



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :
Sciences Biologiques appliquées et Santé

Dosage de l'Hémoglobine glyquée (HbA1c)

Présenté par : Mlle Qiraouani Boucetta Halima

Encadré par :

Pr. Khabbal Youssef (CHU- Hassan II FES)

Pr. Sefrioui Samira Professeur à La FST de Fès

Soutenu le : 17 Juin 2015

Devant le jury composé de :

Pr .Sefrioui Samira

Pr. Khabbal Youssef

Pr. Tlèmçani Rachida

Année Universitaire : 2014-2015

Dédicaces

A mes parents qui m'ont aidé moralement et matériellement durant mes études, et pour :

- Leur amour*
- Leur affection*
- Leur précieux conseil*

Aucune phrase ne saurait exprimer mon grand et profond amour.

A mes sœurs pour leur amour véritable et sincère.

A mes formateurs qui ont veillé sur ma formation, en me Transmettent leurs connaissances.

A mes amis, en souvenir du temps que nous passions ensemble.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la Réalisation de ce travail.

Et à toi aussi lecteur, lectrice. ...



Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma reconnaissance et mes vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à sa réalisation.

Principalement :

***Pr. SEFRIOUI SAMIRA**, je suis fière et heureuse d'avoir été l'une de ses étudiantes. Je la remercie d'avoir accepté d'encadrer ce projet et de me faire part de son expérience. Les résultats de ce travail doivent beaucoup aux exigences de sa rigueur scientifique, à ses orientations, et à son talent pédagogique. C'est pour moi, l'opportunité de lui exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements pour son esprit ouvert et ses conseils précieux. Je ne s'aurais exprimé ma reconnaissance, certes, car sa bonté est indescriptible.*

***Pr. KHABBAL YOUSSEF**, Je le remercie de m'avoir encouragé et m'avoir accordé toute sa confiance, sa disponibilité, l'aide et les conseils concernant les missions évoquées lors des différents suivis tout au long de ces deux mois. Sachant répondre à toutes mes interrogations ; sans oublier sa participation au cheminement de ce rapport.*

***Pr. Tlèmçani Rachida**, qui a bien voulu juger ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma considération et ma reconnaissance les plus distingués.*

Description du lieu de stage

Le Laboratoire Central d'Analyses Médicales est situé au bâtiment J du « CHU HASSAN II de Fès » et conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales (Biochimie, pharmacologie-toxicologie, Anatomie pathologique, Bactériologie, Parasitologie, Immunologie, Hématologie, Génétique médicale et biologie moléculaire).

Il se compose de :

- Salle de réception.
- Salle de prélèvements.
- Laboratoire de biochimie/
Pharmacotoxicologie.
- Laboratoire d'hématologie.
- Laboratoire de bactériologie /
Immunologie.
- Laboratoire de parasitologie.
- Laboratoire de génétique.
- Laboratoire d'anatomie pathologie.



Laboratoire Central d'Analyses Médicales

Mon stage de fin d'étude a été effectué au sein du service de Biochimie, doté de :

- Deux Automates, Olympus AU640 et AU400.
- Appareils de Centrifugation.
- Un appareil d'électrophorèse SEBIA.
- Une Chromatographie liquide haute performance (CLHP), l'analyseur D-10® de Bio-Rad.

Personnels de laboratoire de biochimie:

- 3 docteurs,
- 7 techniciens, et
- Une infirmière auxiliaire.

Grâce à leurs dévouements et la qualité de leurs formations, les prestations du laboratoire sont offertes 24h/24 et 7j/7.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

A- Introduction	1
B- Synthèse bibliographique	2
I. L'Hémoglobine glyquée (HbA1c)	2
1. L'hémoglobine	2
2. L'Hb glyquée (HbA1c)	2
II. L'HbA1c et le diabète	4
1. Le diabète	4
2. Intérêt clinique de l'HbA1c dans le diabète	5
3. Les recommandations concernant le suivi du diabète par l'HbA1c	6
III. Dosage de l'HbA1c	6
1. Généralités	6
2. Relation entre le dosage de l'HbA1c et la glycémie moyenne	7
3. Techniques de dosage de l'HbA1c	8
4. Standardisation de dosage de l'HbA1c	9
5. Les limites du dosage de l'HbA1c	10
C- Matériel et Méthodes	12
I. Population étudiée	12
II. Technique de dosage de l'HbA1c	12
1. Echantillon	12
2. Mode opératoire	13
III. Tests statistiques	14
D- Résultats	15
I. Répartition des patients selon le type du diabète	15
II. Données sociodémographiques et anthropométriques (voir Annexes)	15
1. Le sexe	15
2. L'âge	16
3. Milieu de vie	16
4. Niveau d'éducation	17
5. Tabagisme	17

6.	Poids et Taille	18
7.	Indice de masse corporel (IMC).....	18
III.	Donnés Cliniques (voir Annexes).....	19
1.	Hérédité diabétique	19
2.	Complications du diabète.....	19
3.	Traitement.....	20
IV.	Surveillance du diabète	21
1.	Dosage de l'HbA1c.....	21
2.	Le lien de l'HbA1c avec les complications du diabète.....	21
E-	Discussion.....	22
F-	Conclusion	24
G-	Références bibliographiques	25
Annexes	28

Liste des abréviations

HbA1c : Hémoglobine glyquée

Hb : Hémoglobine

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DCCT : Diabetes Control and Complication Trial

UKPDS : United Kingdom Prospective Diabetes Study

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CLBP : Chromatographie liquide basse pression

ADAG : A1C-Derived Average Glucose

HAS : Haute Autorité de Santé

ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en santé

eGM : Glycémie moyenne estimée

NGSP : National glycohemoglobin standardization program

EPO : érythropoïétine

MHD : Mesures Hygiéno-diététiques

ADO : Anti Diabétique Oraux

IMC : Indice de Masse Corporel

DNID : Diabète Non Insulinodépendant

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique d'une HbA1c	3
Figure 2. Représentation schématique des HbA glyquées	3
Figure 3. Relation entre le taux d'HbA1c et l'eGM des trois derniers mois.....	7
Figure 4. Etapes de prélèvement sanguin	12
Figure 5. Répartition des patients selon le type du diabète	15
Figure 6. Répartition des patients selon le sexe	15
Figure 7. Répartition des patients selon les tranches d'âge.....	16
Figure 8. Répartition des patients selon le milieu de vie.....	16
Figure 9. Répartition des patients selon le niveau d'éducation	17
Figure 10. Répartition du tabagisme	17
Figure 11. Répartition des patients selon l'IMC	18
Figure 12. Répartition des patients selon l'hérédité diabétique	19
Figure 13. Répartition des patients selon les complications diabétiques	19
Figure 14. Répartition des patients selon le type du traitement	20
Figure 15. Répartition du pourcentage d'HbA1c	21

A- Introduction

Le diabète sucré se caractérise par une hyperglycémie provenant d'une incapacité du corps à utiliser le glucose sanguin comme énergie. Dans le diabète de type 1, le pancréas ne peut plus fabriquer d'insuline, et par conséquent, le glucose sanguin ne peut pas pénétrer dans les cellules et être utilisé comme énergie. Dans le diabète de type 2, le pancréas ne fabrique pas suffisamment d'insuline ou le corps ne peut pas utiliser correctement l'insuline [1]. Les effets directs et indirects de l'hyperglycémie sur le système vasculaire humain sont la principale source de morbidité et de mortalité liée au diabète, qu'il soit de type 1 ou de type 2.

Le traitement du diabète exige le maintien à long terme d'un taux de glucose sanguin aussi proche que possible du taux normal afin de limiter les risques de complications vasculaires à long terme [2 ; 3]. Une simple mesure de la glycémie à jeun donne des indications sur le passé immédiat de l'état d'un patient (les quelques heures précédentes), mais ne fournit pas nécessairement un aperçu réel de la régulation glycémique du patient [4 ; 5].

Le dosage de l'HbA1c tous les deux à trois mois a été reconnu comme méthode de mesure du contrôle glycémique dans le soin et le traitement des patients atteints de diabète sucré. De ce fait, des efforts considérables ont été faits depuis des décennies pour améliorer et standardiser ce dosage notamment par plusieurs sociétés savantes internationales.

Grâce aux études menées par le groupe de DCCT [6], l'UKPDS [7] et l'IFCC [8], le dosage de l'HbA1c bénéficie actuellement d'une vingtaine de techniques différentes disponibles sur le marché [9]. Malgré cette diversité, la détermination de l'HbA1c par les techniques de CLHP reste la méthode de référence.

Le but de cette étude était de déterminer l'intérêt du dosage de l'HbA1c dans la surveillance du diabète, en utilisant une technique de CLHP par l'intermédiaire de l'analyseur D-10® de Bio-Rad.

B- Synthèse bibliographique

I. L'Hémoglobine glyquée (HbA1c)

1. L'hémoglobine

a. Définition

L'Hb est la protéine des globules rouges, relativement complexe, centré autour d'un atome de fer [10]. Elle est composée de quatre chaînes protéiques contenant chacune un hème et constitue le pigment rouge qui donne aux érythrocytes leur coloration. La production d'Hb se fait dans les jeunes globules rouges [10], au niveau de la moelle osseuse. Sa synthèse est stimulée par une hormone appelée érythropoïétine "EPO" (synthétisée par les reins).

Grâce au fer, l'Hb capte l'oxygène au niveau pulmonaire et le libère dans les organes. En retour le CO₂ est transporté aux poumons pour être éliminé par la respiration.

b. Les différents types d'Hb [11]

Il existe différentes variétés d'Hb qui sont fonction des différents types de chaînes de globine synthétisées à des périodes différentes de la vie et dont la composition en Hb n'est pas la même :

- Hb fœtale : On nomme ainsi l'Hb dans chaque globule rouge du fœtus et juste après la naissance. Elle est composée de 2 chaînes alpha et de 2 chaînes gamma. L'Hb du fœtus présente une particularité: il s'agit de sa grande affinité pour l'oxygène, plus forte que celle de l'Hb de l'adulte. En effet, l'oxygène du fœtus est aspiré préférentiellement par l'Hb fœtale aux dépens du sang de la mère à travers le placenta.
- Hb de l'adulte : L'HbA1 correspond à 98 % du total de l'Hb de l'adulte. Elle est constituée de 2 chaînes alpha et de 2 chaînes bêta. L'HbA2 correspond à 2 % du total de l'Hb de l'adulte. Elle est constituée de 2 chaînes alpha et de 2 chaînes delta. C'est l'électrophorèse qui permet de différencier ces deux types d'Hb.
- Hb glycosylée : C'est une variété d'Hb sur laquelle s'est fixée une molécule de glucose. L'HbA1c représente normalement moins de 5 % de l'Hb de l'organisme. Sa concentration est dépendante de la glycémie (taux de glucose dans le sang). Son dosage permet de surveiller efficacement un traitement à long terme chez un diabétique.

2. L'Hb glyquée (HbA1c)

a. Définition de l'HbA1c

L'Hb glyquée correspond à l'ensemble des molécules d'Hb modifiées par fixation non enzymatique d'oses et principalement de glucose sur les fonctions aminées de la globine [12].

L'Hb glyquée est le témoin de la moyenne des glycémies des 3 derniers mois, c'est le paramètre le plus important pour connaître le degré d'équilibre, dans le diabète de type 1 ou de type 2.

Son résultat est exprimé en pourcentage de l'Hb totale. Son dosage est indispensable tous les 3 mois.

Synthèse bibliographique

b. Formation de l'HbA1c

La glycation est un phénomène physiologique lent dont la première étape réversible correspond à la formation d'une base de Schiff ou Hb glyquée labile. Le nombre de fonctions susceptibles de fixer un ose et le fait que d'autres oses que le glucose peuvent se fixer génèrent une multitude de formes glyquées de l'Hb.

Le site principal de glycation de l'Hb majoritaire de l'adulte, l'HbA constituée de 2 chaînes α et 2 chaînes β de globine, se situe sur la valine N-terminale de la chaîne β (**Figure1**).

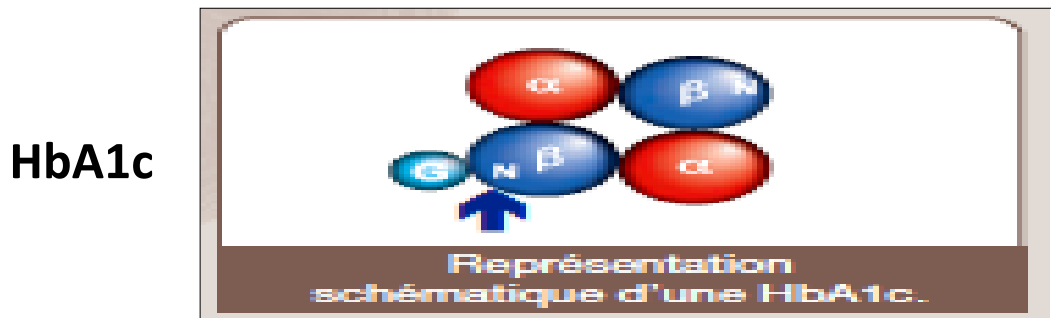


Figure 1. Représentation schématique d'une HbA1c [13]

Les autres sites de glycation correspondent aux lysines non terminales des chaînes α et β et à la valine N terminale de la chaîne α (**Figure 2**). La glycation sur l'extrémité N-terminale modifie significativement les propriétés physicochimiques de la molécule et conduit à la formation d'Hb dites rapides dont l'éluion est plus précoce en chromatographie d'échange cationique faible que celle de l'HbA non modifiée ou HbA0. Ces fractions rapides sont appelées HbA1 et ont été désignées, en fonction de leur ordre d'éluion, par une lettre minuscule (HbA1a, A1b et HbA1c). La molécule fixée par ces Hb est le glucose pour l'HbA1c (4-6 % de l'Hb totale), le pyruvate pour l'HbA1b (0,8 % de l'Hb totale) et le fructose 1-6 diphosphate ou le glucose 6 phosphate pour l'HbA1a (0,5 % de l'Hb totale). L'HbA1c est elle-même hétérogène et la forme la plus répandue est celle où une seule chaîne β a fixé du glucose sur son extrémité N-terminale [14].

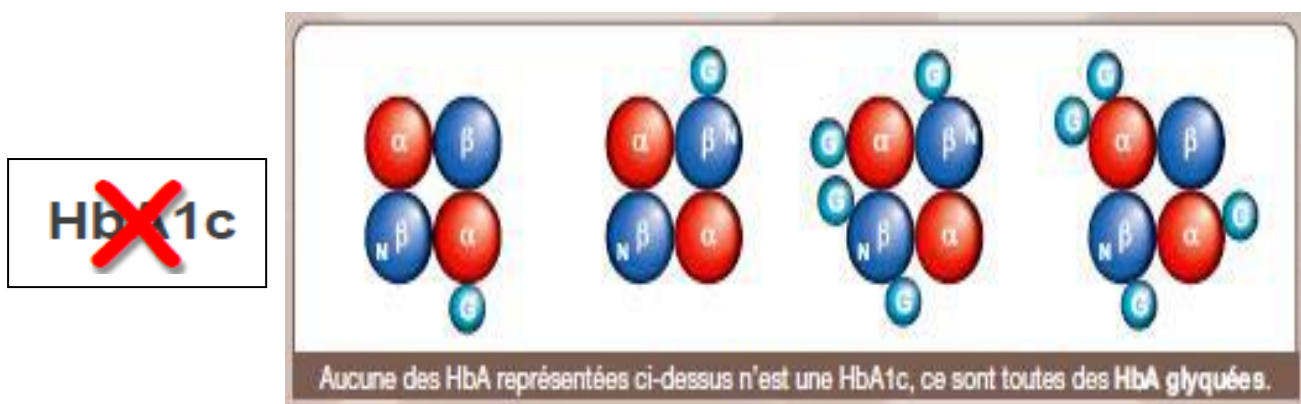


Figure 2. Représentation schématique des HbA glyquées [13]

II. L'HbA1c et le diabète

1. Le diabète

a. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit. L'insuline est une hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang.

L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins.

b. Type de diabète

Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile) touche 10% des personnes diabétiques dans le monde [15]. Il est plus fréquent pendant l'enfance ou au début de l'adolescence (1, 2, 6, 14). La principale caractéristique de ce type de maladie est l'incapacité du pancréas à produire l'insuline [15]. Ce processus arrive quand le système immunitaire attaque les cellules β du pancréas et les détruit.

Les symptômes sont les suivants: excrétion excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement.

Son seul traitement à l'heure actuelle consiste en une injection pluriquotidienne d'insuline afin de compenser le défaut de l'insuline sécrétée par le pancréas.

Diabète de type 2

Le diabète de type 2, anciennement appelé "DNID", représente environ 90 % des cas [16]. Encore appelé diabète "gras" ou de "maturité". Généralement développé chez les personnes après l'âge de 45 ans [17], mais au cours des dernières années, la moyenne d'âge de personnes atteintes a diminué, Cependant, la maladie est en constante progression chez l'enfant [18].

Son expression semble être le résultat de facteurs environnementaux, essentiellement alimentaires et comportementaux (surcharge pondérale, sédentarité...). Cette maladie se caractérise par une hyperglycémie,

La maladie évolue de façon insidieuse et reste longtemps asymptomatique. De ce fait, de nombreux diabétiques ignorent leur état.

Le diabète de type 2 est la résultante de deux phénomènes :

- Dans un premier temps, un état d'insulinorésistance s'établit. L'organisme développe peu à peu une résistance à l'action de l'insuline et doit en produire une quantité de plus en plus importante afin de maintenir une glycémie constante.
- Après plusieurs années (10 à 20 ans parfois), le pancréas ne produit plus suffisamment d'insuline : c'est l'insulino-déficience.

c. Conséquences habituelles du diabète

Avec le temps, le diabète peut endommager le cœur, les vaisseaux sanguins, les yeux, les reins et les nerfs :

- Le diabète augmente le risque de cardiopathie et d'accident vasculaire cérébral. Selon une étude conduite dans plusieurs pays, 50% des diabétiques meurent d'une maladie cardiovasculaire (principalement cardiopathie et accident vasculaire cérébral).
- Associée à une diminution du débit sanguin, la neuropathie qui touche les pieds augmente la probabilité d'apparition d'ulcères des pieds, d'infection et, au bout du compte, d'amputation des membres.
- La rétinopathie diabétique est une cause importante de cécité et survient par suite des lésions des petits vaisseaux sanguins de la rétine qui s'accumulent avec le temps. Un pour cent de la cécité dans le monde peut être attribuée au diabète.
- Le diabète figure parmi les principales causes d'insuffisance rénale.

2. Intérêt clinique de l'HbA1c dans le diabète

Deux études épidémiologiques à grande échelle ont établi la relation entre la valeur de L'HbA1c et les complications dégénératives du diabète:

- ❖ Le DCCT [19] chez les diabétiques type 1
- ❖ L'UKPDS [7] chez les diabétiques de type 2.

L'étude DCCT [19] a été réalisée aux Etats Unis de 1983 à 1993 et a inclus 1441 diabétiques de type 1 âgés de 13 à 39 ans. La population a été répartie en deux groupes. Au sein de chacun de ces deux groupes : la moitié des diabétiques a été traitée avec un traitement conventionnel (une ou deux injections d'insuline) et l'autre moitié a été traitée avec un traitement intensif (au moins trois injections par jour ou pompe à insuline). Chez les patients ayant reçu le traitement conventionnel, l'HbA1c moyenne était de 8,9%, et de 7,1% pour ceux ayant reçu le traitement intensif. Les résultats obtenus ont montré que le traitement intensif a permis une réduction intense des complications dégénératives du diabète ainsi qu'une augmentation du risque d'hypoglycémie chez ce groupe. Ces résultats montrent que la valeur d'HbA1c est corrélée au risque d'apparition des complications.

L'étude UKPDS [20] a débuté en 1977 et son objectif principal était de vérifier si un meilleur contrôle du diabète permettait de prévenir les complications du diabète. Les résultats de cette étude ont été rendus publics en 1998. Ils montrent qu'une réduction de 1% de l'Hb glyquée s'accompagne d'une diminution de 30 % du risque relatif de développer des complications, de 18 % du risque d'infarctus et de 25 % du risque de mortalité lié au diabète.

L'HbA1c est donc un marqueur prédictif de l'apparition des complications du diabète. Il permet le suivi des diabètes de types 1 et 2. Plus l'HbA1c est élevée, plus le risque de **développer des complications est important.**

Au cours de ces deux études, des seuils thérapeutiques décisionnels ont été établis :

- Pour le diabète de type 1, l'étude DCCT a défini le seuil à 7%.
- Pour le diabète de type 2, l'étude UKPDS a défini le seuil à 6.5%.

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

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

Selon le guide ALD édité par la HAS en juillet 2007 « diabète de type 1 de l'adulte » [20], le dosage de l'HbA1c doit être réalisé 4 fois/an.

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

D'après les recommandations de l'ANAES de janvier 1999, « suivi du patient diabétique de type 2 à l'exclusion du suivi des complications » [21]:

- Le dosage de l'HbA1c doit être effectué tous les 3 à 4 mois.
- Pour un patient donné, le dosage de l'HbA1c doit être pratiqué dans le même laboratoire, pour permettre la comparaison des résultats successifs.
- Les objectifs glycémiques se traduisent en objectifs d'HbA1c. Les critères suivants doivent être pris comme référence [22]:
 - 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.

III. Dosage de l'HbA1c

1. Généralités

L'HbA1c constitue « l'étalon-or » du suivi des patients atteints de diabète. Dans la mesure où la glycation de l'Hb est un processus spontané, cumulatif et irréversible survenant pendant toute la durée de vie des globules rouges (environ 120 jours) et dont l'intensité est directement liée à la concentration de glucose, le dosage de l'HbA1c représente un index rétrospectif de l'équilibre glycémique, représentatif des quatre à huit semaines qui précèdent le prélèvement [23].

Le dosage de l'Hb glyquée est devenu routine dans la pratique de la diabétologie clinique avant même la démonstration en 1990 [24] que la connaissance des résultats par le médecin améliore le contrôle glycémique de ses patients. Cette démonstration suivait d'une quinzaine d'années la démonstration que la valeur de l'HbA1c est corrélée à la glycémie moyenne des semaines précédant le dosage [25] ; les années séparant ces deux publications ont été nécessaires pour la mise au point de techniques de dosages spécifiques et reproductibles.

2. Relation entre le dosage de l'HbA1c et la glycémie moyenne

L'aspect d'éducation du patient est extrêmement important dans le suivi des maladies chroniques, et tout particulièrement dans le cadre du diabète où celui-ci est amené à contrôler régulièrement sa glycémie pour ajuster sa prise alimentaire, son activité et parfois ses injections d'insuline. Le fait que la glycémie moyenne soit mesurée par le médecin en analysant une forme particulière d'Hb, de plus exprimée en pourcentage, est clairement source de confusion pour le patient selon de nombreux professionnels. Si le contrôle métabolique évalué par le médecin pouvait être rapporté en termes de glycémie moyenne plutôt qu'en pourcents d'HbA1c, et dans les mêmes unités que les glycémies ponctuelles mesurées par le patient lui-même, la compréhension en serait largement facilitée.

Plusieurs tentatives d'établir la relation existante entre la glycémie moyenne sur une période de 5 à 12 semaines et les valeurs d'HbA1c ont vu le jour très tôt (par exemple [25-26]), mais ces études sont restées peu convaincantes à cause du nombre assez limité de patients et de mesures de glycémie par individu. C'est dans ce contexte qu'une étude multicentrique internationale a été menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la relation existant entre la valeur d'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents [27].

L'étude "ADAG" [27] a déterminé le rapport mathématique entre l'HbA1c et la glycémie moyenne à travers une régression linéaire (**Figure 3**). La formule mathématique qui permet d'estimer la moyenne glycémique à partir de la valeur de l'HbA1c est la suivante :

$$\text{eGM (en mmol/l)} = 1,59 \times \text{HbA1c} - 2,59$$

On constate par exemple qu'une valeur d'HbA1c de 7% (souvent considérée comme cible thérapeutique) correspond à une glycémie moyenne estimée de 8,6 mmol/l. Donc l'HbA1c pouvait être exprimée à l'aide des mêmes unités que celles utilisées pour l'auto surveillance.

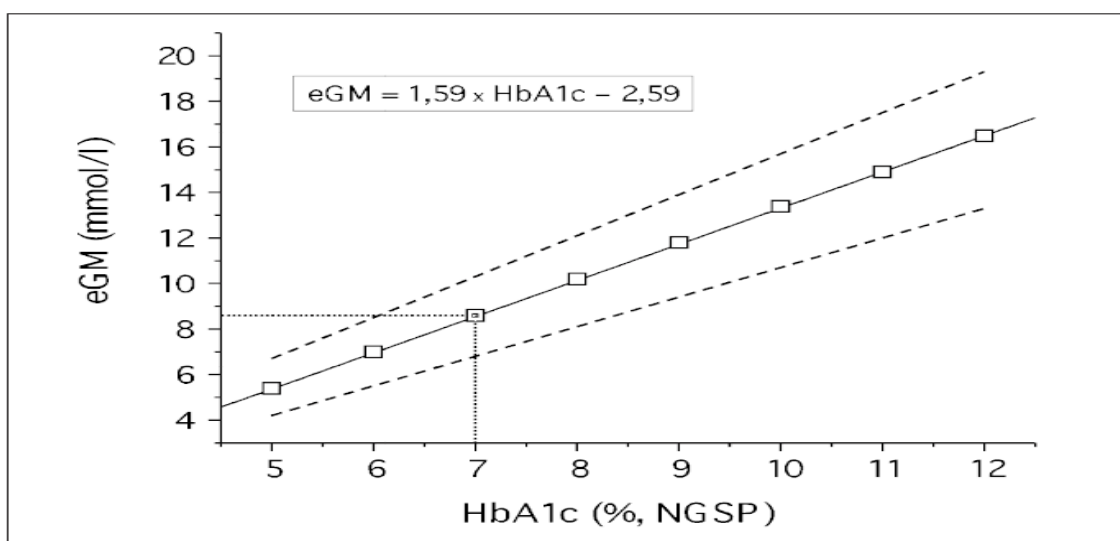


Figure 3. Relation entre le taux d'HbA1c et l'eGM des trois derniers mois. La relation résulte de la régression linéaire effectuée sur les données enregistrées pendant une période de trois mois chez 507 individus, diabétiques et non diabétiques [27].

3. Techniques de dosage de l'HbA1c

Le dosage de l'Hb glyquée a suscité beaucoup d'intérêt à sa découverte ce qui est à l'origine de la multiplicité des techniques de dosage existantes. Les techniques de dosage de l'Hb glyquée peuvent être réparties en deux groupes [28] :

a. Les techniques permettant le dosage spécifique de l'HbA1c [29]

Elles sont basées sur la plus grande électronégativité des Hb glyquées sur l'extrémité N-terminale des chaînes β :

- **Chromatographie d'échange ionique** : utilisation de résines d'échange cationique faible et de tampons de force ionique et/ou pH différents. Plusieurs supports chromatographiques existent :

- Minicolonne : ces méthodes présentent des aléas méthodologiques très importants, d'où des difficultés de standardisation.
- CLHP : la séparation est améliorée et l'automatisation est quasi complète mais cette méthode nécessite un lourd investissement en matériel.

Exemple de l'analyseur D-10® de Bio-Rad, dont le principe est le suivant [30]:

Le dosage de l'HbA1c repose sur une méthode de CLHP certifiée NGSP. Les échantillons sont automatiquement dilués dans le système D-10®, puis injectés dans le circuit d'écoulement analytique et appliqués à la cartouche analytique.

Le système D-10® envoie un gradient programmé de tampon de force ionique croissante dans la cartouche, les molécules d'Hb sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la cartouche. Elles traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance à 415 nm. Le logiciel D-10 intègre les données brutes recueillies lors de chaque analyse. Un compte rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon.

La surface de l'HbA1c est calculée à l'aide d'un algorithme gaussien exponentiellement modifié qui permet d'exclure la surface des pics dus à l'HbA1c labile et à l'Hb carbamylée de la surface du pic A1c. « L'annexe » illustre des exemples de chromatogrammes obtenus avec la méthode D-10® HbA1c.

- CLBP : cette méthode est plus facile à utiliser et moins coûteuse que les systèmes CLHP.

Ces méthodes sont très sensibles aux conditions techniques (température, pH, dilution de l'échantillon, force ionique, taille de la colonne).

L'HbA1c est évaluée de façon spécifique par rapport aux autres Hb rapides et à l'HbA0 : un calcul de l'aire des pics d'élution permet d'effectuer un rapport. Les techniques automatisées par CLHP ou CLBP fournissent un diagramme d'élution 23 contrairement à la chromatographie sur micro colonnes. Cela permet la mise en évidence d'une mauvaise séparation éventuelle ou de détecter la présence d'une Hb anormale.

Synthèse bibliographique

-Electrophorèse : elle est réalisée le plus souvent en gel d'agarose et la quantification des fractions est densitométrique. C'est une technique simple qui permet de doser plusieurs échantillons à la fois. Le principal problème de cette technique est la reproductibilité. En effet, les résultats obtenus dépendent de la rigueur de la réalisation et de la qualité des équipements utilisés. Ce type de technique permet la mise en évidence de la plupart des Hb anormales, mais elle ne permet pas celle des Hb modifiées comme les Hb carbamylées.

-Méthodes immunologiques : Les anticorps monoclonaux ou polyclonaux utilisés dans ces méthodes reconnaissent le peptide N-terminal des chaînes β modifiées par la fixation de glucose. Ces techniques ont une très bonne spécificité. Les principales interférences sont la présence de variants de l'Hb, d'Hb anormale ou d'HbF.

b. Les techniques dosant l'Hb glyquée totale [29]

Il s'agit de méthodes de chromatographie d'affinité. Les Hb glyquées ont une affinité pour les dérivés des acides boroniques et phénylboroniques, qui forment des complexes avec les groupements 1-2-cis diol engendrés par la fixation de molécules d'hexoses sur l'Hb.

La conversion en HbA1c se fait grâce à un calcul de corrélation par rapport à une méthode de référence (la glycation de la fraction A1c est proportionnelle à celle de l'Hb totale). Avec cette technique il n'existe pas d'interférence avec l'Hb carbamylée.

4. Standardisation de dosage de l'HbA1c

Au moment de la publication des études DCCT et UKPDS (en 1993 et 1998, respectivement), il n'y avait aucune cohérence dans la communication des résultats d'HbA1c. La diversité dans la biochimie de la glycation, les exigences cliniques et de gestion ont donné lieu à un large éventail de méthodes de dosage de l'HbA1c depuis les années 1960 [31].

Ainsi des laboratoires différents pouvaient communiquer des résultats d'HbA1c différents pour une même personne, selon le type d'analyseur utilisé pour doser l'échantillon. Il était absolument impossible de fixer une cible d'HbA1c unique pour les citoyens d'un même pays et encore moins au niveau mondial. Aussi, de nombreuses personnes atteintes de diabète étaient déconcertés par le terme HbA1c ou A1c et voudraient pouvoir les mettre en relation avec leur taux de glycémie moyen [32].

Deux groupes de travail, l'un nommé NGSP basé aux Etats-Unis et le second, l'IFCC ont mis en place parallèlement une standardisation de la méthode de dosage de l'HbA1c [33].

L'atout majeur du NGSP est de s'appuyer sur les travaux menés par le DCCT et UKPDS.

Ceci a abouti à la coexistence de deux valeurs différentes pour l'HbA1c avec un ordre de grandeur comparable, mais des valeurs usuelles d'HbA1c de 1 à 2% plus basses avec la méthode IFCC par rapport à DCCT/NGSP.

Ces différences ont suscité un vaste débat sur la façon dont le dosage de l'HbA1c doit être exprimé et dès lors, les sociétés internationales de diabétologie et l'IFCC ont pris les décisions suivantes au cours d'une conférence de consensus en décembre 2007 : toutes les méthodes de mesure d'HbA1c doivent être basées sur la méthode IFCC et exprimées en mmol/mol [34-35] ou soit en unités dérivées (pourcentage d'Hb totale) par une conversion utilisant une équation directrice.

Synthèse bibliographique

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

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

5. Les limites du dosage de l'HbA1c

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

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

- une durée de vie des globules rouges normale (120 jours)
- une synthèse normale (qualitative et quantitative) de l'Hb (97 à 99% d'HbA).

Si l'un de ces paramètres est modifié, l'équilibre entre réaction de synthèse/dégradation et réaction de glycation non enzymatique est perturbé et l'interprétation du dosage devient délicate voir impossible [36].

a. Variations physiopathologiques :

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

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

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

- Chez la **femme enceinte** : Au premier trimestre, les valeurs d'HbA1c ont tendance à être plus basses, ce qui peut être expliqué par l'hémodilution et une plus faible valeur de glycémie à jeun (phase d'anabolisme pour le développement foetal avec augmentation de l'insulinémie et de l'insulinosensibilité). Au deuxième et troisième trimestre, les valeurs d'HbA1c sont plus élevées.
- Chez le **patient insuffisant rénal** : Cette situation est fréquente chez le patient diabétique (néphropathie diabétique). Trois situations peuvent avoir une influence sur la valeur de l'HbA1c :
 - La durée de vie du globule rouge est réduite en cas d'hémodialyse.
 - La prise d'un traitement par l'EPO provoque un rajeunissement de la population érythrocytaire.

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

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

Synthèse bibliographique

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

b. Présence d'une hémoglobinopathie [37;38]:

L'Hb est soit qualitativement soit quantitativement anormale.

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

La présence de variants de l'Hb peut être à l'origine de résultats sur ou sous-estimés selon la technique utilisée, les rendant difficilement interprétables. Il est par conséquent important d'identifier la présence d'une Hb anormale chez un patient. Plus de 800 variants de l'Hb ont été décrits [36], par exemple la présence d'une Hb C ou S.

c. Anomalies quantitatives d'Hb

- Augmentation de l'Hb F (au cours de myélome, lymphome, thalassémie) : elle peut entraîner une sous-estimation du taux d'HbA1c avec les techniques immunologiques (pas de reconnaissance par les anticorps des chaînes β de l'HbF et qui mesurent strictement l'HbA1c par rapport à l'Hb totale). Par contre, les taux d'HbA1c obtenus par chromatographie resteront interprétables (si la durée de vie des globules rouges n'est pas affectée).
- les bêta-thalassémies qui s'accompagnent d'une augmentation du taux d'HbF et d'HbA2 circulantes et d'une hémolyse chronique. Dans ce cas la valeur d'HbA1c ne peut pas être interprétée.

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

C- Matériel et Méthodes

I. Population étudiée

Il s'agit d'une étude de type prospective, avec critères d'inclusion de 84 patients diabétiques (type 1 et type 2) hospitalisés au service d'endocrinologie de diabétologie et maladies métaboliques nutritif du CHU Hassan II de Fès, durant la période Avril-Mai 2015

❖ Critères d'exclusion :

- ✚ Diabétiques gestationnels
- ✚ Malades non hospitalisés

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients du service d'endocrinologie de diabétologie, de maladies métaboliques et nutrition.

II. Technique de dosage de l'HbA1c

1. Echantillon

Des prélèvements de sang veineux effectués sur des tubes EDTA ont été requis. Ces derniers ont été réalisés le matin, à jeûne ou après le petit déjeuner. (Figure 4)

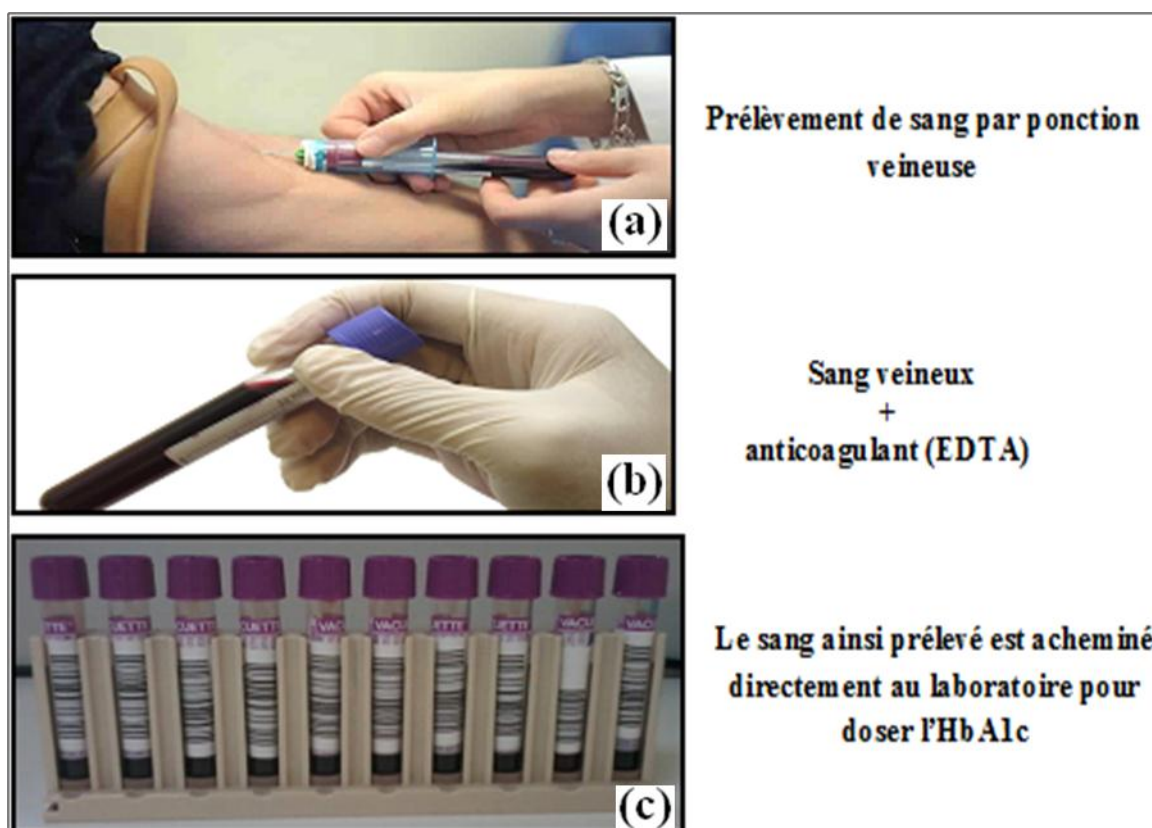


Figure 4. Étapes de prélèvement sanguin

2. Mode opératoire

Le dosage de l'HbA1c a été réalisé en utilisant l'analyseur D-10® de Bio-Rad, selon les étapes suivantes:

- ✚ Les tubes d'échantillons sont placés dans le portoir à échantillons du D-10 puis mis dans le système D-10.
- ✚ Le passeur d'échantillons permet le chargement en continu et le stockage après analyse des échantillons autorisant une capacité de chargement de 10 tubes par série.



- ✚ Le travail en routine se fait sur tubes primaires fermés identifiés, l'échantillon étant prélevé directement après percement du bouchon par l'aiguille de prélèvement évitant ainsi tout risque d'accident avec exposition au sang.



Matériel et Méthodes

- ✚ Le logiciel D-10 intègre les données brutes recueillies lors de chaque analyse.
- ✚ Un compte rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon. Il comporte les informations suivantes : date et heure du dosage, identification de l'échantillon (calibrant, contrôle, patient), identification de l'injection (numéro de la série, numéro de l'injection, position de l'échantillon sur le rack), le chromatogramme et le taux de l'HbA1c en %.
- ✚ Les résultats d'HbA1c sont présentés en pourcentage ($100 \times \text{HbA1c} / \text{Hb totale}$)

III. Tests statistiques

La comparaison de la moyenne des valeurs d'HbA1c a été effectuée en utilisant le test t de student pour échantillons indépendants.

Les données ont été saisies sur Excel et toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel SPSS (Statistical Package for Social Science) version 17.0.

Les résultats ont été exprimés par « moyenne \pm écart type » pour les variables continues et par « pourcentage » pour les variables discontinues.

Les résultats sont considérés statistiquement significatifs à partir d'une valeur de $P \leq 0,05$.

D- Résultats

I. Répartition des patients selon le type du diabète

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 84 patients diabétiques, dont 36 (43%) d'entre eux étaient diabétiques de type 1 et 48 (57%) diabétiques de type 2. (Figure 5)

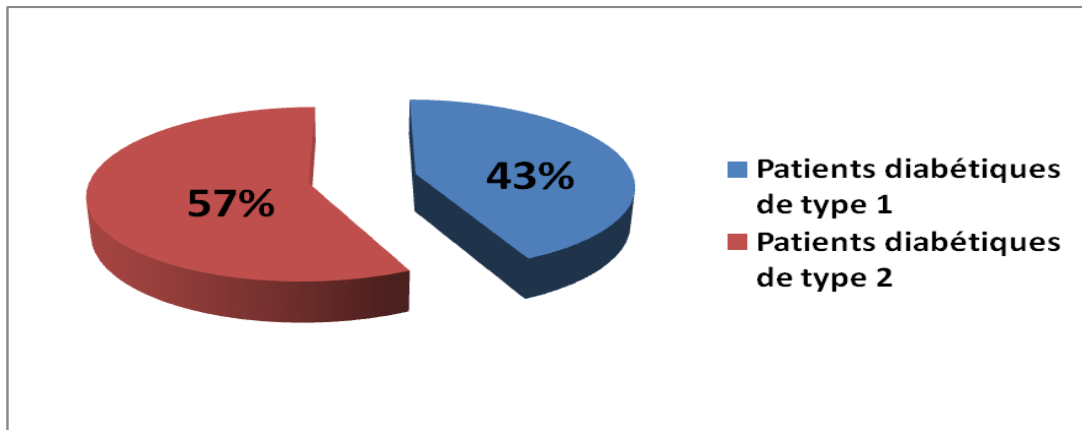


Figure 5. Répartition des patients selon le type du diabète

II. Données sociodémographiques et anthropométriques (voir Annexes)

1. Le sexe

La population cible présente un sex-ratio (H/F) de 0,95, dont les femmes (58,33%) représentent le pourcentage le plus important chez les patients diabétique de type 2 et les hommes (58,33) chez les diabétiques de type 1. (Figure 6)

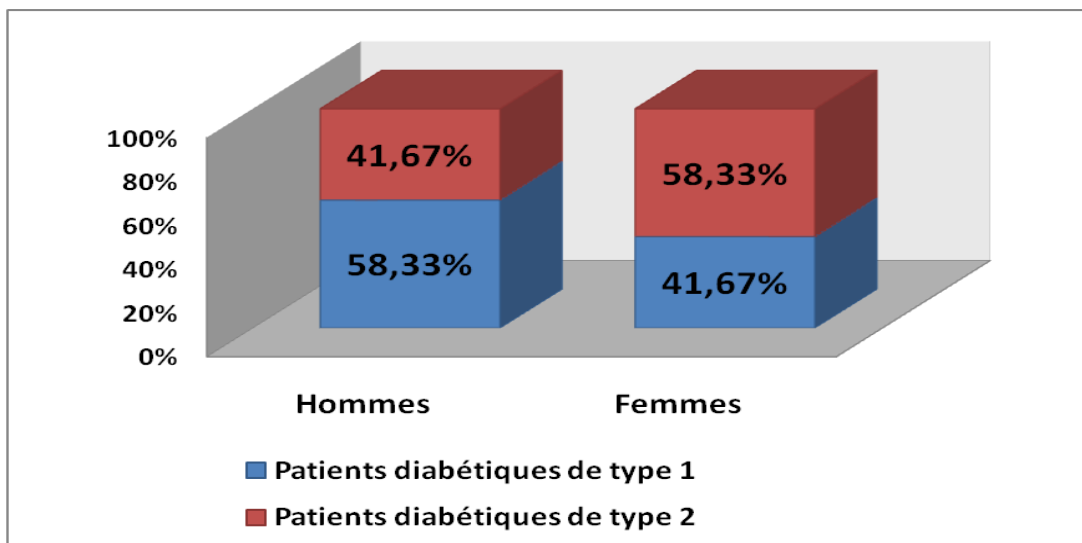


Figure 6. Répartition des patients selon le sexe

2. L'âge

L'âge des patients est compris entre 9 et 78 ans avec une médiane de 48 ans et interquartiles de [23 ; 61,5]. La classe d'âge des jeune (< 25 ans) était la plus nombreuse chez les diabétiques de type 1 (66,67%) et celle >45ans chez les diabétique de type 2 (87,5%). (Figure 7)

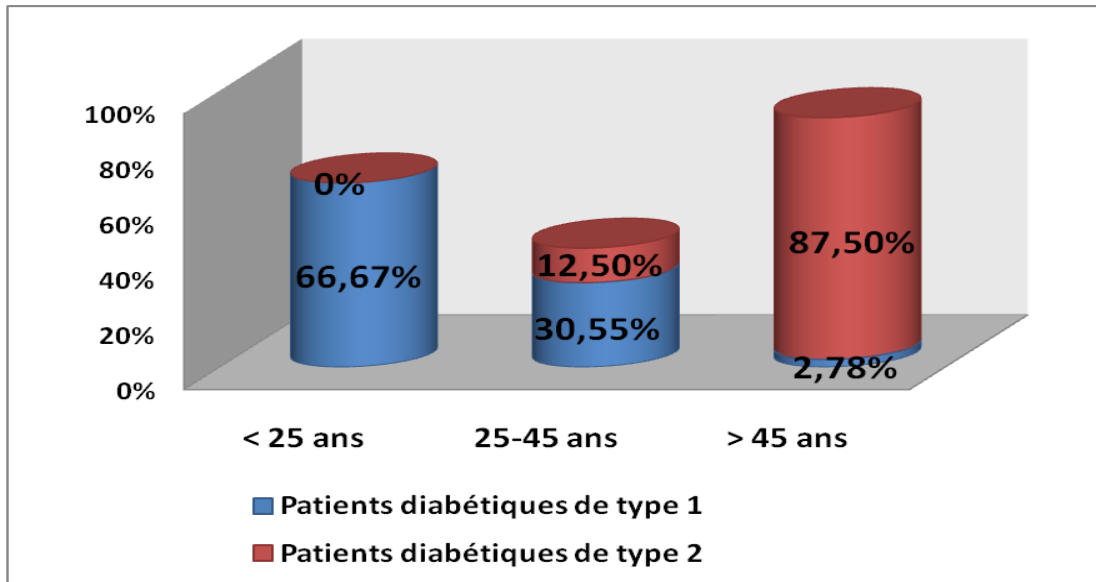


Figure 7. Répartition des patients selon les tranches d'âge

3. Milieu de vie

Quant à l'origine géographique, La majorité des patients résidaient en milieu urbain soit 85,7% de l'ensemble de la population d'étude. (Figure 8)

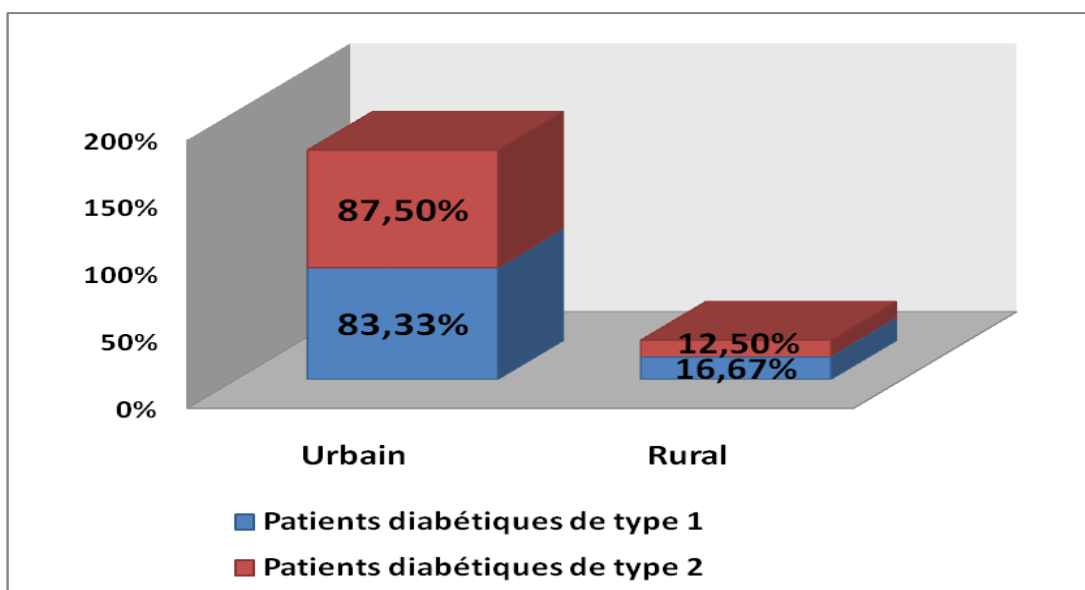


Figure 8. Répartition des patients selon le milieu de vie

4. Niveau d'éducation

En ce qui concerne le niveau d'étude, dans la population totale il y a eu 26,19% d'analphabète (43,75% chez les diabétiques de type 2 et 2,78% chez les diabétiques de type 1), 26,19 % d'individus qui se sont limités au cycle primaire, 29,76% qui avaient un niveau secondaire, et 17,86% qui avaient fait des études supérieures. (Figure 9)

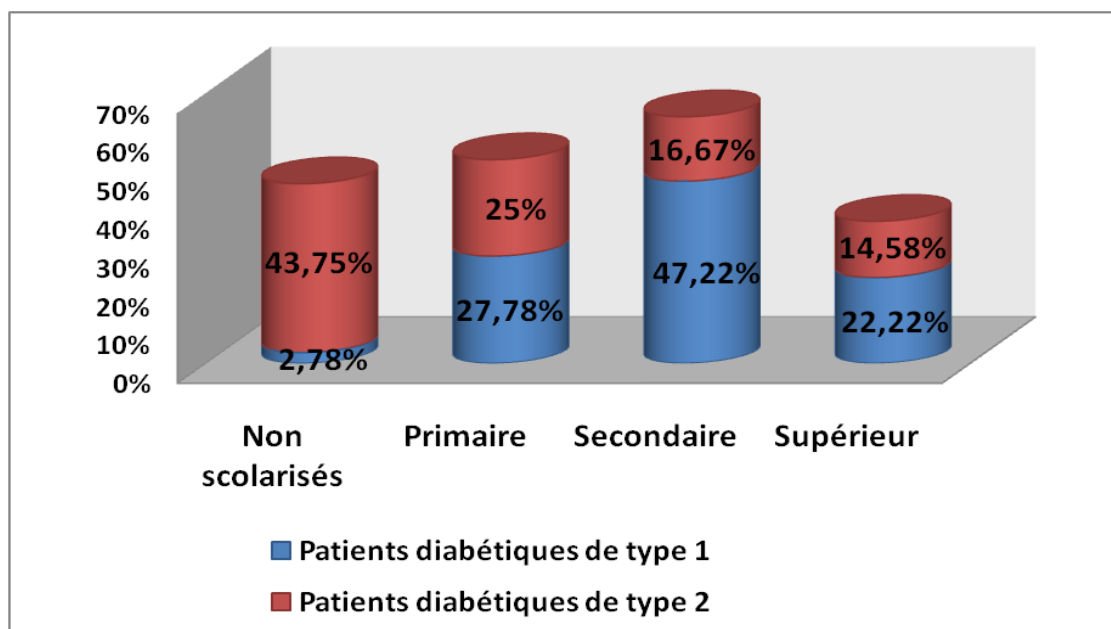


Figure 9. Répartition des patients selon le niveau d'éducation

5. Tabagisme

L'effectif global a été essentiellement constitué de non fumeurs. Ils représentaient 78,57% de la population totale (88,89% chez les diabétiques de type 1 et 70,83% chez les diabétiques de type 2), alors que les fumeurs n'en représentaient que 21,43% (11,11% chez les diabétiques de type 1 et 29,17% chez les diabétiques de type 2). (Figure 10)

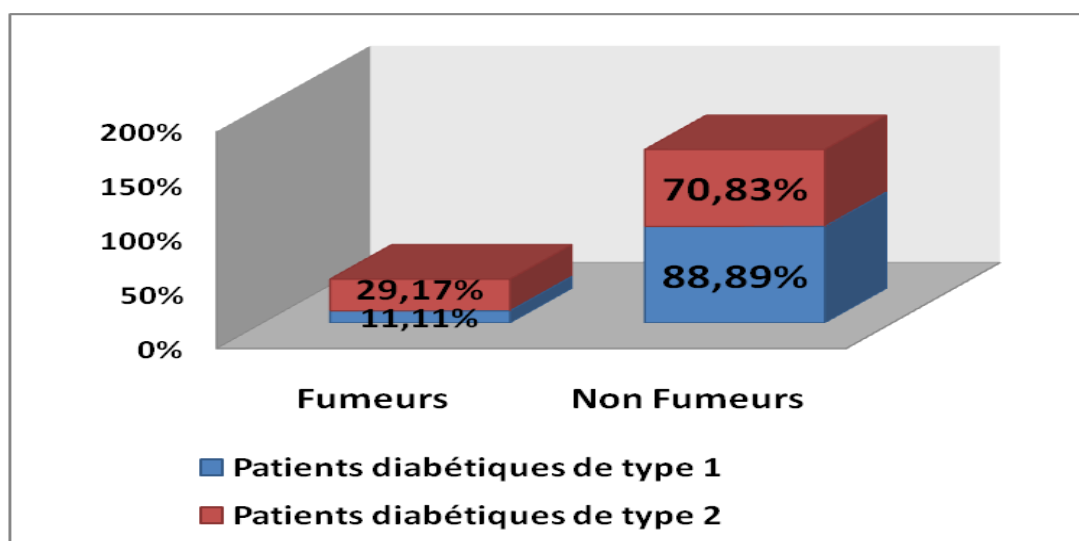


Figure 10. Répartition du tabagisme

6. Poids et Taille

Le poids et la taille moyenne étaient de $55,97 \pm 11,66$ kg et $1,63 \pm 0,11$ m chez les diabétiques de type 1 et de $74,65 \pm 13,20$ kg et $1,60 \pm 0,08$ m chez les diabétiques de type 2.

7. Indice de masse corporel (IMC)

Dans cette étude, l'indice de masse corporelle (basé sur le rapport poids/ (taille)²) de la population étudiée était d'une moyenne de $25,59 \pm 6,28$ kg/m². Parmi les sujets de l'étude, 91,67% des patients diabétiques de type 1 ayant un IMC < 25 kg/m², tandis que le pourcentage le plus important a été observé chez les diabétiques de type 2 ayant un IMC > 30 kg/m² (41,67%). (Figure 11)

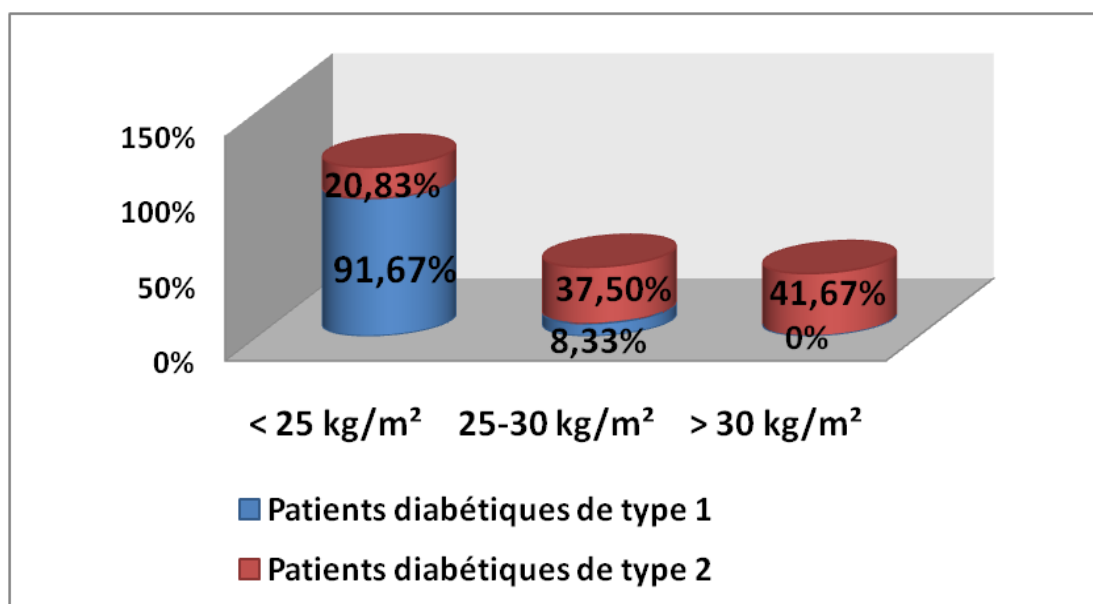


Figure 11. Répartition des patients selon l'IMC

III. Données Cliniques (voir Annexes)

1. Héritéité diabétique

Dans l'échantillon de l'étude 53 individus soit 63,1% des diabétiques ont rapporté une notion de diabète familiale. (Figure 12)

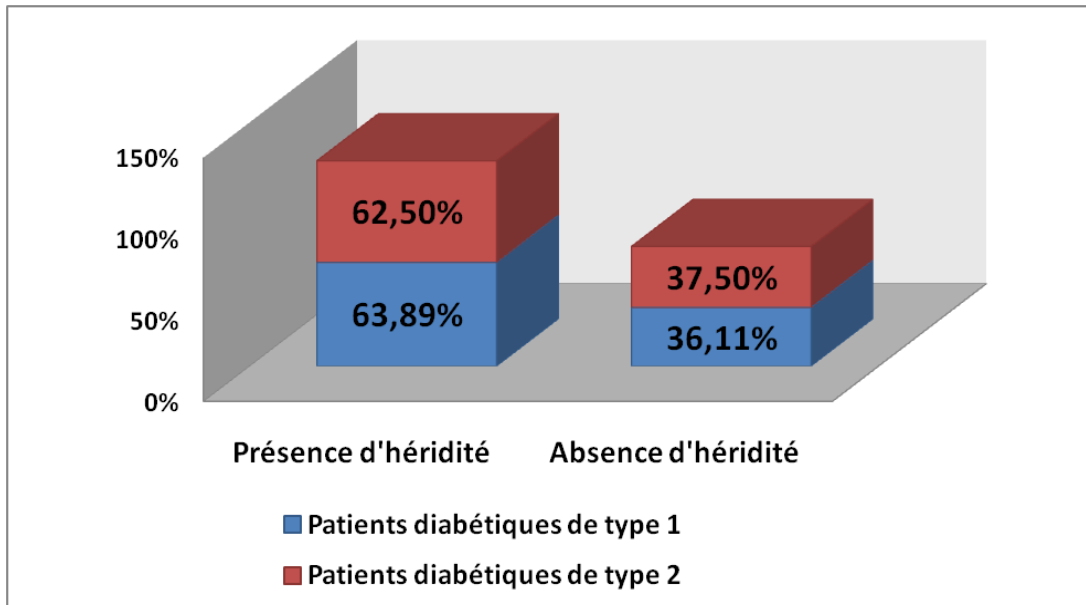


Figure 12. Répartition des patients selon l'hérédité diabétique

2. Complications du diabète

Les complications dégénératives du diabète étaient présentes chez 58,33% des patients de la population totale et absentes chez le reste des patients (41,67%). (Figure 13)

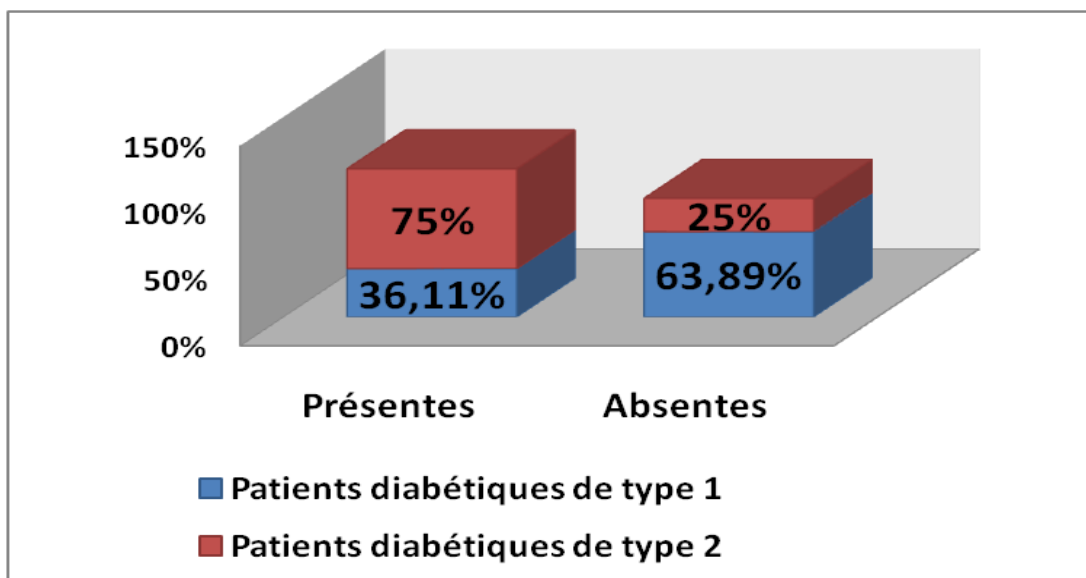


Figure 13. Répartition des patients selon les complications diabétiques

3. Traitement

Tous les patients diabétiques sont traités par une thérapie médicamenteuse. Les patients sont traités soit :

par l'insuline (66,66%),

par association d'insuline et d'ADO (16,67%),

par ADO (16,67%).

La majorité des patients diabétiques de type 1 ont été traités par l'insuline (94,44%) et par l'ADO, l'ADO+Insuline pour les diabétique de type 2. (**Figure 14**)

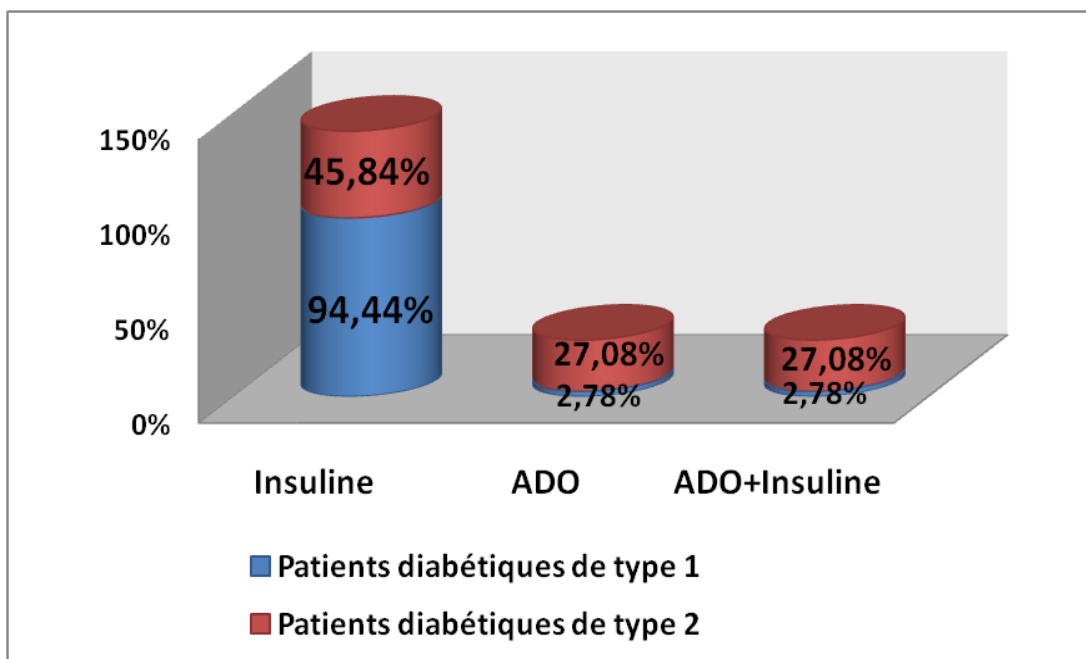


Figure 14. Répartition des patients selon le type du traitement

IV. Surveillance du diabète

1. Dosage de l'HbA1c

79% des patients (66 parmi 84) présentent une HbA1c > à 8%. (Figure 15)

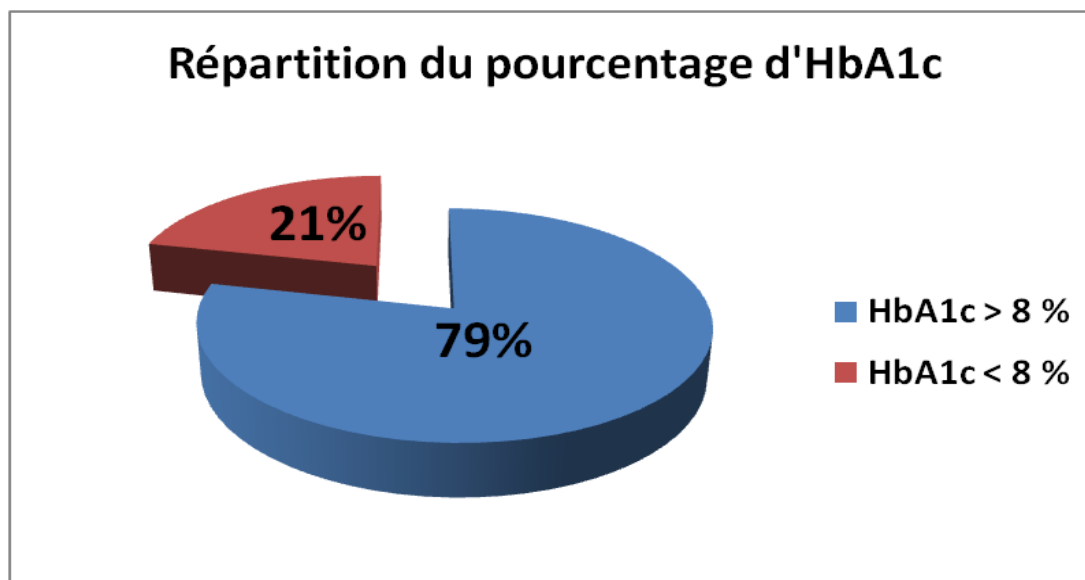


Figure 15. Répartition du pourcentage d'HbA1c

2. Le lien de l'HbA1c avec les complications du diabète

En utilisant le «test t de student pour échantillons indépendants», on a constaté l'existence d'une différence statistiquement significative ($p < 0.05$) entre la valeur moyenne d'HbA1c des patients avec des complications diabétiques ($11,05 \pm 2,55\%$) et celle des patients sans complications ($8,7 \pm 1,9\%$). (Tableau 1)

Tableau 1. La comparaison de la valeur moyenne d'HbA1c des patients ayant des complications diabétiques avec celle des patients qui ne les présentent pas.

		HbA1c (%)	p
Complications diabétiques	Oui	11,05±2,55	< 0,001
	Non	8,7±1,9	

Les valeurs sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type.

E- Discussion

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 84 patients. L'intérêt de notre étude était de déterminer l'intérêt du dosage de l'HbA1c dans la surveillance du diabète.

La répartition des sexes dans notre population est homogène puisque nous avons 43 femmes et 41 hommes.

Dans notre étude, les diabétiques de type 2 étaient beaucoup plus nombreux que ceux de type 1. En effet, 57% de nos patients présentaient un diabète de type 2. Et cette répartition qui montre une nette prédominance du diabète de type 2, est bien conforme aux proportions habituellement observées dans la population générale qui placent le taux de prévalence du diabète de type 2 à plus de 90% de l'ensemble des diabétiques dans le monde [39].

Concernant l'âge des sujets, l'âge médian des patients est de 48 ans, la classe d'âge des jeunes (< 25 ans) était la plus prépondérante chez les patients diabétiques de type 1 (66,67%) et celle >45ans chez les diabétique de type 2 (87,5%), ce qui congruente au donnés classique de la maladie [2 ; 15].

Les patients résidant dans le milieu urbain représentent le pourcentage le plus important (85,7%) par rapport à ceux résidant dans le milieu rural (14,3%), cela peut être dû à leur proximité de l'hôpital par contre les gens résidant en milieu rural croient encore à la médecine traditionnelle.

Les patients non scolarisés représentent l'effectif majoritaire chez les diabétiques de type 2 (21 patients) par rapport au diabétiques de type 1 (1 patient), les niveaux primaires, secondaires et supérieurs représentent le reste de l'effectif.

Le tabac est un facteur amendable de survenue et d'aggravation des complications dégénératives du diabète.

Dans cette étude, le tabagisme a été retrouvé seulement chez 21,43% des patients. Ce faible chiffre pourrait être expliqué par une sous-notification du tabagisme surtout pour les femmes ainsi que par le cannabisme non déclaré qui remplace parfois la prise de tabac.

Un indice de masse corporelle (IMC) > 30 kg/m² est présent chez 41,67% des diabétiques de type 2 tandis que 91,67% des diabétiques de type 1 avaient un IMC < 25 kg/m². L'association épidémiologique entre obésité et diabète de type 2 a été confirmée d'une part par des études longitudinales qui ont montré que le risque de développer un diabète de type 2 augmentait de manière quasi exponentielle avec l'IMC et d'autre part par la démonstration d'une fréquence accrue de diabète de type 2 au sein de populations à forte prévalence d'obésité. L'augmentation du risque de développer un diabète de type 2 est significative même en présence d'une prise de poids modeste [40].

L'analyse de ce paramètre a permis de retrouver la notion classiquement connue de la prédominance de l'obésité dans le diabète de type 2, anciennement nommé diabète gras comparativement au diabète de type 1 ou diabète maigre.

Quant à l'hérédité du diabète, son importance paraît marquée dans notre série avec un pourcentage de 63,89 % des patients diabétiques de type 1 et de 62,5 % pour les diabétiques de type 2 ce qui concorde aux données classiques de la maladie [2].

Tous les patients diabétiques sont traités par une thérapie médicamenteuse. Chez les diabétiques de type 1, le traitement des patients par l'insuline représente le pourcentage le plus prépondérant de 94,44% suivi des patients traités par l'ADO et l'association « l'ADO+INSULINE ».

Chez les diabétiques de type 2, le traitement des patients par l'ADO et l'association « l'ADO+INSULINE » représentent le pourcentage le plus prépondérant de 54,16% suivi des patients traités par l'insuline.

L'analyse de nos résultats montre que 58,33% de nos patients ont présenté des complications, dont les patients diabétiques de type 2 représentent le pourcentage le plus important (75%) par rapport au patient diabétiques de type 1 (25%) ce qui concorde aux données habituelles du diabète.

Dans notre études, les patients présentant des valeurs d'HbA1c > à 8% représentent le pourcentage le plus important (79%) par rapport à ceux ayant des valeurs < à 8%.

La détermination du taux de l'HbA1c est aujourd'hui très largement utilisée pour apprécier le degré du contrôle glycémique des patients diabétiques [41].

Le dosage de l'HbA1c bénéficie actuellement d'une vingtaine de techniques différentes disponibles sur le marché [9]. Malgré cette diversité, la détermination de l'HbA1c par les techniques de CLHP reste la méthode de référence. Nous rapportons dans ce travail les résultats obtenus chez 84 patients diabétiques chez lesquels le taux d'HbA1c a été déterminé en utilisant une technique de CLHP par l'intermédiaire de l'analyseur D-10® de Bio-Rad.

Dans notre étude les résultats de la comparaison de l'HbA1c a montré que les patients présentant des complications dégénératives du diabète ayant une valeur d'HbA1c plus importante par rapport à ceux qui ne les présentent pas d'une manière statistiquement significative.

Ce résultat concorde avec l'étude UKPDS qui a clairement démontré qu'un meilleur contrôle glycémique du diabète, attesté par une diminution du taux de l'HbA1c, était associé à une diminution hautement significative des complications dégénératives du diabète [32, 33].

Mais si l'un de ces deux paramètres (Une durée de vie normale des hématies (120 jours) et Une synthèse normale de l'Hb (97 à 99 % d'HbA) est modifié, l'interprétation du dosage d'HbA1c devient délicate, voire impossible.

Donc il convient de rester prudent dans l'interprétation des résultats d'HbA1c chez ces patients, et de ne pas négliger les autres moyens d'évaluation de l'équilibre glycémique (glycémies instantanées, dosage des fructosamines) [42].

F- Conclusion

L'intérêt de l'HbA1c comme marqueur rétrospectif de l'équilibre glycémique chez le patient diabétique n'est plus à démontrer et son interprétation est simple en termes de complications diabétiques. Toutefois, une utilisation standardisée de son dosage s'impose.

Ce bio marqueur peut bien être recommandé comme un critère objectif dans le diagnostic du diabète sucré ainsi que du pré-diabète, néanmoins les avis d'experts restent encore controversés et les critères diagnostics de l'OMS restent d'actualité.

Par ailleurs, l'HbA1c demeure un paramètre pertinent dans le suivi des patients diabétiques et corrèle bien avec le risque de complication dégénérative du diabète.

Mais il convient de rester prudent dans l'interprétation des résultats d'HbA1c chez ces patients, et de ne pas négliger les autres moyens d'évaluation de l'équilibre glycémique (glycémies instantanées, dosage des fructosamines).

G- Références bibliographiques

- 1- American Diabetes Association Home Page. <http://www.diabetes.org>.
- 2- PH Forsham. Diabetes Mellitus: A Rational Plan for Management. Postgrad. Med. 1982, 71,139–154.
- 3- P Hollander. The Case for Tight Control in Diabetes. Postgrad. Med. 1984 ; 75 : 80–87.
- 4- JW Baynes, H F Bunn, D Goldstein, et al. National Diabetes Data Group: Report of the Expert Committee on Glucosylated Hemoglobin. Diabetes Care. 1984; 7 :602–606.
- 5- DM Nathan, D E Singer, K Hurxthal, JD Goodson. The Clinical Information Value of the Glycosylated Hemoglobin Assay. N Engl J Med. 1984 ; 310 : 341–346.
- 6- DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. New Engl J Med. 1993; 329 :977—86.
- 7- UKPDS group. Intensive blood-glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. The lancet. 1998; 352: 837—53.
- 8- JA Jeppson, U Kobold, J Barr, et al. Appoved IFCC reference method for measurement of HbA1c in Human Blood. Clin Chem Lab Med. 2002; 40 :78—89.
- 9- RR Little, CL Rohlfing, S Hanson, S Connolly, et al. Effects of hemoglobin (Hb) E and HbD traits on measurements of glycated Hb (HbA1c) by 23 methods. Clin Chem. 2008; 54 :1277—82
- 10- unilabs-france.eu/Infos-Patients/Fiches-Infos-Analyses courantes/ LHemoglobine/?print=true.
- 11- www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/hemoglobine
- 12- fr.wikipedia.org/wiki/Hémoglobine_glyquée
- 13- MF Rossier. Nature et dosage de l’HbA1c Formation ICHV ; 2014
- 14- DB Sacks. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia : Saunders WB; 1999. p. 790-6.
- 15- A Fagot-Campagna, I Romon, S Fosse & C Roudier. (2010). Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France. *Synthèse épidémiologique. Institut de veille sanitaire (INVS)[En ligne]*.
- 16- ANAES. Principes du dépistage du diabète de type II, février 2003
- 17- Grimaldi André. EMC référence diabète de type 2
- 18- Diabètes Atlas résumé, seconde édition 2003. Fédération international diabète.
- 19- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulindependent diabetes mellitus. *New Engl J Med*. 1993 ; 329 : 977-986
- 20- HAS. Guide affection de longue durée : diabète de type 1 de l’adulte. Juillet 2007.
- 21- ANAES/Service des Références Médicales. Suivi du patient diabétique de type 2 à l’exclusion du suivi des complications. Janvier 1999.

Références bibliographiques

- 22- HAS. Guide affection de longue durée : la prise en charge de votre maladie, le diabète de type 2. Octobre 2006.
- 23- E Lenters-Westra, RK Schindhelm, HJ Bilo, RJ Slingerland. Haemoglobin A1c: historical overview and current concepts. *Diabetes Clin Res Pract.* 2013; 99 :75—84.
- 24- ML Larsen, M Horder, EF Mogensen. Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1990; 323 :1021-1025.
- 25- RJ Koenig, CM Peterson, RL Jones, C Saudek, M Lehrman, A Cerami. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1976; 295 :417-20.
- 26- PA Svendsen, T Lauritzen, U Soegaard, J Nerup. Glycosylated haemoglobin and steady-state mean blood glucose concentration in Type 1 (insulin dependent) diabetes. *Diabetologia.* 1982; 23: 403–405.
- 27- DM Nathan, J Kuenen, R Borg, H Zheng, et al. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care.* 2008; 31: 1473–8.
- 28- GILLERY P., GUILLEMIN, C., DELPECH M., **Hémoglobine glyquée : méthodes de dosage et problèmes de standardisation**, *Ann. Biol. Clin.*, 1994, 52, 157-163.
- 29- Médecine Nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique - 2001 - vol.25 - n°2
- 30- C Marzullo et M Minery. Évaluation de l'analyseur D10® pour le dosage de l'hémoglobine A 1C. In : *Annales de Biologie Clinique.* 2008. p. 95-99.
- 31- C Weykamp, WG John, A Mosca. A review of the challenge in measuring hemoglobin A1c. *J Diabetes Sci Technol.* 2009 ; 3 :439–45.
- 32- GRD Jones, G Barker, I Goodall, HG Schneider, et al. Change of HbA1c reporting to the new SI units. *Med J Aust [Internet].* 2011 [cited 2014 Feb 17];195(1). Available from: https://www.mja.com.au/journal/2011/195/1/change-hba1c-reporting-new-si-units?0=ip_login_no_cache%3Da31fd522a55f7f2122b17eef8fb2706c
- 33- KM Fox, PRA Gerber, B Bolinder, J Chen, S Kumar. Prevalence of inadequate glycemic control among patients with type 2 diabetes in the United Kingdom general practice research database: A series of retrospective analyses of data from 1998 through 2002. *Clin Ther.* 2006; 28:388.
- 34- CW Weykamp, A Mosca, P Gillery, M Panteghini. The Analytical Goals for Hemoglobin A1c Measurement in IFCC Units and National Glycohemoglobin Standardization Program Units Are Different. *Clin Chem.* 2011 ; 57 :1204–1206.
- 35- R Hanas, G John. International HbA(1c) Consensus Committee. 2010 consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement. *Clin Chem.* 2010; 56 :1362–4.
- 36- M Fonfrede. Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable?. *Spectra biologie.* 2006 ; 152 : 48-53.
- 37- P Gillery, G Hue, et al. Dosage de l'hémoglobine A1C et hémoglobinopathies: problèmes posés et conduite à tenir. *Annales de Biologie Clinique.* 2000 ; 58 : 425-429.
- 38- WJ Schneddl, R Krause, G Halwachs – Baumann, et al. Evaluation of HbA1c determination methods in patients with hemoglobinopathies. *Diabetes Care.* 2000; 23 : 339-344.

Références bibliographiques

- 39- International Diabetes Federation. Diabetes. Atlas, third edition 2006
- 40- MP Hermans et D Amoussou. Complications métaboliques de l'obésité.
LOUVAIN MED. 2000 ; 119: S283-S287.
- 41- DM Nathan, DE Singer, K Hurxthal, JD Goodson.
The clinical information value of the glycosylated hemoglobin. *N Engl J Med.* 1984;
310: 341-6.
- 42- Ph GILLERY -CHRU de Reims - Laboratoire de Biochimie – 2001.

Annexe 1

(Exemples de chromatogrammes obtenus avec la méthode D-10® HbA1c)

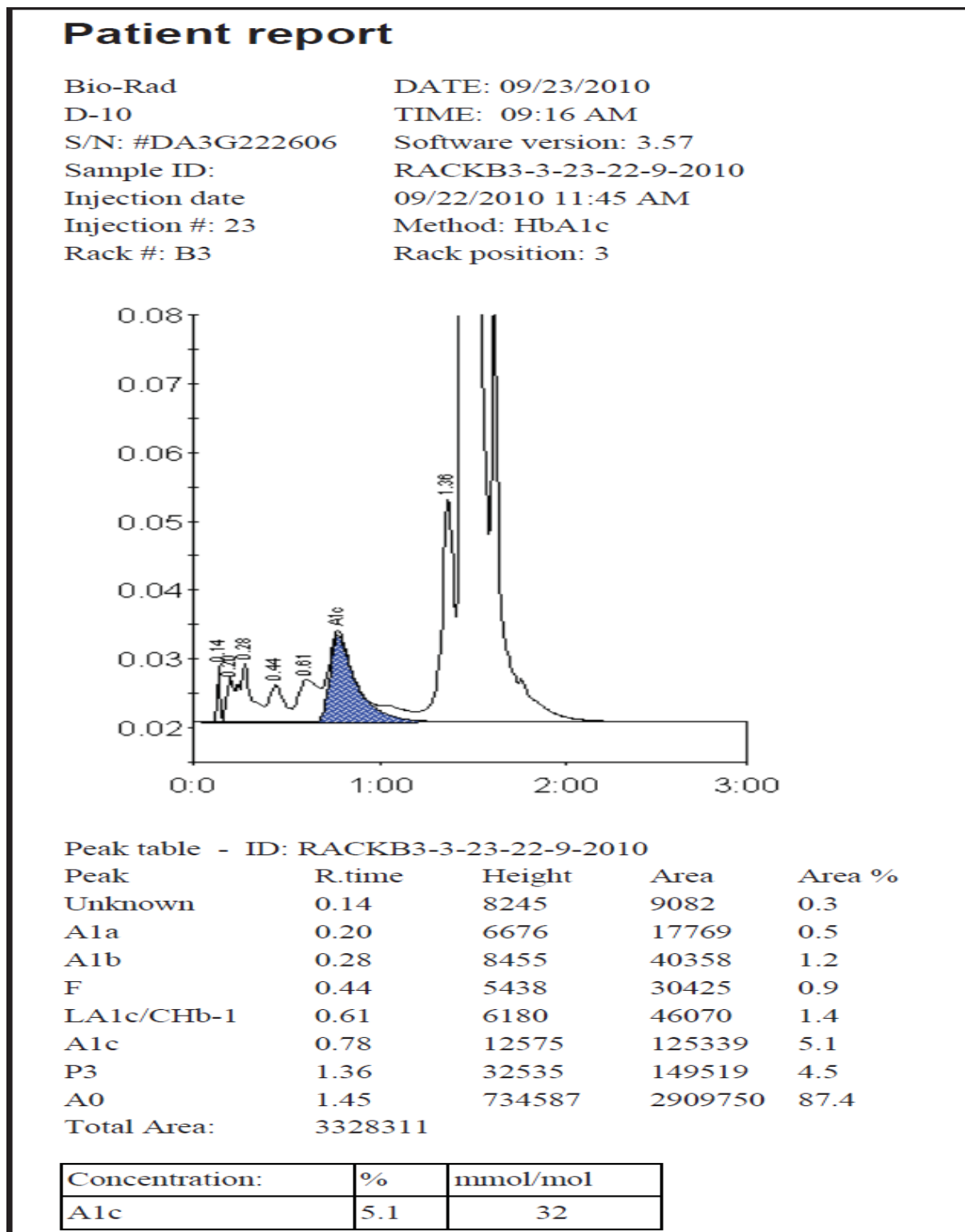
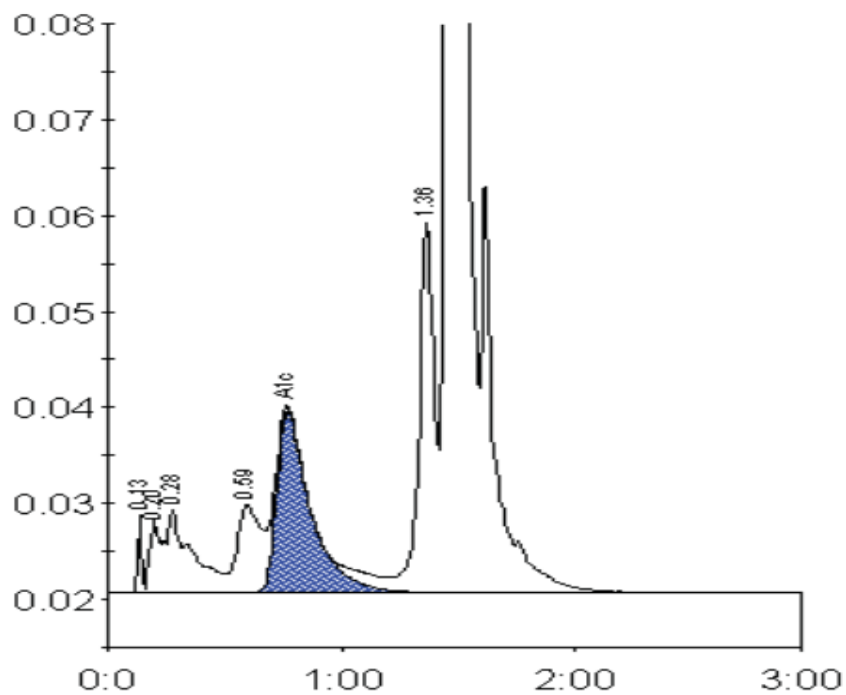


Figure1. Échantillon non diabétique (normal)

Patient report

Bio-Rad
 D-10
 S/N: #DA3G222606
 Sample ID:
 Injection date
 Injection #: 19
 Rack #: 03

DATE: 09/22/2010
 TIME: 04:53 PM
 Software version: 3.57
 RACK03-7-19-20-9-2010
 09/20/2010 11:52 AM
 Method: HbA1c
 Rack position: 7



Peak table - ID: RACK03-7-19-20-9-2010

Peak	R.time	Height	Area	Area %
Unknown	0.13	8151	9565	0.4
A1a	0.20	7532	21104	0.8
A1b	0.28	8670	69405	2.6
LA1c/CHb-1	0.59	9253	66063	2.5
A1c	0.77	18925	192773	9.2
P3	1.36	38585	176994	6.6
A0	1.46	530542	2149611	80.0
Total Area:			2685517	

Concentration:	%	mmol/mol
A1c	9.2	77

Figure2. Échantillon diabétique

Annexe 2

(Donnés sociodémographiques et anthropométriques)

Tableau.1 : Répartition des patients diabétiques selon les donnés sociodémographiques et anthropométriques et selon le type du diabète.

		Patients diabétiques de type 1 (n=36)	Patients diabétiques de type 2 (n=48)	Population totale (n=84)
Sexe	Masculin	21 (58,33%)	20 (41,67%)	41 (48,8%)
	Féminin	15 (41,67%)	28 (58,33%)	43 (51,2%)
Age	<25 ans	24 (66,67%)	0	24 (28,57%)
	25-45ans	11 (30,55%)	6 (12,5%)	17 (20,24%)
	>45ans	1 (2,78%)	42 (87,5%)	43 (51,19%)
Milieu de vie	Urbain	30 (83,33%)	42 (87,5%)	72 (85,7%)
	Rural	6 (16,67%)	6 (12,5%)	12 (14,3%)
Niveau d'éducation	Non scolarisés	1 (2,78%)	21 (43,75%)	22 (26,19%)
	Primaire	10 (27,78%)	12 (25%)	22 (26,19%)
	Secondaire	17 (47,22%)	8 (16,67%)	25 (29,76%)
	Supérieur	8 (22,22%)	7 (14,58%)	15 (17,86%)
Fumeur	Oui	4 (11,11%)	14 (29,17%)	18 (21,43%)
	Non	32 (88,89%)	34 (70,83%)	66 (78,57%)
Poids (kg)		55,97±11,66	74,65±13,20	66,64±15,57
Taille (m)		1,63±0,11	1,60±0,09	1,62±0,10
IMC (kg/m²)	< 25 kg/m ²	33 (91,67%)	10 (20,83%)	43 (51,2%)
	25-30 kg/m ²	3 (8,33%)	18 (37,5%)	21 (25%)
	> 30 kg/m ²	0	20 (41,67%)	20 (23,8%)

Abréviations : IMC, Indice de Masse Corporel

Les valeurs sont présentées sous forme de Nombre (pourcentage%) pour les variables qualitatives et sous forme de moyenne ± écartype pour les variables quantitatives.

Annexe 3

(Donnés cliniques)

Tableau.2 : Répartition des patients diabétiques selon les variables clinique et selon le type du diabète.

		Patients diabétiques de type 1 (n=36)	Patients diabétiques de type 2 (n=48)	Population totale (n=84)
Hérédité diabétique	Présente	23 (63,89%)	30 (62,5%)	53 (63,1%)
	Absente	13 (36,11%)	18 (37,5%)	31 (36,9%)
Complications de diabète	Présentes	13 (36,11%)	36 (75%)	49 (58,33%)
	Absentes	23 (63,89%)	12 (25%)	35(41,67%)
Traitement	Insuline	34 (94,44%)	22 (45,84%)	56 (66,66%)
	ADO	1 (2,78%)	13 (27,08%)	14 (16,67%)
	ADO+Insuline	1 (2,78%)	13 (27,08%)	14 (16,67%)

Abréviations : ADO, Antidiabétiques oraux

Les valeurs sont présentées sous forme de Nombre (pourcentage%).