1 et le diabète type 2

Variante	Mutation ponctuelle	Manifestation clinique
HbAS	$\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$	Non
HbSS	$\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$ (Deux gènes)	Anémie falciforme (drépanocytose)
HbAC	$\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$	Non
HbCC	$\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ (Deux gènes)	Anémie hémolytique (affection HbCC)
HbAE	$\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$	Non
HbEE	$\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ (Deux gènes)	Anémie hémolytique (affection HbE)
HbAD (p. ex. Los Angeles)	$\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Gln}$	Non
HbDD (p. ex. Los Angeles)	$\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Gln}$ (Deux gènes)	Anémie hémolytique (affection HbD)
Variantes de l'Hb non courantes	Dépend de la variante	Dépend de la variante

Annexe 3: Mutations de variantes de l'hémoglobine (Hb) et manifestations cliniques



Annexe 4: L'hémoglobine S à l'état hétérozygote, substitution d'un acide glutamique par la valine, un autre acide aminé, dans la sixième position de la chaîne b-globine.

A1c (%)	g/L
5	0,97 [0,76-1,20]
6	1,26 [1,00-1,52]
7	1,54 [1,23-1,85]
8	1,83 [1,47-2,17]
9	2,12 [1,70-2,49]
10	2,40 [1,93-2,82]
11	2,69 [2,17-3,14]
12	2,98 [2,40-3,47]

**Annexe 5: Moyennes glycémiques estimées à partir des valeurs d'HbA1c.**

Sujet	HbA1c (%)	MG (g/L)	Age moyen des GR (jours)	Risque apparent	HbA1c corrigée
1	7,8	1,50	56	Elevé	7,0
2	7,0	1,50	50	Augmenté	7,0
3	6,0	1,50	44	Normal	7,0

**Annexe 6: Variations des valeurs d'HbA1c pour une même moyenne glycémique en fonction de l'âge moyen des érythrocytes d'après Cohen. MG: moyen glycémique, GR : globules rouges.**

## Annexe II : Partie pratique

**Bio-Rad CDM System**  
**CDM 5.1 VII TURBO Instrument**

**PATIENT REPORT**  
**V2TURBO\_A1c\_2.0**

**Patient Data**

Sample ID: 207011700808  
 Patient ID:  
 Name:  
 Physician:  
 Sex:  
 DOB:

**Analysis Data**

Analysis Performed: 07/01/2017 11:15:59  
 Injection Number: 10691  
 Run Number: 640  
 Rack ID:  
 Tube Number: 5  
 Report Generated: 08/01/2017 13:21:05  
 Operator ID:

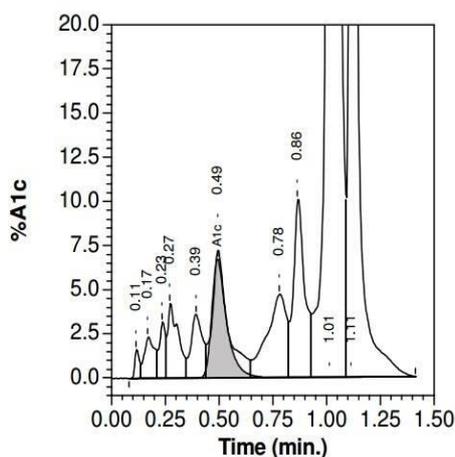
Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.2	0.114	5255
A1a	---	0.8	0.168	17093
A1b	---	0.6	0.234	13563
F	---	1.5	0.271	32035
LA1c	---	1.3	0.393	27678
A1c	6.7*	---	0.492	72044
P3	---	3.0	0.780	65833
P4	---	3.7	0.865	81464
Ao	---	47.0	1.013	1033804
S	---	38.7	1.113	850594

\*Values outside of expected ranges

Total Area: 2,199,362

**HbA1c (NGSP) = 6.7\* %**



**Annexe 7: Chromatogramme d'un patient présentant une hémoglobinose S.**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793444810

L.A.B.M: BENHELAL@

Nom: 2561

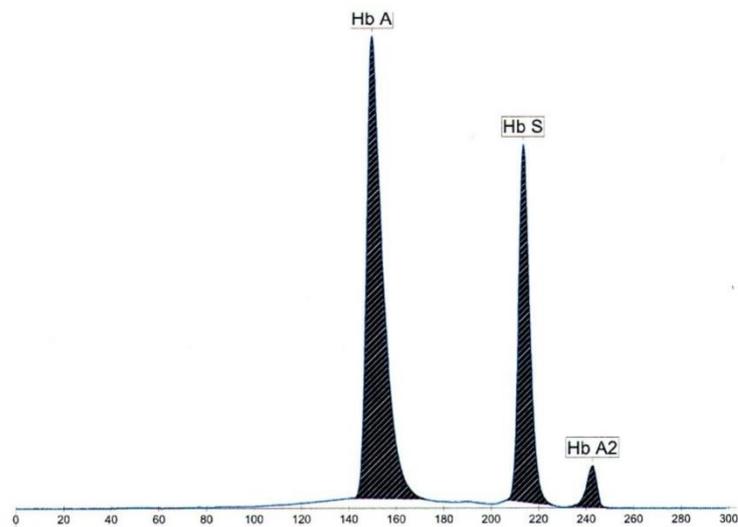
Examen du : 18/01/2017

N°: 55

Age 5 ans



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



Fractions	%	Ref. %
Hb A	63,1	
Hb S	33,2	
Hb A2	3,7	

Commentaire:

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

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 8: Profil électrophoretique d'une hémoglobinosose S à l'état hétérozygote..**

**Patient Data**

Sample ID: E76129161  
Patient ID:  
Name:  
Physician:  
Sex:  
DOB:

**Analysis Data**

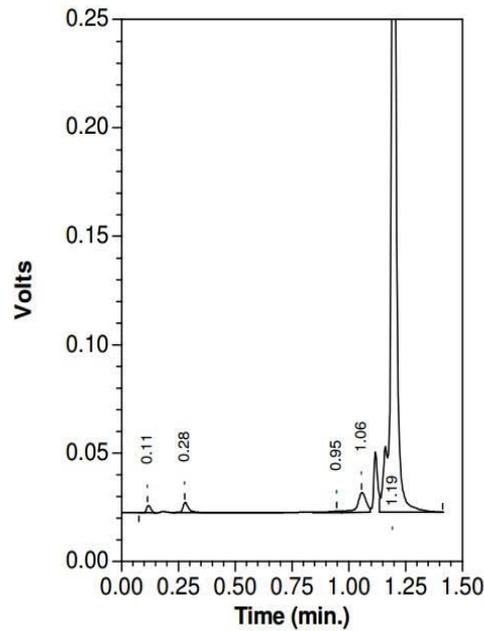
Analysis Performed: 02/01/2017 12:23:44  
Injection Number: 10600  
Run Number: 632  
Rack ID: 0001  
Tube Number: 2  
Report Generated: 04/01/2017 13:38:15  
Operator ID:

Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.6	0.115	4548
F	---	1.4	0.276	9807
P4	---	0.4	0.947	3026
Ao	---	3.2	1.055	23366
C	---	94.4	1.192	682506

Total Area: 723,253\*

**HbA1c (NGSP) = %**



**Annexe 9: Chromatogramme d'une hémoglobine C homozygote. (patient 9161)**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793424459

L.A.B.M: BENHELAL@

Nom: 9161

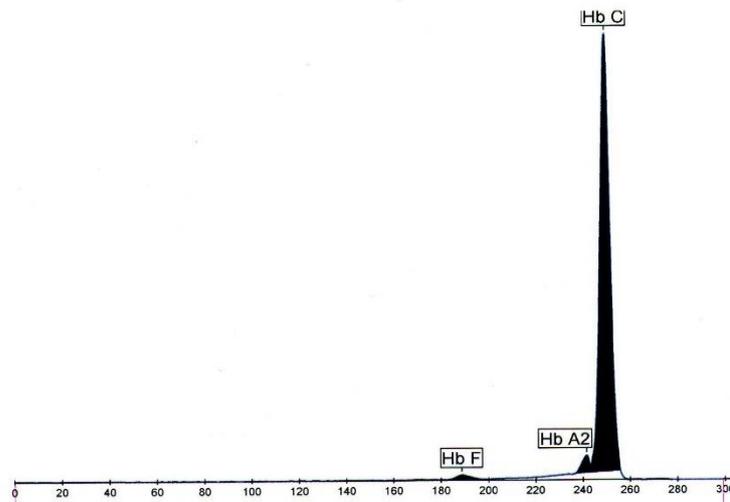
Examen du : 04/01/2017

N°: 20

Age 264 ans

**Electrophorèse de l'Hémoglobine**

**CAPILLARYS HEMOGLOBINE**



Fractions	%	Ref. %
Hb F	1,2	
Hb A2	1,5	
Hb C	97,3	

Commentaire:

profil en faveur d'une hémoglobinose C homozygote à confirmer par enquête familiale.

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 10: Profilélectrophorétique d'un patient présentant une hémoglobinose C homozygote.**

**Patient Data**

Sample ID: Unknown-1-10847  
 Patient ID:  
 Name:  
 Physician:  
 Sex:  
 DOB:

**Analysis Data**

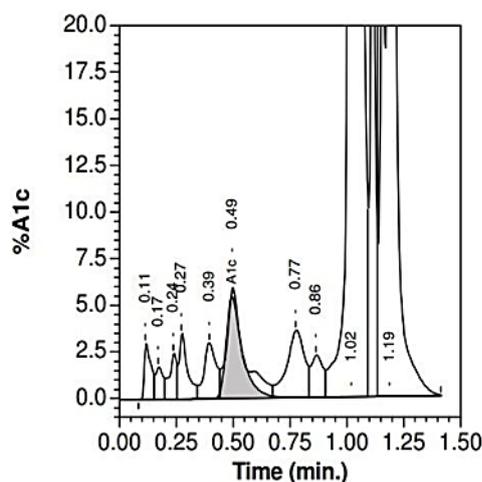
Analysis Performed: 10/01/2017 13:12:59  
 Injection Number: 10847  
 Run Number: 646  
 Rack ID: 0001  
 Tube Number: 8  
 Report Generated: 10/01/2017 13:44:03  
 Operator ID:

Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.6	0.115	7115
A1a	---	0.4	0.170	4544
A1b	---	0.5	0.236	6192
F	---	0.8	0.273	10171
LA1c	---	1.0	0.394	12047
A1c	5.5	---	0.495	30618
P3	---	1.8	0.775	22150
P4	---	0.7	0.864	8994
Ao	---	52.9	1.019	644974
C	---	38.7	1.188	471805

Total Area: 1,218,611

**HbA1c (NGSP) = 5.5 %**



**Annexe 11: Chromatogramme d'un patient présentant une hémoglobine C hétérozygote.**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793488945

L.A.B.M: BENHELAL@

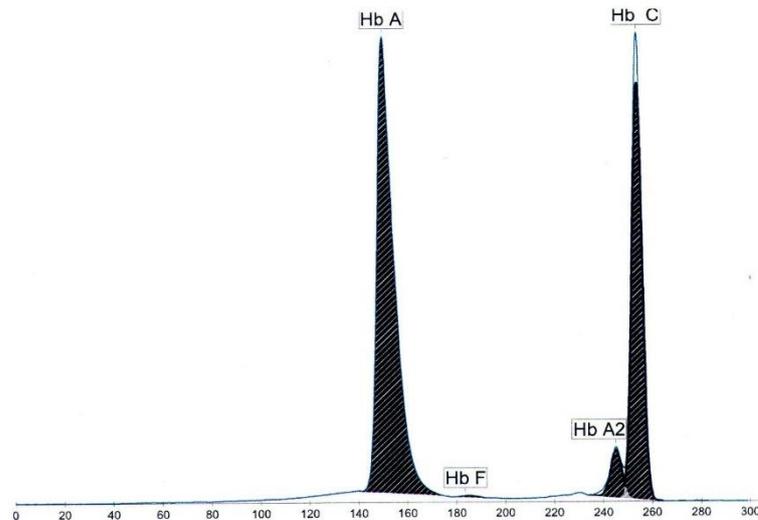
Nom: 3027

Examen du : 20/02/2017

N°: 63

Age 6 ans

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



Fractions	%	Ref. %
Hb A	60,8	
Hb F	0,2	
Hb A2	4,5	
Hb C	34,5	

Commentaire:

profil en faveur d'une hémoglobinose C hétérozygote à confirmer par enquête familiale.

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 12: Profil électrophoretique d'une hémoglobinose C à l'état heterozygote.**

**Patient Data**

Sample ID: 210011701474  
 Patient ID:  
 Name:  
 Physician:  
 Sex:  
 DOB:

**Analysis Data**

Analysis Performed: 10/01/2017 12:48:46  
 Injection Number: 10832  
 Run Number: 646  
 Rack ID:  
 Tube Number: 3  
 Report Generated: 10/01/2017 13:46:17  
 Operator ID:

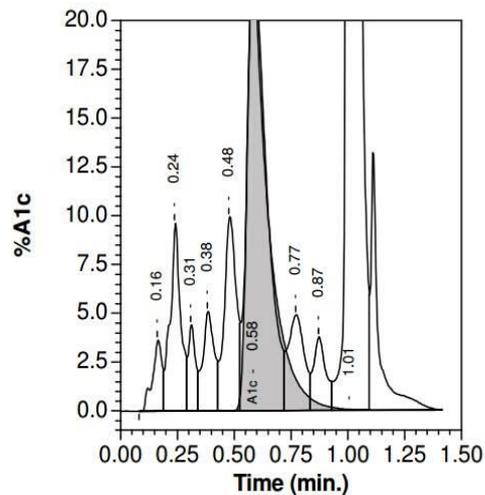
Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
A1a	---	1.5	0.162	33209
A1b	---	4.5	0.237	98968
F	---	1.4	0.308	30467
Unknown	---	2.6	0.381	55915
LA1c	---	6.3	0.476	138052
A1c	23.0*	---	0.583	460722
P3	---	3.5	0.769	76297
P4	---	2.0	0.870	44875
Ao	---	57.1	1.008	1251145

\*Values outside of expected ranges

Total Area: 2,189,652

**HbA1c (NGSP) = 23.0\* %**



**Annexe 13: Chromatogramme d'une hémoglobine H**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793436021

L.A.B.M: BENHELAL@

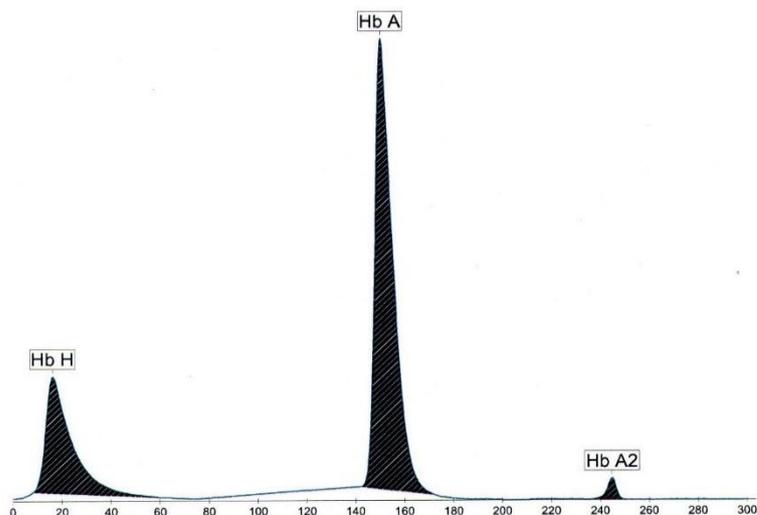
Nom: 1474

Examen du : 11/01/2017

N°: 79

Age 77 ans

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



Fractions	%	Ref. %
Hb H	26,8	
Hb A	71,4	
Hb A2	1,8	

Commentaire:

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

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 14: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose H.**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793503117

L.A.B.M: BENHELAL@

Nom: 4955

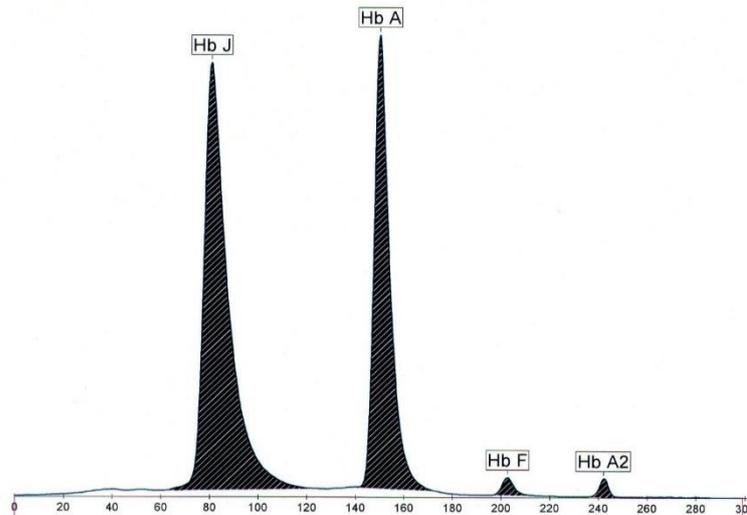
Examen du : 02/03/2017

N°: 82

Age 56 ans



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



Fractions	%	Ref. %
Hb J	58,0	
Hb A	40,0	
Hb F	1,1	
Hb A2	0,9	

Commentaire:

profil en faveur d'une hémoglobinose J homozygote à confirmer par enquête familiale.

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 15: Profil électrophoretique d'un patient présentant l'hémoglobinose j à l'état heterozygote.**

## LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793432544

L.A.B.M: BENHELAL@

Nom: 808

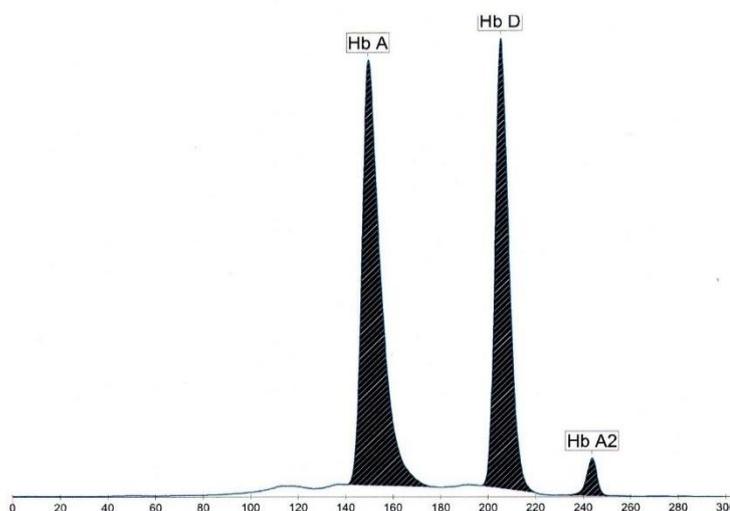
Examen du : 09/01/2017

N°: 100

Age 77 ans



### Electrophorèse de l'Hémoglobine CAPILLARYS HEMOGLOBINE



Fractions	%	Ref. %
Hb A	55,0	
Hb D	42,3	
Hb A2	2,7	

Commentaire:

profil en faveur d'une hémoglobinose D hétérozygote à confirmer par enquête familiale.

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 16: Profil électrophoretique d'un patient présentant une hémoglobinose D à l'état heterozygote.**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793519444

L.A.B.M: BENHELAL@

Nom: 2229

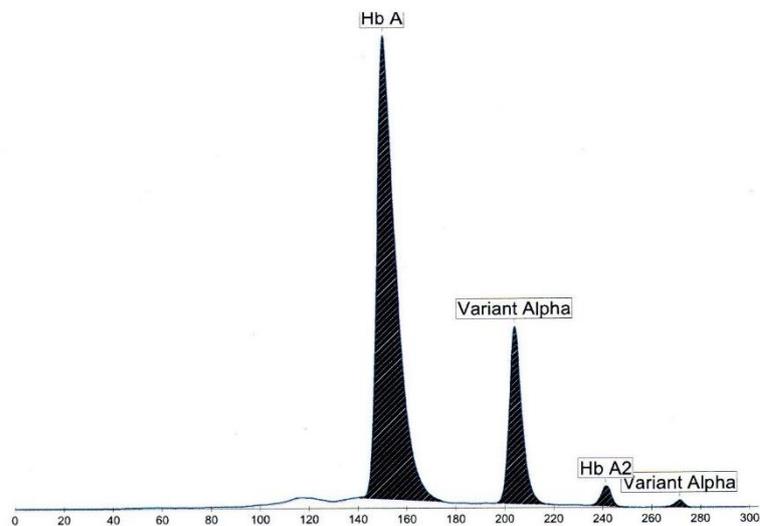
Examen du : 14/03/2017

N°: 25

Age 60 ans



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



Fractions	%	Ref. %
Hb A	77,9	
Variant Alpha	19,6	
Hb A2	1,9	
Variant Alpha	0,6	

Commentaire:

profil en faveur d'un variant alpha avec dédoublement de la A2 et A

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 17: Profil électrophoretique d'un patient présentant un variant alpha de l'hémoglobine à l'état heterozygote.**

**LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Professeur Abdelaziz TARZAALI

Analyses effectuées sur Capillarys-SEBIA-

Dossier N°: 0793480846

L.A.B.M: BENHELAL@

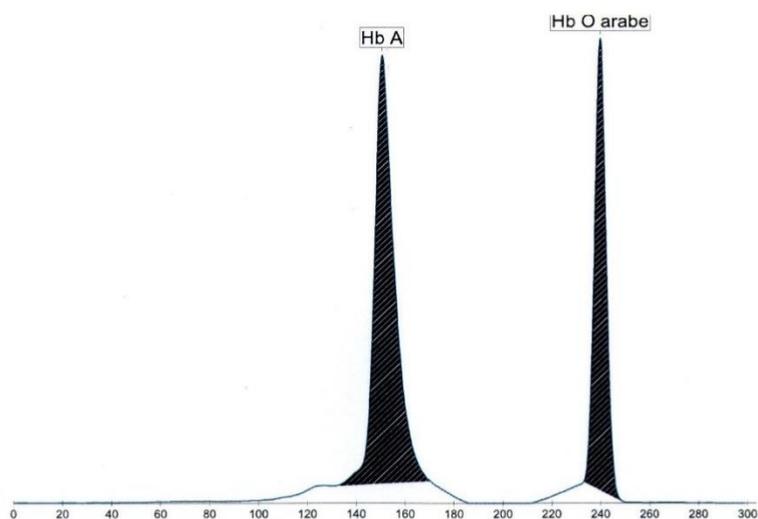
Nom: 2289

Examen du : 14/02/2017

N°: 70

Age 68 ans

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



Fractions	%	Ref. %
Hb A	62,2	
Hb O arabe	37,8	

Commentaire:

profil en faveur d'une hémoglobinose O arabe hétérozygote à confirmer par enquête familiale.

Valeurs normales : âge supérieur à 6 mois.

Hb F : <1 %

Hb A2 : 2,2-3,2 %

Le biologiste

**Annexe 18: Profil électrophoretique d'un patient présentat une hémoglobinose O-Arab à l'état heterozygote**

**Bio-Rad CDM System  
CDM 5.1 VII TURBO Instrument**

**PATIENT REPORT  
V2TURBO\_A1c\_2.0**

**Patient Data**

Sample ID: 209011701206  
 Patient ID:  
 Name:  
 Physician:  
 Sex:  
 DOB:

**Analysis Data**

Analysis Performed: 09/01/2017 12:26:02  
 Injection Number: 10773  
 Run Number: 643  
 Rack ID: 0001  
 Tube Number: 2  
 Report Generated: 10/01/2017 13:54:27  
 Operator ID:

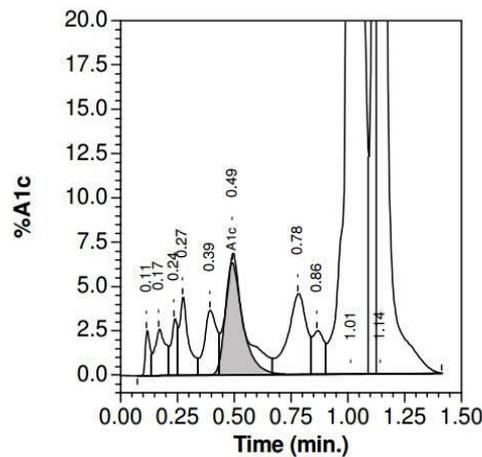
Comments:

Peak Name	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.3	0.114	5066
A1a	---	0.8	0.168	11628
A1b	---	0.5	0.235	8202
F	---	1.1	0.272	16483
LA1c	---	1.3	0.393	19600
A1c	6.3*	---	0.491	47074
P3	---	2.4	0.780	35767
P4	---	0.8	0.865	11526
Ao	---	53.2	1.014	793911
Variant Window	---	36.4	1.144	542880

\*Values outside of expected ranges

Total Area: 1,492,138

**HbA1c (NGSP) = 6.3\* %**



**Annexe 19: Chromatogramme en faveur d'un variant non-identifié.**



Abdessemed meriem:  
mima.pharma@hotmail.fr

Gheliem imane :  
miniza29@gmail.com

#### Résumé :

L'hémoglobine glyquée est le paramètre clé de la surveillance de l'équilibre glycémique des diabétiques, il est défini par la fixation lente et irréversible d'un glucose à la valine N-terminale de l'une ou des deux chaînes bêta de l'hémoglobine A. Son évaluation peut être réalisée selon différentes méthodes dont la chromatographie liquide haute performance (HPLC). Ce dosage fréquemment prescrit, permet par ailleurs de mettre en évidence fortuitement des anomalies de l'hémoglobine dépistées sur les chromatogrammes de l'HbA1c des patients; la présence d'une hémoglobine anormale perturbe le processus normal de glycation de l'Hb A en HbA1c et le laboratoire dans ce cas a un rôle primordial de détection de ces anomalies.

Le but de notre travail est d'identifier ces hémoglobinopathies, d'estimer leur prévalence et de montrer leur influence sur le dosage de l'HbA1c.

Pour cela nous avons dosé pendant 3 mois l'HbA1c chez 3042 patients par une technique d'HPLC et on a trouvé que 2% de cette population présentent des anomalies de l'hémoglobine qui sont majoritairement représentées par les hémoglobinoses S et C, (26 patients pour chaque type). D'autres hémoglobinoses ont été révélées : l'Hb O-Arab (3 patients), Hb D, Hb j, Hb H et l'Hb alpha. Tous ces variants ont été retrouvés à l'état hétérozygote sauf un cas d'hémoglobinose C homozygote.

Il est à noter que toutes ces anomalies ont été confirmées par électrophorèse capillaire

**Mots clés :** HbA1c, Electrophorèse Capillaire, Diabète, HPLC et Hémoglobine.

#### Abstract :

Glycated hemoglobin or HbA1C represents a key parameter to the assessment of glycemic control of diabetic patients, It is defined as the slow and irreversible fixation of glucose on the valine N-terminal of one or both  $\beta$  chains of hemoglobin. The evaluation is realized by different methods including high-performance liquid chromatography (HPLC). This frequently prescribed test also makes it possible to detect accidentally hemoglobin abnormalities on HbA1c chromatograms of diabetic patients. The presence of abnormal hemoglobin disrupts the normal glycation process of HbA into HbA1c and the laboratory in this case has primary role in pointing out these abnormalities.

The aim of our work is to identify these hemoglobinopathies, to estimate their prevalence and to show their influence on the HbA1c test.

For this reason, we have measured the HbA1c for 3042 patients using an HPLC method and we have found that 2% of the studied population has abnormalities of hemoglobin which are predominantly represented by hemoglobinosis S and C (26 patient for each type).

Other hemoglobinoses have been revealed : Hb O-Arab (3 patients), Hb D, Hb j, Hb H and Hb alpha. All these variants were found in the heterozygous state except one case of homozygous hemoglobin C.

It should be noted that all these abnormalities were confirmed by capillary electrophoresis.

**Key words :** HbA1c, Capillary Electrophoresis, Diabète, HPLC and Hemoglobin.

#### المخلص

يمثل الهيموغلوبين السكري عاملاً رئيسياً في تقييم السيطرة على نسبة السكر في الدم لمرضى السكري و يعرف بأنه تثبيت بطيء وغير قابل للرجوع للجلكوز في المحطة النهائية N\_ فالين لسلسلتي الهيموغلوبين، يتم تحقيق التقييم من خلال أساليب مختلفة بما في ذلك الاستشراب السائل عالي الأداء (PHCL). هذا الاختبار الدارج الاستعمال يسمح أيضاً باكتشاف طفرات الهيموغلوبين بالصدفة بفضل اختلال كروماتوغرام الهيموغلوبين السكري للمرضى. وجود هذه الطفرات يعرقل عملية التشعب السكري للهيموغلوبين A و في هذه الحالة يلعب عالم الاحياء دوراً رئيسياً في الإشارة إلى هذه التشوهات.

الهدف من عملنا هذا هو التعرف على طفرات الهيموغلوبين، تقدير انتشارها و اظهار تأثيرها على اختبار cAbH1.

لهذا قمنا بمعايرة الهيموغلوبين السكري لدى 3042 مريض باستعمال تقنية (CLPH) ووجدنا أن 2% من العينة المدروسة تحمل بديل الهيموغلوبين وتمثل الطفرات S و C اغلبية الحالات (52 من اصل 61 حالة). كل هذه الطفرات كانت مغايرة للزيجوت باستثناء حالة واحدة متماثلة للزيجوت.

تجدر الإشارة إلى انه تم التحقق من طبيعة الطفرات باستعمال الرحلان الكهربائي.

**الكلمات المفتاحية:** داء السكري، الهيموغلوبين السكري، امراض الهيموغلوبين، CLPH و الرحلان الكهربائي