



Licence Sciences et Techniques (LST)  
*Biologie et santé*

**Projet de fin d'étude :**

**Dosage de l'hbA1c chez les diabétiques**

Présenté par :

✚ **DREYA Jsslam.**

Encadré par :

✚ **Mr. TAZJ AG (FSTF)**

✚ **Mme BAROUDJ A (hôpital Ibn Al Khatib)**

Soutenue le : **12/06/2014**

Devant le jury composé de :

✚ **Dr. TAZJ Abdelali : président**

✚ **Dr BAROUDJ Amina : hôpital ibn al khatib**

✚ **Dr MJKOU KARJMA : Examinateur**

Stage effectué à laboratoire des analyses médicales (hôpital Ibn Al Khatib)  
Année Universitaire : 2013/2014

# remerciement

*Ce présent rapport serait incomplet sans un mot de remerciement pour tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à l'élaboration de ce projet, et m'ont aidé à effectuer mon stage dans de très bonnes conditions.*

*Mes remerciements les plus sincères, accompagnés de toute ma gratitude vont tout d'abord à Mme BAROUDI Amina pour m'avoir proposé ce sujet, pour les conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer et surtout pour la confiance qu'il m'a accordé pour la réalisation de ce projet.*

*A Toute l'équipe de laboratoire d'hôpital Ibn Al Khatib, pour l'accueil chaleureux que j'ai rencontré dès mon arrivée, de leur aide précieuse et de leur soutien au long de ce stage.*

*A Monsieur TAZI Ab, professeur à l'FST, Je le remercie pour sa compréhension et ses recommandations et ses sérieux conseils pour la réalisation de ce projet.*

*Mes remerciements vont aussi à Madame MIKOY.K, Professeur à la FST, d'avoir pris de son temps malgré ses responsabilités, ses préoccupations et ses tâches d'enseignement, de lire et de juger ce travail.*

## Liste des abréviations :

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**HbA1c** : Hémoglobine glyquée

**CLBP** : Chromatographie liquide haute performance

**CLBP** : Chromatographie liquide basse pression

**LCR** : Liquide céphalorachidien

**HDL** : high density lipoprotein

**LDL** : low density lipoprotein

**EDTA** : Ethylène-Diamine-tétra-Acétique

**TG** : Triglycérides

**Créa** : Créatinine

## Objectif du travail :

Notre objectif de travail est d'étudier la relation qui existe entre l'hémoglobine glyquée et le bilan lipidique ainsi que le bilan de la fonction rénale chez des patients diabétiques.

## **RESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCEUIL :**

L'hôpital Ibn Al Khatib de Fès est un hôpital général faisant partie des trois hôpitaux du CHR Fès Boulmane. [1]

Le laboratoire des analyses de l'hôpital Ibn Al Khatib comprend :

- Une salle d'hématologie et d'immunologie,
- Une salle de biochimie, de sérologie et d'hémostase,
- Une salle de bactériologie et de parasitologie,
- Une salle de bacilloscopie,
- Des locaux destinés à la salle de prélèvement des patients « externes »,
- Des sites d'accueil, d'orientation et de remise des résultats,
- Un lieu de stockage des réactifs et matériels,
- Une laverie.

Le laboratoire dispose d'un certain nombre d'automates et d'appareils permettant la réalisation d'un grand nombre d'analyses. Parmi ces automates on peut citer :

- Un automate d'immuno-hormonologie,
- Deux automates d'hématologie
- Un appareil d'hématologie
- Deux automates de biochimie
- Un appareil à hémoglobine glyquée
- Un appareil d'analyse d'électrolytes
- Deux spectrophotomètres
- Deux Coagulomètres
- Un autoclave
- Trois centrifugeuses
- Une micro-centrifugeuse
- Trois étuves bactériologiques
- Quatre microscopes.

## Sommaire

INTRODUCTION.....	6
I. GENERALITES :.....	7
1. DEFINITION :.....	7
1.1 Glycémie :.....	7
1.2 L'hémoglobine glyquée :.....	7
1.3 Diabète :.....	8
2. DIFFERENTS TYPES DE DIABETES :.....	8
2.1 Le diabète de type 1 :.....	8
2.2 Le diabète de type 2 :.....	8
2.3 Le diabète gestationnel :.....	9
3. SUIVI DE LA MALADIE DE DIABETE :.....	9
3.1 Le bilan lipidique :.....	9
3.2 Le bilan de la fonction rénale :.....	10
4. DOSAGE DE L'HEMOGLOBINE GLYQUEE :.....	10
4.1 Intérêt du dosage :.....	10
4.2 Différentes formes de l'hémoglobine A :.....	11
4.3 Quelques méthodes de dosages de l'hbA1c :.....	12
I. MATERIEL :.....	16
1. POPULATION ETUDIEE :.....	16
2. PRELEVEMENTS SANGUINS :.....	16
II. METHODES :.....	16
1. DOSAGE DE L'HEMOGLOBINE GLYQUEE PAR L'HPLC-D-10 DE BIORAD :.....	16
2. LE BILAN LIPIDIQUE ET DE LA FONCTION RENALE :.....	17
2.1 Le Vitros Chemistry 250 :.....	17
2.2 Les avantages de la chimie sèche :.....	20
I. RESULTATS :.....	22
1. RESULTATS DES DOSAGES DE L'HBA1C, BILAN LIPIDIQUE ET DE LA FONCTION RENALE :.....	22
1.1 Répartition des résultats de l'hbA1c selon les intervalles de référence :.....	24
1.2 Répartition des résultats de bilan lipidique en fonction des valeurs de référence :.....	24
1.3 Le suivi de chaque patient :.....	25
II. DISCUSSION :.....	28
CONCLUSION :.....	31

## INTRODUCTION

La maladie diabétique est définie comme étant un état permanent ou quasi permanent d'hyperglycémie liée à une insuffisance de sécrétion et/ou d'action de l'insuline. L'insuline est une hormone pancréatique aux nombreux effets métaboliques, destinée notamment à moduler l'utilisation et la mise en réserve du glucose apporté par l'alimentation. Cette augmentation prolongée et permanente de la glycémie est à l'origine d'un grand nombre de complications, concernant différents organes (œil, cœur, rein, etc.).

La surveillance biologique du diabète est un élément essentiel dans la prise en charge médicale d'un patient diabétique. La mesure de l'hémoglobine glyquée, et plus spécifiquement de l'hémoglobine glycosylée (HbA<sub>1c</sub>), est devenue pratique courante dans le suivi du patient diabétique et une aide à l'ajustement de son traitement.

Le dosage de l'hbA<sub>1c</sub> dans certains cas est insuffisant pour le suivi d'un traitement, il est accompagné à d'autres tests biochimiques tels que le bilan lipidique (LDL, HDL, TG), le bilan de la fonction rénale (Urée et la créatinine).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé à plus de 1,125 millions les cas de décès liés au diabète sucré en 2005 et prévoit que la prévalence du diabète sucré va doubler dans les vingt ans à venir, passant de 150 millions actuellement à près de 300 millions de cas à l'horizon 2025. Il s'agit là d'un sérieux problème de santé publique [2].

## **I. Généralités :**

### **1. Définition :**

#### **1.1 Glycémie :**

La glycémie correspond à la concentration de glucose dans le sang et est habituellement exprimée en grammes par litre de sang. Le glucose est indispensable au bon fonctionnement de l'organisme car il constitue le principal substrat énergétique de l'organisme, rapidement utilisable. Une partie du glucose sanguin est transformé sous forme de glycogène, forme de réserve de glucose, stocké principalement dans le foie et mobilisable à tout moment pour compenser une glycémie trop basse.

Tous ces mécanismes sont sous la régulation de plusieurs hormones dont fait notamment partie l'insuline, principale hormone ayant pour rôle une diminution de la glycémie par différents mécanismes lorsque celle-ci est trop haute. La glycémie normale est mesurée à jeun et doit être comprise entre 0.70 et 1.10 g/l. En cas de valeur située entre 1.1 et 1.26g/l, une intolérance au glucose est suspectée et si ce taux est supérieur ou égal à 1.26g/l après un nouveau contrôle, on parle de diabète. [2]

#### **1.2 L'hémoglobine glyquée :**

Le dosage de l'hémoglobine glyquée reflète le niveau moyen de la glycémie (taux de sucre dans le sang) au cours des deux derniers mois. Il est obtenu à l'aide d'une prise de sang et réalisé par la technique capillaire pour laquelle il n'est pas nécessaire d'être à jeun. C'est le dosage de référence pour juger de l'équilibre du diabète. C'est avec cet indice qu'il a été démontré qu'en améliorant l'équilibre, il était possible de prévenir ou de stopper l'évolution des complications oculaires, rénales et neurologiques.

Un des objectifs du traitement dans le diabète est de normaliser la glycémie.

L'objectif optimal est d'obtenir une  $HbA_{1c}$  inférieure à 6,5

- Si sur deux dosages consécutifs l' $HbA_{1c}$  est comprise entre 6,6 et 8% une modification du traitement peut être envisagée.

- Pour une HbA1c supérieure à 8%, une modification du traitement est recommandée. Ces objectifs doivent être individualisés en fonctions de nombreux facteurs : âge, présence de complications, état psychologique du patient, grossesse en cours...

Plus le niveau de l'HbA1c est élevé, plus le risque de développer des complications est important. Quel que soit le niveau de départ, toute amélioration de l'HbA1c, même minime, réduit le risque de développer ou d'aggraver ces mêmes complications. La survenue des complications ne dépend pas que du déséquilibre glycémique, d'autres facteurs (tabagisme, pression artérielle...) ont une grande importance.

### **1.3 Diabète :**

Le diabète sucré se définit par une élévation anormale et chronique de la glycémie. Le diabète est une maladie chronique qui apparaît quand le pancréas ne sécrète pas assez d'insuline ou quand l'organisme utilise mal l'insuline qu'il produit.

## **2. Différents types de diabètes :**

Plusieurs mécanismes physiopathologiques distincts peuvent aboutir au syndrome biologique commun à tous les types de diabète sucré : l'hyperglycémie. Ce sont ces entités physiopathologiques qui permettent de définir le type de diabète. On distingue différents types de diabète :

- ✓ Le diabète de type 1 ;
- ✓ Le diabète de type 2 ;
- ✓ Autres diabètes spécifiques (diabètes « secondaires ») ;
- ✓ Le diabète gestationnel.

### **2.1 Le diabète de type 1 :**

Le diabète de type 1 (précédemment connu sous le nom de diabète insulino-dépendant ou juvénile) est caractérisé par une production insuffisante d'insuline et exige une administration quotidienne de cette dernière.

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.

### **2.2 Le diabète de type 2 :**

Le diabète de type 2 (précédemment appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de la maturité) résulte d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme. Le diabète de type 2 représente 90% des diabètes rencontrés dans le monde. Il est accompagné d'une surcharge pondérale.

Ses symptômes peuvent être les mêmes que ceux du diabète de type 1 mais sont souvent moins marqués. De ce fait, la maladie peut être diagnostiquée plusieurs années après son apparition, une fois les complications déjà présentes.

Récemment encore, ce type de diabète n'était observé que chez l'adulte mais on le trouve désormais aussi chez l'enfant.

### **2.3 Le diabète gestationnel :**

Le diabète gestationnel est une hyperglycémie apparue ou décelée pour la première fois pendant la grossesse.

Les symptômes du diabète gestationnel sont les mêmes que ceux du diabète de type 2. Il est très souvent diagnostiqué au cours du dépistage prénatal et non pas suite à des symptômes.

Altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun

L'altération de la tolérance au glucose et de la glycémie à jeun sont des affections intermédiaires qui font la transition entre normalité et diabète. Les personnes qui en sont atteintes sont exposées à un risque\_élevé d'évolution vers un diabète de type 2, même si ce dernier n'est pas inévitable [3].

## **3. Suivi de la maladie de Diabète :**

Deux types de complications sont à redouter au cours de l'évolution de la maladie : la micro et la macro angiopathie.

Au cours du diabète de type 1, le risque de macro angiopathie est surtout lié à la survenue de la néphropathie diabétique. En ce qui concerne le diabète de type 2, la macro angiopathie est liée à l'hyperglycémie et aux marqueurs de risque cardiovasculaire, dont l'hypertension artérielle. Le suivi biologique comprend actuellement deux volets : le bilan de la fonction rénale et le bilan lipidique.

### **3.1 Le bilan lipidique :**

L'athérosclérose est devenue la première cause de décès des diabétiques. La corrélation entre le degré d'hyperglycémie et la sévérité des macro-angiopathies est différente de celle des micros angiopathies.

Dans le diabète de type 2, l'insulino-résistance explique l'hyperinsulinisme entraînant une modification de la répartition des graisses. L'obésité entraîne une libération d'acides gras libres qui stimulent la néoglucogenèse hépatique et la synthèse des VLDL. Les dyslipidémies (qualitatives et/ou quantitatives) sont rencontrées fréquemment dans le diabète de type 2. Il est donc souhaitable d'effectuer un dépistage annuel de l'athérome par l'évaluation de :

- Cholestérol et triglycérides,
- HDL- cholestérol,
- LDL- cholestérol.

### **3.2 Le bilan de la fonction rénale :**

Un bilan biologique de la fonction rénale permet d'apprécier le bon fonctionnement des reins. La fonction du rein peut en effet être altérée par retentissement de différentes affections comme le diabète.

#### ➤ Créatinine :

La créatinine est un déchet métabolique normal produit par l'organisme. Son élévation plasmatique est un signe de dysfonctionnement de la filtration rénale.

Sa valeur normale est située entre 5,6 et 11,3 mg/l.

#### ➤ Urée :

L'urée constitue la majeure partie azotée de l'urine. Sa production se déroule essentiellement dans le foie et une faible partie est produite par les reins.

Sa valeur normale est située entre 0,15 et 0,45 g/l [4].

## **4. Dosage de l'hémoglobine glyquée :**

### **4.1 Intérêt du dosage :**

La formation d'hb glyquée est un processus permanent, qui entretient un taux physiologique d'hbA1C. L'intervalle de référence est fixé de 4 à 6% de l'hb totale, chez le sujet diabétique non équilibré par un traitement, l'augmentation du taux d'hbA1C sera proportionnelle aux épisodes hyper

glycémiques. La mesure de ce paramètre présente un intérêt tant chez le diabétique de type 1 que chez celui de type 2.

De plus, une corrélation a été établie entre l'équilibre glycémique évalué par l'hbA1C et l'apparition de complications dégénératives : une augmentation de 1% de l'hbA1C (soit 0,3g/l de glycémie) entraîne une augmentation de 1% de risque cardiovasculaire. Inversement, une diminution de 1% de l'hbA1C entraîne une diminution de 30% de la micro angiopathie. [5]

#### **4.2 Différentes formes de l'hémoglobine A :**

La molécule d'hémoglobine (MM = 64500 dalton) est composée d'un noyau "l'hème" et de quatre chaînes polypeptidiques. Il existe quatre types de chaînes différentes par leur composition en acides aminés. Leur combinaison conduit à différentes formes d'hémoglobines, cependant les hémoglobines normales contiennent toujours deux chaînes  $\alpha$ .

Chez l'adulte sain l'hémoglobine est donc constituée d'un mélange dont la composition moyenne est la suivante :

- ✓ hémoglobine A ( $\alpha_2 \beta_2$ ) ; 97 % environ
- ✓ hémoglobine A2 ( $\alpha_2 \gamma_2$ ) ; 2,5 % environ

L'hémoglobine A de structure moléculaire ( $\alpha_2 \beta_2$ ) présente une hétérogénéité structurale mise en évidence après séparation chromatographique ou électrophorétique. On distingue :

- Une forme majeure ou HbA<sub>0</sub> :

Cette forme comprend également de l'hémoglobine glyquée sur des sites qui ne modifient pas le phi de la molécule.

- Plusieurs formes mineures ou "rapides"(fast -haemoglobins) répertoriées sous le terme HbA<sub>1</sub> :

Ces dernières formes correspondent à des formes glyquées de l'hémoglobine pour lesquelles la réaction de glycation s'est effectuée sur l'extrémité N-Terminale (valine) des chaînes  $\alpha$ . La réaction de glycation, à ce niveau, modifie suffisamment les propriétés physico-chimiques (phi) des formes rapides (HbA<sub>1</sub>) pour permettre leur séparation par chromatographie d'échange cationique ou par iso focalisation :

- ✓ Les Hémoglobines A1a1 et A1a2 qui résultent respectivement de la liaison de fructose-1,6-disphosphate (hexoses diphosphates) et de glucose-6-phosphate (hexoses mono phosphates) sur la valine N-terminale des chaînes  $\alpha$  de l'hémoglobine.

Ces deux formes représentent en moyenne environ 0,5 % de l'hémoglobine.

- ✓ L'hémoglobine A1C qui correspond à la fixation du pyruvate (hexoses non phosphorylés) à l'extrémité N-terminale des chaînes  $\alpha$  de la globine (environ 0,8 % de l'hémoglobine en moyenne).
- ✓ L'hémoglobine  $A_{1c}$  qui est la fraction la mieux caractérisée et qui constitue la forme majeure de l'hémoglobine A1 (environ 80 %) soit 4 à 6 % de l'hémoglobine totale. L'hémoglobine  $A_{1c}$  résulte de la condensation d'une molécule de glucose avec le groupement N-Terminal de résidus valine de chacune des deux chaînes  $\alpha$  de l'hémoglobine A. Elle possède une fonction cétoamine stable, contrairement à l'Hb préA1c qui est une forme labile de l'hb A1C caractérisée par une fonction aldimine (base de Schiff).

### **4.3 Quelques méthodes de dosages de l'hbA1c :**

Elles peuvent être réparties en deux groupes : Les méthodes dosant l'hémoglobine glyquée totale et les méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c.

#### **4.3.1 Méthodes dosant l'hémoglobine glyquée totale :**

##### **➤ Chromatographie d'affinité :**

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

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

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

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

#### **4.3.2 Méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c :**

➤ *Méthodes immunologiques :*

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

Différents systèmes sont commercialisés :

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

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

- Technique d'immunoinhibition sur analyseur (BAYER DCA 2000 ou DCA Vantage).
- Technique ELISA sur microplaques avec des anticorps monoclonaux.

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

➤ *Electrophorèse :*

- L'électrophorèse en gel d'agarose ou acétate de cellulose (électro-endosmose) permet la migration en bloc de toutes les fractions d'HbA1. Certains systèmes peuvent également séparer spécifiquement la fraction HbA1c. Cette technique permet de

mettre en évidence la plupart des Hb anormales sauf les hémoglobines modifiées (Hbcarbamylées). L'obtention de résultats reproductibles exige une transpiration homogène du gel pour permettre une lecture correcte. Ces techniques délicates fournissent en général des résultats plus élevés.

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

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

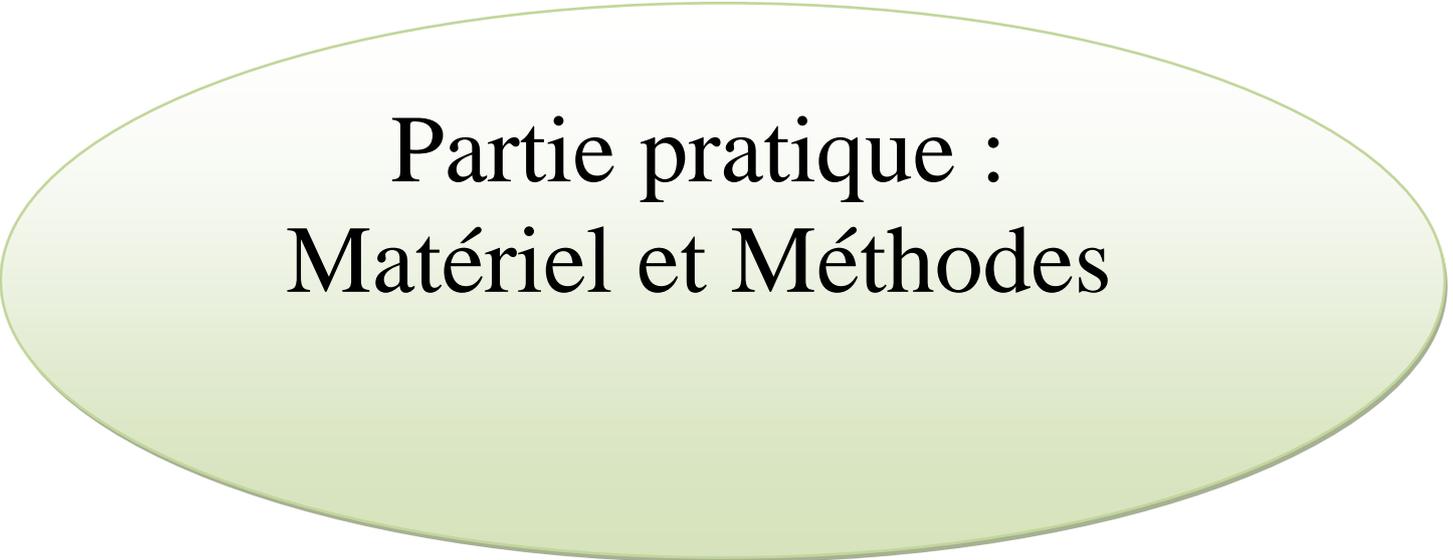
➤ *Chromatographie d'échange d'ions :*

La séparation est fondée sur le fait que la charge nette des hémoglobines glyquées sur l'extrémité N-terminale des chaînes  $\alpha$  est plus négative que celle de l'HbA<sub>0</sub>, à pH neutre. Cette méthode a été mise au point par Trivelli en 1971. L'hémolysât est déposé sur une colonne remplie de résines chargées négativement. On élue d'abord les hémoglobines rapides : HbA<sub>1a</sub>, HbA<sub>1b</sub>, HbA<sub>1c</sub> puis la fraction principale HbA<sub>0</sub>.

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

Cette méthode est utilisée dans différentes techniques :

- mini colonnes remplies de résines échangeuses d'ions pour les techniques manuelles,
- Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP). De nombreux appareils de CLHP spécialisés pour le dosage de l'HbA<sub>1c</sub> sont commercialisés. Ils utilisent une colonne d'échange ionique et permettent un dosage automatisé,
- Chromatographie Liquide Basse Pression (CLBP). Des systèmes automatisés de CLBP ont également été proposés par différents industriels. D'utilisation réputée moins coûteuse, ces appareils doivent fournir une bonne séparation HbF/HbA<sub>1c</sub> [2].



**Partie pratique :  
Matériel et Méthodes**

## **I. Matériel :**

### **1. Population étudiée :**

L'étude a porté sur des sujets diabétiques adultes au nombre de 16 patients sans distinction de sexe, de race et d'ethnie et notre étude est une étude prospective qui s'est déroulée du 10 avril au 9 mai 2014. La méthode d'échantillonnage utilisée est un échantillonnage systématique de tous les patients diabétiques suivis à l'Hôpital Ibn Al Khatib. On a dosé chez ces patients l'hémoglobine glyquée, le bilan lipidique et le bilan de la fonction rénale.

### **2. Prélèvements sanguins :**

Les échantillons de sang ont été prélevés chez la population à jeun sur des tubes secs et des tubes contenant EDTA (acide Éthylène Di-amino-Tétra-Acétique).

Les tubes secs après centrifugation pendant 10 min ont été utilisés pour les tests biochimiques (TG, LDL, HDL, Urée, Créatinine..) dans le sérum pendant que les tubes contenant de l'EDTA ont permis le dosage de l'hémoglobine glyquée sur le sang complet.

## **II. Méthodes :**

### **1. Dosage de l'hémoglobine glyquée par L'HPLC-D-10 de BIORAD :**

L'analyseur D-10 (Bio-Rad, Marne-la-Coquette, France) est un automate de chromatographie liquide haute performance (HPLC) multiparamétrique pour le dosage des hémoglobines A<sub>1C</sub> (HbA<sub>1C</sub>), A<sub>2</sub>, F et le dépistage des variants de l'hémoglobine.



**Figure1 : vue latérale de l'HPLC (Bio-Rad D-10)**

Dans notre étude, nous l'avons utilisé seulement dans le cadre du dosage de l'HbA<sub>1C</sub> pour le suivi des patients diabétiques et avec l'option passeur d'échantillons. Il s'agit d'un appareil compact comprenant :

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

Compte tenu de l'activité du laboratoire, nous disposons, en plus, de l'option passeur d'échantillons associée à l'analyseur. Le passeur d'échantillons à chargement continu permet de positionner jusqu'à 5 racks de 10 échantillons par série.

Le dosage est totalement automatisé puisque l'appareil travaille directement sur tube primaire (tubes de 5 ml contenant de l'EDTA), l'échantillon étant prélevé directement après perçage du bouchon par l'aiguille de prélèvement. Des adaptateurs sont fournis pour travailler sur micro tubes (prélèvement sur capillaire au bout du doigt) et sur échantillons pré dilués (dans le cadre de prélèvements insuffisants ou d'échantillon dont l'aire totale est inférieure ou supérieure à un seuil). Le résultat est obtenu en 3 minutes.

## **2. Le bilan lipidique et de la fonction rénale :**

### **2.1 Le Vitros Chemistry 250 :**

Pour la mesure des différents dosages de la plupart des paramètres biochimiques des liquides biologiques, l'appareil utilisé est le Vitros Chemistry 250.

Le Vitros Chemistry 250 est un appareil de la nouvelle technologie très automatisé, utilisé en laboratoire de biochimie pour le dosage de la majorité des différents paramètres biochimiques des liquides biologiques humains.

Sa haute automatisation limite l'intervention de l'utilisateur rendant l'appareil assez pratique et accessible et les résultats plus fiables grâce à la réduction d'erreurs de manipulations, alors que sa haute performance étendant sa gamme d'analyses jusqu'aux tests immunologiques participe à réduire le coût des analyses.

La machine Vitros 250 est constituée de deux grandes composantes : la première, celle qui effectue les analyses, intégrée à un logiciel qui permet la commande et l'exploitation des différentes fonctions

de l'appareil et disponible dans la deuxième composante : il s'agit respectivement de l'unité centrale et l'unité de commande. L'unité centrale est répartie sur deux armoires : un manipulateur d'échantillons qui permet le pipetage, la dilution de l'échantillon et le transport du produit dilué vers la seconde armoire; ce dernier, appelé dispositif de traitement d'échantillons contient les réactifs et le matériel nécessaires pour l'analyse de l'échantillon.

L'unité de commande est faite d'un clavier pour les saisies et d'une unité d'affichage, un écran tactile, permettant l'entrée des données et l'acquisition des résultats.



Figure2 : vue générale du « Vitros 250 »

Les tests réalisés par le Vitros 250 seront de nature chimique : il s'agit de la chimie sèche qui s'opère dans le dispositif de traitement d'échantillons. La chimie sèche permet la réalisation de quatre grands types de tests : les tests colorimétriques, les tests enzymatiques, les tests potentiométriques et les tests immunologiques.

### **2.1.1 La chimie sèche :**

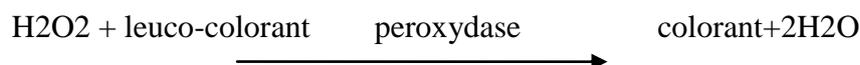
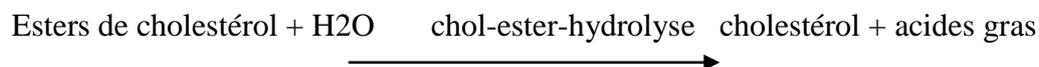
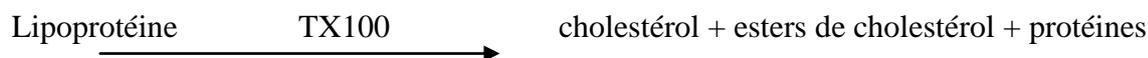
On qualifie de chimie sèche toute réaction qui n'utilise pas de liquide, c'est-à-dire, dont l'ensemble des réactifs est constitué de matières sèches non liquides.

Dans le Vitros 250, ceci est possible grâce à l'emploi de cartouches analytiques faites réactives. Les plaques sont des structures permettant à la fois le recueillement de l'échantillon dilué et la production de la réaction permettant le dosage, la mesure des valeurs se fait par le biais de bien d'autres outils.

Les liquides biologiques dosés par cette chimie sont le sérum, les urines, le liquide céphalorachidien LCR et le plasma. [6]

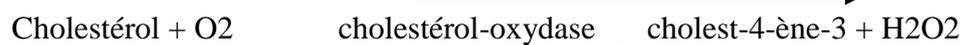
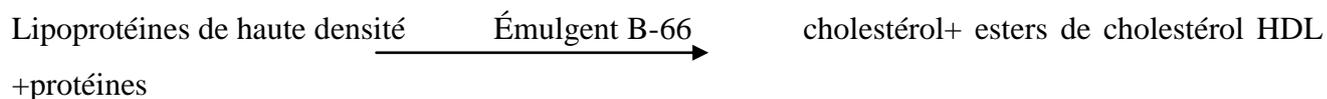
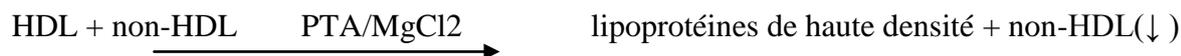
### 2.1.2 Principe du dosage du cholestérol :

Les réactions qui se produisent lors de dosage du cholestérol sur la plaque CHOL VITROS sont :



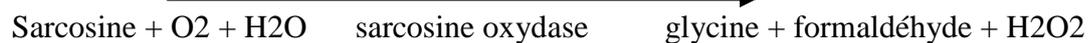
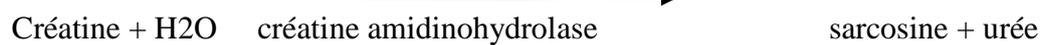
### 2.1.3 Principe du dosage de HDL :

Les réactions qui se produisent lors de dosage du cholestérol sur la plaque HDL VITROS sont :



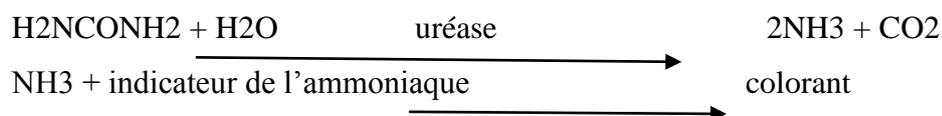
### 2.1.4 Principe du dosage de la créatinine :

Les réactions qui se produisent lors de dosage du cholestérol sur la plaque CREA VITROS sont :



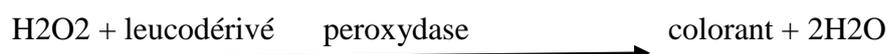
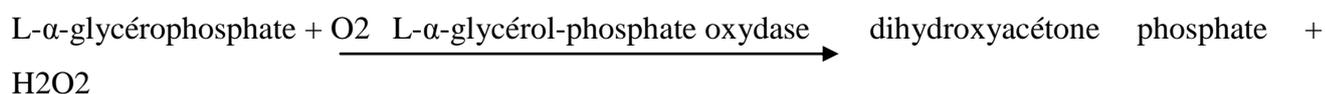
### 2.1.5 Principe du dosage de l'urée :

Les réactions qui se produisent lors de dosage du cholestérol sur la plaque UREA VITROS sont :



### 2.1.6 Principe du dosage des TG :

Les réactions qui se produisent lors de dosage du cholestérol sur la plaque TRIG VITROS sont :



## 2.2 Les avantages de la chimie sèche :

En se passant de la préparation des réactifs et en minimisant les interférences, la chimie des plaques du Vitros Chemistry 250 est efficace à 95%; l'absence de circuit liquide et la population de déchets minimes diminue l'encombrement, l'étalonnage est effectué après un long délai de 6 mois et l'utilisation des plaques ne nécessite aucune fiche de sécurité; tout cela a pour aboutissement la réduction du cout des analyses par le non-besoin de nettoyage, de bouteilles de réactifs, et une réduction de l'intervention de l'utilisation avec moins de risques d'erreur et moins de fatigue et un gain en temps. Le gain en temps est surtout marqué par la vitesse de réalisation des tests par cette machine qui est évaluée à 250 tests par heure d'où le nom de Vitros 250. En outre, le Vitros 250 possède une structure d'urgence c'est-à-dire qu'en cas d'urgence. L'analyseur abandonne les échantillons en cours, analyse l'échantillon urgent et reprend l'analyse des premiers dès la fin du dernier; cela constitue un atout étant donné qu'en cas d'urgence, l'utilisation n'a pas besoin de stopper les analyses en cours pour les relancer une autre fois. [6]



Résultats  
Et  
Discussion

## I. Résultats :

### 1. Résultats des dosages de l'hbA1c, bilan lipidique et de la fonction rénale :

Au cours de notre étude on a pris pour chaque patient la valeur de l'hbA1c avec des valeurs de chacun des deux bilans soit le bilan lipidique ou de la fonction rénale ou les deux à la fois.

Les résultats sont représentés sur le tableau suivant :

patient	hbA1c	bilan lipidique	bilan de la fonction rénale
n1	12,60%	TG=2,5 g/l	urée=1,69g/l, créa=39,5 mg/l
n2	7,70%		urée=0,31g/l, créa=10mg/l
n3	11,90%	LDL=0,8g/l, HDL=0,2g/l, TG=1,6g/l	urée=0,25g/l, créa=5,5mg/l
n4	14,30%	TG=1,3 g/l	urée=0,29g/l, créa=5,2mg/l
n5	11,60%	LDL=0,9g/l, HDL=0,3g/l, TG=2,8g/l	urée=0,18g/l, créa=5,8mg/l
n6	7,60%	TG=2,2 g/l	urée=0,18g/l, créa=4,4mg/l
n7	14,30%	LDL=0,5g/l, HDL=0,2g/l, TG=2,2g/l	urée=0,36g/l, créa=3,1mg/l
n8	12,80%	LDL=0,8g/l, HDL=0,3g/l, TG=1,9g/l	urée=0,45g/l, créa=6,1mg/l
n9	9,80%	LDL=1g/l, HDL=0,3g/l,	urée=0,3g/l, créa=2,4mg/l

		TG=2,7g/l	
<b>n10</b>	9,50%	LDL=0,8g/l, HDL=0,3g/l, TG=0,9g/l	urée=0,3g/l, créa=3,3mg/l
<b>n11</b>	8%	LDL=1,5g/l, HDL=0,4g/l, TG=3,1g/l	urée=0,19g/l, créa=2,7mg/l
<b>n12</b>	7,20%	LDL=1g/l, HDL=0,1g/l, TG=1,7g/l	urée=0,22g/l, créa=5,1mg/l
<b>n13</b>	10,30%	LDL=0,8g/l, HDL=0,2g/l, TG=2,7g/l	urée=0,27g/l, créa=4,8mg/l
<b>n14</b>	7,90%	TG=0,7g/l	urée=0,14g/l, créa=6mg/l
<b>n15</b>	7%	LDL=1,4g/l, HDL=0,3g/l, TG=1g/l	urée=0,3g/l, créa=6,3mg/l
<b>n16</b>	9,20%	LDL=1,2g/l, HDL=0,3g/l, TG=1,8g/l	urée=0,22g/l, créa=4,7mg/l

**Tableau1 : résultats de dosage de l'hbA1c, du bilan lipidique et de la fonction rénale.**

Les valeurs de référence sont les suivants :

➤ hbA1c :

6% : un diabète bien équilibré,

Entre 6 et 8% : l'équilibre du diabète est considéré comme correct,

Entre 8 et 12% : le diabète est insuffisamment équilibré,

Sup à 12% : le diabète est mal équilibré.

➤ LDL de 1.1 à 1.6 g/l

➤ HDL de 0.35 à 0.75 g/l

➤ TG de 0.35 à 1.25 g/l

- Urée de 0.15 à 0.45 g/l
- Créa de 5.6 à 11.3 mg/l

### 1.1 Répartition des résultats de l'hbA1c selon les intervalles de référence :

L'intervalle de référence	%
6%	0%
[6_8%]	37,5%
[8_12%]	37,5%
>12%	25%
	100%

Tableau 2 : répartition de l'hbA1c selon les intervalles de références.

### 1.2 Répartition des résultats de bilan lipidique en fonction des valeurs de référence :

✚ TG :

73,33% des patients présentent une valeur très élevée, tant que 26,67% des patients présentent une valeur normale.

✚ LDL :

54,55% des patients présentent une valeur inférieure à la valeur normale, alors que 45,45% des patients présentent une valeur normale.

✚ HDL :

36,36% des patients présentent une valeur inférieure à la valeur normale, et 63,64% des patients présentent une valeur normale.

✚ Urée :

6,25% des patients présentent une valeur très élevée, tant que 93,75% des patients présentent une valeur normale.

✚ Créatinine :

6,25% des patients présentent une valeur très élevée, tant que 93,75% des patients présentent une valeur normale.

### 1.3 Le suivi de chaque patient :

Pour le suivi des patients, nous avons recueilli par questionnaire des données sur l'état de santé, type de diabète et type de traitements des patients :

patient	type de diabète	Type de traitement	complication
<b>n1</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n2</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n3</b>	DNID (type2),	insuline	CV: tachycardie.
<b>n4</b>	DID (type1), (femme enceinte)	insuline	pas de complication
<b>n5</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n6</b>	DID (type1),	insuline	pas de complication
<b>n7</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n8</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n9</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n10</b>	DNID (type2),	Anti-diabétique oral	rénal: aspect mal
<b>n11</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication

<b>n12</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n13</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication
<b>n14</b>	DNID (type2),	Anti-diabétique oral	pas de complication
<b>n15</b>	DNID (type2),	insuline	CV: bradycardie
<b>n16</b>	DNID (type2),	insuline	pas de complication

Tableau3 :l'état de la santé, type de diabète et type de traitement pour chaque patient

# Discussion

## II. Discussion :

Le but de notre travail est de chercher une corrélation entre le taux de l'hbA1c et les taux de HDL, LDL et TG d'une part et la créatinine et l'urée d'autre part :

Nos résultats montrent pour les patients ayant un diabète mal équilibré ( $hbA1c \geq 12\%$ ) que seuls deux patients sur 16 (patients n3 et 15) présentent une complication cardiaque malgré que les autres patients n'ayant pas de complication, Ces patients ont des taux de LDL et de HDL baissent et un taux de TG élevé.

Pour les patients ayant un diabète insuffisamment équilibré (entre 8 et 12%), seuls deux patients parmi 6 (n11 et 16) ont un taux de LDL normal alors que les autres patients ayant un taux baisse, ce qui concerne le taux de HDL tous les patients ont des valeurs normales et pour le taux de TG un patient parmi 6 a un taux normal, alors que les autres ont un taux très élevé.

Pour les patients ayant un diabète déséquilibré (entre 6 et 8%) ont un taux de LDL très élevé, et pour le taux de HDL est très baisse et on ce qui concerne le taux de TG un patient ayant un taux très élevé et les autre ayant un taux normal.

Pour les taux de l'urée et de la créatinine un seul patient parmi 16 ayant un taux très élevé (n1), mais les autres patients ayant des taux normaux.

La dyslipidémie diabétique est une anomalie métabolique qui a son origine dans l'incapacité du corps de gérer correctement le métabolisme des triglycérides.

Globalement, les triglycérides augmentent au niveau sanguin pour les raisons suivantes :

- Il existe un excès d'apport en chylomicrons par l'intestin ;
- Le foie produit des quantités importantes de VLDL ;
- L'élimination des chylomicrons et VLDL est insuffisante.

L'anomalie lipidique principale chez le patient diabétique est un métabolisme de VLDL défaillant. Il résulte essentiellement d'une surproduction de VLDL par le foie et, dans une moindre mesure, d'un catabolisme diminué des VLDL dû à une activité réduite de l'enzyme, la lipoprotéine lipase. Cette enzyme, dont la synthèse est normalement stimulée par l'insuline, est responsable de l'hydrolyse des triglycérides transportés par les VLDL et les chylomicrons, et du transfert des acides gras ainsi libérés vers le tissu adipeux et les muscles. La surproduction des VLDL est due à deux facteurs : l'incapacité de l'insuline de réduire leur synthèse hépatique et un flux accéléré d'acides gras en provenance du tissu adipeux vers le foie qui pousse la synthèse des VLDL.

Les taux abaissés de HDL sont également une caractéristique de la dyslipidémie diabétique. Ils sont en partie la conséquence des liens métaboliques entre les HDL et les lipoprotéines riches en triglycérides, avec de nouveau un rôle pour la lipoprotéine lipase. La lipolyse des triglycérides portés

par les lipoprotéines libère non seulement des acides gras, mais d'autres lipides et apolipoprotéines qui sont absorbés par les HDL. Ce transfert de matériel contribue de façon importante aux taux sériques des HDL et, évidemment, il est diminué quand le métabolisme des VLDL/chylomicrons est ralenti.

Les LDL ne sont généralement pas augmentées chez le patient diabétique. Ceci est dû à plusieurs facteurs. La source primaire des LDL est le remodelage et donc la transformation des VLDL en LDL grâce à l'activité de la lipoprotéine lipase. Si cette activité est réduite, il en résulte une production diminuée de LDL.



**Conclusion :**

## **Conclusion :**

Le dosage de l'hbA1c est toujours accompagné de autres dosages parmi lesquels : le bilan lipidique et le bilan de la fonction rénale ceci pour faciliter d'avoir la présence ou l'absence des différentes complications.

Le traitement de la dyslipidémie d'un diabétique est un élément capital dans la prise en charge globale du risque cardiovasculaire de ces patients.

Dans les cas générale une augmentation du taux de l'hbA1c est accompagnée de une augmentation précise du taux des TG chez la majorité de ces patients, ce n'est pas le cas pour les autres dyslipidémies (LDL, HDL, Urée et la Créatinine).

### Référence :

- [1] Evaluation de l'apport du laboratoire de l'Hôpital Ibn Al Khatib dans exploration des anémies Hypochromes Microcytaires et actions correctives, RAJI Amal
- [2] <http://www.memoireonline.com/02/12/592/m-tube-comparative-de-l-hemoglobine-glyquée-et-du-glucose-sanguin-chez-les-hyperglycémies-diabét3.html#toc10>
- [3] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/>.
- [4] [www.e-santé.fr](http://www.e-santé.fr)
- [5] biochimie, hématologie de Michel Vaubourdolle
- [6] Hémoglobine glyquée et diabète d type 2, Lamboni Lallepak 2009