

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 08 Mai 1945 – Guelma –
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire

=====

Etude comparative des techniques du dosage de l'hémoglobine glyquée

=====

Présenté par :

BENZELTOUT Assia Yasmine

FAREH Nihel

OUMEDDOUR Racha

Devant le jury composé de :

Président : Mouslim BARA

Maitre de Conférence B

Examinatrice : Malika HAMDIKENE

Maitre de Conférence B

Encadrant : Asma BRAIK SERIDI

Maitre de Conférence B

Septembre 2020

Dédicace

Je dédie ce mémoire à Mes chers parents

Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour leur amour inestimable, leur confiance, leur patience illimitée, leur encouragement, leur soutien tout au long de mes études, sans eux ce travail n'aurait jamais vu le jour, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

A ma très chère sœur : LOUBNA

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments.

Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.

A mon cher frère : MOHAMED et son épouse : SOUMYA

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon cher mari : YAAKOUB

Ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, tes conseils et tes encouragements m'ont permis de réussir ce travail.

A mes chers camarades de projet de fin d'études et amies NIHAL et RACHA à toutes leurs familles

A la fin

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers les amis et camarades qui m'ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Yasmine

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*A mon cher **papa**, l'homme de ma vie. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée. Je vous remercie d'être toujours prêt à me donner sans compter et sans limite.*

*A ma très chère **Maman**, je vous remercie de m'avoir soutenue, d'avoir cru en moi et pour m'avoir encouragée toutes ces années universitaires. Vous m'avez donné tant d'amour qui suffit à nourrir la terre entière.*

Je vous remercie du fond du cœur pour l'éducation, les principes et les valeurs que vous m'avez transmis. J'espère que j'ai pu vous rendre fiers de moi.

Vous êtes les personnes les plus chères du monde, J'espère pouvoir vous rendre un peu de votre amour et de votre générosité.

*A mon grand frère et mon bras droit **Noufel** qui ne cesse de m'écouter et de m'encourager tout au long de mon parcours universitaire, merci pour ta confiance en moi.*

*A mes très chères sœurs **Belkis** et **Batoul**, j'estime votre valeur, votre aide, aussi bien que votre amour protecteur.*

À ceux qui étaient toujours présents durant cette année, j'ai passé les plus difficiles moments de ma vie, mais grâce à votre encouragement, amour et fidélité, j'étais capable de tout surmonter, même la douleur de tout perdre. Vous méritez à mes yeux le titre de meilleurs amis.

*Sans oublier ma tante **Zahia**, **Saida** et ma chère cousine **Sandra** merci pour votre présence à côté de moi, merci pour vos encouragements et surtout merci pour les bons moments qu'on avait partagés ensemble.*

*À vous aussi chers **lecteurs**, **lectrices**....*

Dédicace

*Je dédie ce travail à **Mes parents**, merci pour les conseils et les précieuses orientations et tout aide pour moi, à toute ma famille et en particulier ma sœur « **Lina** » et mes frères « **Housseem et Chiheb Eddine** ».*

*Je tiens aussi à dédier ce mémoire à mes meilleurs amies « **Imene, Afaf et Ilhem** », à mes camarades du projet de fin d'étude **Yasmine et Nihel**, sans oublier tous mes camarades de la spécialité **BMC master 2 promo 2019/2020 une par une**.*

Remerciements

*En préambule à ce mémoire nous remerciant **ALLAH** qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

*Nous adressons nos vifs remerciements aux membre de jury, Monsieur **Mousslim BARA**, Maitre de conférence à l'université de Guelma comme président du jury et Madame **Malika HAMDIKENE**, Maitre de Conférence à l'université de Guelma comme examinatrice de notre travail. Nous vous remercions d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de sacrifier une partie de votre temps pour examiner notre humble travail.*

*Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadrant et enseignante Madame **Asma BRAIK SERIDI** maitre de conférence à l'université de Guelma. Nous sommes fières et très reconnaissantes du grand honneur que vous nous faites en acceptant de nous encadrer. Votre compétence, vos précieux conseils, votre aide durant toute la période du travail et vos qualités humaines suscitent notre grande admiration.*

*Nous remercions également le **Docteur Kamal NIGRI**, Médecin spécialiste en microbiologie médicale, de nous avoir accepté au sein de son laboratoire et nous avoir assuré toutes les conditions afin que nous puissions effectuer notre stage dans les meilleures formes.*

*Nous ne cesserons jamais de remercier très chaleureusement Monsieur **Adel MELLOUKI** qui nous a aidé à la compréhension du sujet avec un professionnalisme exemplaire et une disponibilité singulière. Vous trouverez dans ce mémoire notre parfaite gratitude.*

Notre plus grand merci s'adresse à tous nos enseignants du département de biologie de l'université de Guelma, pour leur don naturel à transmettre leurs connaissances et la simplicité avec laquelle ils le font. Nous vous exprimons notre gratitude.

Nous formulons également nos remerciements à toute personne qui nous a aidés, de près ou de loin, au succès de ce travail.

Résumé

Le diagnostic et la surveillance du traitement des personnes atteintes de diabète constituent un problème mondial et utilisent des ressources considérables dans les laboratoires et les cliniques du monde entier. La présente étude vise à évaluer la performance analytique de MEDCONN-HPLC par une comparaison avec les deux analyseurs Bio-Rad D-10- HPLC, et SELECTRA *pro* M-Immunturbidimétrie. 30 échantillons sanguins appartenant à des sujets diabétiques et non diabétiques ont été prélevés et dosés par ces trois automates. Les analyses de Bland-Altman et de Passing Pablock ont été utilisées pour l'évaluation statistique des données. Les résultats présentent une très forte corrélation de la régression linéaire entre MEDCONN et D-10 BioRad ($r=0,99$) ; une forte corrélation entre D-10 et SELECTRA_{pro}M-Turbidi ($r=0,93$) ainsi qu'entre MEDCONN et SELECTRA_{pro}M-Turbidi ($r=0,94$). Les trois analyseurs sont reproductibles et précis pour une utilisation courante en laboratoire de biochimie.

Mots-clés : Diabète -Hémoglobine A1c – HPLC – Immunturbidimétrie

Abstract

Diagnosing and monitoring treatment for people with diabetes is a global problem and uses significant resources in laboratories and clinics around the world. The present study aims to evaluate the analytical performance of MEDCONN-HPLC by a comparison with the two analyzers Bio-Rad D-10-HPLC, and SELECTRA pro M-Immunoturbidimetry. 30 blood samples belonging to diabetic and non-diabetic subjects were taken and assayed by these three automatic devices. Bland-Altman and Passing Pablock analyzes were used for statistical evaluation of the data. The results show a very significant correlation of the linear regression between MEDCONN and D-10 BioRad ($r=0.99$); a strong correlation between D-10 and SELECTRAproM-Turbidi ($r = 0.93$) as well as between MEDCONN and SELECTRAproM-Turbidi ($r = 0.94$). All three analyzers are reproducible and accurate for routine use in the biochemistry laboratory.

Keywords: Diabetes -Hemoglobin A1c - HPLC - Immunoturbidimetry

ملخص

يعتبر تشخيص ومراقبة علاج مرضى السكري مشكلة عالمية ويستخدم موارد كبيرة في المختبرات والعيادات حول العالم. تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم الأداء التحليلي لـ MEDCONN-HPLC من خلال المقارنة مع المحللين Bio-Rad D-10-HPLC و SELECTRA pro M-Immunturbidimetry. تم أخذ 30 عينة دم لمرضى السكر وغير المصابين بالسكري وفحصها بواسطة هذه الأجهزة الأوتوماتيكية الثلاثة. تم استخدام تحليلات Bland-Altman و Passing Pablock للتقييم الإحصائي للبيانات. تظهر النتائج علاقة قوية للغاية للانحدار الخطي بين MEDCONN و D-10 BioRad ($r = 0.99$) ؛ علاقة قوية بين D-10 و SELECTRAproM-Turbidi ($r = 0.93$) وكذلك بين MEDCONN و SELECTRAproM-Turbidi ($r = 0.94$). جميع أجهزة التحليل الثلاثة قابلة للتكرار ودقيقة للاستخدام الروتيني في مختبر الكيمياء الحيوية.

الكلمات المفتاحية: السكري - الهيموجلوبين A1c - HPLC - قياس التورم المناعي

Liste des figures

Figure 1: Schéma explicatif du diabète de type 1	5
Figure 2: Schéma explicatif du diabète de type 2	6
Figure 3: structure de la molécule d'hémoglobine.....	7
Figure 4: Schéma de la glycation avancée des protéines.....	10
Figure 5: Mécanisme et vitesse de formation d'HbA1c	10
Figure 6: Chromatographie d'affinité au bronate pour l'hémoglobine glyquée	15
Figure 7: Principe de dosage de l'HbA1c par immuno-turbidimétrie	16
Figure 8: Résine échangeuse de cations (résine cationique) et d'anions (résine anionique).	17
Figure 9: Principe de fonctionnement de l'HPLC.	18
Figure 10: Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin.....	19
Figure 11: Schéma illustrant le principe du dosage de l'HbA1c par immuno-turbidimétrie.	27
Figure 12: Schéma illustrant le compte rendu de l'analyse et le chromatogramme D-10..	28
Figure 13 : Schéma illustrant le compte rendu de l'analyse et le chromatogramme MEDCONN (MQ-2000 PT).....	30
Figure 14 : Répartition des sujets diabétiques étudiés selon le sexe.	32
Figure 15: Répartition des sujets diabétiques selon l'âge et le sexe.	33
Figure 16: Comparaison entre les taux de glycémie (Gly), d'HbA1c et de triglycérides (Trig) chez les sujets non diabétiques (ND) et les diabétiques (D).....	33
Figure 17: Diagramme de corrélation D-10/MEDCONN selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le MEDCONN (Méthodes HPLC).	35
Figure 18: Diagramme des différences D-10/MEDCONN selon Bland Alman du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et le MEDCONN (Méthodes HPLC).....	35
Figure 19: Diagramme de corrélation D-10/SELECTRA selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le SELECTRA (Méthodes HPLC/immuno-turbidimétrie).....	36

Figure 20: Diagramme des différences D-10/SELECTRA selon Bland Alman du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le SELECTRA (méthodes HPLC/Immunturbidimétrie).....	37
Figure 21: Diagramme de corrélation MEDCONN/SELECTRA selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le MEDCONN (Technique de référence) et le SELECTRA (méthodes HPLC/Immuno-turbidimétrie).....	38
Figure 22: Diagramme des différences MEDCONN/SELECTRA selon Bland Alman du dosage d'HbA1c obtenu par le MEDCONN (Technique de référence) et le SELECTRA (Méthodes HPLC/Immuno-Turbidimétrie).	38

Liste des tableaux

Tableau 1: Critères de diagnostic selon l'ADA	4
Tableau 2: Différentes formes glyquées de l'HbA	9
Tableau 3: Correspondances HbA1C (%)- HbA1c (mmole/mole) -glycémie moyenne (g/l)- glycémie moyenne (mmole/l).....	13
Tableau 4 : HbA1c : Equivalence entre les valeurs obtenues par la méthode IFCC et les méthodes reconnues par le NGSP (DCCT/UKPDS).	21
Tableau 5: Critères de corrélation deux à deux des trois méthodes étudiées	34

Liste des abréviations

ACD : Acidocétose diabétique.

ADA : Association Américaine de Diabète

AGE: Advanced glycation end-products.

ALAT : Alanine amino-transférase.

BCR : Red blood cell.

CLHP ou HPLC : Chromatographie liquide haute performance (*High performance liquid chromatography*).

D : diabétique.

DCCT: Diabetes Control and Complication Trial.

DG: Diabète gestationnel.

DT1 : Diabète Type 1.

DT2 : Diabète type 2.

EDTA: Acide éthylène diamine tétraacétique.

FICC : Fixed Income Clearing Corporation

FID: Fédération international de diabète.

Hb: Hémoglobine.

HbA: Hémoglobine adulte.

HbA1c: Hémoglobine glyquée (glycosylée).

HbF: Hémoglobine foetale.

HDL: High-density lipoprotein.

HAS : Haute Autorité De Santé.

IFCC: international federation of clinical chemistry.

IMC : Indice de masse corporelle.

LDL : Low density lipoprotein.

NCCLS : Clinical and Laboratory Standards Institute

ND : Non diabétique.

NGSP : National glycohemoglobin standariztion program.

OMS : L'Organisation Mondiale de la Santé.

PAL: Phosphatase alkaline.

UKPDS: United Kindom Prospective Diabetes Study.

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Partie Théorique

Chapitre I:Diabète et Hémoglobine glyquée

1. Diabète sucré.....	3
1.1 Définition et diagnostic.....	3
1.2 Classification	4
1.2.1 Diabète de type I.....	4
1.2.2 Diabète de type II	5
1.2.3 Diabète gestationnel	6
1.2.4 Autres types spécifiques de diabète.....	6
1. Hémoglobine	7
2.1. Structure et fonction.....	7
2.2. Types.....	8
2.2.1. Hémoglobine fœtale HbF	8
2.2.2. Hémoglobine de l'adulte HbA	8
2.2.3. Hémoglobine glycosylée (glyquée) HbA1c	8

3.	Hémoglobine glyquée	8
3.1.	Définition et nomenclature	8
3.2.	Facteurs influençant la glycation	9
3.3.	Mécanisme de la formation de l'HbA1c	9
3.4.	Variations pathologiques	11
3.5.	Interférences analytiques	11
3.5.1.	Hémoglobines anormales	11
3.5.2.	HbA1c labile.....	11
3.5.3.	Hb carbamylée.....	12
3.6.	Intérêt clinique du dosage de l'HbA1c dans le diabète.....	12

Chapitre II

Méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c)

1.	Technique de dosage de l'hémoglobine glyquée	14
1.1	Phase pré-analytique	14
1.2.	Méthodes de dosage de l'HbA1c	14
1.2.1.	Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée totale	14
1.2.2.	Méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c.....	16
2.	Standardisation du dosage de l'hémoglobine glyquée	19
3.	Facteurs influençant les résultats du dosage de l'HbA1c	21
3.1.	Durée de vie des globules rouges	21
3.2.	Présence d'hémoglobine anormale	21
3.3.	Autres conditions pathologiques pouvant influencer le dosage de l'HbA1c	21

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

1.	Echantillonnage et collecte des données	23
1.1.	Période d'étude	23
1.2.	Population d'étude	23

1.3.	Recueil des données	23
2.	Matériel et méthodes	23
2.1.	Prélèvement sanguin	23
2.2.	Equipements.....	24
2.3.	Méthodes analytiques	24
2.3.1.	Dosage de la glycémie	24
2.3.2.	Dosage des triglycérides	25
2.3.3.	Dosage de l'HbA1c par technique d'immuno-turbidimétrie.....	26
2.3.4.	Dosage de l'HbA1c par technique HPLC	27
2.4.	Analyse statistique	30

Résultats et Interprétation

1.	Répartition des sujets diabétiques selon le sexe.....	32
2.	Répartition des sujets diabétiques selon l'âge.....	32
3.	Comparaison des taux des paramètres biochimiques chez les sujets diabétiques et non diabétiques.....	33
4.	Analyse de corrélation entre les trois méthodes de dosage d'HbA1c	34
4.1.	Corrélation entre les deux méthodes HPLC D-10 et MEDCOON	34
	Figure 18: Diagramme des différences D-10/MEDCONN selon Bland Alman du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et le MEDCONN (Méthodes HPLC).....	35
4.2.	Corrélation entre les deux méthodes HPLC D-10 et immunoturbidimétrie (SELECTRA).....	36
	La figure 19 montre la corrélation entre les valeurs de l'HbA1c obtenues par HPLC D-10 et celles obtenues par l'immunoturbidimétrie (SELECTRA) accompagné du diagramme de différence indiqué dans la figure 20.	36
4.3.	Corrélation entre les deux méthodes MEDCOON et immunoturbidimétrie (SELECTRA) :	37
	Discussion	39

Conclusion	43
-------------------------	----

Introduction

Introduction

Le diabète est la première maladie non transmissible reconnue par les Nations Unies comme une menace pour la santé mondiale, aussi grave que les épidémies infectieuses telles que le paludisme, la tuberculose et le Sida (*Karam et al, 2010*).

Le terme diabète sucré décrit un trouble métabolique avec étiologies caractérisées par une hyperglycémie chronique et troubles du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines résultant des anomalies de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (9). A long terme, relativement, les effets spécifiques du diabète comprennent le développement de la rétinopathie, de la néphropathie et de la neuropathie (*Brinchmann-Hansen et al., 1992*). Les personnes atteintes de diabète courent également un risque accru de maladie cardiaque, maladie artérielle périphérique et cérébro-vasculaire (*Fox et al., 2007*).

En 2019, une personne sur 11 souffre du diabète dans le monde, le chiffre rendu public par la fédération internationale du diabète (FID) dans la 9^{ème} édition de son Atlas du diabète (2019) représente très exactement 463 millions de personnes à travers le monde (11). En Algérie, plusieurs études épidémiologiques sont réalisées, une étude de STEPS OMS réalisée en 2003 dans 2 wilayas pilotes (Sétif et Mostaganem) chez les sujets diabétiques âgés de 25 à 64 ans a montré une prévalence de 8.9%. En 2006, une étude réalisée à Sidi Belabbes note une prévalence de 10,5%. L'enquête nationale TAHINA en 2006 signale une prévalence de 12,2% (*Abtroun et al., 2015*).

Par ailleurs, le diagnostic du diabète est basé sur le dosage du glucose à jeun, le test de tolérance au glucose oral (OGTT) ou le dosage de l'Hémoglobine glyquée A1c (HbA1c) (*Slama, 2010*). L'HbA1c reflète la glycémie plasmatique moyenne au cours des huit à 12 semaines précédentes (*Nathan et al., 2007*). Plus récemment, il y'a eu un intérêt considérable à l'utiliser comme test de diagnostic du diabète et comme test de dépistage pour les personnes à haut risque de diabète (*ADA, 2009*).

Le dosage de l'HbA1c peut être réalisé par différentes techniques telles que les méthodes immunologiques d'immuno-turbidimétrique et de dosage d'inhibition d'agglutination ; les méthodes électrophorétiques et les méthodes chromatographiques (*Nauck et al., 2014*). Un processus de standardisation des dosages de l'hémoglobine glyquée a été mis en place fin des années 90. Un premier groupe de travail est le NGSP

(*National Glycohemoglobin Standardization Program*). Le deuxième est le groupe de l'IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) (*Sepulchre et al., 2014*). En pratique et en termes de précision et justesse, la mesure par chromatographie liquide haute performance (HPLC) a été retenue comme technique de référence parmi les méthodes disponibles sur le marché (*I2*). En effet, le marché algérien du matériel biomédical met à la disposition des laboratoires d'analyses étatiques ou indépendants différents systèmes d'HPLC utilisés pour le dosage de l'HbA1c tels que HPLC H50 de Mindray, le MQ-2000 PT de Runda et le D-10 Bio Rad.

Dans ce contexte, notre travail consiste à évaluer la fiabilité du dosage de l'HbA1c par deux techniques d'analyses différentes tout en utilisant trois systèmes automatisés différents. En effet, les deux automates fonctionnant par la méthode HPLC sont de deux provenances différentes, le premier est le D-10[®] de Bio-Rad, automate Allemand de référence à l'échelle internationale. Le deuxième est le MEDCONN[®] (MQ-2000 PT) de Runda Group[®], automate chinois nouvellement intégré dans le marché Algérien. Une autre technique analytique a été également utilisée pour le dosage de l'HbA1c est l'immuno-turbidimétrie réalisée par un automate multiparamétrique de biochimie SELECTRA PRO M[®] de la société ELITechGroup[®].

Afin de démontrer quel peut être le meilleur choix technique en termes de performance analytique et de qualité des résultats concernant le dosage de l'HbA1c, des paramètres statistiques de corrélation et de répétabilité ont été effectués.

Nous allons traiter ce sujet en deux parties, théorique, qui comporte deux chapitres consacrés au diabète, à l'hémoglobine glyquée et aux méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée (l'HbA1c), et une deuxième partie pratique où seront exposés les méthodes utilisées, les résultats ainsi que leur interprétation et leur discussion.

Partie Théorique

Chapitre I

Diabète et Hémoglobine glyquée

1. Diabète sucré

Du fait de l'allongement de l'espérance de vie et de l'augmentation de l'exposition aux facteurs de risque (tabac, alcool, sédentarité, précarité, pollution), les maladies chroniques non transmissibles sont en augmentation dans le monde et rendent compte de 56% des décès (*Fehaima, 2017*). Les maladies chroniques, que se soient le diabète ou autres sont des pathologies lourdes qui entraînent dans le temps nécessitant des prises en charge étroites, lentes et multidisciplinaires et dont l'impact est très marqué sur le patient ainsi que sur le son environnement.

Le diabète est un problème de santé publique majeur. L'OMS le décrit comme une épidémie qui connaît une expansion significative à l'échelle mondiale, il est aussi la première maladie non transmissible reconnue comme menace pour la santé mondiale qui est aussi grave que les épidémies infectieuses telles que le paludisme, la tuberculose et le sida (*Lyhyaoui, 2011*).

1.1 Définition et diagnostic

Le diabète sucré est défini selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Association Américaine de Diabète (*American Diabète Association ADA*) comme « un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience pancréatique à produire suffisamment d'insuline, l'hormone qui régule la glycémie, ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées » (*ADA, 2008*).

Le diabète est associé aux complications aiguës (acidocétose, coma hyperosmolaire, hypoglycémie, complications infectieuses), mais aussi aux complications à long terme touchant les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (*Gamouh et Kedissa, 2016*). Par ailleurs, la décompensation sévère du diabète peut entraîner des symptômes comme la polyurie, la polydipsie (soif), l'amaigrissement, le prurit vulvaire chez la femme et balanite chez l'homme et les infections récidivantes ou trainantes (*Young, 2016*).

Les critères de diagnostic du diabète peuvent être récapitulés dans le tableau 1 (*ADA, 2008*). Depuis 2009, l'utilisation du dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) pour le diagnostic du diabète est recommandée par l'ADA. Elle renseigne sur l'évolution de la glycémie dans les 3 mois précédant le dosage. En plus du bilan glycémique, d'autres analyses médicales sont préconisées, telles que le bilan lipidique (LDL, HDL, cholestérol

total et triglycérides), le bilan rénal (créatinine, acide urique avec réalisation d'une chimie des urines...etc.) et le bilan hépatique (alanine amino-transférase ALAT, phosphatase alcaline (PAL) et bilirubine totale) (Abettan et al., 2014).

Tableau 1: Critères de diagnostic selon l'ADA (ADA, 2008).

Concentration en glucose	g/L**	mmole/L**
<i>Diabète</i>		
-A jeun	≤ 1.26	07.0
ou		
-Après 2h de charge en glucose 75g au cours de HPGO ou les deux*	2.00	11.1
<i>Intolérance au glucose (I.T.G)</i>		
-A jeun (si mesuré)	> 1.26	07.0
Et		
-Après 2h de charge en glucose	≤ 1.40	07.8
<i>Hyperglycémie modérée à jeun (H.M.J)</i>		
-A jeun	≤ 1.10	6.1 - 7.0
	> 1.26	
Et		
-Après 2h de charge en glucose (si mesuré)	> 1.40	7.8

1.2 Classification

La dépendance à l'insuline ne fait partie de la classification du diabète. Il est établi que le diabète est classé en 3 types.

1.2.1 Diabète de type I

Le diabète de type I (DT1) est une maladie génétique auto-immune appelé diabète insulino-dépendant ou juvénile caractérisée par l'absence immédiate de la sécrétion de l'insuline. Elle est provoquée par certains nombre de facteurs environnementaux impliqués qui déclenchent le système immunitaire pour attaquer les cellules β de pancréas et les détruire, provoquant une carence en insuline (figure 1) (Punthakee et al., 2018).

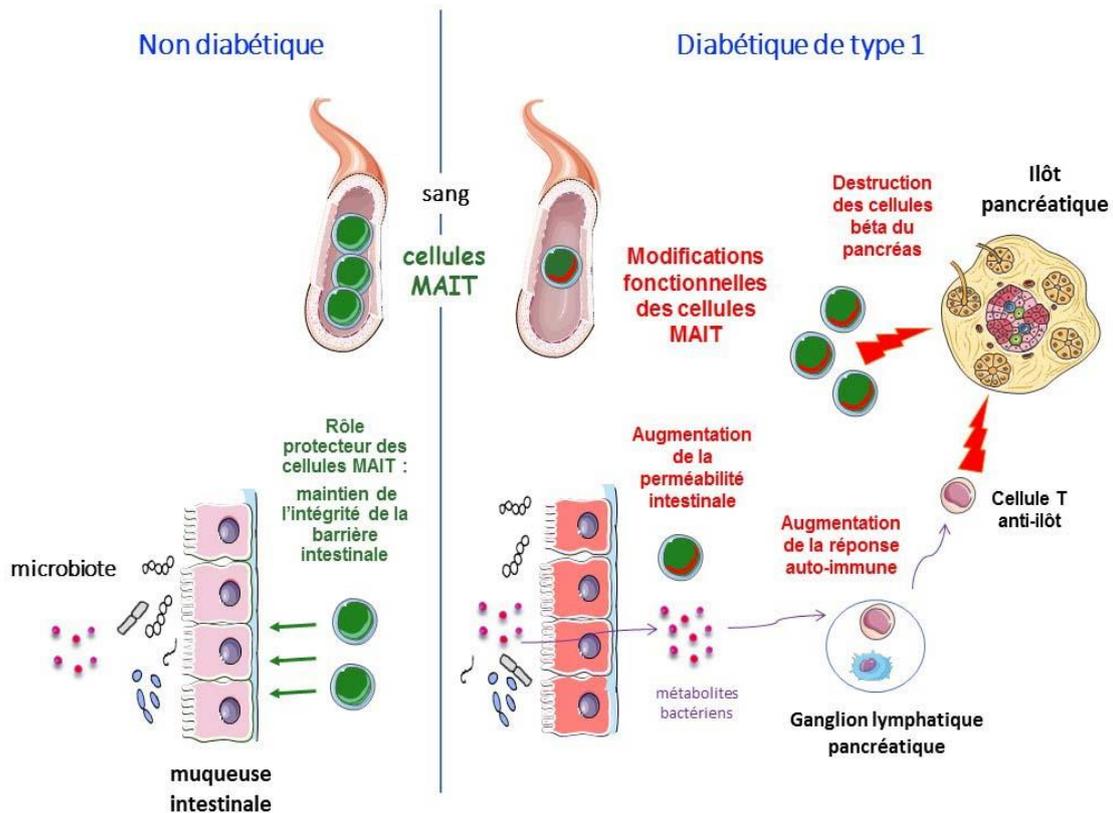


Figure 1: Schéma explicatif du diabète de type 1 (Rouxel et al., 2017).

1.2.2 Diabète de type II

Le diabète de type II (DT2) est une maladie génétique connue sous le nom de diabète non insulino-dépendant caractérisée par l'excès chronique de sucre dans le sang. Dans cette maladie, on constate deux types d'anomalies : soit une sécrétion insuffisante d'insuline par rapport aux besoins soit une modification des effets de l'insuline sur les tissus (la résistance à l'insuline ou insulino-résistance) (figure 2) (Habi, 2016). Le DT2 touche généralement des sujets plus âgés, mais il devient de plus en plus observé chez les enfants, les adolescents et les adultes plus jeunes en raison de l'augmentation des taux d'obésité, de l'inactivité physique et de la mauvaise alimentation (Whiting et al., 2011).

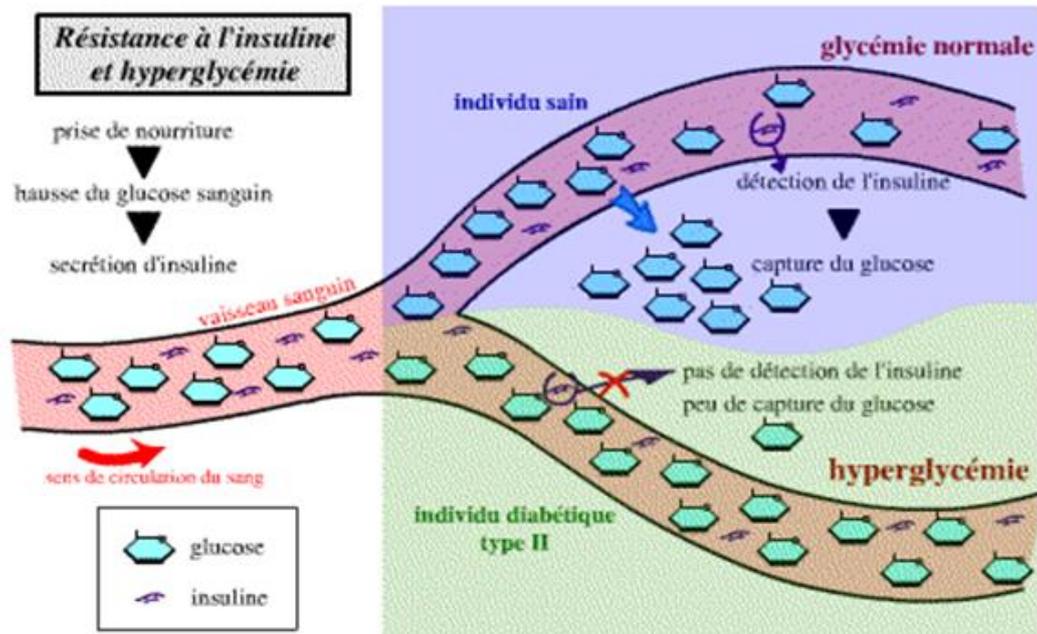


Figure 2: Schéma explicatif du diabète de type 2 (6).

1.2.3 Diabète gestationnel

Il correspond à un diabète découvert à l'occasion d'une grossesse. Le plus souvent, il se présente sous la forme d'une hyperglycémie modérée, d'accentuation progressive après la 24^{ème} semaine d'aménorrhée et disparaissant à l'accouchement. Le diabète gestationnel (DG) s'accompagne d'un risque de macrosomie fœtale et de diverses complications obstétricales. Son dépistage est actuellement recommandé en présence de facteurs de risques (âge de 35ans, IMC de 25 kg/m², antécédents familiaux de DT2 ou personnels de DG ou de macrosomie). Après l'accouchement les femmes ayant présentées un diabète gestationnel devront faire l'objet d'une surveillance et de mesures de prévention hygiéno-diététiques du diabète en évitant la prise de médicaments susceptibles de détériorer la tolérance au glucose (*Rahal et Belmahdi, 2017*).

1.2.4 Autres types spécifiques de diabète

Il existe d'autres types de diabète comprenant les maladies de pancréas exocrine (pancréatite, traumatisme, tumeurs, fibrose kystique), maladies des organes endocriniens (syndrome de Cushing, acromégalie), les effets des médicaments (glucocorticoïdes, α -interféron, diabète post-transplantation).

Il n'est pas toujours possible de différencier les types de diabète au moment du diagnostic avant que les antécédents médicaux nécessaires soient détaillés et l'arrivée de toutes les constatations nécessaires (*Harreiter et Roden, 2019*).

1. Hémoglobine

2.1. Structure et fonction

L'hémoglobine humaine est un tétramère composé de 4 sous unités, les globines, identiques deux à deux (2 chaînes de types α et 2 chaînes non α) de nature protéique. Chacune des chaînes adopte une conformation spatiale lui donnant une forme globuleuse et ménageant une « poche » superficielle dans laquelle se trouve logé l'hème (figure 3). Grâce à ses 4 sous unités, une molécule d'hémoglobine peut fixer 4 molécules d'oxygène (Gillery, 2014).

Chaque monomère d'hémoglobine présente une chaîne de globine repliée en 8 hélices (A à H), l'hème étant située entre les hélices E et F (figure 3). A l'intérieur de ces segments hélicoïdaux, les résidus d'acides aminés sont numérotés d'après leur position.

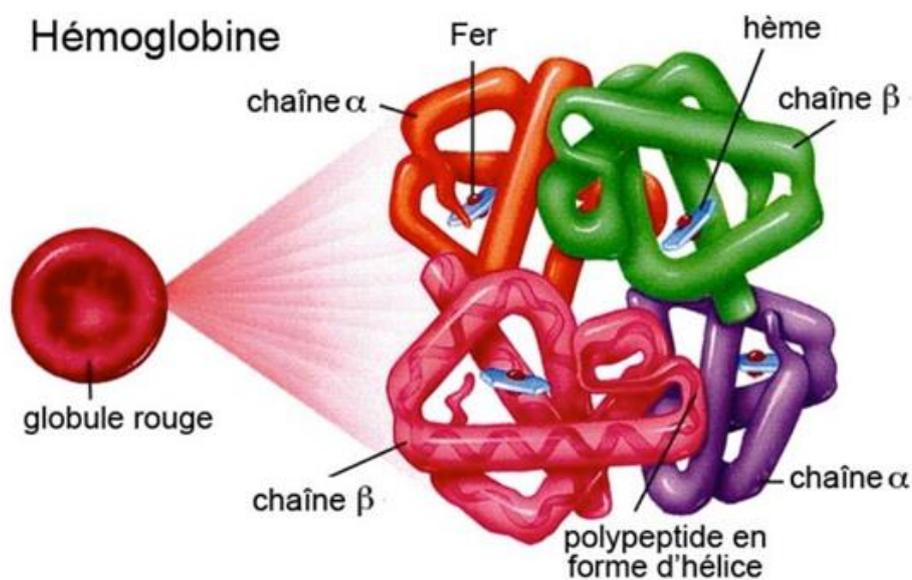


Figure 3: structure de la molécule d'hémoglobine (Anonyme, 2016).

La fonction principale de l'HbA est celle de transporter l'oxygène (O_2) des poumons aux tissus périphériques et le dioxyde de carbone (CO_2) des tissus aux poumons (Thom et al., 2013).

2.2. Types

2.2.1. Hémoglobine fœtale HbF

Elle est ainsi appelée car elle est présente dans chaque globule rouge du fœtus et juste après la naissance. Elle est composée de 2 chaînes α et 2 chaînes γ . L'Hb du fœtus présente une particularité, celle 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 (*Quirani Boucette, 2015*).

2.2.2. Hémoglobine de l'adulte HbA

L'HbA1 est composée de 2 chaînes α et 2 chaînes β et représente la quasi-totalité de l'hémoglobine adulte (95.5 à 97%). Alors que l'HbA2, est composée de 2 chaînes α et 2 chaînes γ et représente 2 à 3.5% de l'hémoglobine adulte (2).

2.2.3. Hémoglobine glycosylée (glyquée) HbA1c

Résulte d'une modification post-traductionnelle et représente 4% de l'hémoglobine adulte. Son dosage permet de surveiller efficacement un traitement à long terme chez un diabétique (*Monnier et Fumat, 2014*).

3. Hémoglobine glyquée

3.1. Définition et nomenclature

L'HbA1 est une molécule d'hémoglobine qui a subi une réaction de glycation. Cette réaction non enzymatique consiste à la fixation du glucose sur la fonction amine N-terminale d'une protéine (NH_2). La glycation est un phénomène lent et spontané, affectant toutes les protéines de l'organisme et est directement dépendant de la glycémie ainsi que la durée d'exposition au glucose. La molécule de glucose reste liée à l'hémoglobine pendant toute la durée de vie du globule rouge soit trois mois en temps normal (*Sepulchre et al., 2014*).

Etant le produit de glycation le plus dosé en biologie médicale, l'HbA1c est la fraction glyquée majeure de l'HbA. Initialement séparées par électrophorèse et par chromatographie d'échange ionique, les hémoglobines glyquées ont été dénommées en fonction de leur comportement chromatographique. Dans l'HbA1c, la réaction est

caractérisée par la fixation de glucose à l'extrémité N-terminale des chaînes β , de l'hémoglobine A (tableau 2) (Sepulchre et al., 2014).

Tableau 2: Différentes formes glyquées de l'HbA (Gillery, 2014):

HbA₀	HbA₁
<i>HbA non glyquée sur l'extrémité N-terminale</i>	<i>HbA glyquée sur l'extrémité N-terminale par :</i> <ul style="list-style-type: none"> - <i>HbA_{1a1} : fructose-1,6- di phosphate</i> - <i>HbA_{1a2} : glucose-6-phosphate</i> - <i>HbA_{1b} : pyruvate</i> - <i>HbA_{1c} : glucose</i>
<i>HbA glyquée totale : ensemble de fractions glyquées de l'hémoglobine</i>	

3.2. Facteurs influençant la glycation

La glycation est un phénomène naturel qui dépend de la moyenne des concentrations en glucose, de la vitesse de réaction de la glycation et du *turn-over* de la protéine (cycle protéolyse-synthèse des protéines). Les facteurs qui conditionnent les réactions de glycation *in vivo* sont de nature physico-chimique (température, pH), des facteurs liés aux protéines (demi-vie, accessibilité) ainsi que des facteurs liés aux oses (concentration, nature).

Par ailleurs, la glycation des protéines provoque des remaniements moléculaires, des altérations structurale et fonctionnelle des protéines et des mécanismes de vieillissement impliqués en pathologie (Karges et al., 2014).

3.3. Mécanisme de la formation de l'HbA1c

La glycation est un processus physiologique non enzymatique des protéines réalisé en deux étapes, la phase précoce et la phase tardive. Les fructosesamines sont des produits précoces de la glycation non-enzymatique des protéines. Cette dénomination désigne la fonction céto-amine (ou fructos amine) stable, formée par réarrangement moléculaire, dit d'Amadori, à partir de la base de Schiff instable initialement générée par la fixation du glucose (figure 4). Dans la phase tardive ces fonctions peuvent subir des réarrangements de type oxydatif aboutissant à la formation des produits de glycation avancée AGE

(advanced glycation end-products) (Gillery, 2014) et correspondant à la réaction de Maillard (Koga et al., 2015).

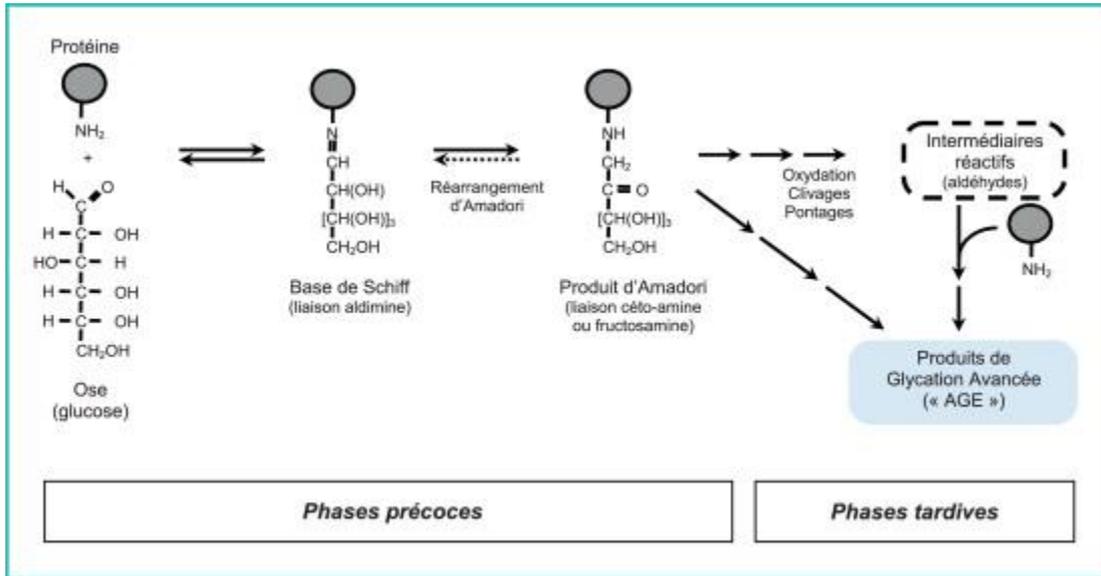


Figure 4: Schéma de la glycation avancée des protéines (Gillery, 2014).

L'HbA1c, qui représente près de 98% de l'hémoglobine humaine, est composé de quatre chaînes de globine (figure 5), comportant différents sites potentiels de glycation (β - Val -1, α -Lys-16, β -Lys-66, β -Lys-17, α -Val-1, α -Lys-7, β -Lys-120). Le site le plus réactif est le résidu de valine situé à l'extrémité N-terminale des chaînes β de la globine qui subit des réarrangements d'Amadori (glucose désoxy fructose). Sa glycation modifie significativement les propriétés physico-chimiques et immunologiques de l'hémoglobine, ce qui permet la caractérisation et le dosage des formes d'hémoglobine ainsi modifiées (Gillery, 2014).

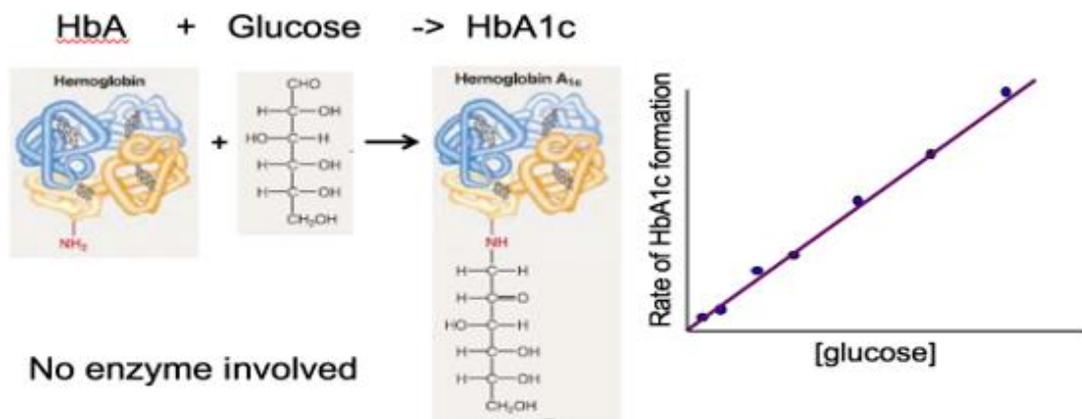


Figure 5: Mécanisme et vitesse de formation d'HbA1c (5).

3.4. Variations pathologiques

L'HbA glyquée est indépendante des variations journalières de la glycémie et n'est pas affectée par le jeûne, l'exercice physique, ni par l'ingestion récente de sucres. Elle augmente modérément avec l'âge (+0.6 de Hb totale entre 20 et 70ans)

Certaines situations pathologiques peuvent conduire à des résultats erronés. Les causes de l'erreur non liées à la méthode de dosage sont des modifications de la demi-vie des globules rouges et du métabolisme de l'HbA1c. Les hémolyses, les hémorragies, les anomalies quantitatives de l'hémoglobine (thalassémies), les traitements stimulant l'érythropoïèse diminuent l'HbA1c, à l'inverse, une carence martiale sévère entraîne un vieillissement prolongé des globules rouges et donc une augmentation de l'HbA1c (3).

3.5. Interférences analytiques

3.5.1. Hémoglobines anormales

Ce sont des anomalies génétiques autosomales récessives, le plus souvent dues à des mutations sur une des chaînes de globine (plus de 1000 variantes d'Hb sont actuellement décrits) (3). Les variantes les plus fréquentes sont l'Hbs (plutôt d'origine africaine), l'Hbe (sud-est asiatique), l'Hbc (Afrique) et les Hb de type d (Asie et Afrique). La présence d'un variant à l'état homozygote entraîne l'absence d'Hb et donc d'HbA1c. La présence d'un variant est le plus souvent asymptomatique, donc inconnu et les interférences analytiques diffèrent selon le type de variant présent et selon la méthode de dosage (*Wajcman et Galactéros, 2005*).

3.5.2. HbA1c labile

Elle est formée par la liaison instable d'un glucose à la valine N-terminale ou des deux chaînes globine de l'Hb. Elle est le reflet de situations hyperglycémiques récentes. C'est une fraction très instable puisque l'HbA1c labile peut rapidement revenir à un état « HbA0 » après relargage du glucose. Elle interfère surtout avec les techniques en HPLC car son élution est proche de celle de l'HbA1c et sa séparation est parfois incomplète (à évaluer par le biologiste). Elle n'interfère pas avec les techniques immunologiques ou de chromatographie d'affinité (3).

3.5.3. Hb carbamylée

La carbamylation de l'Hb se produit chez les patients insuffisants rénaux par fixation d'acide isodynamique provenant du catabolisme de l'urée à la valine N-terminale de l'une ou des deux chaînes β globine de l'Hb. Cette interférence existe avec les techniques de HPLC, car son élution est proche de celle de l'HbA1c et entraîne une séparation parfois incomplète. L'Hb carbamylée n'interfère pas avec les techniques immunologiques ou chromatographies d'affinité (3).

3.6. Intérêt clinique du dosage de l'HbA1c dans le diabète

La mesure de l'HbA1c permet :

- D'obtenir facilement une mesure de la glycémie moyenne, dans les 3 mois précédents.
- De prédire le risque de complications (macro- et micro- vasculaires).
- Une évaluation de l'efficacité thérapeutique (et du risque d'hypoglycémie).
- De fixer des objectifs thérapeutiques.

L'objectif du dosage de l'HbA1c doit être déterminé de façon individuelle en fonction de l'historique du diabète, des complications et des facteurs de risque cardiovasculaires. Les recommandations publiées par la HAS (Haute Autorité de Santé) en 2006 prenaient déjà en compte ces paramètres en prônant un équilibre plus ambitieux au stade initial par des mesures hygiéno-diététiques (HbA1c <6%) (tableau3) peut être moins exigeant sous mono- ou bi-thérapie (HbA1c < 7%). Chez les sujets âgés fragiles, l'objectif de l'HbA1c situé entre 7.5 et 8.5 % apparaît raisonnable (*Constans, 2005*).

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

L'HbA1c dans le suivi du diabète type 1

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

L'HbA1c dans le suivi du diabète de type 2

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

- Le dosage de l'HbA1c doit être effectué tous les 3 à 4 mois.
- Pour un patient donné, le dosage de l'HbA1c doit être pratiqué dans le même laboratoire, pour permettre la comparaison des résultats successifs.
- Les objectifs glycémiques se traduisent en objectifs de l'HbA1c.

Les critères suivants doivent être pris comme référence.

Tableau 3: Correspondances HbA1C (%)- HbA1c (mmole/mole) -glycémie moyenne (g/l)- glycémie moyenne (mmole/l) (*Radermecker et al., 2014*).

HbA1c (%)	HbA1c (mmole/mole)	Glycémie plasmatique moyenne (g/l)	Glycémie plasmatique moyenne (g/l)
4	20	0.65	3.5
5	31	1.00	5.5
6	42	1.35	7.5
7	53	1.70	9.5
8	64	2.05	11.5
9	75	2.40	13.5
10	86	2.75	15.5
11	97	3.10	17.5
12	108	3.45	19.5

Chapitre II

Méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c)

La formation de l'hémoglobine glyquée, en particulier la fraction A1c (HbA1c), se produit lorsque le glucose devient couplé avec la valine de l'acide aminé dans la chaîne β de l'Hb. Cette réaction dépend de la concentration plasmatique de glucose. Depuis le début des années 1970, on sait que les diabétiques affichent les valeurs anormales d'HbA1c parce qu'elles ont une élévation de concentrations du glucose dans le sang. Ainsi, l'HbA1c a acquis un rôle très important dans le traitement et le diagnostic du diabète sucré. Après l'introduction de la première mesure quantitative de l'HbA1c, de nombreuses méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée ont été introduites avec différents principes (*Penttilä et al., 2016*) se basant sur les propriétés physico-chimiques (la charge), antigéniques (peptide β -N-terminal) et structurales (fructosylvaline) (*Gillery, 2014*).

1. Technique de dosage de l'hémoglobine glyquée

1.1 Phase pré-analytique

Le prélèvement se fait sur du sang veineux au pli du coude, le dosage est réalisé sur le sang total dans un tube contenant l'EDTA (l'anticoagulant le plus utilisé), d'autres anticoagulants (sels d'héparine, mélange ACD) peuvent être utilisés, dans des conditions variables selon les méthodes.

Le dosage doit être réalisé le plus rapidement possible, de façon à éviter la dégradation de l'hémoglobine ou la poursuite art factuelle de la réaction de glycation dans les tubes. L'échantillon ne doit pas être conservé à 4 °C plus de 72h. Il est nécessaire de réaliser un prétraitement consistant à provoquer une hémolyse et à éliminer les fractions labiles de l'hémoglobine glyquée non corrélées à l'équilibre glycémique (*Marzullo et Minery, 2008*).

1.2. Méthodes de dosage de l'HbA1c

Plus de 20 méthodes de routine différentes prétendant mesurer l'HbA1c sont à la disposition des laboratoires cliniques. Ces méthodes sont de type chromatographiques, électrophorétiques, ou immunologiques (*Patiño-Fernández et al., 2010*).

1.2.1. Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée totale

1.2.1.1. Chromatographie d'affinité

Les hémoglobines glyquées ont une affinité pour les dérivés des acides boroniques et phenylboroniques. L'affinité boronate est une méthode structurellement spécifique qui

reconnaît les groupes cis-diol du glucose lié à l'Hb. Cela tend à démontrer la moindre interférence analytique de la présence de variantes d'Hb hétérozygotes.

Cette méthode de séparation utilise généralement l'acide-amino phényl boronique et dépend d'une interaction spécifique entre le glucose sur l'Hb glyquée et l'acide boronique immobilisé. Elle fournit un visuel de séparation chromatographique des produits Hb glyqués et non glyqués. Bien que les méthodes d'affinité au boronate mesurent l'Hb glyquée totale, les résultats sont rapportés comme HbA1c corrigée équivalente (*Rhea et al., 2013*).

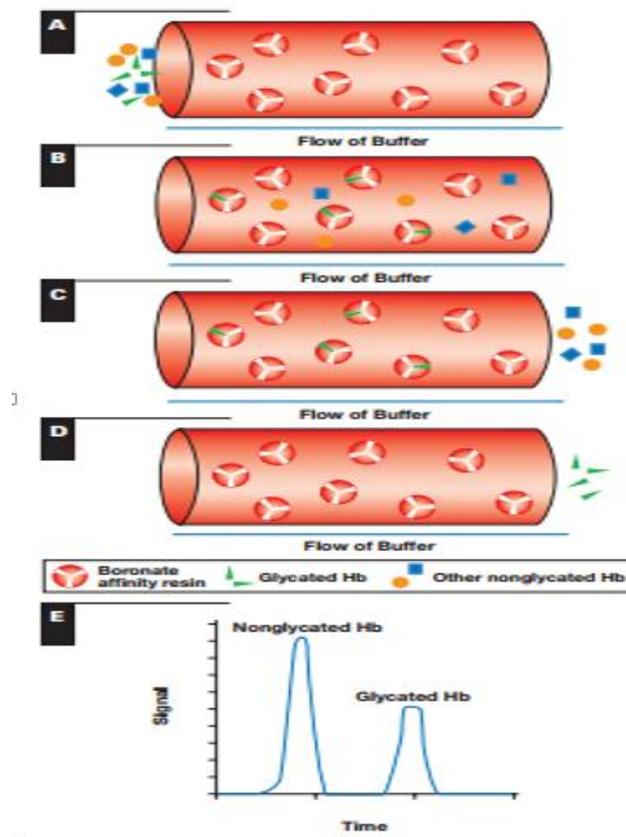


Figure 6: Chromatographie d'affinité au boronate pour l'hémoglobine glyquée (*Rhea et al., 2013*).

Mesure HbA1c, le lysat du patient RBC est injecté sur une colonne analytique contenant une résine liée à l'acide *m*-aminophénylboronique. À un pH supérieur à 8,0, les groupes cis-diol de l'Hb glyquée réagissent avec l'acide *m*-aminophénylboronique (B) et sont ensuite liés à la colonne tandis que d'autres espèces d'Hb non glycosylées traversent (C). Un tampon acide est utilisé pour libérer les molécules d'Hb glyquée liées de la colonne (D). Le panneau E est un chromatogramme simplifié (ligne bleue) démontrant la séparation des espèces Hb non glycosylée et glycosylée. La trace du chromatogramme pour l'Hb non glycosylée est pas dessiné à l'échelle. Les méthodes d'affinité boronate mesurent le total Hb glyquée mais rapportent les résultats comme un équivalent d'HbA1c corrigé.

1.2.2. Méthodes dosant spécifiquement l'HbA1c

1.2.2.1. 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. Les anticorps libres sont agglutinés à l'aide d'un polymère synthétique présentant plusieurs répliques de la partie N-terminale de la chaîne β de l'HbA1c. La variation de turbidité est inversement proportionnelle à la quantité de glycoprotéines liées et est mesurées par turbidimétrie. La figure résume de façon schématique ce principe.

Un polypeptide synthétique comprenant la partie N-terminale de l'HbA1c est utilisé pour la calibration. Le résultat final est exprimé en pourcentage d'HbA1c et calculé à partir du rapport HbA1c/Hb.

Ces techniques ont une très bonne spécificité. Les principales interférences sont la présence des variantes de l'Hb, d'Hb anormale ou d'HbF (4).

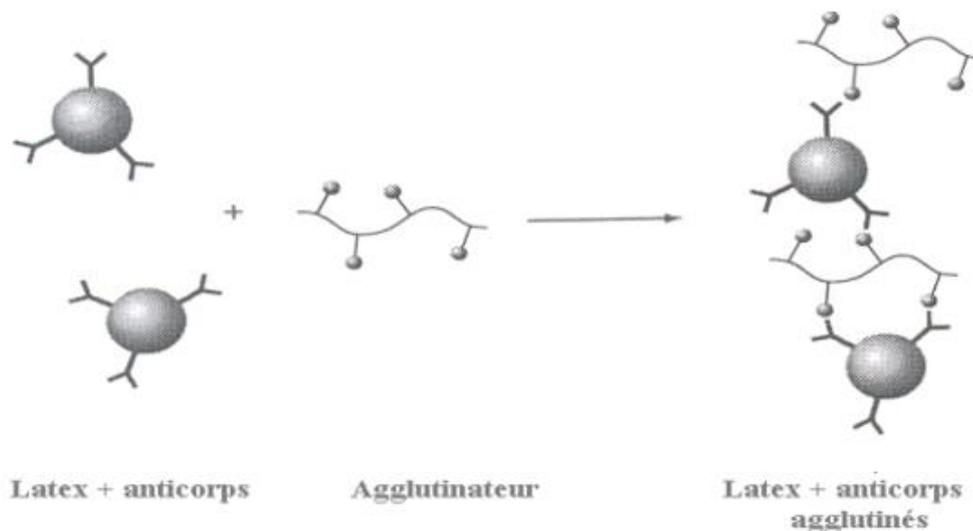


Figure 7: Principe de dosage de l'HbA1c par immuno-turbidimétrie (4).

1.2.2.2. Chromatographie d'échange d'ions

Cette méthode repose sur la différence d'interaction entre les molécules chargées à séparer et la phase stationnaire qui est constituée d'un support macromoléculaire chimique comme le dextrane, la cellulose ou le gel polyacrylamide sur lequel sont greffés par liaison covalente des groupements soient acides, susceptibles de se charger négativement ou

positivement, Il s'agit alors respectivement d'échangeur de cations ou d'anions (Christopher, 2020).

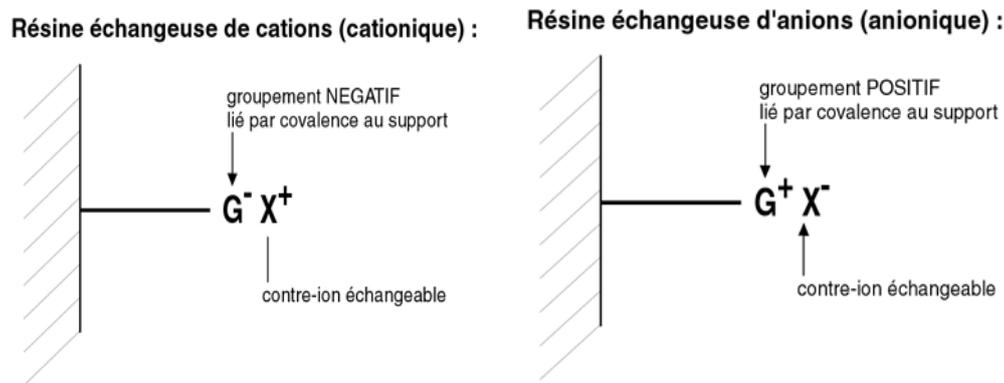


Figure 8: Résine échangeuse de cations (résine cationique) et d'anions (résine anionique).

Concernant le dosage de l'HbA1c par cette méthode, la fixation du glucose sur l'extrémité N-terminale de la valine de la chaîne de la globine entraîne une augmentation de la charge négative par diminution de la charge positive du groupement amine. Cela constitue le principe de cette méthode qui est la séparation en fonction de la charge nette de l'hémoglobine glyquée sur l'extrémité N-terminale des chaînes α qui est plus négative que celle l'HbA0, à pH neutre.

L'hémolysât est déposé sur une colonne remplie des résines chargées négativement. Les hémoglobines rapides : HbA1a, HbA1b, HbA1c sont d'abord éluées puis la fraction principale HbA0 (Doffon et Bakary, 2009).

1.2.2.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

La chromatographie liquide a pour rôle l'identification, la purification et la quantification d'un ou plusieurs composés d'un mélange.

Le principe de cette technique est la mise en solution dans un solvant des composés à séparer. Ce mélange est introduit dans une phase mobile (éluant) liquide suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé la colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique (Figure 9). Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En

sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (7).

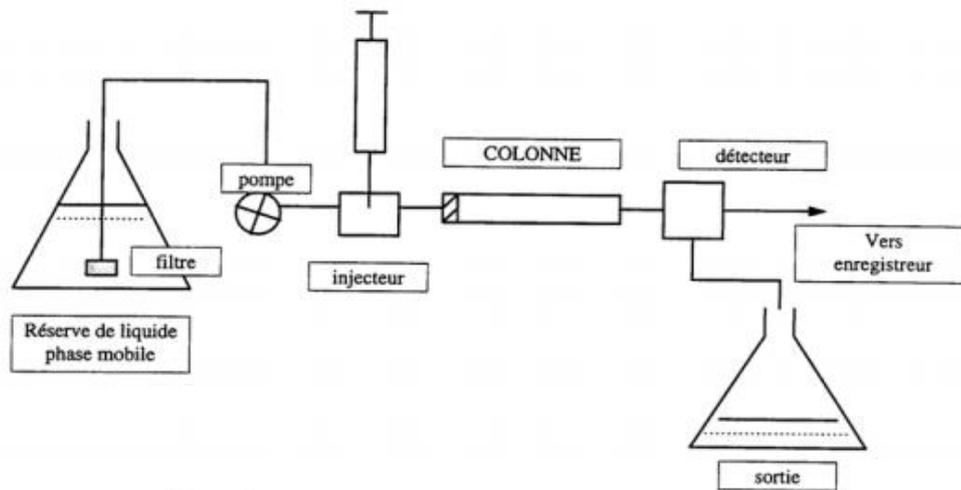


Figure 9: Principe de fonctionnement de l'HPLC (*Boudehenn et Gambier, 2011*).

Le dosage de l'HbA1c repose sur une méthode de CLPH 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. Un compte rendu d'analyse et un chromatogramme sont générés pour chaque échantillon (*Marzullo et Minery, 2008*).

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 carmabylée de la surface du pic A1c. La partie « matériel et méthodes » illustre un exemple de chromatogramme obtenues avec la méthode D-10® HbA1c.

1.2.2.4. L'électrophorèse

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective : les anions migrent vers l'anode et les cations migrent vers la cathode. En ce qui concerne les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Du fait de leurs caractéristiques propres et des conditions de l'électrophorèse, la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces ions différents. Cela permet ainsi de les séparer (*Bauduceau et al., 2008*).

L'électrophorèse en gel d'agarose ou acétate de cellulose (électro-endosmose) permet la migration en bloc de toutes les fractions d'HbA1. Certains systèmes peuvent également séparer spécifiquement la fraction HbA1c. Cette technique permet de mettre en évidence la plupart des Hb anormales sauf les hémoglobines modifiées (Hb carbamylées). L'obtention de résultats reproductibles exige une transparence homogène du gel pour permettre une lecture correcte. Ces techniques délicates fournissent en général des résultats plus élevés (*Doffon et Bakary, 2009*).

Les différences de composition des diverses hémoglobines en acide aminés chargés permettent de séparer ces dernières par l'électrophorèse. Il est aussi possible de distinguer par électrophorèse à pH 9,2(Tris, EDTA, glycine) différentes hémoglobines telles que les hémoglobines A1, A2, F, S, C, etc (*1*).

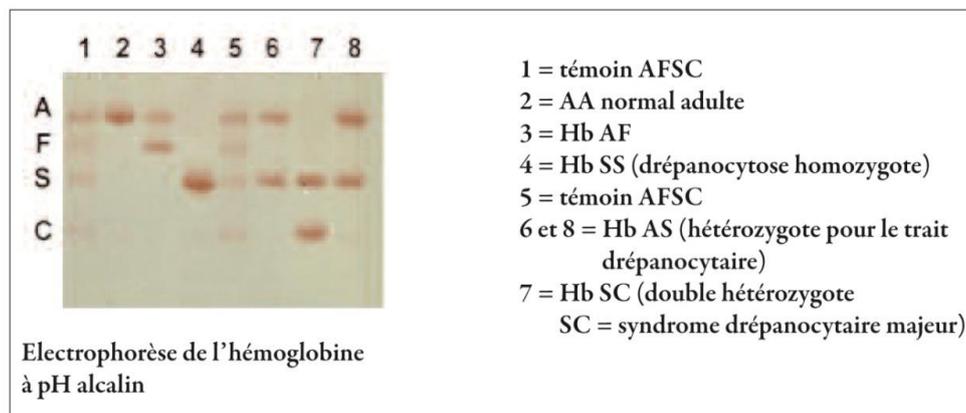


Figure 10: Electrophorèse de l'hémoglobine à pH alcalin (8).

2. Standardisation du dosage de l'hémoglobine glyquée

En biologie clinique, la standardisation est indispensable pour permettre une comparaison inter-laboratoires des résultats. Plusieurs sociétés scientifiques ont consacré leurs travaux à l'atteinte de cet objectif (*Zendjabil, 2015*).

Dans les années 1990, une première tentative de standardisation a été apportée par le NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program*), système pragmatique reposant sur une comparaison des méthodes de dosage par rapport à une chromatographie d'échange d'ions sur résine bio-rex70 (HbA1c non pure). Cette méthode a longtemps été reconnue comme méthode de référence car elle avait été utilisée dans les deux grandes études internationales (DCCT et UKPDS). Parallèlement était développée la méthode

IFCC (*International Federatin of Clinial Chemisytry*) qui définit l'analyte de référence HbA1c comme l'hexapeptide N-terminal après digestion enzymatique par l'endoprotéinase, et la méthode de référence (chromatographie liquide haute performance en phase inverse couplée à une spectrométrie de masse ou à une électrophorèse capillaire) (*Gillery, 2014*).

Cette technique, lourde, n'est pas adaptée aux dosages de routine, mais permet de calibrer les méthodes destinées à être utilisées dans les laboratoires. Elle est plus spécifique que la méthode NGSP. Toutefois, les valeurs chiffrées obtenues selon la standardisation IFCC sont 1.5 à 2% plus basses que celles obtenues avec le 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 mmole/mole ou soit en unités dérivées (pourcentage d'Hb totale) par une conversion utilisant une équation directrice (*Quirani Boucette, 2015*).

Une relation mathématique, dite « équation directrice », a été établie entre la méthode de référence IFCC et les différents autres programmes de standardisation. Ainsi, Les équations principales pour convertir les unités IFCC en unités NGSP sont établis et surveillés par les réseaux IFCC et NGSP (*Weykamp, 2013*) :

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

$$\mathbf{IFCC \text{ mmol / mol} = 10,93 \text{ NGSP\%} -23,5}$$

Tableau 4 : HbA1c : Equivalence entre les valeurs obtenues par la méthode IFCC et les méthodes reconnues par le NGSP (DCCT/UKPDS) (ADA, 2006).

Méthode	HbA1c normale	Cible thérapeutique (ADA)	Contrôle insuffisant (ADA)
DCCT/UKPDS (NGPS)	4-6%	<7%	>8%
IFCC	3-4%	<5%	>6%

3. Facteurs influençant les résultats du dosage de l'HbA1c

3.1. Durée de vie des globules rouges

Le taux d'HbA1c est corrélé au taux moyen de glycémie et est fonction de la durée pendant laquelle l'HbA est exposée à ce taux de glucose. En l'occurrence, cette durée va dépendre de la durée de vie moyenne des globules rouges qui est d'environ 120 jours (3-4 mois). Lorsque la durée de vie du globule rouge est inférieure à 120 jours, la glycation a lieu au cours de toute la vie du globule rouge dès les stades érythropoïétiques (phénomène cumulatif). Celle-ci se fera sur une plus courte durée donc l'HbA1c sera diminué (*Toso et al., 2006*).

3.2. Présence d'hémoglobine anormale

Les hémoglobinopathies peuvent également être source d'erreurs de dosage. La présence d'une hémoglobine fœtale (HbFco-éluant avec l'HbA1b) peut majorer le dosage de l'HbA1c tandis que les hémoglobines S (drépanocytose) et C (co-éluant avec l'HbA) vont sous-estimer sa valeur (*Gillery et al., 2000*).

3.3. Autres conditions pathologiques pouvant influencer le dosage de l'HbA1c

Les vitamines C et E, qui protègeraient les protéines de la glycation, pourraient aussi altérer la précision des mesures. Les modifications du pH sanguin peuvent également altérer ce processus. Des facteurs extrinsèques, comme une intoxication alcoolique ou aux opiacées, ou une prise chronique d'acide salicylique, peuvent également entraîner des variations des taux d'HbA1c en modifiant la charge de l'hémoglobine.

D'autres médicaments comme la dapson (utilisée comme anti-lépreux et immuno-modulateur, et qui peut entraîner des hémolyses), certains anti-rétroviraux (ribavirine et interféron), ou même peut-être les glitazones, en raison de l'hémodilution qu'elles peuvent entraîner, peuvent engendrer une sous-estimation de la valeur de l'HbA1c.

Des interférences peuvent également être observées, en fonction de la méthode du dosage choisie, si le patient présente une hypertriglycémie ou d'une hyperbilirubinémie. La méthode par HPLC, est moins sujette à ce type d'influence.

D'autres situations pathologiques complexes, potentiellement associées au diabète, peuvent fausser la mesure de l'HbA1c. C'est le cas de l'insuffisance rénale qui peut par différents mécanismes (acidose, anémie, modification de la durée de vie des érythrocytes ou présence d'hémoglobine carbamylée) altérer sa mesure. Le cas particulier de la présence d'hémoglobine carbamylée doit être souligné. Il peut mettre en défaut la méthode HPLC si un examen méticuleux des tracés n'est pas effectué.

C'est également le cas des patients présentant une pathologie hépatique chronique, même sans cirrhose ou splénomégalie, chez qui les valeurs d'HbA1c seront basses et pour lesquelles l'examen du carnet d'auto-surveillance permet de rétablir la juste vision clinique du contrôle glycémique. Le mécanisme de cette sous-estimation reste encre obscur.

L'alcoolisme peut avoir plusieurs conséquences sur le dosage de l'HbA1c : une surestimation due à la suppression érythropoïétique ou la formation d'acétaldéhyde, une sous-estimation en cas d'hypertriglycémie ou de pathologie hépatique associée (*Gallagher et al., 2008*).

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

L'objectif de cette étude comparative de type analytique est d'évaluer la fiabilité du dosage de l'hémoglobine glyquée HbA1c par deux techniques d'analyses différentes et utilisant trois systèmes automatisés différents.

1. Echantillonnage et collecte des données

1.1. Période d'étude

Cette étude a été effectuée durant la période allant du début Février jusqu'à début Mars 2020 au niveau de trois laboratoires d'analyses médicales privés à Guelma.

1.2. Population d'étude

L'étude a été portée sur 30 patients dont le sexe et l'âge ont été notés. L'échantillon du sang prélevé au niveau d'un laboratoire subit un dosage de l'HbA1c dans ce même laboratoire utilisant une certaine technique puis le même dosage est effectué dans les deux autres laboratoires possédant les deux techniques différentes.

En plus du dosage de l'HbA1c, les échantillons sanguins des sujets ont fait également l'objet de dosage du taux des paramètres suivants :

- La glycémie à jeun
- Taux de triglycérides

1.3. Recueil des données

Le recueil des données a été réalisé à l'aide d'une fiche de renseignement contenant les informations suivantes :

- Identification âge et sexe
- Résultats HbA1c par HPLC-MEDCONN
- Résultats HbA1c par HPLC-D-10
- Résultats HbA1c par Immuno-Turbidimétrie

2. Matériel et méthodes

2.1. Prélèvement sanguin

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur du sang veineux à partir de la veine superficielle du pli du coude et ce, après un jeûne d'une durée de 8 heures au minimum. Il est

à noter que pour le dosage de l'HbA1c, le jeûne n'est pas nécessaire puisqu'il n'influence pas le résultat de l'analyse.

- Pour le dosage de la glycémie, le prélèvement sanguin se fait sur un tube sec ou hépariné.
- Pour le dosage de l'HbA1c sur les deux systèmes automatisé MEDCONN et D-10 par la méthode HPLC, le prélèvement sanguin se fait sur tube vacutainer EDTA (éthylène diamine tétra-acétique).
- Pour le dosage de l'HbA1c sur l'automate SLECTRAProM, le prélèvement sanguin se fait sur tube EDTA.

2.2. Equipements

- Deux automates utilisant la méthode HPLC, le premier est le D-10[®] et Turbo Variant II de Bio-Rad, automate Allemand de référence à l'échelle international. Le deuxième est le MEDCONN[®] (référé aussi MQ-2000 PT) de Runda Group[®] nouvel automate Chinois intégré dans le marché Algérien.
- Un automate multiparamétrique de biochimie qui dose l'HbA1c par la méthode d'immuno-turbidimétrie, SELECTRA PRO M[®] de la société ELITechGroup[®].
- Centrifugeuse
- Réactifs pour le dosage de la glycémie ((Biosystem)) et réactif des autres systèmes automatisés
- Micropipettes Tubes sec, hépariné, EDTA et EDTA vacutainer
- Portoir
- Glaciaire pour le transport des prélèvements

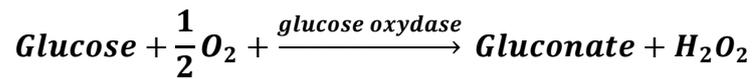
2.3. Méthodes analytiques

2.3.1. Dosage de la glycémie

Le dosage de la glycémie a été effectué par l'automate SELECTRA PRO M après centrifugation du sang à 4000 RPM pendant 5 min afin de séparer le sérum du reste des constituants sanguins.

Principe

Le dosage du glucose du plasma sanguin est réalisé par une méthode enzymatique colorimétrique. En présence du glucose oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Selon la réaction suivante :



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



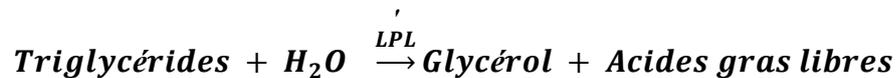
L'intensité de la coloration du quinonéimine, mesurée à 505 nm, est proportionnelle à la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

2.3.2. Dosage des triglycérides

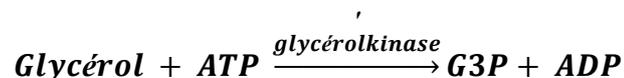
Le dosage des triglycérides a été effectué après centrifugation du sang à 4000 RPM pendant 5 min afin de séparer le sérum du reste des constituants sanguins.

Principe

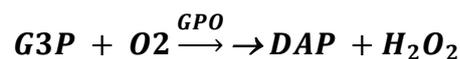
Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres selon la réaction suivante :



Le glycérol est phosphorylé par la glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l'ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP) selon la réaction suivante :



Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par le GPO selon la réaction suivante :



Au final, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) réagit avec du 4-aminophénazone (4- AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge selon la réaction suivante :



L'intensité de la coloration du quinonéimine, mesurée à 505 nm, est proportionnelle à la quantité des triglycérides présents dans l'échantillon.

2.3.3. Dosage de l'HbA1c par technique d'immuno-turbidimétrie

Le SELECTRA PRO M[®], est un automate multiparamétrique dont le panel d'analyse s'étend à la biochimie.

Principe

La technique de dosage de l'HbA1C sur le SELECTRA PRO M[®] repose sur le principe de l'immuno-turbidimétrie amplifiée par des particules de latex. La méthode est une mesure photométrique du trouble amené par la réaction antigène-anticorps. La mesure se fait en point final à 600nm pour déterminer directement la concentration en HbA1c dans le sang total après l'avoir traité par une solution hémolysante (Azide de Sodium).

Dans une première réaction, l'échantillon est mis en contact avec un réactif contenant des particules de latex non sensibilisées. L'affinité de l'HbA1c pour ces particules étant identique à celle de l'hémoglobine totale, le % HbA1c présent dans l'échantillon est proportionnel à la quantité d'HbA1c liée au latex.

Dans la deuxième réaction, un réactif qui contient un anticorps monoclonal de souris anti-HbA1c humaine et un anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris est ajouté. Des complexes d'agglutination sont formés entre l'HbA1c liée au latex et les anticorps correspondants. La turbidité engendrée par la formation de ces agrégats est proportionnelle à la quantité d'HbA1c liée au latex et donc au pourcentage d'HbA1c présent dans l'échantillon. Une courbe de calibration non linéaire permet ensuite d'obtenir le pourcentage (%) d'HbA1c.

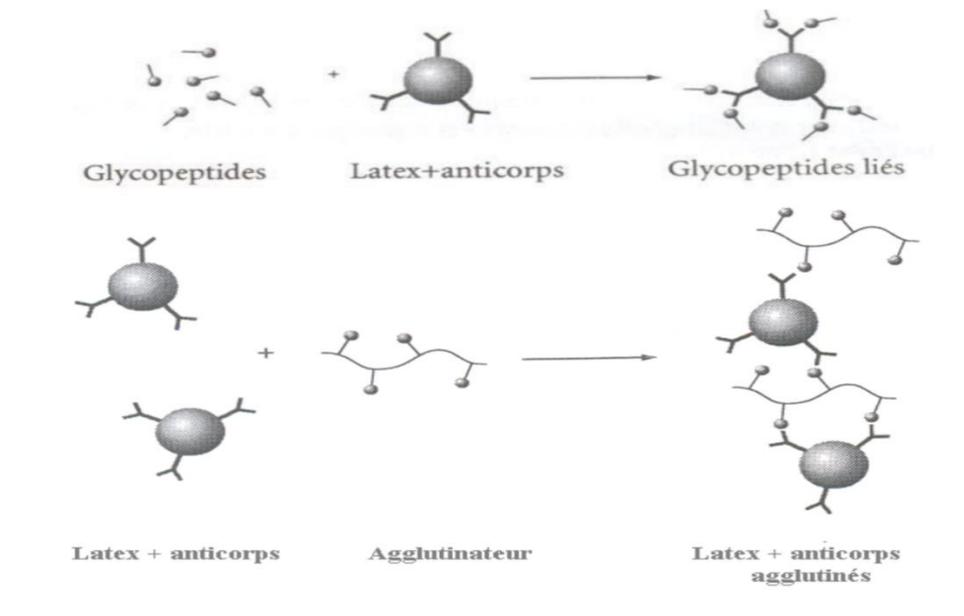


Figure 11: Schéma illustrant le principe du dosage de l'HbA1c par immuno-turbidimétrie (Chicha et El Kebir, 2019).

2.3.4. Dosage de l'HbA1c par technique HPLC

2.3.4.1. Présentation et principe de l'analyseur D-10

L'analyseur D-10 de Bio-Rad, est un automate de chromatographie liquide haute performance (HPLC) multi-paramétrique pour le dosage des hémoglobines A1C (HbA1C), A2, F et le dépistage des variantes de l'hémoglobine. Dans notre étude, nous l'avons utilisé seulement dans le cadre du dosage de l'HbA1C. 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 μ L, une enceinte thermostatée contenant la colonne échangeuse d'ions, un détecteur (diode électroluminescente) ;
- Un module électronique comprenant une imprimante, un écran tactile et un PC équipé d'un logiciel de pilotage de l'automate permettant une connexion avec le système d'information du laboratoire.

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

2.3.4.2. Présentation et principe de l'analyseur MEDCONN®

L'analyseur MEDCONN® (MQ-2000 PT) de Runda Group®, est un automate de chromatographie liquide haute performance multi-paramétrique pour le dosage de l'HbA_{1c}. La phase liquide est constituée des trois composants suivants :

- **Agent hémolysant H** : phosphate salin tensioactif ou agent de surface.
- **Éluent A (faible concentration et pH élevé)** : acide citrique azoture de sodium agent bactériostatique stabilisateur.
- **Éluent B (forte concentration et pH diminué)** : acide citrique azoture de sodium agent bactériostatique stabilisateur.

La phase stationnaire est un polymère hydrophile, carcasse inoxydable et joint d'étanchéité.

Après les prélèvements du sang sur des tubes EDTA, les échantillons sont placés dans un portoir puis déposés dans le système MEDCONN (MQ-2000 PT)

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 près du bouchon par l'aiguille de prélèvement évitant ainsi tout risque d'accident par exposition au sang.

L'analyseur MQ-2000 PT filtre et hémolyse le sang (Agent hémolysant H) avant la séparation sur la colonne.

Le logiciel de l'analyseur MEDCONN (MQ-2000 PT) 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 (le chromatogramme et le taux de l'HbA_{1c} en %). Les résultats de HbA_{1c} sont présentés en pourcentage ($100 \times \text{HbA}_{1c} / \text{Hb totale}$).

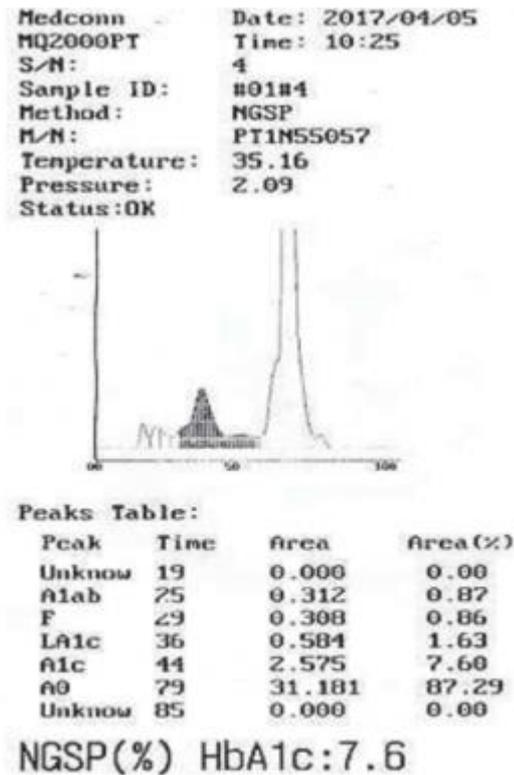


Figure 13 : Schéma illustrant le compte rendu de l'analyse et le chromatogramme MEDCONN (MQ-2000 PT).

2.4. Analyse statistique

La comparaison entre les taux de glycémie, d'HbA1c et de triglycérides chez les personnes diabétiques et non diabétiques a été effectuée par le logiciel GraphPad Prism5, en utilisant le test t de student avec un seuil de signification statistique défini par une valeur de $p < 0.05$.

L'analyse statistique de corrélation a été faite par EXCEL 2013 et a pour but d'étudier la corrélation entre 2 variables quantitatives et de trouver la droite de régression linéaire simple.

- **La corrélation de Pearson**

Le coefficient de Pearson est un indice reflétant une relation linéaire entre deux variables continues. Le coefficient de corrélation varie entre -1 et +1, 0. Par convention la relation entre les deux variables est dite :

- Parfaite si $r = 1$.
- Très forte si $r > 0,8$.
- Forte si r se situe entre 0,5 et 0,8.

- **La corrélation du Spearman**

Le coefficient de Spearman est un cas particulier du coefficient de Pearson, calculé à partir des transformations des variables originelles

- **La régression linéaire :**

L'analyse régression simple est une méthode statistique de modélisation des relations entre les variables (dépendantes et indépendantes). Elle est utilisée pour décrire et analyser les relations entre les données. La droite des moindres carrés se formule ainsi : $Y = aX + b$.

Résultats et Interprétation

En se basant sur les taux d'HbA1c supérieurs à 6 g/L et dosés par HPLC D-10, nous avons pu distinguer parmi les 30 sujets étudiés, 17 sujets diabétiques contre 13 sujets diabétiques.

1. Répartition des sujets diabétiques selon le sexe

Dans cette étude, la répartition des sujets diabétiques étudiés selon le sexe est représentée dans la figure 14. Les résultats montrent qu'il existe une prédominance des sujets féminins dans l'échantillon soit 58,80 % de l'effectif total par rapport aux sujets masculins qui représentent 41,20 % avec une sex-ratio (H/F) de 0,69.

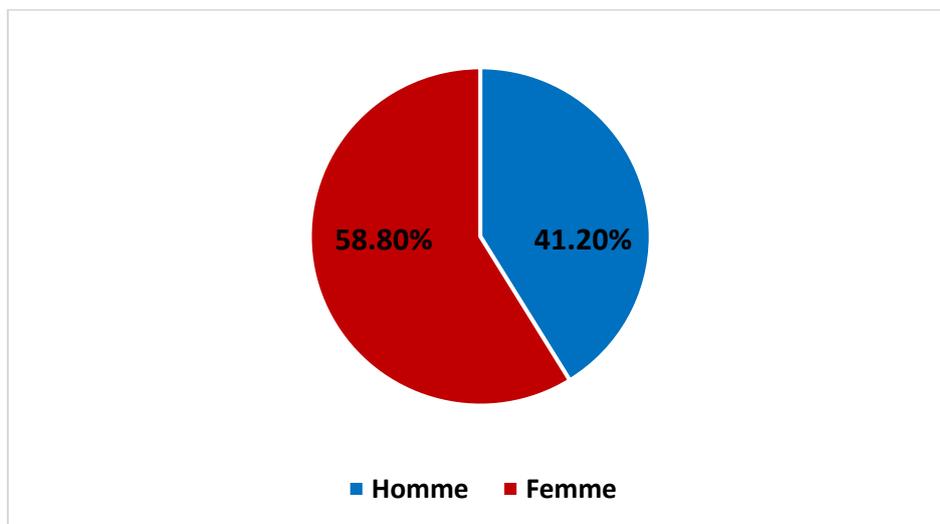


Figure 14 : Répartition des sujets diabétiques étudiés selon le sexe.

2. Répartition des sujets diabétiques selon l'âge

La figure 15 représentant les sujets diabétiques répartis en trois tranches d'âge, que les sujets ayant un âge compris entre 45 et 65 sont les plus nombreux sujets toujours avec une prédominance féminine (7 femmes / 2 hommes). Les deux autres tranches, entre 25 et 45 ans et âgés de plus de 65 ans, ont 4 sujets chacune.

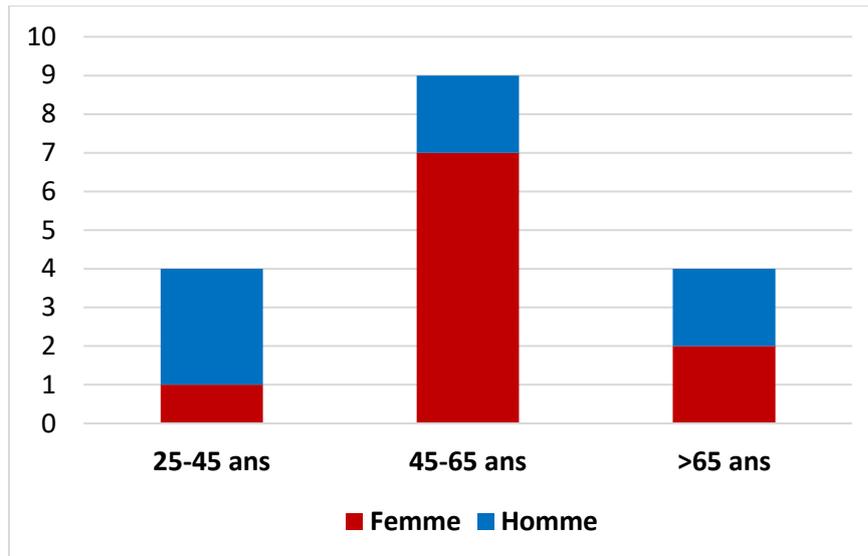


Figure 15: Répartition des sujets diabétiques selon l'âge et le sexe.

3. Comparaison des taux des paramètres biochimiques chez les sujets diabétiques et non diabétiques

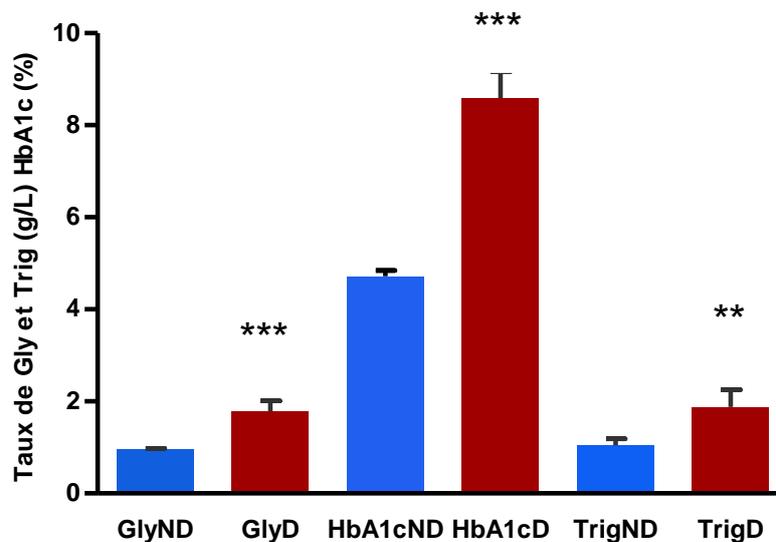


Figure 16: Comparaison entre les taux de glycémie (Gly), d'HbA1c et de triglycérides (Trig) chez les sujets non diabétiques (ND) et les diabétiques (D).

Chaque barre représente la moyenne \pm S.E.M. des taux de glycémie, d'HbA1c et de triglycérides chez les sujets diabétiques et non diabétiques. Les différences entre les résultats des paramètres biochimiques chez les diabétiques contre les non diabétiques ont été analysées par le test-t de student. (* $p < 0,05$).

D'après la représentation de la figure 16, il est clair que les taux de glycémie, d'HbA1c et de triglycérides estimés respectivement chez les sujets diabétiques à $1,78 \pm 0,22$ g/L ; $8,58 \pm 0,57$ g/L et $1,87 \pm 0,37$ g/L, sont tous significativement supérieurs à ceux des sujets

diabétiques estimés respectivement à $0,95 \pm 0,02$ g/L ; $4,72 \pm 0,12$ g/L et $1,04 \pm 0,14$ g/L. Ceci révèle la perturbation du métabolisme glucidique que cause le diabète.

4. Analyse de corrélation entre les trois méthodes de dosage d'HbA1c

L'analyse bivariée est une étude de corrélation et de régression linéaire pour toutes les valeurs du dosage de l'HbA1c obtenue par deux méthodes HPLC et immuno-turbidimétrie réalisés sur trois automates différents.

L'ensemble des critères de corrélation deux à deux des trois méthodes de cette étude est représenté dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5: Critères de corrélation deux à deux des trois méthodes étudiées

<i>Couple X/Y</i>	<i>Y = a X + b</i>	<i>r (Coefficient de corrélation)</i>	<i>Ratio X/Y</i>
<i>D-10 / MEDCONN</i>	<i>Y = 0,92 X + 0,93</i>	<i>0,989</i>	<i>1,07</i>
<i>D-10 / TURBIDI</i>	<i>Y = 0,63 X + 2,32</i>	<i>0,939</i>	<i>1,00</i>
<i>MEDCONN / TURBIDI</i>	<i>Y = 0,67 X + 1,80</i>	<i>0,943</i>	<i>0,94</i>

4.1. Corrélation entre les deux méthodes HPLC D-10 et MEDCOON

La figure 17 montre la corrélation entre les valeurs de l'HbA1c obtenues par HPLC D-10 et celles obtenues par HPLC MEDCOON avec en parallèle le diagramme de différence (figure18).

La régression linéaire montre une excellente corrélation significative ($r = 0,989$ très proche de 1) entre les résultats des deux techniques avec une équation du type $Y = 0,92 X + 0,93$ où X représente le pourcentage de l'HbA1C obtenu avec le D-10 et Y celui obtenu avec le MEDCOON. La commuabilité des résultats entre les deux techniques par HPLC est remarquable avec un ratio des moyennes égal à 1,07.

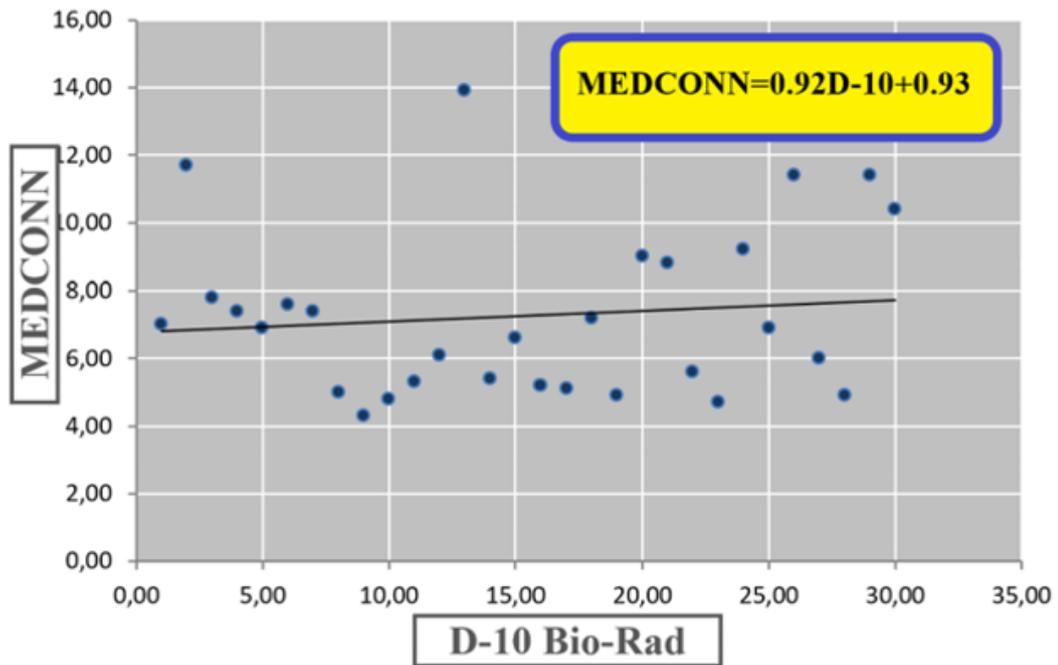


Figure 17: Diagramme de corrélation D-10/MEDCONN selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le MEDCONN (Méthodes HPLC).

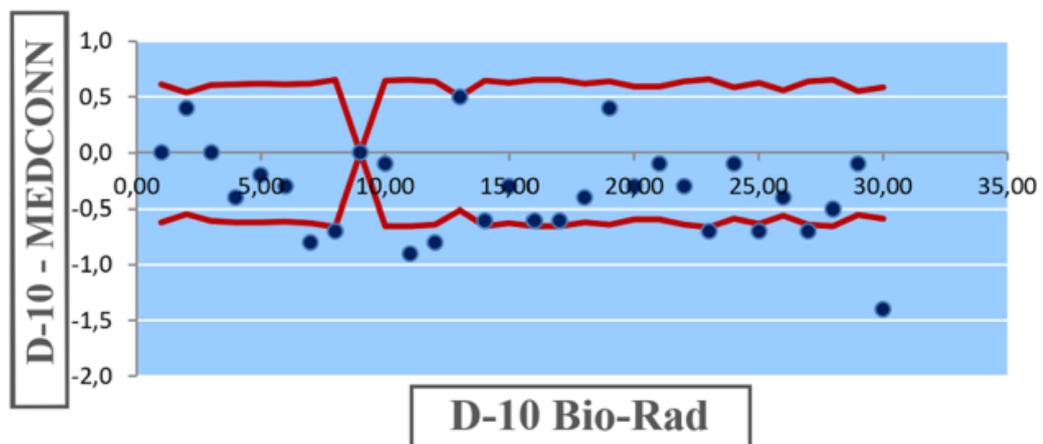


Figure 18: Diagramme des différences D-10/MEDCONN selon Bland Altman du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et le MEDCONN (Méthodes HPLC).

4.2. Corrélation entre les deux méthodes HPLC D-10 et immunoturbidimétrie (SELECTRA)

La figure 19 montre la corrélation entre les valeurs de l'HbA1c obtenues par HPLC D-10 et celles obtenues par l'immunoturbidimétrie (SELECTRA) accompagné du diagramme de différence indiqué dans la figure 20.

Le calcul du coefficient de corrélation ($r = 0,939$ très proche de 1) montre une très forte corrélation entre les deux techniques et qui est indiquée par l'équation de régression linéaire $Y = 0,63 X + 2,32$ où X représente le pourcentage de l'HbA1C obtenu avec le D-10 et Y celui obtenu avec le SELECTRA. La commuabilité des résultats entre les deux techniques par HPLC est remarquable avec un ratio des moyennes égal à 1.

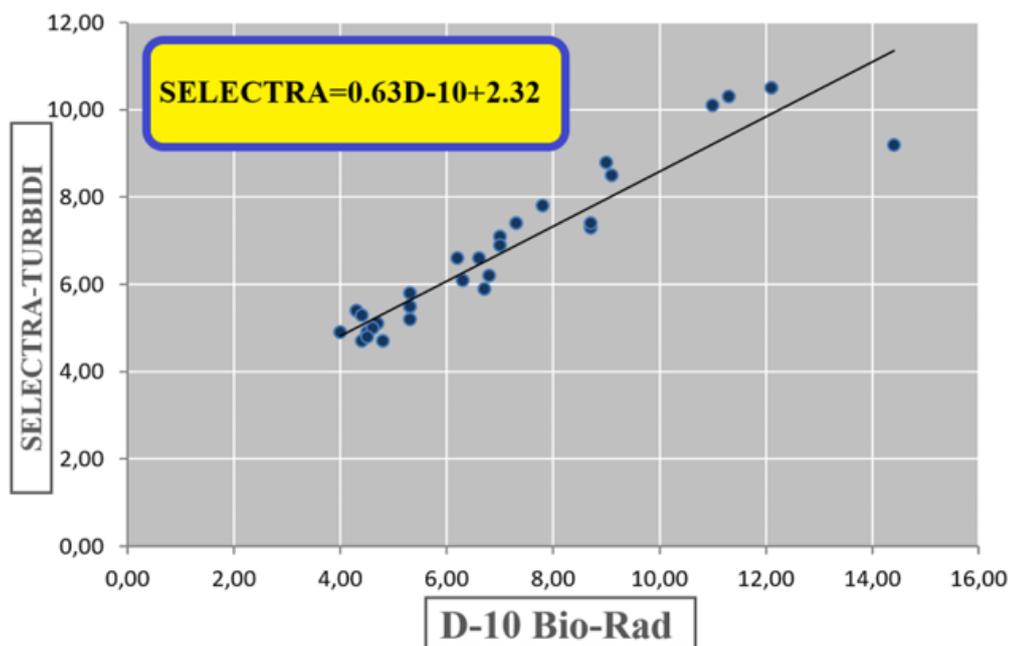


Figure 19: Diagramme de corrélation D-10/SELECTRA selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le SELECTRA (Méthodes HPLC/immuno-turbidimétrie).

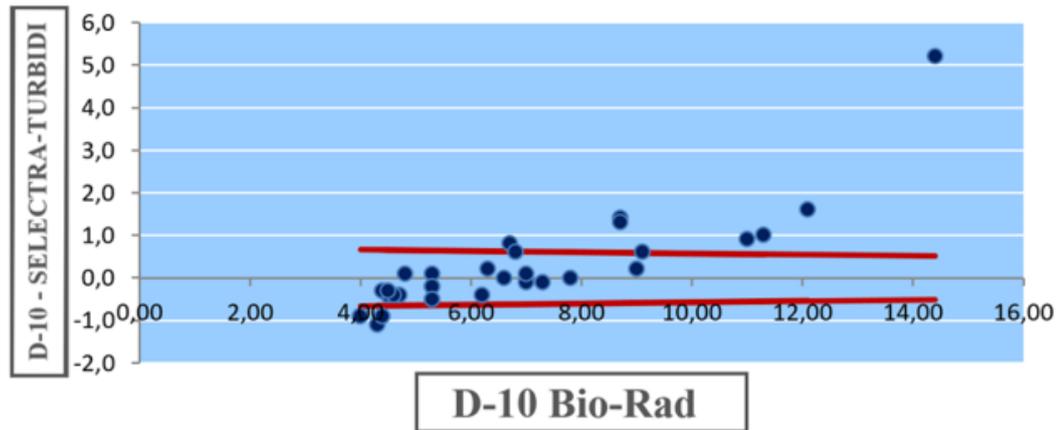


Figure 20: Diagramme des différences D-10/SELECTRA selon Bland Altman du dosage de l'HbA1c obtenu par le D-10 (Technique de référence) et par le SELECTRA (méthodes HPLC/Immunoturbidimétrie).

4.3. Corrélation entre les deux méthodes MEDCOON et immunoturbidimétrie (SELECTRA) :

La figure 21 montre le degré d'association entre les deux méthodes MEDCOON et immuno- turbidimétrie (SELECTRA) pour estimer les valeurs de HbA1c avec en parallèle le diagramme de différence (figure 22).

Les résultats d'HbA1c obtenus par deux méthodes différentes (HPLC et immunoturbidimétrie) a montré une forte relation linéaire positive entre les variables x et y selon l'équation $Y = 0,67 X + 1,80$ où X représente le pourcentage d'HbA1C obtenu avec MEDCONN et Y celui obtenu avec le SELECTRA avec un coefficient de corrélation proche de 1. La commuabilité des résultats entre les deux techniques par HPLC est remarquable avec un ratio des moyennes égal à 0,94.

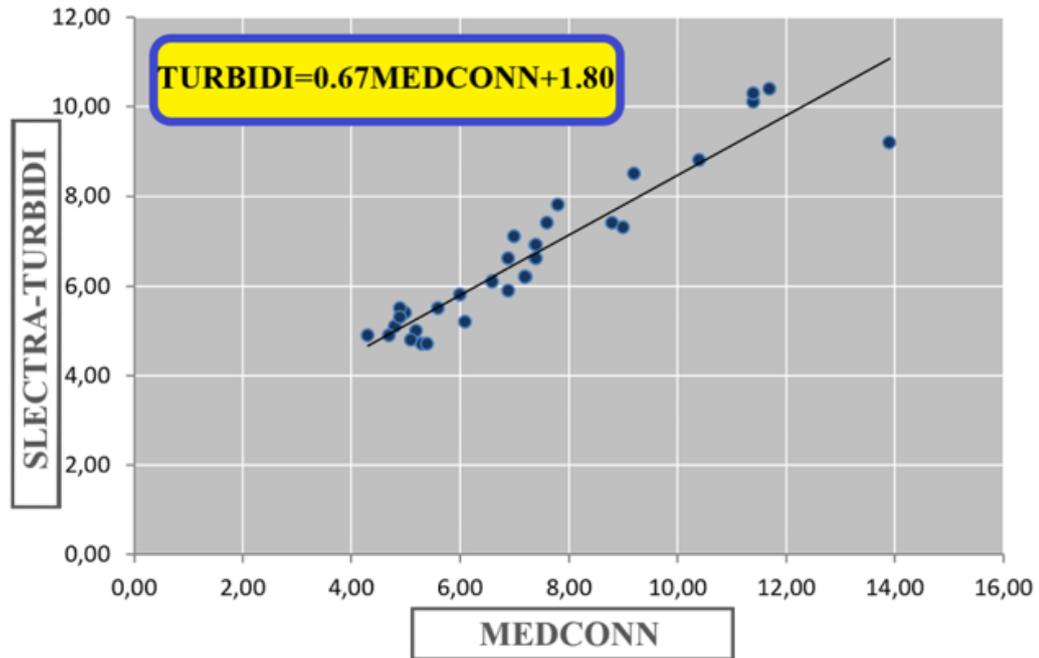


Figure 21: Diagramme de corrélation MEDCONN/SELECTRA selon Passing et Bablok du dosage de l'HbA1c obtenu par le MEDCONN (Technique de référence) et le SELECTRA (méthodes HPLC/Immuno-turbidimétrie).

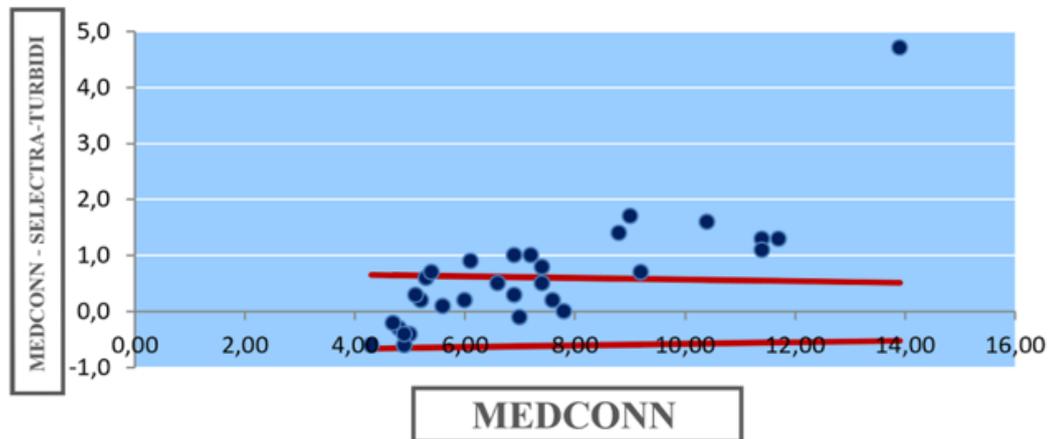


Figure 22: Diagramme des différences MEDCONN/SELECTRA selon Bland Altman du dosage d'HbA1c obtenu par le MEDCONN (Technique de référence) et le SELECTRA (Méthodes HPLC/Immuno-Turbidimétrie).

Discussion

Le diabète décrit un trouble métabolique avec étiologies caractérisées par une hyperglycémie chronique et troubles du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines résultant des anomalies de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux (9). Le diabète aggrave l'invalidité, provoquant la diminution de l'espérance de vie, et engendrant de forts coûts médicaux (Toso et al., 2006).

Dans notre étude, les femmes représentent 58,80% de notre population de sujets diabétiques. Nous ne pouvons pas affirmer à partir de ce pourcentage une prévalence plus élevée des sujets du sexe féminin comparés à ceux du sexe masculin. Ça peut être en relation avec la petite taille de l'échantillon étudié et par occurrence à la période d'étude. L'analyse des résultats de tous les sujets étudiés montre qu'il existe également plus de sujets féminins dans l'échantillon soit 63% de l'effectif total que de sujets masculins 37%.

Concernant l'âge médian des sujets diabétiques, il est situé dans une tranche d'âge entre 45 à 65 ans avec une prédominance féminine (7 femmes / 2 hommes). Nos résultats corroborent avec les résultats de l'étude réalisée par Doffon et Bakary (2009), qui a démontré que 14 patients sur 25 ont un âge compris entre 40 et 50 ans soit 56,66% des patients ayant composé son cohorte (Doffon et Bakary, 2009).

Par ailleurs, le suivi de cette maladie exige une évaluation régulière de quelques paramètres biochimiques, qui va de l'appréciation quotidienne de la glycémie à jeun, du dosage trimestriel de l'HbA1c jusqu'à l'évaluation du métabolisme lipidique. En effet, un taux de glycémie à jeun qui s'élève à plus de 1,26 g/L (7mmol/L) oriente les diagnosticiens à penser à un diabète ou à un état de pré-diabète qui sera confirmé par un dosage d'HbA1c dont la valeur est supérieure à 6 %.

Dans la population étudiée et constituée de 30 sujets, nous avons remarqué que 20 sujets ont un taux de glycémie inférieurs à 1.26 g/L, ce qui laisse supposer qu'ils sont tous non diabétiques, alors qu'en examinant leurs taux d'HbA1c, mesuré par HPLC D-10, nous remarquons que parmi ces 20 personnes, 17 seulement sont vraiment diabétiques. Ceci peut être expliqué par le fait que certaines personnes confirmées diabétiques respectent rigoureusement les prescriptions hygiéno-diététiques tout en suivant correctement le traitement médical approprié à leurs types de diabète. Pour cette raison, nous avons distingué les sujets étudiés entre diabétiques et non diabétiques en se basant uniquement sur le taux d'HbA1c mesuré par HPLC D-10. Une étude multicentrique internationale réalisée par Nathan et al. (2007) et menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la

relation existante entre les valeurs de l'HbA1c et celles de la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents a montré une corrélation significative entre la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée (*Nathan et al. 2007*).

Concernant le taux des triglycérides chez les patients diabétiques, son augmentation peut être expliqué par le fait que chez les diabétiques, la fabrication d'insuline est faible ou nulle, ce qui cause l'hyperglycémie. Etant donné que les triglycérides résultent de la dégradation des sucres, leur taux est également plus élevé en cas de diabète : on parle alors d'hypertriglycéridémie ce qui concorde avec notre résultat. Nous pouvons dire également, que nous ne possédons pas les dossiers médicaux de ces patients diabétiques pour pouvoir expliquer différemment leur taux élevé de triglycérides.

D'une autre part, le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est une estimation facile à obtenir de la glycémie moyenne sur les trois derniers mois. Elle est requise rétrospectivement pour le suivi du contrôle à long terme du glucose chez les patients atteints de diabète et pour fixer des objectifs thérapeutiques (en parallèle aux autocontrôles glycémiques) (*Ejilemele et al., 2015*). Une petite erreur systématique dans la mesure de l'HbA1c affecte significativement l'interprétation de l'HbA1c parce que la décision clinique limite l'HbA1c pour le diagnostic du diabète (6,5 % dans les unités NGSP) est proche de la limite supérieure de la plage de référence non oblique (6,0 %) (*10*).

Le dosage doit être effectué par une méthode certifiée, soumise à un contrôle de qualité et donnant des résultats alignés sur la méthode utilisée dans les études DCCT et UKPDS (*Doffon et Bakary, 2009*). Depuis 1990, certaines techniques, telles que des essais immunologiques, des essais de chromatographie d'affinité et des essais enzymatiques ont été mis au point. Actuellement, Le dosage de l'HbA1c bénéficie de beaucoup de techniques différentes disponibles sur le marché et dotées de grande précision. Cette variabilité des méthodes d'analyse considérée parmi les facteurs favorisant la variation des valeurs de l'HbA1c (*Tran et al., 2009*). Les études de normalisation des méthodes de mesure de l'HbA1c à l'échelle internationale fournissent la possibilité que l'HbA1c puisse être dosée par des méthodes interchangeables sans affecter les résultats (*Christy et al., 2014*). Le dosage de l'HbA1c dans le système HPLC est important en raison de sa grande spécificité et sa sensibilité ainsi que son utilité à détecter l'hémoglobine anormale.

Notre étude a été conçue pour comparer deux méthodes différentes de dosage d'HbA1c, HPLC et turbidimétrie effectués par trois automates différents, D-10-BioRad-HPLC

(automate allemand), MEDCONN-MQ-2000-HPLC (automate chinois) et SELECTRA_{pro}M - Immunoturbidimétrie (auto-analyseur multi-paramètres).

Les échantillons (n = 30) sont prélevés. Après le dosage sur D-10-BioRad, ces mêmes échantillons ont été transportés pour le dosage sur les deux autres auto-analyseurs MEDCONN-MQ-2000 et SELECTRA_{pro}M.

Nous avons évalué la performance analytique de MEDCONN-MQ-2000, analyseur d'HbA1c chinois actuellement commercialisé dans le marché algérien, utilisé dans plusieurs laboratoires d'analyses médicales et basé sur la technique HPLC visant un CV (coefficient de variation) de 2 % comme spécifié par le FICC. Nous avons également comparé cet analyseur avec Bio-Rad D-10® et SELECTRA_{pro}M qui sont utilisés dans deux autres laboratoires différents.

Selon le protocole EP9-A2 du NCCLS, il est recommandé d'effectuer une analyse de régression pour la corrélation entre analyseurs. Ainsi, la relation entre les analyseurs est exprimée par équation (*Weykamp et al., 2009 ; Goodall et al., 2007*).

D'après nos résultats, nous n'avons signalé aucune différence entre les mesures des taux d'HbA1c réalisées par les trois appareils. L'analyse de la régression linéaire a donné une droite avec trois équations.

- La corrélation entre D-10 et MEDCONN a donné l'équation $D10=0.92MEDCONN+0.93$ avec un coefficient de corrélation de Spearman très fort et statistiquement significatif ($r = 0,99$). Notre résultat est comparable avec un meilleur coefficient de corrélation que celui de l'étude de Renacco et al. (2000), qui obtenait au mieux des coefficients de corrélation de ($r = 0,97$) qui étaient bien évidemment, déjà très satisfaisants (*Renacco et al., 2000*).

- La corrélation entre D-10 et Turbidimétrie a donné l'équation $D10=0.63TURBIDI+2.32$ avec un coefficient de corrélation de Spearman ($r = 0.93$) statistiquement significatif ($r = 0,93$). L'étude de *Y et al.* (2017) a révélé des résultats similaires aux notre mais en utilisant d'autres auto-analyseurs avec les mêmes techniques (*Y et al., 2017*).

- La corrélation entre MEDCONN et /Turbidimétrie a donné l'équation $MEDCONN=0.67TURBIDI+1.80$ avec un coefficient de corrélation Spearman statistiquement significative ($r = 0.93$) et qui présente une concordance avec les résultats de

Szymanowicz et al. 2009) ayant réalisé une étude comparative du dosage de l'hémoglobine glyquée par deux méthodes HPLC et une méthode d'immunoturbidimétrie (*Szymanowicz et al., 2009*).

De plus, les équations de régression $Y = a X + b$ sans différences, constantes et proportionnelles ont été observées entre les méthodes HPLC et Immuno-Turbidimétrie dans les trois auto-analyseurs D-10, MECONN et SELECTRA_{pro}M, ce qui indique un bon accord et une grande cohérence et concordance entre ces deux méthodes.

D'autre part, les variantes de l'hémoglobine peuvent interférer avec le dosage de l'HbA1c et peuvent mener à une erreur de diagnostic ou à un traitement inapproprié (*Nyenwe et Fisher, 2008*). Dans cette étude, nous avons trouvé une corrélation entre les analyseurs et nous n'avons pas trouvé des hémoglobinopathies donc il n'y a pas d'interférence entre les variantes d'hémoglobine. Nos résultats suggèrent que le brouillage est faible.

Conclusion

Conclusion

Le succès de la gestion du diabète dépend du maintien de la glycémie à des niveaux normaux à long terme. Le taux d'HbA1c dans le sang est l'indicateur le plus important du taux de glucose global chez un patient pendant une période de deux à trois mois.

Notre étude démontrant une cohérence et une forte corrélation significative entre les trois auto-analyseurs (MEDCONN, D-10 et SELECTRA_{proM}) indiquant que ces méthodes sont comparables et interchangeables, elles sont suffisamment reproductibles et précises pour une utilisation courante en laboratoire de biochimie.

Bien que les résultats du dosage d'HbA1c obtenus à partir des trois auto-analyseurs fonctionnant selon deux techniques différentes, sont compatibles, précis et fiable, il convient aux laboratoires de choisir la méthode HPLC pour détecter les interférences telles que les variantes d'hémoglobine.

Il convient que tout clinicien prenant en charge des patients diabétiques connaisse non seulement les facteurs médicaux, mais également les facteurs techniques pouvant altérer les résultats obtenus et qu'il puisse, à tout moment, avoir connaissance des données du contrôle de qualité du laboratoire qui lui a fourni les résultats, et en discuter avec le biologiste.

En outre, les communautés scientifiques et cliniques ont besoin de progresser pour être en mesure d'adopter pleinement le processus de normalisation. Le professionnalisme dans le domaine d'analyses médicales exige d'utiliser à l'échelle nationale des essais normalisés à l'échelle internationale et un programme d'accréditation pour les laboratoires. Les laboratoires concernés, doivent améliorer la qualité du dosage analytique pour assurer la validité clinique des résultats.

Nous pouvons mentionner quelques éléments considérés comme limites de l'étude et inconvénient rencontrés dans le domaine professionnel des analyses médicales :

- Petite taille de l'échantillon et du nombre des laboratoires consultés.
- Absence de la fiche d'anamnèse des patients contenant le suivi et l'historique de la maladie du patient.
- Absence des résultats du contrôle qualité interne.
- Absence du contrôle qualité externe qui n'existe pas dans tout le territoire Algérien.
- Absence des laboratoires de références qui ont l'accréditation ISO 15189, ISO 22870 et ISO/CEI 17011.

- Absence de la formation continue pour les techniciens et les praticiens du laboratoire d'analyse médicale.

Perspectives

- Critique des nouveaux auto-analyseurs qui existent dans le marché Algérien est nécessaire pour assurer la qualité du matériel médicale.
- Comparaison des méthodes et des techniques d'analyse restent toujours parmi les études les plus importants pour assurer le choix de la bonne méthode.

Références

- **Abettan, C., Condomines, C., Labauge, P., Ribotton, M., Renard, E., & Wojtusciszyn, A. (2014)** ‘Pied de Charcot bilatéral chez une jeune diabétique : une association rare’, *Annales d’Endocrinologie*, 75(5–6), p. 389.
- **Abtroun, F., Aouiche, S., Aribi, S., Arrar, M., Ayad, F., Bachaoui, M., Belhadj, M., Benfenatki, N., Bensalem, S., Berrah, A., Bouderd, Z., Boudiba, A., Brouri, M., Chami, A., Cherrak, A., Hadoum, F., Lezzar, E., Malek, R., Mimouni, S., Nadir-Azirou, D., Otmani, F., Roula D., Semrouni M., Zekri S. (2015)** Guide diabète de bonne pratique en diabétologie. Comité d’experts en diabétologie. Algérie.
- **ADA (2006)** Standards of Medical Care in Diabetes—2006. *Diabetes Care*, 29, S4-S42
- **ADA (2008)** Standards of Medical Care in Diabetes—2008. *Diabetes Care*, 31, S12-S54.
- **ADA (2009)** Standards of Medical Care in Diabetes—2009. *Diabetes Care*, 32, S13-S61.
- **Bauduceau, P., Berrut, G., Blicklé, J., Brocker, P., Constans, T., Doucet, J., Kaloustian, E., Lecomte, P., Simon, D., Tessier, D., Verny, C., Vischer, U. (2008)** Guide pour la prise en charge du diabétique âgé. 1ère édition. France : Elsevier Masson, 55p.
- **Boudehenn, J. et Gambier, F. (2011)** ‘Influence des finitions poudres sur l’impact environnemental du MDF’, Université de Lorraine, France.
- **Brinchmann-Hansen, O., Dahl-Jorgensen, K., Sandvik, L., et Hanssen, K. F. (1992)** ‘Blood glucose concentrations and progression of diabetic retinopathy: the seven year results of the Oslo study.’, *BMJ*, 304(6818), pp. 19–22.
- **Chicha, A. et El Kebir, O. (2019)** Comparaison de deux méthodes de dosage de l’hémoglobine glyquée (HbA1c) par technique HPLC et technique immunoturbidimétrique. Thèse d’exercice de fin d’étude présentée en vue d’obtention docteur en pharmacie. Université Saad Dahlab de Blida, Algérie.
- **Christy, A. L., Manjrekar, P. A., Babu, R. P., Hegde, A. et Rukmini, M. S. (2014)** ‘Influence of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c levels in diabetic individuals with controlled plasma glucose levels’, *Iranian Biomedical Journal*, 18(2), pp. 88–93.
- **Constans, T. (2005)** ‘Plasma glucose goals and therapeutic management in elderly diabetic patients’, *Diabetes & Metabolism*, 31 Spec No 2, pp. 5S58-55S61.

- **Ejilemele, A., Unabia, J., Ju, H., et Petersen, J. R. (2015)** ‘A1c Gear: Laboratory quality HbA1c measurement at the point of care’, *Clinica Chimica Acta*, 445, pp. 139–142.
- **Fehaima, S. (2017)** Qualité de vie et diabète. Mémoire de doctorat. CHU Tlemcen, Algérie.
- **Fox, C. S., Coady, S., Sorlie, P. D., D’Agostino, R. B., Pencina, M. J., Vasan, R. S., Savage, P. J. (2007)** ‘Increasing Cardiovascular Disease Burden Due to Diabetes Mellitus: The Framingham Heart Study’, *Circulation*, 115(12), pp. 1544–1550.
- **Gallagher, E. J., LeRoith, D. et Karnieli, E. (2008)** ‘The Metabolic Syndrome from Insulin Resistance to Obesity and Diabetes’, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 37(3), pp. 559–579.
- **Gamouh, C. et Kedissa, S. (2016)** Etude comparative des différents paramètres biochimiques chez les diabétiques de type 1 et de type 2. Mémoire de master, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.
- **Gillery, P. Hue, G., Bordas-Fonfrède, M., Chapelle, J., Drouin, P., Lévy-Marchal, C., Pérrier, C., Slama, G., Thivolet, C., Vialettes, B. (2000)** ‘Dosage de l’hémoglobine A1C et hémoglobinopathies : problèmes posés et conduite à tenir’, *Annales de Biologie Clinique*, 58(4).
- **Gillery, P. (2014)** ‘Dosage de l’HbA1c et des produits d’Amadori en biologie humaine’, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 72(5), pp. 330–336.
- **Goodall, I., Colman, P. G., Schneider, H. G., McLean, M., et Barker, G. (2007)** ‘Desirable performance standards for HbA(1c) analysis - precision, accuracy and standardisation: consensus statement of the Australasian Association of Clinical Biochemists (AACB), the Australian Diabetes Society (ADS), the Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA), Endocrine Society of Australia (ESA), and the Australian Diabetes Educators Association (ADEA)’, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 45(8), pp. 1083–1097.
- **Habi, M. A. (2016)** Dosage de l’hémoglobine glyquée dans une population de Tlemcen : Étude transversale. Mémoire de master,. Université Aboubekr Belkaid ,Tlemcen, Algérie.
- **Harreiter, J. et Roden, M. (2019)** ‘Diabetes mellitus – Definition, classification, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2019)’, *Wiener klinische Wochenschrift*, 131(S1), pp. 6–15.

- **Karam, Y. R., Menezes, A. H. et Traynelis, V. C. (2010)** ‘Posterolateral Approaches to the Craniovertebral Junction’, *Neurosurgery*, 66(suppl_3), pp. A135–A140.
- **Karges, B., Rosenbauer, J., Kapellen, T., Wagner, V. M., Schober, E., Karges, W., et Holl, R. W. (2014)** ‘Hemoglobin A1c Levels and Risk of Severe Hypoglycemia in Children and Young Adults with Type 1 Diabetes from Germany and Austria: A Trend Analysis in a Cohort of 37,539 Patients between 1995 and 2012’, *PLoS Medicine*. Edited by R. Lehman, 11(10), p. e1001742.
- **Koga, M., Saito, H. et Kasayama, S. (2015)** ‘Patients who showed paradoxical increase in HbA1c levels after intensification of diabetes treatment’, *Clinical Biochemistry*, 48(6), pp. 459–462.
- **Lyhyaoui, O. (2011)** Evaluation de la qualité de vie liée à la santé chez les diabétiques de type 2. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Maroc.
- **Marzullo, C. et Minery, M. (2008)** ‘Évaluation de l’analyseur D10® pour le dosage de l’hémoglobine A1C’, *Ann Biol Clin*, 66, p. 5.
- **Monnier, L. et Fumat, C. (2014)** *Diabétologie*. 2^{ème} édition. Elsevier Masson, 402p.
- **Nathan, D. M., Turgeon, H. et Regan, S. (2007)** ‘Relationship between glycated haemoglobin levels and mean glucose levels over time’, *Diabetologia*, 50(11), pp. 2239–2244.
- **Nauck, M., Weinstock, R. S., Umpierrez, G. E., Guerci, B., Skrivanek, Z., & Milicevic, Z. (2014)** ‘Efficacy and Safety of Dulaglutide Versus Sitagliptin After 52 Weeks in Type 2 Diabetes in a Randomized Controlled Trial (AWARD-5)’, *Diabetes Care*, 37(8), pp. 2149–2158.
- **Nyenwe, E. A. et Fisher, J. N. (2008)** ‘A Mistaken Diagnosis of Type 2 Diabetes Due to Hemoglobin N-Baltimore’, *The American Journal of the Medical Sciences*, 336(6), pp. 524–526.
- **Doffon Parfait et Bakary Faoziath (2009)**. Etude comparative de l’hémoglobine glyquée du glucose sanguin chez les diabétiques. Mémoire de Licence Professionnelle. Université d'Abomey Calavi (EPAC).
- **Patiño-Fernández, A. M., Eidson, M., Sanchez, J., & Delamater, A. M. (2009)** ‘What do youth with type 1 diabetes know about the HbA1c test?’, *Children’s health care : journal of the Association for the Care of Children’s Health*, 38(2), pp. 157–167.

- **Penttilä, I., Penttilä, K., Holm, P., Laitinen, H., Ranta, P., Törrönen, J. et Rauramaa R. (2016)** ‘Methods, units and quality requirements for the analysis of haemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus’, *World Journal of Methodology*, 6(2), p. 133.
- **Punthakee, Z., Goldenberg, R. et Katz, P. (2018)** ‘Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome’, *Canadian Journal of Diabetes*, 42, pp. S10–S15.
- **Quirani Boucette, H. (2015)** Dosage de l’Hémoglobine glyquée. Mémoire de licence. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Maroc.
- **Radermecker, R. Sepulchre, E., Thielen, V., Paquot, N. (2014)** ‘À propos d’un cas d’HbA_{1c} indosable’, *Diabetes & Metabolism*, 40, pp. A60–A61.
- **Rahal, F. et Belmahdi, A. (2017)** Etude comparative d’hémoglobine glyquée et du glucose sanguin chez les diabétiques type 2 dans la région de Mostaganem. Mémoire de Master. Université Mostaganem, Algérie.
- **Renacco, E., Saunier, V., Gras, C., Portugal, H. (2000)** ‘Comparaison de cinq automates pour le dosage de l’hémoglobine glyquée’, *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 15(5), pp. 366–372.
- **Rhea, J. M., Koch, D., Ritchie, J., Singh, H., Young, A., Burgess, T. et Molinaro, R. J. (2013)** ‘Unintended Reporting of Misleading Hb A_{1c} Values When Using Assays Incapable of Detecting Hemoglobin Variants’, *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 137(12), pp. 1788–1791.
- **Rouxel, O., Da Silva, J., Beaudoin, L., Nel, I. et Tard, C. (2017)** ‘Cytotoxic and regulatory roles of mucosal-associated invariant T cells in type 1 diabetes’, *Nature Immunology*, 18(12), pp. 1321–1331.
- **Sepulchre, E., Lutteri, L., Cavalier, E., Guerci, B. et Radermecker, R. P. (2014)** ‘A propos de l’hémoglobine glyquée’, *Rev. Med. Liège*, p. 7.
- **Slama, G. (2010)** Non, le sucre n’est pas interdit aux patients atteints de diabète sucré, *Le goût du sucre*. Autrement, pp. 138–153. Available at: <https://www.cairn.info/le-gout-du-sucre--9782746714403-page-138.htm> (Accessed: 3 September 2020).
- **Szymanowicz, A., Bernay, A., Lornage, C. et Neyron, M. J. (2009)** ‘Étude comparative du dosage de l’hémoglobine glyquée par trois méthodes : HPLC sur G7® (Tosoh Bioscience)

et D10® (Biorad), et immunoturbidimétrie sur Intégra 800® (Roche)', *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 24(5–6), pp. 272–280.

- **Thom, C. S., Dickson, C. F., Gell, D. A. et Weiss, M. J. (2013)** 'Hemoglobin Variants : Biochemical Properties and Clinical Correlates', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(3), pp. a011858–a011858.
- **Toso, C., Zaidi, H., Morel, P., Armanet, M. et Wojtusciszyn, A. (2006)** 'Assessment of 18F-FDG-Leukocyte Imaging to Monitor Rejection After Pancreatic Islet Transplantation', *Transplantation Proceedings*, 38(9), pp. 3033–3034.
- **Tran, D. V., Lyon, A. W., Higgins, T. N., Wesenberg, J. C., Vandergouwe, L., Wiley, C. L., et Cembrowski, G. S. (2009)** 'Use of Serial Patient Hemoglobin A1c Differences to Determine Long-Term Imprecision of Immunoassay and High-Performance Liquid Chromatography Analyzers', *Journal of Diabetes Science and Technology*, 3(3), pp. 424–428.
- **Wajcman, H. et Galactéros, F. (2005)** 'Hemoglobins with high oxygen affinity leading to erythrocytosis. New variants and new concepts', *Hemoglobin*, 29(2), pp. 91–106.
- **Weykamp, C. (2013)** 'HbA1c : A Review of Analytical and Clinical Aspects', *Annals of Laboratory Medicine*, 33(6), p. 393.
- **Weykamp, C., John, W. G. et Mosca, A. (2009)** 'A Review of the Challenge in Measuring Hemoglobin A1c', *Journal of Diabetes Science and Technology*, 3(3), pp. 439–445.
- **Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C. et Shaw, J. (2011)** 'IDF Diabetes Atlas : Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94(3), pp. 311–321.
- **Y, W., X, Y., H, W., Z, L., et T, W. (2017)** 'Evaluation of hemoglobin A1c measurement from filter paper using high-performance liquid chromatography and immunoturbidimetric assay', *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 77(2), pp. 104–108.
- **Young, J. (2016)** *Endocrinologie, diabétologie et maladies métaboliques*. 3^{ème} édition. France, Paris. Elsevier Masson SAS, 626p.
- **Zendjabil, M. (2015)** 'L'hémoglobine glyquée : indication, interprétation et limites', *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 73(5), pp. 336–339.

Webographie

- (1) **Abdessemed, S. (2015)** ‘Electrophorèse de l’hémoglobine sur acétate de cellulose’. Available at: <https://fr.slideshare.net/salahabdessemed1/electrophorse-de-lhmoglobine-sur-actate-de-cellulose> (Accessed: 4 September 2020).
- (2) **Aubry, P (2019)** hemoglobinoses. Available at: <http://medecinotropical.free.fr/cours/hemoglobinoses.pdf> (Accessed: 4 September 2020).
- (3) **Biomnis (2012)** Hémoglobine glyquée, 2012 biomnis précis de bibliographie analyses médicale spécialisée .
- (4) **Elamri, A. (2009)** dosage de l’Hba1c. Available at: <http://ao.um5.ac.ma/jspui/bitstream/123456789/14284/1/P0392009.pdf> (Accessed: 4 September 2020).
- (5) **Elshrek, Y. (2013)** ‘Fructosamine and hg a1c’. Available at: <https://www.slideshare.net/shrekym/fructosamine-and-hg-a1c?fbclid=IwAR1PrZZGyT3jAKtsLLkQV8GGG1EiHxErChyV1cNrULFdA2WQ1UUrSWgLOxw> (Accessed: 1 September 2020).
- (6) **Furelaud, G. (2008)** Le diabète de type II, Planet-Vie. Available at: <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/le-diabete-de-type-ii> (Accessed: 4 September 2020).
- (7) **Ladram, A. et Camus, G. (2012)** La chromatographie, Planet-Vie. Available at: <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/la-chromatographie> (Accessed: 4 September 2020).
- (8) **Malléolaires, A., L. Tshilolo, Prognatisme, Hypersplénisme, Ulcérations (2014)** La drépanocytose : démarche diagnostique - ppt video online télécharger. Available at: <https://slideplayer.fr/slide/3759419/> (Accessed: 4 September 2020).
- (9) **OMS (1999)** Rapport sur la santé dans le monde, 1999. Available at: <https://www.who.int/whr/1999/fr/> (Accessed: 9 September 2020).
- (10) **OMS (2011)** Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304267/> (Accessed: 9 September 2020).

- (11) **OMS (2019)** Rapport mondial sur le diabète. Available at: <http://www.who.int/diabetes/global-report/fr/> (Accessed: 3 September 2020).
- (12) **Wojtusciszyn, A. (2012)** ‘les pièges de l’HbA1c’. Institut de Recherche en Biothérapie, Laboratoire de Thérapie Cellulaire du Diabète, CHRU, MONTPELLIER.

Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignements

Le recueil des données a été réalisé à l'aide d'une fiche de renseignements contenant les informations suivantes :

ID	Nom Prénom	Age	Sexe	D-10 Bio-Rad	MEDCONN	SELECTRAproM
01						
02						
03						
04						
05						
06						
07						
08						
09						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						

Annexe 2 : Transport et conservation des échantillons en vue de leurs analyses

Dans le cas général, les échantillons prélevés doivent impérativement être conservés au froid (+ 2 à + 5 °C) et à l'abri de la lumière, y compris pendant leur transport vers le lieu d'analyse.

Pour notre prélèvement quelques prélèvements sont conservés à +4 mais la majorité des prélèvements sont dosés le même jour sur toutes les automates

Beaucoup des modèles de caisses isothermes pour le transport des échantillon biologiques sont disponibles.



Caisse isotherme DiagnoCase - Transport d'échantillons/prélèvements biologiques

Présentation

La caisse isotherme est utilisée dans le domaine médical pour le transport d'échantillons et des prélèvements biologiques. Certifiée NF 99 700, cette caisse est d'une haute performance isothermique.



Caisse isotherme aluminium lavable

Présentation

Extérieur : Caisse en aluminium renforcée par des profilés massifs et des nervures d'angles.

Fermeture : Deux grenouillères plombables.

Intérieur : Polypropylène lavable.

Isolation : Mousse de polyuréthane injectée en monobloc d'une densité de 40 à 45 kg/m³ sans CFC

Couvercle caisse : En aluminium, monté sur deux charnières. Couvercle injecté en polyuréthane monobloc de 45 mm avec un revêtement en polypropylène lavable.

Annexe 3 : dispositif de classe 3 BioRad D10 Hemoglobin Testing System



Date de lancement par l'entreprise : 08 septembre 2010

Date de publication : 13 avril 2011

État du rappel¹ : Terminé³ le 29 juin 2011

Numéro de rappel : Z-1969-2011

Identification de l'événement de rappel : 56807

Numéro 510(K) : K031043

Classification des produits : Dosage de l'hémoglobine glycosylée - Code produit LCP

Produit : Dosage de l'hémoglobine glycosylée - Code produit LCP Produit Bio Rad marque D-10 Hemoglobin A1c Program Reorder Pack, qui contient le kit de mise à jour D-10 A1c Program Diskette ; Numéros de modèle : 220-0101 (Reorder Pack) ; 220-0115 (Program Diskette) ; Distribué et fabriqué par : Bio Rad Laboratories, Inc. et Hercules, CA

Vue d'ensemble du système : Le système de test d'hémoglobine Bio-Rad D-10 fournit une méthode intégrée pour la séparation et la détermination du pourcentage relatif d'hémoglobines spécifiques (par exemple A2, F, A1 c) dans le sang total. La séparation est basée sur les principes de la chromatographie liquide à haute performance. Aperçu de la technologie : Le système d'analyse de l'hémoglobine D-10 est un module unique conçu pour l'analyse de l'hémoglobine dans les laboratoires de volume moyen. Le D-10 est un système entièrement intégré pour la dilution d'échantillons, le traitement et l'analyse de l'hémoglobine, conçu pour être utilisé avec des kits de réactifs Bio-Rad spécifiques. Le D-10 intègre l'utilisation d'un système logiciel dédié pour le contrôle des instruments, la collecte et l'analyse des données. Le logiciel du D-10 permet de réduire les données brutes recueillies lors de chaque analyse. Informations sur les kits de réactifs : Le programme D-10 Hémoglobine A1c utilise les principes de la chromatographie liquide haute performance (CLHP) à échange d'ions. Le

programme D-10 Hemoglobin Ale est basé sur la séparation chromatographique de l'HbA1c sur une cartouche échangeuse de cations. Le programme Bio-Rad D-10 Hemoglobin Ale est destiné à la détermination du pourcentage d'hémoglobine A1 c dans le sang total humain par chromatographie liquide haute performance (CLHP) à échange d'ions. Le programme Bio-Rad D-10 Hémoglobine A1c est destiné à un usage professionnel uniquement. Le programme D-10 Hémoglobine A1c est destiné à être utilisé uniquement avec le système de test d'hémoglobine Bio-Rad D-10.

Informations sur les codes : Lot 20001814 ; Exp. 28 février 2012

Rappelant la firme/ Fabricant : Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA

4000 Alfred Nobel Dr Hercules CA 94547-1803

Pour de plus d'informations, veuillez contacter : Jackie Buckley 510-724-7000

Raison du fabricant pour Rappel : La société a découvert que la disquette du kit de mise à jour incluse dans le pack de commande était mal étiquetée avec un numéro de lot incorrect pour l'ensemble calibre/diluant comme : S01819 ; le numéro de lot correct pour le calibre/ensemble de diluants est : S01819 ; le numéro de lot correct pour le calibre/ensemble de diluants est S01704.

Déterminé par la FDA Cause² : Autres

Action : Les Laboratoires Bio-Rad, Inc, ont envoyé une lettre de correction de dispositif médical datée du 9/8/10, à tous les clients concernés par l'intermédiaire de Federal Express, traitant de ce problème d'étiquetage erroné. Une nouvelle disquette du kit de mise à jour, lot n° BA02210 a été produite, et Bio-Rad vous demande de bien vouloir détruire le lot n° AA01815. Si vous avez des questions, veuillez contacter votre bureau régional Bio-Rad. Vous pouvez également appeler le (510) 724-7000.

Distribution : Distribution nationale comprenant : PA, OH, MO, CA, TX, FL, MA, MD, KY, OH, MI, NJ, et WA.

¹ Un enregistrement dans cette base de données est créé lorsqu'une entreprise lance une action de correction ou de suppression. L'enregistrement est mis à jour si la FDA identifie une violation et classe l'action comme un rappel, et il est mis à jour une dernière fois lorsque le rappel est terminé.

² Selon la politique de la FDA, les déterminations des causes de rappel sont susceptibles d'être modifiées jusqu'à la fin du rappel.

³ Pour plus de détails sur la fin d'un rappel, voir le Code of Federal Regulations (CFR) Title 21 §7.55.

Base de données 510(K) 510(K)s avec le code produit = LCP et le demandeur initial = BIO-RAD LABORATORIES, INC.

Pour le MEDCONN on n'a pas trouvé beaucoup des documents mais on cite seulement ces deux certificats :

Certificat du MQ-2000PT –IFCC:



Organisme qualifié selon ISO 13484 :



Annexe 4 : Fiche technique de dosage du glucose



GLUCOSE GOD-PAP Liquide Prêt à l'emploi

Réactif pour le dosage quantitatif du glucose dans le sérum et le plasma humains, les urines ou le liquide céphalo-rachidien (LCR)

REF	LP80200	R1	2 X 200 mL	R2	1 x 5 mL
REF	LP87800	R1	8 X 200 mL	R2	1 x 5 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50
Fax : (33) 03 23 256 256
support@biolabo.fr



USAGE IN VITRO



INTERET CLINIQUE (1) (6)

La concentration en glucose sanguin est maintenue à l'intérieur de limites relativement étroites dans différentes situations (absorption de nourriture, jeûne ou exercice intense) par des hormones régulatrices comme l'insuline, le glucagon ou l'épinéphrine. Le dosage du glucose est un des tests les plus fréquemment réalisés au laboratoire d'analyses médicales, conjointement avec d'autres tests de tolérance (épreuve d'hyperglycémie provoquée, glycémie post-prandiale...).

Le désordre du métabolisme des carbohydrates sanguins le plus couramment rencontré est l'hyperglycémie due au diabète mellitus.

Une hyperglycémie supérieure à 3,0 g/L (16,5 mmol/L) peut conduire à une cétose-acidose et un coma hyperosmolaire.

Toute hypoglycémie durable, inférieure à 0,30 g/L (1,7 mmol/L), est susceptible d'entraîner des lésions encéphaliques graves et irréversibles.

PRINCIPE (4) (5)

Méthode de Trinder. Le glucose est oxydé par la GOD en acide gluconique et H₂O₂ qui réagit en présence de POD avec le chloro-4-phénol et le PAP pour former une quinonimine rouge. L'absorbance du complexe coloré, proportionnelle à la concentration en glucose dans le spécimen est mesurée à 500 nm.

REACTIFS

R1	GLUCOSE GOD PAP	Réactif
	Tampon phosphate	150 mmol/L
	Glucose oxydase (GOD)	≥ 20 000 UI/L
	Péroxydase (POD)	≥ 1000 UI/L
	4-Amino-antipyrine (PAP)	0,8 mmol/L
	Chloro-4-phénol	2 mmol/L

R2	GLUCOSE GOD PAP	Etalon
----	-----------------	--------

Glucose 1 g/L (5,55 mmol/L)

Conformément à la réglementation 1273/2008, ces réactifs ne sont pas classés comme dangereux

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

• Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr

• Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
• Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

Prêts à l'emploi.



Eau déminéralisée

Risque biologique

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

Version : 25/02/2019

STABILITE ET CONSERVATION

Stocké à 2-8°C dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière, s'il est utilisé et conservé dans les conditions préconisées, le réactif est stable :

Avant ouverture :

• jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture,

• Le réactif (R1) est stable au moins 3 mois en l'absence de contamination

• Transvaser la quantité nécessaire, bien reboucher et stocker à 2-8°C.

• Rejeter tout réactif trouble ou si l'absorbance à 500 nm est > 0,400.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum ou plasma :

Séparer rapidement des cellules sanguines pour prévenir la glycolyse.

Si le fluorure est utilisé comme conservateur, une diminution de 0,09 g/L (0,5 mmol/L) est observée dans les deux premières heures, la concentration se stabilise ensuite.

Le glucose est stable dans le sérum et le plasma hépariné :

• 8 h à 25°C.
• 72 h à 2-8°C.

Le glucose est stable dans le plasma (fluorure de sodium ou iodoacétate) :

• 24 h à température ambiante.

LCR :

Analysé immédiatement après collecte pour éviter des résultats sous évalués. Conserver à -20°C.

Urines :

collectées en flacon opaque et conservées à 2-8°C. Conserver les urines de 24 h avec 5 mL d'acide ascorbique glacé ou 5 g de sodium benzoate ou fluorure.

LIMITES (3)

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales
2. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie.

Annexe 5 : Fiche technique de dosage de l'HbA1c par immunoturbidimétrie



BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

I est immunoturbidimétrique

Réactif pour le dosage quantitatif de l'HbA1c dans le sang humain

REF 22010	R1 1 x 30 mL	R2a 2 x 4,75 mL	R2b 2 x 0,25 mL	R3 1 x 125 mL
REF 22011	R1 1 x 60 mL	R2a 1 x 19 mL	R2b 1 x 1 mL	R3 2 x 125 mL

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256



IVD USAGE IN VITRO

INTERET CLINIQUE (1) (2) (3) (4)

Réactif pour la détermination de la concentration en HbA1c dans le sang humain. Le dosage de l'HbA1c est communément utilisé pour le suivi glycémique des patients diabétiques. Les valeurs d'HbA1c fournissent une indication des valeurs de la glycémie au cours des 4-8 dernières semaines. Une élévation du taux d'HbA1c indique un mauvais contrôle glycémique. Ne pas utiliser pour le diagnostic du Diabète Mellitus.

Les limites de la méthode sont connues : elles sont liées à une durée de vie modifiée des globules rouges, une hémolyse physiologique ou un taux d'hémoglobine total insuffisant qui peuvent invalider le résultat du dosage.

PRINCIPE (5)

Mesure photométrique du trouble amené par la réaction antigène-anticorps en méthode point final à 600 nm pour déterminer directement la concentration en HbA1c dans le sang total. L'hémoglobine normale et l'HbA1c ont le même taux d'adsorption non spécifique sur les particules de latex. En présence d'anticorps monoclonal de souris anti HbA1c humaine (Réactif R2), un complexe Latex/HbA1c/anticorps anti HbA1c se forme. L'agglutination a lieu quand l'anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris interagit avec l'anticorps monoclonal.

REACTIFS

Flacon R1 LATEX (Concentration dans le Test)

Latex 0,13 %
Tampon Glycine 20 mmol/L
Azide de Sodium 0,95 g/L

Flacon R2a ANTICORPS

Anticorps monoclonal de souris anti-HbA1c humaine 0,05mg/mL
Tampon, stabilisants

Flacon R2b ANTICORPS

Anticorps polyclonal de chèvre anti-IgG de souris 0,08 mg/dL
Tampon, stabilisants

Flacon R3 SOLUTION HEMOLYSANTE

Solution aqueuse
Azide de Sodium 0,5 g/L

PREPARATION DES REACTIFS

Réactif R1 (flacon R1) : prêt à l'emploi

Réactif R2 : verser le contenu du flacon R2b dans le flacon R2a, reboucher et mélanger doucement.

Réactif R3 (flacon R3) : prêt à l'emploi.

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8° C et à l'abri de la lumière (Ne pas congeler).

- Avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Après ouverture, en l'absence de contamination et stockés à 2-8°C dans les flacons d'origine :
Les réactifs R1 et R3 sont stables au moins 3 mois.
Le réactif R2 (R2a + R2b) est stable au moins 30 jours.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. NaCl 9 g/L (point zéro de la courbe de calibration)
2. Calibrants et Contrôles.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (6)

Sang total veineux fraîchement prélevé sur EDTA dans des conditions aseptiques sans préparation particulière du patient. Pas d'additifs ou autres conservateur requis mis à part l'anticoagulant.

Préparation de l'hémolysat (patients, calibrants et contrôles) :

1. Distribuer 1 mL de réactif Hémolysant (flacon R3) dans des tubes en plastiques ou en verre de taille appropriée préalablement identifiés.
2. Ajouter 20 µL de spécimen (calibrants, contrôles, patients), préalablement passé au Vortex.
3. Bien mélanger.
4. Laisser 5 min à température ambiante jusqu'à la lyse complète des érythrocytes.
5. Réaliser le dosage de l'HbA1c (§ **MODE OPERATOIRE**).

Si le test ne peut pas être réalisé dans la journée, stocker l'hémolysat pendant 7 jours maximum à 2-8° C.

Pour une conservation prolongée, congeler le spécimen à -70° C pendant 30 jours au maximum.

CALIBRATION

- **REF** 22012 : HbA1c Kit de calibration, traçable sur matériaux de référence dans le système NGSP. Correspondance vers le système IFCC via la « Master Equation » IFCC-NGSP (§ **CALCUL**).

Utiliser comme indiqué dans la notice (§ **MODE OPERATOIRE**) pour réaliser la courbe de calibration.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif. Il est recommandé de calibrer systématiquement.

Annexe 6 : Normalisation internationale du dosage d'HbA1c

Programme national de normalisation de la glycohémoglobine (NGSP) :

L'objectif du NGSP est de normaliser les résultats du test de l'hémoglobine A1c par rapport à ceux de l'essai sur le contrôle du diabète et de ses complications (DCCT) et de l'étude prospective sur le diabète au Royaume-Uni (UKPDS) qui ont établi les relations directes entre les taux d'HbA1c et les risques de résultats chez les patients atteints de diabète.

Association américaine du diabète :

L'American Diabetes Association est une organisation à but non lucratif basée aux États-Unis qui cherche à éduquer le public sur le diabète et à aider les personnes touchées par le diabète en finançant la recherche pour gérer, guérir et prévenir le diabète.

Essai sur le contrôle du diabète et de ses complications (DCCT) :

L'essai DCCT) est une étude clinique multicentrique, randomisée, conçue pour déterminer si un régime de traitement intensif visant à maintenir les concentrations de glucose dans le sang aussi près que possible de la normale affectera l'apparition ou la progression de complications vasculaires précoces chez les patients atteints de diabète sucré insulino-dépendant (DID). Nous présentons les caractéristiques de base et les résultats sur un an de la cohorte initiale de 278 sujets randomisés dans la phase II de l'essai, une phase conçue pour répondre à plusieurs questions de faisabilité avant de lancer un essai à grande échelle.

Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire (IFCC) :

La Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire ou IFCC est une organisation mondiale qui promeut les domaines de la chimie clinique et de la médecine de laboratoire.

Étude prospective sur le diabète au Royaume-Uni (UKPDS) :

L'UKPDS (UK Prospective Diabetes Study) est un essai randomisé et multicentrique historique sur les thérapies glycémiques chez 5 102 patients atteints d'un diabète de type 2 récemment diagnostiqué. Elle a duré vingt ans (1977 à 1997) dans 23 sites cliniques britanniques et a montré de manière concluante que les complications du diabète de type 2, auparavant souvent considérées comme inévitables, pouvaient être réduites en améliorant le contrôle de la glycémie et/ou de la pression artérielle.

Annexe 7 : Quelques termes utilisés au laboratoire à l'échelle internationale

Contrôle de qualité externe :

Le contrôle de qualité externe est défini comme le procédé utilisant à des fins de contrôle de qualité, les résultats de plusieurs laboratoires qui analysent le même échantillon. Le contrôle de qualité externe permet avant tout de montrer que le laboratoire ayant participé à ce contrôle fournit des résultats comparables aux autres laboratoires. Sa fonction première vérifie donc l'exactitude des résultats du laboratoire examiné. Il est par contre beaucoup plus difficile d'évaluer la précision d'un laboratoire par ce type de contrôle, surtout s'il n'est effectué que quatre fois par an. L'analyse de plusieurs échantillons par enquête permet de palier quelque peu à cet inconvénient, mais ne permet en aucun cas de montrer qu'entre les enquêtes les résultats sont aussi fiables ! On utilise à cet effet le contrôle de qualité interne

Contrôle de qualité interne :

Le contrôle de qualité interne est défini comme le procédé utilisant à des fins de contrôle de qualité, les résultats d'un seul laboratoire.

Il existe plusieurs façons de contrôler statistiquement un procédé. Pour des raisons de temps et de simplification, nous ne décrivons qu'un seul procédé. Le choix que nous avons fait repose sur plusieurs critères dont celui important, de minimiser au maximum les calculs complexes.

Bien que le contrôle interne puisse être utilisé de manière rétrospective sur un grand nombre de valeurs, il est admis que son utilisation est avant tout faite sur quelques valeurs. Il va permettre au laboratoire de valider techniquement une série de mesures.

Il permettra à l'opérateur d'assurer que sa série possède les mêmes spécifications que d'habitude.

Le contrôle de qualité n'élimine pas les erreurs. Il permet d'assurer qu'elles ne sont pas plus importantes que d'habitude !

A cet effet il est nécessaire de connaître les caractéristiques de la méthode utilisée pour chaque paramètre contrôlé. Il est donc indispensable de déterminer d'abord pour chaque paramètre la valeur cible et l'inexactitude, que l'on utilise des sérums titrés ou non. Ce n'est qu'à ce prix que l'on peut exploiter un contrôle de qualité interne pour valider des résultats.

La valeur cible est déterminée en calculant la moyenne des mesures et l'inexactitude en calculant la déviation standard pour les mêmes valeurs.

L'accréditation ISO 15189 :

ISO 15189 est une norme internationale publiée par l'ISO en 2012 qui spécifie les exigences de qualité et de compétence propres aux laboratoires de biologie médicale (LBM).

Cette norme est spécifique aux LBM à la différence de la norme ISO/CEI 17025 (dont elle est dérivée) qui concerne tous les laboratoires d'analyses et d'essais. Le système de management de la qualité des laboratoires accrédités 15189 est fondé sur la norme ISO 9001:2008.

L'accréditation ISO 22870 :

L'introduction de la norme ISO 22870:2006 (Point des tests de soins - exigences particulières pour la qualité et la compétence), appliqué conjointement avec la norme ISO 15189:2012 (Médical Laboratoires - exigences particulières pour la qualité et la compétence), fournit une plate-forme d'utilisation des normes internationales dans l'accréditation des organisations qui fournissent des tests POC. ISO 22870:2006 est directement applicable aux tests POC menés dans les hôpitaux et en soins ambulatoires. Alors que les patients s'auto-évaluent dans le domicile (ou le cadre communautaire) est exclus de la norme, les éléments de la norme ISO 22870:2006 peuvent toujours être appliqués. Toutefois, comme la norme ISO 22870 n'est pas une norme autonome, elle doit être utilisée en liaison avec la norme ISO 15189. Cela signifie que le fournisseur de tests au POC doit également être accrédité selon la norme ISO 15189.