

MINISTRER DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
**UN PEUPLE – UN BUT – UNE FOI**



**U.S.T.T-B**

**UNIVERSITE DES SCIENCES, DES  
TECHNIQUES ET TECHNOLOGIES  
DE BAMAKO**



**FACULTE DE PHARMACIE**

Année universitaire 2021-2022

N°.....

## Thèse

**COMPARAISON DE METHODES POUR LE DOSAGE  
DE L'HEMOGLOBINE GLYQUEE SUR DEUX  
AUTOMATES DE BIOCHIMIE D-10® (BIO-RAD) et  
MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

Présentée et soutenue publiquement le 20/06/2022 devant la faculté de pharmacie

**Par M. SAIDOU DJAMBATOLOM TOLO**

Pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (Diplôme d'état)

### Jury

**Président :** Prof Boubacar TRAORE

**Membre :** Dr Djénébou TRAORE

Dr Djibril Mamadou COULIBALY

**Co-directeur :** Dr Aboubacar dit Tiétié BISSAN

**Directeur :** Prof Agrégé Bourèma KOURIBA

# LISTES DES PROFESSEURS

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple-Un But-Une Foi



## FACULTE DE

## PHARMACIE

U.S.TTB

---

### LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021

ADMINISTRATION

**Doyen :** Boubacar TRAORE, Professeur

**Vice-doyen :** Sékou BAH, Maître de Conférences

**Secrétaire principal :** Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

**Agent comptable :** Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

### PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
8	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
10	Alou A.	KEÏTA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
14	Abdourahamane S.	MAGA	Parasitologie
15	Saïbou	MAÏGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Mahamadou	TRAORE	Génétique
18	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

### PROFESSEURS DECEDES

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique

## DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
3	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
4	Alassane	DICKO	Santé Publique
5	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
6	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
7	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
8	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
9	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

### 2. MAITRE DE CONFERENCE/MAITRE DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>Chef de DER</b>
4	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-virologie
5	Issaka	SAGARA	Bio-statistique

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

<b>6</b>	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
<b>7</b>	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

**3. MAITRE ASSISTANT/CHARG DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>NOM</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>SPECIALITE</b>
<b>1</b>	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
<b>2</b>	Charles	ARAMA	Immunologie
<b>3</b>	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
<b>4</b>	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
<b>5</b>	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
<b>6</b>	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
<b>7</b>	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
<b>8</b>	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
<b>9</b>	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
<b>10</b>	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
<b>11</b>	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
<b>12</b>	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
<b>13</b>	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
<b>14</b>	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
<b>15</b>	Birama Apho	LY	Santé publique

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

16	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
17	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
18	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

**4. ASSISTANT/CHARGE DE RCHERCHE**

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

**DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

**1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

## 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
	Néant		

## 3. MAITRE ASSISTANT/CHARG DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

#### 4. ASSISTANT/CHARGE DE RCHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MATGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière



## DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique <b>Chef de DER</b>
2	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

### 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

### 3. MAITRE ASSISTANT/CHARG DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

#### 4. ASSISTANT/CHARGE DE RCHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

### DER : SCIENCES FONDAMENTALES

#### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ <b>Chef de DER</b>

## 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

## 3. MAITRE ASSISTANT/CHARG DE RECHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

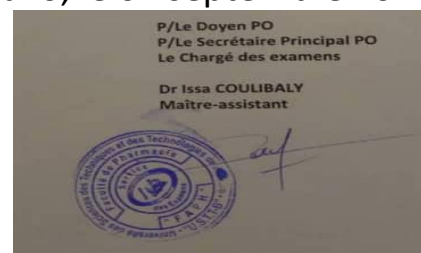
## 4. ASSISTANT/CHARGE DE RCHERCHE

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

## CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	NOM	PRENOMS	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie organique
8	Aboubakary	MAIGA	Chimie organique
9	Modibo	SANGARE	Anglais
10	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
14	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

Bamako, le 07 septembre 2021



# **DEDICACES ET REMERCIEMENTS**

Au nom d'**ALLAH** le tout MISERICORDIEUX, le très MISERICORDIEUX. « GLOIRE à TOI ! Nous n'avons de savoir que ce que Tu nous as appris. Certes c'est TOI l'Omniscient, le Sage ». Louange et Gloire à **ALLAH** le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail et voir ce jour que j'attendais tant.

A notre **PROPHETE MOHAMED** ; Salut et Paix sur Lui, à toute sa famille, tous ses compagnons, et à tous ceux qui Le suivent jusqu'au jour du jugement.

A la mémoire de mes grands-mères : feu **Yanidiou** et feu **Yabèri TOLO**, ce travail ne peut être que le fruit de vos efforts à travers des bénédictions et des conseils. Reposez en paix grands-mères.

**A mon père Djambatolom TOLO** : Cher papa une chose est de mettre un enfant au monde, l'éduquer en est une autre. Tu m'as offert des instants de bonheur simple, tu m'as transmis ces valeurs, ces principes, ces règles qui ont forgé mon éducation et ma personnalité au fil des années. Il y tant de souvenirs qui me reviennent à l'esprit qu'il me faudrait des pages entières pour tous les énumérer. Que Dieu t'accorde longue vie ! Merci.

**A mes mamans Yassa et Déné Inogo TOLO** : Quelles larmes n'as-tu pas versées pour nous, que de nuits blanches passées à nos côtés. C'est tout simplement deux amours qui m'ont formé !!! Qui m'ont donné tout ce qu'il fallait pour réussir ma vie !!! Trouvez à travers ce travail qui vous est dédié la récompense de vos efforts. Que Dieu vous accorde longue vie !

**A mes Frères et Sœurs** : vous aviez toujours été d'une façon ou d'un autre présent dans ma vie. J'ai toujours pu compter sur vous. Je vous dédie ce travail.

**A mes oncles, tantes, cousins, cousines, neveux, nièces beaux père, belle-mère, beaux-frères, belles sœurs** : Pour le réconfort moral et le soutien matériel que vous n'avez cessé de m'apporter pendant tant d'années d'étude. Recevez par ce travail le signe de mes sentiments affectueux et fraternels. Que Dieu renforce nos liens.

**A ma sœur Nagou Aichata TOLO** : Quels sacrifices n'as-tu pas consentis pour ton frère je ne pourrais te remercier assez pour tes apports inestimables tant sur le plan financier, matériel que moral.

**A ma femme Safoura TOLO** : Merci pour ton soutien et tes conseils aussi nobles.

**A Docteur Daouda Amadou TOLO** : merci pour ton soutien moral, financier et tes conseils jours et nuit.

**A mes amis de la faculté Dr Seydou Lalama Traoré, Mahamoudou Konaté, Youssouf Guindo** vous avec qui j'ai tout partagé mes joies et mes tristesses, je remercie le tout puissant de m'avoir donné des amis comme vous.

**A mes amis d'enfance :** votre nom qui apparait quand je pense à ces moments et à travers eux je vous remercie tous.

**Mes grands remerciements à la famille Tolo, Moro, Tabadongo, Guindo, Kamia, Kamoko, Toloba, Djépkilé, Ombetibé, Tembiné, Ouologuem, Kouriba, Peliyaba, Yalcouye, Tabadongo, Diarra, Keita, Pergourou, Maiga :** merci, Puisse le tout puissant resserrer nos liens de fraternité.

**A mes enseignants, camarades et collègues :** de l'école fondamentale de KASSA et AMBA, des lycées privé Hawoye Maiga de Mopti, et publique de Bougouni.

**A mon maitre et directeur du second cycle de l'école fondamentale de Kassa Sidi Nianassé,** merci pour votre générosité, vos conseils.

**A Tonton Hamadoun MORO, Dr Youssouf TOLO, Dr Adama Diarra, Dr Mamoudou TOLO, Dr Nagou TOLO, Dr Maimouna TOLO, Dr Hamadoun TOLO, Dr Ousmane Issa TOLO et tous mes aînés et cadets ressortissant de KASSA FMOS-FAPH.**

J'ai été impressionné par vos qualités humaines, vos encouragements et conseils de tous les jours. Merci à vous.

**A tous les aînés et cadets de l'AEERCK, Santé-plus Koro, GUINA DOGON cellule FMOS-FAPH**

J'ai été touché par vos sympathies, votre esprit de partage et votre amour pour le prochain. Vos encouragements et conseils indéfectibles m'ont toujours servi. Recevez, ma profonde gratitude et mes sincères remerciements.

**A Professeur Bourèma KOURIBA,** Directeur général et à tous les personnels du CICM-MALI. Votre simplicité, disponibilité, votre soutien moral et matériel m'ont permis de collecter mes données sans difficulté. Puisse Dieu vous récompense et vous donne longue vie.

**A mes Camarades de la « Promotion Pr Elimane MARIKO » :** merci pour la confiance et le bon voisinage je dis une fois de plus vive la promotion.

**A tous les internes du centre d'infectiologie Charles MERIEUX-MALI** : Keita Nana Touré, Karine Coulibaly, Abdouramsne Samaké, Tiéido Sidibé, Sadio Doumbia l'enthousiasme qui régnait en nous me donnait envie de travailler. Merci pour votre bonne collaboration.

**A tous les DOGONS résident au Point-G-Bamako**

Vous m'avez accompagné sans cesse durant toutes ces années. Merci pour tout le soutien apporté sans faille.

**A Dr Lassina Tembiné** pour vos remarques ont été très bénéfiques pour l'amélioration de ce document, recevez toute ma reconnaissance.

**Mes sincères remerciements :**

A tous les enseignants de la Faculté de médecine et d'odontostomatologie et la Faculté de pharmacie.

A tous les enseignants du primaire au secondaire et IFM-YAB de Sévaré

A tout le personnel du CICM-Mali

A tout le personnel de la Pharmacie Kadidia TOLO

A tout le personnel de la Clinique médical Horizon

A tout le personnel du laboratoire du CSRéf de la commune CIV de Bamako



# **HOMMAGES AUX MEMBRES DE JURY**

**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

**Professeur Boubacar TRAORE**

- **Professeur titulaire en Parasito-Mycologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Directeur scientifique de l'Unité Paludisme et Grossesse et immunopathologie parasitaire du MRTC/ICFR**
- **Ancien Premier assesseur de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS)**
- **Doyen de la Faculté de Pharmacie**

**Cher Maître**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse.

Permettez-nous, cher maître, de vous réitérer notre profond respect.

## **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

### **Docteur Djénébou TRAORE**

- **Spécialiste en médecine interne ;**
- **Maitre-assistante en médecine interne ;**
- **Membre de la société malienne de médecine interne ;**
- **Praticienne hospitalière au CHU du point G ;**
- **Diplômée de l'université paris VI sur la prise en charge du VIH ;**
- **Diplômée de formation graduée en hépato-gastro-entérologie Mohamed V Maroc ;**
- **Diplômée universitaire en drépanocytose à la FMPOS.**

**Cher Maître,**

Nous nous estimons chanceux de profiter de votre enseignement et surtout votre rigueur et votre précision dans le travail.

Nous vous prions d'accepter nos sincères reconnaissances et notre profond respect.

**A NOTRE MAITRE ET JUGE**

**Docteur Djibril MAMADOU COULIBALY**

- **Pharmacien Biologiste ;**
- **Titulaire d'un master de Biochimie-Génie génétique ;**
- **Titulaire d'un DES en biochimie clinique ;**
- **Maître assistant en biochimie clinique à la faculté de Pharmacie ;**
- **Praticien hospitalier au CHU Point G.**

**Cher Maître,**

Votre simplicité, votre disponibilité, votre franchise et votre rigueur scientifique font de vous un maître admiré par les étudiants.

Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

**A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE**

**Docteur Aboubacar dit Tiétié BISSAN**

- **Maitre-assistant en biochimie à la FAPH**
- **Pharmacien Biologiste**
- **Praticien au centre d'infectiologie Charles MERIEUX**
- **Enseignant chercheur**

**Cher Maitre,**

Nous nous estimons chanceux de profiter de votre enseignement et surtout votre rigueur et votre précision dans le travail.

Votre grande humilité et votre dévouement sont quelques-unes de vos qualités qui nous ont marqués.

Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**Professeur Agrégée Bourèma KOURIBA**

- **Maître de Conférences Agrégée en Immunologie a la Faculté de Pharmacie,**
- **Chef de l'Unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire de MRTC/DEAP,**
- **Directeur Général du centre d'infectiologie Charles MERIEUX-MALI (CICM)**

**Cher maître**

Nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques, pédagogiques et humaines.

Votre disponibilité, la valeur de vos connaissances, votre accueil toujours courtois et affectif nous ont conquis.

Cher maître, veuillez recevoir en toute modestie l'expression de notre immense gratitude.

**Liste des abréviations**

**ADA** : *American Diabetes Association*

**AGE** : *Produits finaux de glycation ou advanced glycation end products*

**CCM** : Chromatographe de la Couche Mince

**CEED** : Centre Européen d'Etude du Diabète

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**D-10®** : HPLC D-10® BIO-RAD

**DCCT**: *Diabetes Control and Complications Trial*

**EADS**: European Association for the Study of Diabetes

**EBD** : L'électrophorèse Bidimensionnelle des protéines Dénaturées

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétracétique

**ELP** : Electrophorèse

**IDF**: International Diabetes Federation

**IEF**: Isoélectrofocalisation

**IFCC**: *International Federation of Clinical Chemistry*

**HbA** : Hémoglobine Adulte

**HbA0** : Hémoglobine normale

**HbA1c** : Hémoglobine glyquée

**HbA2** : Hémoglobine A2

**HbC** : Hémoglobine C

**HbF** : Hémoglobine Fœtale

**HbS** : Hémoglobine S

**HPLC** : Chromatographie en Phase Liquide de Haute Performance

**LRM** : Laboratoire Rodolphe MERIEUX

**Minicap FP®** : Electrophorèse Minicap® Flex PERCING SEBIA®

**MM** : Masse Moléculaire

**NGSP** : *National Glycohemoglobin Standardization Program*

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PS** : Phase Stationnaire

**SDS-PAGE** : Electrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium

**SSED** : Société Suisse d'Endocrinologie

## Table des matières

<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>2. Objectifs</b> .....	3
<b>2.1. Objectif générale</b> .....	3
<b>3. Generalites</b> .....	4
<b>3.1. Le diabète</b> .....	4
<b>3.2. L'hémoglobine</b> .....	9
<b>3.2.1. Histoire, définition et fonction</b> .....	9
<b>3.2.2. Structure</b> .....	9
<b>3.2.3. Les différents types d'hémoglobines normales</b> .....	13
<b>3.2.4. Hémoglobinopathies et hémoglobines anormales</b> .....	13
<b>3.2.4.1. Anomalies qualitatives</b> .....	14
<b>3.2.4.2. Anomalies quantitatives</b> .....	15
<b>3.3. Hémoglobine glyquée</b> .....	16
<b>3.3.1. Historique et définition</b> .....	16
<b>3.3.2. La glycation des protéines</b> .....	17
<b>3.3.3. Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée</b> .....	19
<b>3.3.4. Méthodes basées sur la modification de la charge [31].</b> .....	31
<b>3.3.5. Méthodes basées sur la modification de la structure [31].</b> .....	31
<b>3.3.6. Standardisation [62].</b> .....	32
<b>3.3.7. Intérêt de dosage de l'HbA1c</b> .....	32
<b>3.3.8. Les limites de dosage de l'HbA1c</b> .....	33
<b>3.3.8.1. Variations physiologiques [63].</b> .....	33
<b>3.3.8.2. Présence des variants d'hémoglobine dans le dosage de l'HbA1c</b> .....	33
<b>3.4. Analyse statistique</b> .....	34
<b>4. Méthodologie</b> .....	36
<b>5. Résultats</b> .....	47
<b>6. Discussion</b> .....	84
<b>7. Conclusion et recommandations</b> .....	93
<b>8. Perspectives</b> .....	95



Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et  
MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

<b>9. Références</b> .....	96
<b>10. Annexes</b> .....	103

## ANNEXE

<b>Annexe 1 :</b> Représentation schématique des différentes fractions de l'hémoglobine qui sont identifiées par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) dans une cohorte de globules rouges matures.....	103
<b>Annexe 2 :</b> Automates pour dosage de l'hémoglobine glyquée Minicap® FLEX PERCING et D-10® BIO-RAD du CICM-Mali.....	104
<b>Annexe 3 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A non diabétique sur Minicap FP® .....	105
<b>Annexe 4 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A non diabétique sur D-10® .....	106
<b>Annexe 5 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A diabétique sur Minicap FP® .....	107
<b>Annexe 6 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A diabétique sur D-10® .....	108
<b>Annexe 7 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/S) non diabétique sur Minicap FP®.....	109
<b>Annexe 8 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec hémoglobine anormale hétérozygote (A/S) non diabétique sur D-10® .....	110
<b>Annexe 9 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/S) diabétique sur Minicap FP®.....	111
<b>Annexe 10 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/S) diabétique sur D-10® .....	112
<b>Annexe 11 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/C) diabétique sur Minicap FP®.....	113
<b>Annexe 12 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/C) diabétique sur et D-10®.....	114
<b>Annexe 13 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/C) non diabétique sur Minicap FP®.....	115
<b>Annexe 14 :</b> Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/C) non diabétique sur D-10®.....	116

<b>Annexe 15</b> : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote composite (S/C) non diabétique sur Minicap FP® .....	117
<b>Annexe 16</b> : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote composite (S/C) non diabétique sur D-10® .....	118
<b>Annexe 17</b> : Exemple tracés de l'HbA1c d'un patient homozygote (S/S) non diabétique sur Minicap FP® .....	119
<b>Annexe 18</b> : Exemple tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale homozygote (S/S) non diabétique sur D-10® .....	120
<b>Annexe 19</b> : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient homozygote (C/C) non diabétique sur Minicap FP® .....	121
<b>Annexe 20</b> : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale homozygote (C/C) non diabétique sur D-10® .....	122
<b>Annexe 21</b> : contrôle de qualité sur D-10®. Le contrôle pathologique (LRM-MALI) .....	123
<b>Annexe 22</b> : contrôle de qualité sur D-10®. Le contrôle normal (LRM-MALI) .....	124
<b>Annexe 23</b> : contrôle de qualité sur Minicap FP®. Le contrôle pathologique (LRM-MALI)....	125
<b>Annexe 24</b> : contrôle de qualité sur Minicap FP®. Le contrôle normal (LRM-MALI) .....	126
<b>Annexe 25</b> : portée d'accréditation du laboratoire d'analyse de biologie médicale CICM-MALI. ....	128

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Différents types d'hémoglobines normales .....	13
<b>Tableau II :</b> Différentes fractions d'hémoglobines chez un sujet non diabétique, exprimé en pourcentage de l'hémoglobine totale.....	19
<b>Tableau III :</b> Répartition des patients selon la tranche d'âge de la population globale.....	48
<b>Tableau IV:</b> Répartition des patients diabétique de la population globale selon la tranche d'âge .....	50
<b>Tableau V:</b> Répartition des patients non diabétiques de la population globale selon la tranche d'âge .....	51
<b>Tableau VI:</b> Répartition des patients sans variants selon la tranche d'âge .....	52
<b>Tableau VII:</b> Répartition des patients hétérozygotes A/S ou A/C selon la tranche d'âge .....	53
<b>Tableau VIII:</b> Répartition des patients selon le profil hémoglobinique .....	55
<b>Tableau IX :</b> Analyse multivariée des facteurs influençant le dosage de l'HbA1c sur le D-10® et le Minicap FP® .....	56
<b>Tableau X :</b> Description statistique taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes .....	57
<b>Tableau XI :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour les patients diabétiques.....	59
<b>Tableau XII :</b> La description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population générale non diabétique. ....	61
<b>Tableau XIII :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population avec variant d'hémoglobine. ....	63
<b>Tableau XIV :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population sans variant d'hémoglobine.....	65
<b>Tableau XV :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population A/S ou A/C diabétique.....	67
<b>Tableau XVI :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population A/S ou A/C non diabétique. ....	69
<b>Tableau XVII :</b> Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population sans variant diabétique.....	71

<b>Tableau XVIII</b> : Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population non diabétique ne possédant pas de variant d'Hb.....	73
<b>Tableau XIX</b> : Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes pour la population hétérozygote A/S.....	75
<b>Tableau XX</b> : Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes pour la population hétérozygote A/C. ....	77
<b>Tableau XXI</b> : Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux les méthodes.....	79
<b>Tableau XXII</b> : Caractéristiques des profils homozygotes (S/S C/C) et hétérozygotes composites(S/C) .....	83

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Epidémiologie du diabète dans le monde .....	5
<b>Figure 2 :</b> Schéma des complications du diabète .....	8
<b>Figure 3 :</b> Structure chimique de l'hémoglobine et la myoglobine.....	10
<b>Figure 4 :</b> Gènes de l'hémoglobine . .....	11
<b>Figure 5 :</b> Molécule de l'hème .....	12
<b>Figure 6 :</b> Structure de l'hème.....	13
<b>Figure 7 :</b> Etapes de condensation et de réarrangement aboutissant à la glycation irréversible des protéines.....	18
<b>Figure 8 :</b> Electrophorèse SDS-PAGE .....	23
<b>Figure 9 :</b> Electrophorèse bidimensionnelle. ....	24
<b>Figure 10 :</b> Schéma de principe de l'instrumentation d'électrophorèse capillaire.....	25
<b>Figure 11 :</b> Exemple d'élution en chromatographie sur couche mince.....	27
<b>Figure 12 :</b> la chromatographie en phase gazeuse.....	28
<b>Figure 13 :</b> Principe de fonctionnement de l'HPLC.....	29
<b>Figure 14 :</b> Vue photographique de l'appareil D-10® BIO-RAD du CICM-Mali (photographie personnelle).....	39
<b>Figure 15 :</b> Vue du résultat d'électrophorèse de l'hémoglobine d'un patient sur D-10 Bio-Rad (Image personnelle du LRM-MALI).....	40
<b>Figure 16 :</b> Vue photographique de l'appareil d'électrophorèse MINICAP® FLEX PERCING (SEBIA®) du CICM-Mali (photographie personnelle).....	42
<b>Figure 17 :</b> Vue d'un résultat montrant le profil électrophorétique d'une patiente homozygote hémoglobine A/A sur l'appareil MINICAP FLEX PERCING® montrant le profil électrophorétique, le taux d'HbA1c est : 4,50 % pour ce patient. (Image personnelle du LRM)..	44
<b>Figure 18:</b> Répartition des patients selon le sexe. ....	48
<b>Figure 19:</b> Fréquence des patients diabétiques parmi les personnes ayant demandé le dosage de l'HbA1c.....	49
<b>Figure 20 :</b> Répartition les patients diabétiques de la population globale selon le sexe .....	50
<b>Figure 21:</b> Répartition des patients non diabétiques de la population selon le sexe .....	51
<b>Figure 22:</b> Répartition des patients sans variante d'hémoglobine selon le sexe.....	52

<b>Figure 23 :</b> Répartition des patients hétérozygotes AS ou AC selon le sexe.....	53
<b>Figure 24:</b> Répartition des patients selon le profil d'hémoglobinique .....	54
<b>Figure 25:</b> a= Graphique de Bland-Altman de la population générale diabétique, b= droites de la régression linéaire de la population totale. ....	58
<b>Figure 26:</b> a= Graphique de Bland-Altman population générale diabétique, b= droite de la régression linéaire Population générale diabétique. ....	60
<b>Figure 27:</b> a= Graphique de Bland-Altman population générale non diabétique, b= droite de la régression linéaire population générale non diabétique .....	62
<b>Figure 28:</b> a= Graphique de Bland-Altman population avec variant d'hémoglobine, b= droite de la régression linéaire population avec variant d'hémoglobine.....	64
<b>Figure 29:</b> a= Graphique de Bland-Altman population sans variant d'hémoglobine, b= droite de la régression linéaire population sans variants d'hémoglobine .....	66
<b>Figure 30:</b> a= Graphique de Bland-Altman Diabétique A/S ou A/C, b= Droite de la régression linéaire Diabétique A/S ou A/C. ....	68
<b>Figure 31:</b> a= Graphique de Bland Altman Non diabétique A/S ou A/C, b= Droite de la régression linéaire Non diabétique A/S ou A/C.....	70
<b>Figure 32:</b> a= Graphe de Bland-Altman Sans variante diabétique, b= Droite de la régression linéaire Sans variante diabétique.....	72
<b>Figure 33:</b> a= Graphique de Bland Altman Sans variantes non diabétique, b= Droite de la régression linéaire Sans variantes non diabétique.....	74
<b>Figure 34:</b> a= Graphe de Bland-Altman des patients avec hémoglobine A/S, b= droite de la régression linéaire des patients avec hémoglobine A/S.....	76
<b>Figure 35:</b> a= Graphe de Bland-Altman des patients avec hémoglobine A/C, b= droite de la régression linéaire des patients avec Hémoglobine A/C. ....	78
<b>Figure 36:</b> la corrélation entre l'HbA1c et la glycémie de la population totale sur D-10 .....	81
<b>Figure 37:</b> la corrélation entre l'HbA1c et de la glycémie de la population générale diabétique sur D-10.....	82

## 1. Introduction

Aujourd'hui, il existe plus de 30 méthodes différentes de dosage pour la mesure de l'hémoglobine glyquée [1]. Toutes les méthodes de mesure doivent désormais être calibrées sur la méthode de référence de l'*International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) [2]. Les dosages actuels de l'HbA1c pratiqués par *high performance liquid chromatography* (HPLC), alignés sur le *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) et certifiés conformes au *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP), sont d'une excellente fiabilité [3].

Depuis plusieurs décennies, les critères diagnostiques du diabète sont basés sur des valeurs glycémiques comme la glycémie à jeun ou après prise de glucose (test de tolérance au glucose – TTG). En 2010, l'*American diabetes association* (ADA) a approuvé l'utilisation de l'hémoglobine glyquée comme outil diagnostique pour le diabète et le pré-diabète basé sur les recommandations d'un panel d'experts internationaux incluant des représentants de l'ADA, de l'*International Diabetes Federation* (IDF) et l'*European association for the study of diabetes* (EADS) [4].

L'hémoglobine glyquée (HbA1c), issue de la fixation non enzymatique du glucose sur l'extrémité N-terminale de la chaîne de l'hémoglobine A, constitue un marqueur rétrospectif permettant une estimation de l'équilibre glycémique du patient au cours des six à huit semaines précédant son dosage [5]. Son dosage s'est progressivement affiné et standardisé au fil des années [6]. Il est devenu le gold standard des examens biologiques chez le sujet diabétique. C'est l'un des marqueurs biologiques les plus pertinents pour la surveillance et le dépistage des complications du diabète [7]. Au cours des hémoglobinopathies, dans lesquelles les anomalies structurales de l'hémoglobine peuvent s'accompagner d'une certaine instabilité, responsable d'un degré variable d'hémolyse, et où le dosage de l'HbA1c est perturbé par la présence du variant d'hémoglobine et de ses formes glyquées, tant sur le plan analytique que sémiologique [8].

Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline, ou des deux [9].

Il est une cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques, d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs. Un régime alimentaire sain, l'activité physique, des médicaments, un dépistage régulier et le traitement des complications permettent de traiter le diabète et d'éviter ou de retarder les conséquences qu'il peut avoir [10].



À l'échelle mondiale, la fréquence et la prévalence du diabète continuent de grimper en raison à la fois de la hausse de la fréquence du diabète de type 1 chez les enfants et de l'augmentation des cas de diabète de type 2 attribuables aux modifications des habitudes de vie, notamment dans les pays en développement [11].

La qualité des dosages de l'HbA1c est donc d'une importance capitale, tant pour le diagnostic que pour le suivi des diabétiques. A cet effet, le choix des appareils de dosage devrait être effectué par les biologistes compétents et la vérification de performance, effectuée régulièrement. L'utilisation de deux ou de plusieurs automates pour ce dosage implique d'effectuer une comparaison de méthode et une étude de corrélation afin de prouver la même performance sur les différents appareils et d'éviter ainsi des erreurs d'interprétation clinique en cas de changement de méthode.

### **Question de recherche**

Le but de se conformer à l'une des exigences de la norme ISO 15189 dans sa démarche d'accompagnement des laboratoires de biologie médicale et les diabétologues pour l'amélioration de la fiabilité des résultats rendus, nous avons entrepris cette étude afin d'évaluer la concordance entre les résultats obtenus par deux automates de biochimie D10® et MINICAP® basés sur des principes différents.

### **Hypothèse de recherche**

Il n'y a pas de concordance des résultats entre les deux automates de biochimie D10® et MINICAP® et la présence des variants d'hémoglobine impacte les résultats de l'HbA1c.

## **2. Objectifs**

### **2.1. Objectif générale**

Evaluer les valeurs diagnostiques des méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée par les automates D10® et MINICAP®.

### **2.2. Objectifs spécifiques**

- 1) Comparer deux méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée chez les patients du CICM-Mali.
- 2) Etablir la corrélation entre les deux automates chez les patients diabétiques et non diabétiques
- 3) Etablir la corrélation entre les deux automates chez les patients avec variant d'hémoglobine et sans variant d'hémoglobine.
- 4) Déterminer la corrélation entre hémoglobine glyquée et glycémie à jeun chez les patients diabétiques.

### **3. GENERALITES**

#### **3.1. Le diabète**

##### **3.1.1. Définition**

Le diabète sucré est un groupe de maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. L'hyperglycémie chronique est associée à long terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux [12].

##### **3.1.2. Epidémiologie**

Le diabète constitue l'une des urgences sanitaires mondiales du 21ème siècle qui connaît l'évolution la plus rapide. Pour 2019, on estime à 463 millions de personnes vivant avec le diabète et ce nombre devrait atteindre 578 millions en 2030 et 700 millions en 2045. Les deux tiers des personnes vivant avec le diabète vivent en milieu urbain. On estime également que plus de quatre millions de personnes âgées de 20 à 79 ans mourront de causes liées au diabète en 2019. Le nombre d'enfants et d'adolescents (jusqu'à 19 ans) vivant avec le diabète augmente chaque année. Les chiffres indiquent que plus d'un million d'enfants et d'adolescents vivent avec le diabète de type 1. On estime que 136 millions de personnes de plus de 65 ans vivent avec le diabète et la prévalence de cette pathologie dans ce groupe d'âge varie considérablement en fonction des Régions de la *International Diabetes Federation* (figure 1) [13].

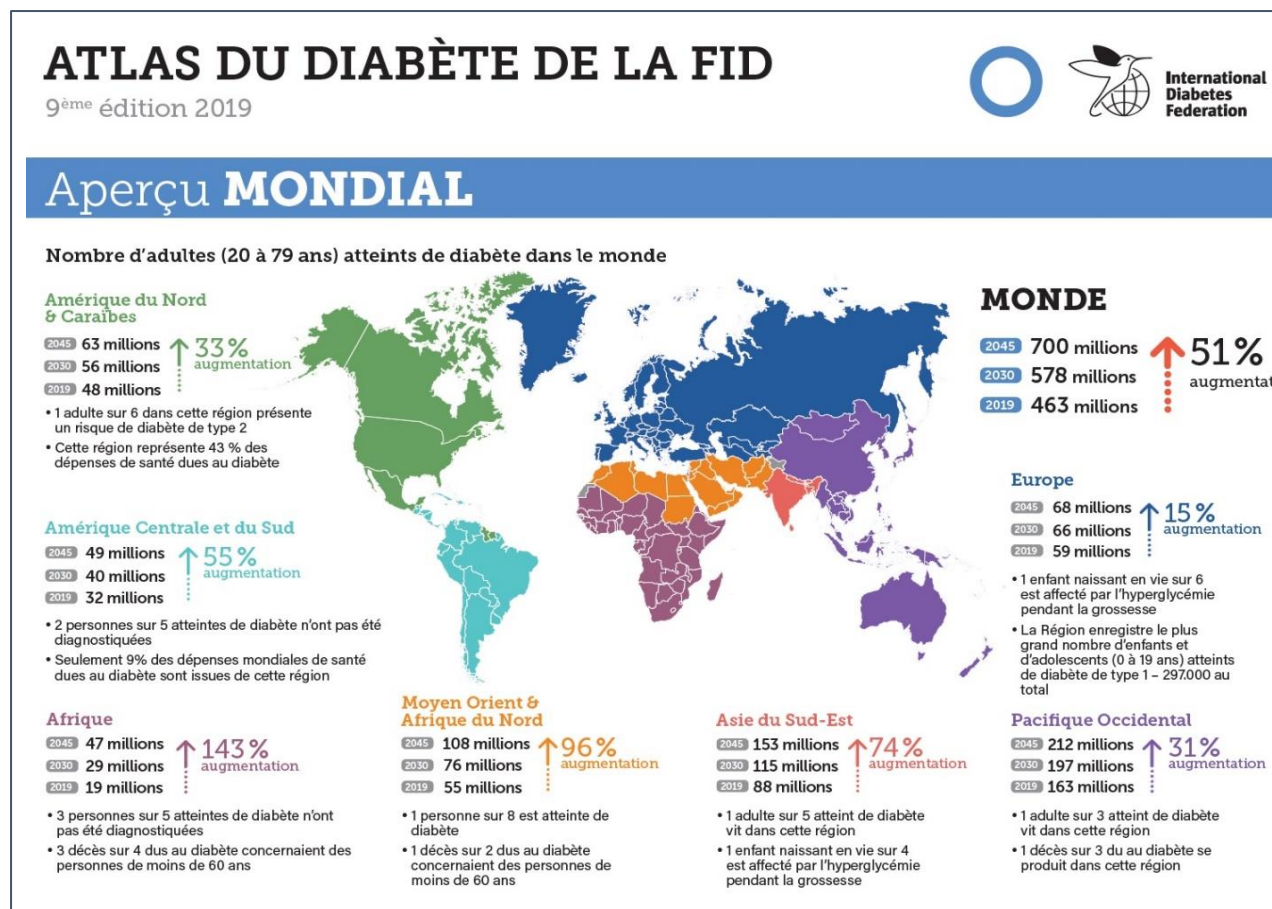


Figure 1: Epidémiologie du diabète dans le monde [13].

### 3.1.3. Risques liés au diabète

Les causes exactes du diabète type 1 demeurent encore inconnues et il n'existe actuellement aucun moyen de prévenir l'apparition de ce type de diabète. Des facteurs génétiques et l'exposition à certains virus (Coxsackies (CVs)) pourraient jouer un rôle dans le déclenchement du processus auto-immunitaire menant à la destruction de cellule bêta du pancréas [14].

L'âge, les antécédents familiaux de diabète, l'obésité (particulièrement l'obésité abdominale) et la sédentarité sont les facteurs de risque les plus importants du diabète de type 2.

### 3.1.4. Classification

#### 3.1.4.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 (autrefois appelé diabète insulino-dépendant ou juvénile) se caractérise par une production insuffisante d'insuline. La cause du diabète de type 1 n'est pas connue, et en l'état des connaissances actuelles, il n'est pas évitable. Les symptômes sont les suivants : excrétion

excessive d'urine (polyurie), sensation de soif (polydipsie), faim constante, perte de poids, altération de la vision et fatigue. Ces symptômes peuvent apparaître brutalement [15].

#### **3.1.4.2. Diabète de type 2**

Le diabète de type 2 est la forme la plus courante de la maladie et représente environ 90 % de tous les cas. Dans cette forme de diabète, l'hyperglycémie est le résultat d'une production inadéquate d'insuline et de l'incapacité de l'organisme à répondre pleinement à l'insuline, un état qualifié de résistance à l'insuline [16].

#### **3.1.4.3. Diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel résulte d'une intolérance au glucose qui se manifeste ou est dépistée pour la première fois pendant la grossesse [16].

#### **3.1.4.4. Autres types de diabètes [13].**

- Diabète provoqué par une atteinte du pancréas exocrine, comme la pancréatite, un traumatisme, une infection, le cancer du pancréas et la pancréatectomie ;
- Diabète dû à des troubles endocriniens engendrant une sécrétion excessive d'hormones qui nuisent à l'insuline ;
- Diabète d'origine médicamenteuse et chimique provoqué par des médicaments qui perturbent la sécrétion d'insuline ou son action ;
- Diabète d'origine infectieuse occasionné par une infection virale associée à la destruction des cellules bêta ;
- Formes peu courantes de diabète à médiation immunitaire (p. ex. troubles immunologiques en-dehors de ceux qui entraînent le diabète de type 1)

#### **3.1.5. Critères diagnostiques : [18].**

Le diagnostic du diabète peut être établi de trois façons différentes, qui, en l'absence d'une hyperglycémie évidente devront être confirmées par une deuxième mesure :

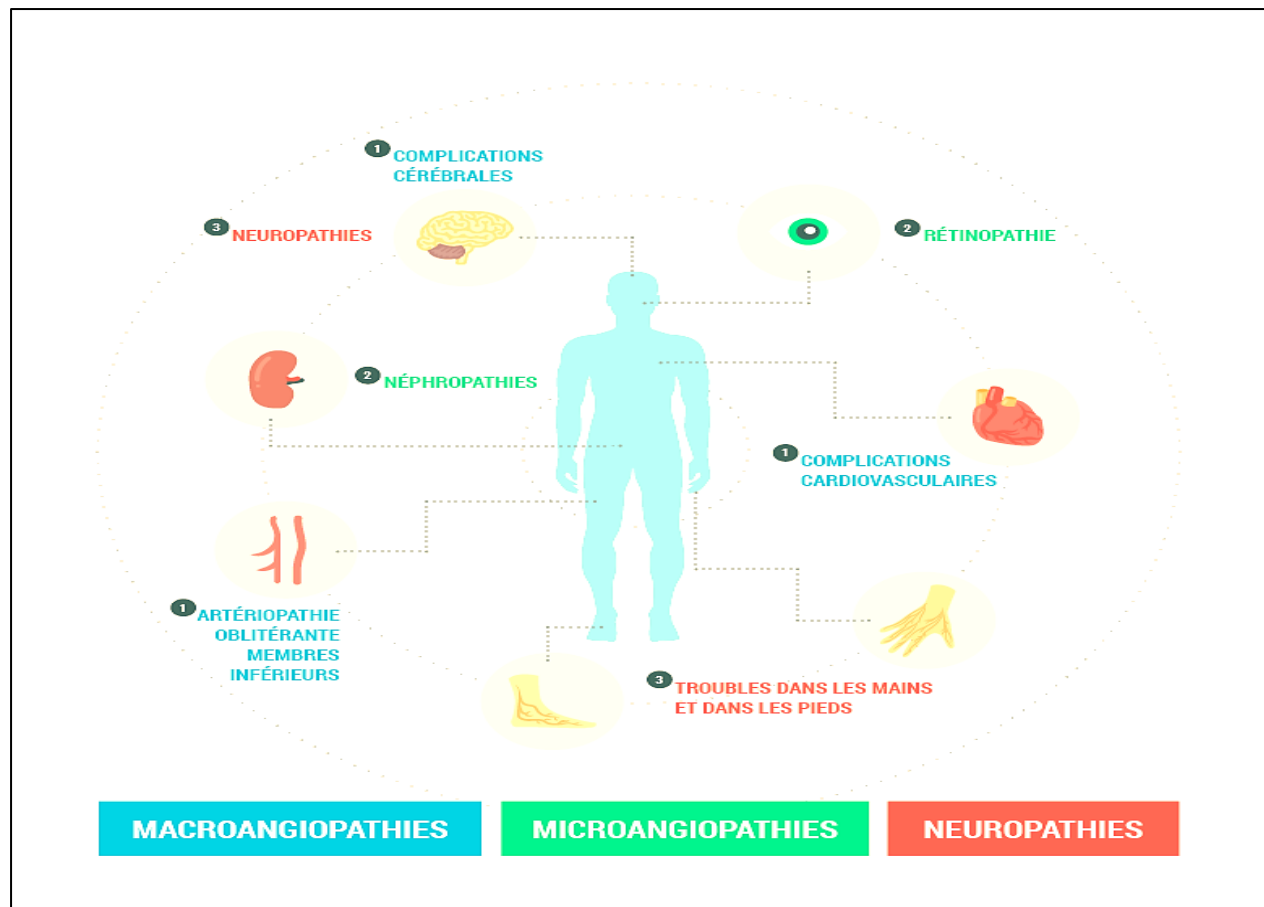
- Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexplicé, somnolence voire coma) et glycémie quelle que soit l'heure  $\geq 2,00$  g/L (11,1 mmol/L),
- Une glycémie à jeun  $\geq 1,26$  g/L (7,00 mmol/L),
- Glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale  $\geq 2,00$  g/L (11,1 mmol/L) ;
- HbA1c  $\geq 6,5\%$ .

### **États pré-diabétiques : [18].**

- Une « anomalie de la glycémie à jeun » tous les sujets ayant une glycémie à jeun comprise entre 1 g/L et 1,25 g/L.
- Une « intolérance au glucose » tous les sujets dont la glycémie à jeun est inférieure à 1,26 g/L et dont la glycémie à la 2<sup>ème</sup> heure d'une épreuve d'hyperglycémie orale (75 g de glucose per os) est comprise entre 1,40 g/L et 1,99 g/L.
- À « haut risque pour le diabète sucré » tous les sujets ayant une HbA1c comprise entre 5,7 et 6,4%.

### **3.1.6. Complications du diabète**

La souffrance vasculaire au cours du diabète concerne l'intégralité des vaisseaux de l'organisme, quels que soient leur taille et les tissus qu'ils irriguent. Cette souffrance a parfois une traduction clinique : on distingue classiquement les complications microangiopathiques (rein, œil, nerf) des complications macroangiopathiques, qui consistent en une athérosclérose accélérée, avec certaines spécificités. La présence d'un diabète augmente considérablement plus le risque d'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (augmentation de 6 à 10 fois), que celui de coronaropathie (augmentation de 2 à 4 fois) ou d'accident vasculaire cérébral ischémique [19]. Ces nombreuses complications sont énoncées dans la figure suivante, figure 2 :



**Figure 2 :** Schéma des complications du diabète [20].

- **Les neuropathies :**

Atteinte des nerfs, le plus fréquemment au niveau des membres inférieurs = perte de la sensibilité (chaud, froid, douleur) ; lésions : mal perforant plantaire.

- **La néphropathie :**

Affection rénale : Le rein fait partie des cibles privilégiées des complications liées au diabète. En effet, l'élévation du taux de sucre dans le sang, ou « hyperglycémie », altère le fonctionnement des petits vaisseaux sanguins et le fonctionnement du rein. On parle de "complication rénale du diabète" ou de "néphropathie diabétique"

- **La rétinopathie :**

Affection oculaire grave due à un endommagement de la structure de la rétine.

- **L'accident Vasculaire Cérébral (AVC)**

L'AVC se produit lorsqu'une partie du cerveau est brusquement privée de sang

- **L'infarctus du myocarde :**

Destruction d'une partie du muscle cardiaque, due à une diminution de l'apport en oxygène

### **3.2. L'hémoglobine**

#### **3.2.1. Histoire, définition et fonction**

En 1862, le physiologiste allemand Hoppe-Seyler a créé le terme « hémoglobine » pour désigner le pigment respiratoire, transportant l'oxygène, contenu dans les globules rouges. Les hémoglobines humaines appartiennent à une très ancienne famille de molécules, apparue bien avant la vie aérobie dans l'évolution des espèces. Les premières molécules de cette famille remontent à plus de 1,8 milliard d'années [21].

L'hémoglobine (Hb) est une protéine contenue sous forme soluble au sein des érythrocytes (ou globules rouges), cellules anucléées, avec une forte concentration intracellulaire d'environ 34 g/dl [22].

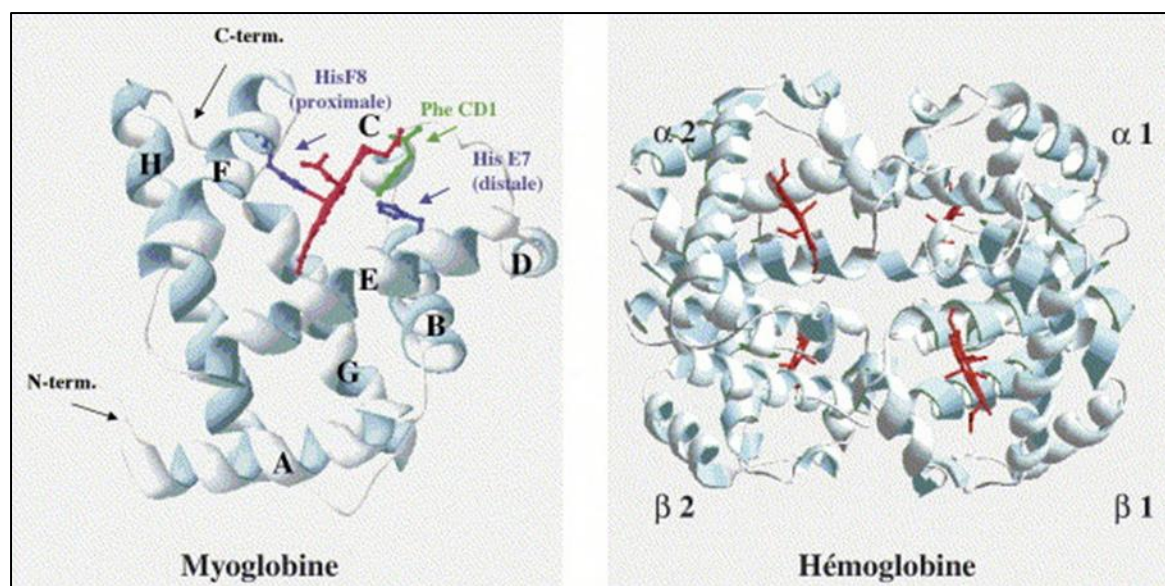
Le transport et le stockage d'oxygène qui sont les fonctions essentielles des hémoglobines. Les hémoglobines sont en effet présentes dans tout le monde vivant, végétal et animal, de la bactérie à l'homme. On parle le plus souvent de myoglobine pour désigner cette molécule lorsqu'elle est contenue dans une cellule musculaire et de neuroglobine lorsqu'elle l'est dans une cellule nerveuse. [21].

#### **3.2.2. Structure**

L'hémoglobine ou plutôt les hémoglobines sont constituées de quatre chaînes polypeptidiques, les chaînes de globine, dont il existe plusieurs entités (leur structure primaire). Une molécule d'hémoglobine est formée de deux types de chaînes, identiques deux à deux. L'hémoglobine A (HbA), la forme majoritaire circulant dans le sang des adultes de l'espèce humaine (homo sapiens sapiens), un vertébré mammifère, est constituée de deux chaînes de type alpha ( $\alpha$ ) et deux chaînes de type bêta ( $\beta$ ). La chaîne polypeptidique  $\alpha$ -globine, doit s'associer avec différents partenaires au cours de la vie embryonnaire, fœtale et adulte ( $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ) ; les deux types de chaînes comportent de nombreux résidus d'acides aminés dans les mêmes positions ; on en retrouve de nombreux en commun aussi avec la chaîne polypeptidique de la myoglobine qui se trouve dans le cytosol des cellules musculaires, portant une seule molécule d'hème donc une seule molécule de dioxygène.



Les chaînes de globine portent toutes de nombreuses hélices alpha (hélices classiques 3,6-13) dans leur structure secondaire, 7 pour la chaîne  $\alpha$  (notées de A à G) et 8 pour la chaîne  $\beta$  (notées de A à H). La poche contenant l'hème se trouve entre les hélices E et F pour les deux types de chaînes [23].



**Figure 3 :** Structure chimique de l'hémoglobine et la myoglobine [21].

- L'hémoglobine A2 de structure  $\alpha 2 \delta 2$  est formée de deux chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\delta$ .
- L'hémoglobine F de structure  $\alpha 2 \gamma 2$  est formée de deux chaînes polypeptidiques  $\alpha$  et  $\gamma$ . Elle prédomine pendant la vie fœtale et diminue pendant la première année de vie.
- L'hémoglobine A possède la structure moléculaire  $\alpha 2 \beta 2$ .

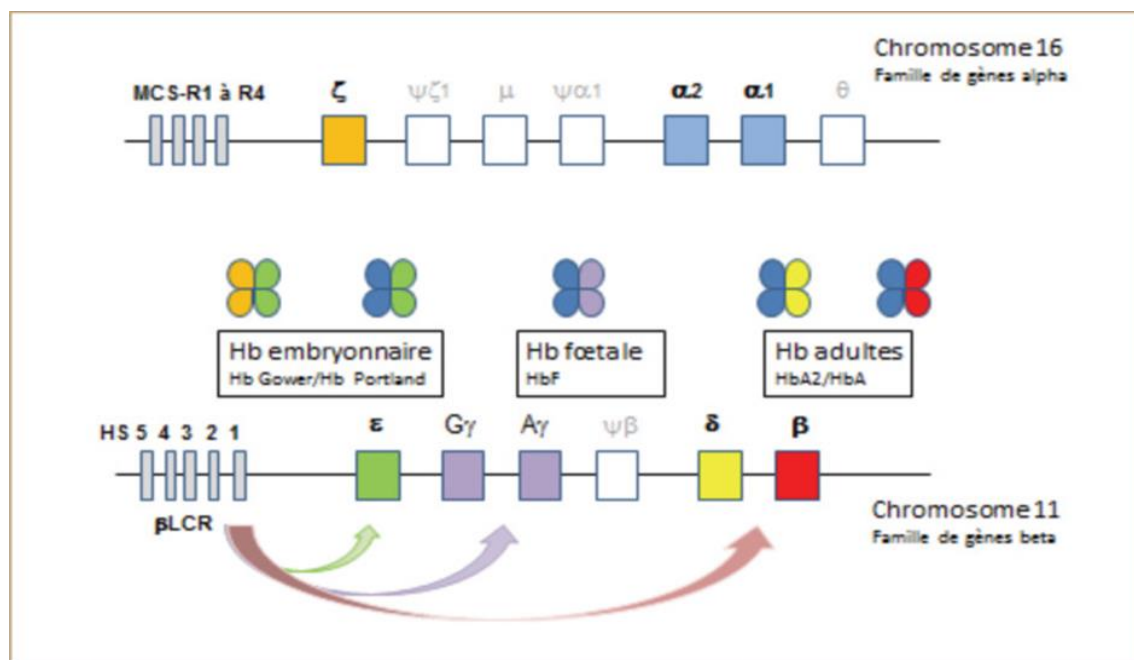
#### ❖ Gènes de l'hémoglobine

Schématiquement, deux familles de gènes (ou cluster) contrôlent l'expression des chaînes de globine : le cluster alpha et le cluster bêta (figure 4). Dans ces 2 familles, l'ordre des gènes sur le chromosome de 5' en 3' est le même que celui de leur expression au cours du développement. Le cluster alpha, situé sur le chromosome 16, proche de la région télomérique, comporte trois gènes fonctionnels : un gène embryonnaire  $\zeta$  (HBZ) et deux gènes exprimés dès la vie fœtale  $\alpha 2$  (HBA2) et  $\alpha 1$  (HBA1) [22].

Le cluster bêta, situé sur le chromosome 11, comporte 5 gènes fonctionnels : un gène embryonnaire  $\epsilon$  (HBE1), deux gènes fœtaux  $G\gamma$  et  $A\gamma$  (HBG2 et HBG1) et deux gènes adultes  $\delta$  et  $\beta$  (HBD et

HBB). Ce cluster est le siège de deux « switch » consécutifs : le premier de  $\epsilon$  vers  $\gamma$  a lieu précocement durant la vie embryonnaire ; le second de  $\gamma$  vers  $\delta$  et  $\beta$ , beaucoup plus tardif commence à la fin de la vie fœtale. Ce dernier, responsable de la transition de l'HbF vers l'HbA, est encore actuellement imparfaitement élucidé [24].

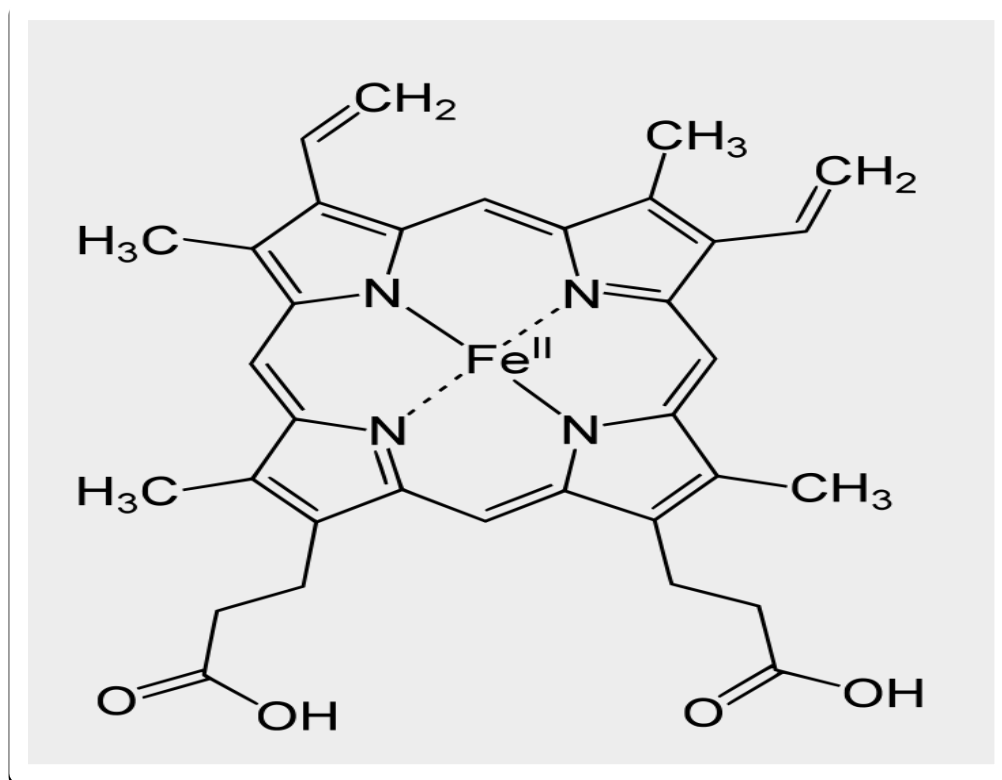
La chaîne polypeptidique  $\alpha$ -globine de 141 acides aminés, doit s'associer avec différents partenaires au cours de la vie embryonnaire, fœtale et adulte ( $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ). Sa synthèse est sous le contrôle d'au total 4 gènes  $\alpha$  codant tous pour une protéine de structure identique. Il a été démontré que les gènes  $\alpha 2$  sont plus exprimés que les gènes  $\alpha 1$  dans un rapport  $\alpha 2/\alpha 1$  d'environ 1,2. La chaîne polypeptidique  $\beta$ -globine de 146 acides aminés est sous le contrôle d'au total 2 gènes  $\beta$  et chaque gène  $\beta$  contribue pour 50 % de la synthèse des chaînes [22].



**Figure 4 :** Gènes de l'hémoglobine [22].

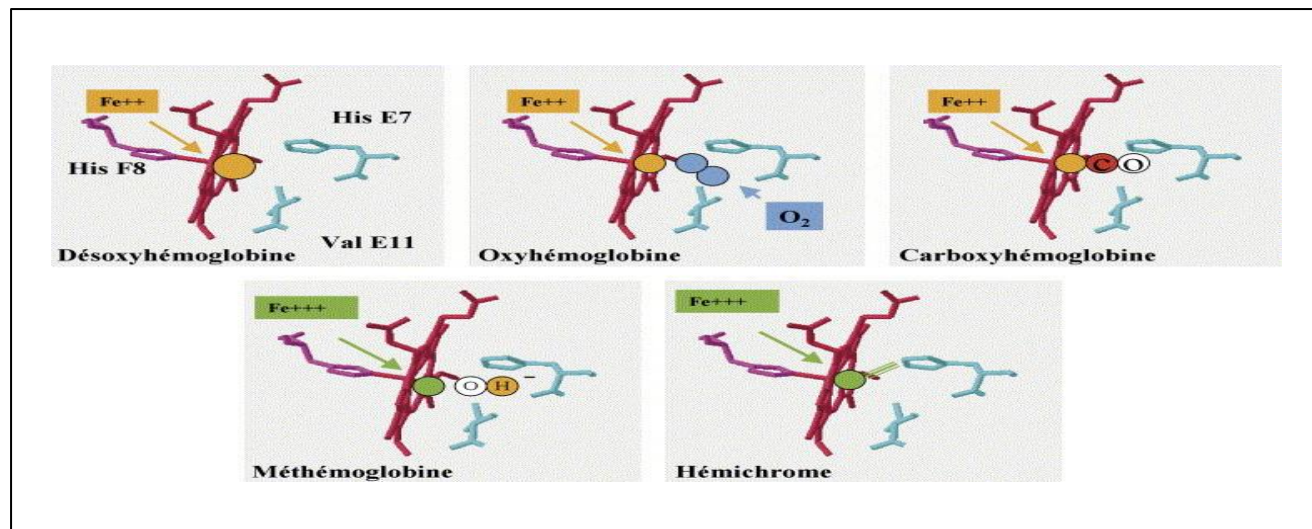
#### ❖ Molécule d'hème

Par la nature et la disposition de ses groupements latéraux, la molécule d'hème est définie comme une ferri-protoporphyrine de type IX. L'atome de fer situé en son centre est sous forme réduite ( $Fe^{+2}$ ) aussi bien dans l'hémoglobine oxygénée ( $HbO_2$ ) et la carboxyhémoglobine ( $HbCO$ ) que dans l'hémoglobine désoxygénée (désoxyHb). La forme oxydée ( $Fe^{+3}$ ) est impropre au transport de l'oxygène ; elle est caractéristique de la méthémoglobine (metHb) [25].



**Figure 5 :** Molécule de l'hème [26].

Dans cette forme, l'atome de fer est lié sur sa face distale à un groupe hydroxyl. Les hémichromes sont une autre forme d'oxydation où le fer ferrique est directement lié à un résidu de la face distale, l'atome de fer présente six liaisons de coordinence : quatre interviennent dans la structure de l'hème, la cinquième amarre l'hème à la globine au niveau de l'His F8 (dite « histidine proximale ») et la sixième fixe la molécule d'oxygène entre l'His E7 (dite « histidine distale ») et la Val E11. Dans la désoxyHb, l'atome de fer, plus volumineux que dans l'HbO<sub>2</sub>, est pentacoordonné. Ces différentes formes de ligation sont représentées dans la Figure 6 [21].



**Figure 6 :** Structure de l'hème [21]

L'atome de fer est sous forme ( $Fe^{++}$ ) dans la désoxyHb, l'HbO<sub>2</sub> et l'HbCO. En revanche il est sous forme ( $Fe^{+++}$ ) dans la metHb et les hémichromes. Des ligands différents sont complexés au fer dans les quelques structures représentées [21].

### 3.2.3. Les différents types d'hémoglobines normales

Chaque type d'hémoglobine contient deux polypeptides alpha et deux polypeptides non alpha. L'hémoglobine A (HbA) est constituée de deux chaînes alpha et deux chaînes bêta ( $\alpha_2\beta_2$ ) et représente normalement 97% de l'hémoglobine totale (tableau I). L'hémoglobine A2 et F sont respectivement 2,5% et inférieur à 1 % chez adulte [27].

**Tableau I :** Différents types d'hémoglobines normales [27].

Hémoglobines		Adulte	Nouveau-né
HbA	$\alpha_2\beta_2$	97%	15-30%
HbA2	$\alpha_2 \delta_2$	2-3%	Traces
F	$\alpha_2 \gamma_2$	< 1%	70-85%

### 3.2.4. Hémoglobinopathies et hémoglobines anormales

Les hémoglobinopathies sont des maladies génétiquement déterminées qui constituent un problème de santé publique dans de vastes parties du monde [22].

### 3.2.4.1. Anomalies qualitatives

Les anomalies qualitatives qui altèrent la structure d'une chaîne de globine et par là, la fonctionnalité de l'Hb : modification de sa solubilité, de sa stabilité, de son affinité pour l'oxygène, de la fixation de l'hème ou de l'état d'oxydation de son atome de fer.

Les variants les plus fréquemment diagnostiqués, sont ceux qui, suite à des modifications physicochimiques, peuvent être facilement séparés de l'HbA par électrophorèse ou chromatographie. Ces modifications physicochimiques sont essentiellement des modifications de charge de surface qui touchent des résidus polaires n'intervenant généralement pas dans une fonction majeure de l'Hémoglobine [24].

- **L'hémoglobine S**

C'est la plus fréquente des hémoglobinopathies. Elle est majoritairement présente en Afrique noire (Bénin, Mali, Afrique centrale), aux Antilles et aux Etats-Unis, mais aussi chez les populations indiennes, arabes et méditerranéennes. La mutation responsable touche le sixième codon du gène  $\beta$ -globine conduisant au remplacement d'un acide glutamique par une valine ( $\beta_6$  Glu  $\rightarrow$  Val). Ce variant est responsable de la drépanocytose, transmise selon un mode autosomique récessif. Le mécanisme physiopathologique de base de cette maladie repose sur la propriété de l'Hb S désoxygénée à se polymériser, induisant la falciformation ainsi qu'une cascade d'autres anomalies constituant ensemble la base des deux manifestations majeures de la maladie : l'anémie hémolytique et la crise vaso-occlusive. Malgré la réversibilité de ce phénomène, l'hémoglobine peut ne pas revenir à l'état soluble après plusieurs cycles de désoxygénation/réoxygénation en raison des altérations répétées de la membrane globulaire. La symptomatologie varie largement entre les formes homozygotes S/S, hétérozygotes A/S et hétérozygotes composites S/C ou S/ $\beta$ -thalassémiques [28].

- **L'hémoglobine C**

C'est le deuxième variant le plus fréquent. Elle résulte d'une mutation ponctuelle qui affecte le sixième codon de la chaîne  $\beta$ -globine par substitution de l'acide glutamique par une lysine ( $\beta_6$  Glu  $\rightarrow$  Lys). On la retrouve elle aussi à l'état hétérozygote A/C, homozygote C/C et hétérozygotes composites C/thalassémique ou S/C. Cette dernière est d'une clinique classiquement moins sévère que celle de la drépanocytose. Ce variant n'entraîne pas de polymérisation. Elle est, en revanche, responsable de la formation de cristaux intra-

érythrocytaires entraînant une augmentation de la densité des globules rouges et leur déshydratation. Sa répartition géographique intéresse particulièrement l'Afrique de l'Ouest (Ghana, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Togo, Bénin,) mais aussi les populations noires d'origine africaine vivant aux Etats-Unis ou dans les Caraïbes. L'Afrique du Nord (Maroc, Algérie) et le Sud de l'Europe (Italie et Turquie) sont également concernés [28].

- **L'hémoglobine E**

C'est le troisième variant de l'hémoglobine le plus fréquent. Elle se rencontre surtout dans le Sud-est asiatique, où elle s'associe d'ailleurs fréquemment avec d'autres anomalies comme les  $\alpha$  ou  $\beta$ -thalassémies. Ce variant est le résultat d'une mutation faux sens du codon 26 du gène  $\beta$ -globine qui entraîne le remplacement d'un acide glutamique par une lysine ( $\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ ). Elle se trouve à l'état hétérozygote A/E, homozygote (hémoglobinoïde E) et hétérozygotes composites E/thalassémique ou encore S/E. Pour ce qui est de sa physiopathologie, la séquence nucléotidique proche du site normal d'épissage est modifiée suite à la mutation responsable de la formation de l'hémoglobine E. Ce qui dévoile un site d'épissage cryptique qui décale alors le cadre de lecture et entraîne donc un signal de terminaison précoce. La chaîne mutée est ainsi synthétisée à de faible taux par rapport à celui de l'Hb A. Ce déficit de synthèse de la chaîne de globine explique pourquoi l'hémoglobine E s'apparente plutôt aux syndromes thalassémiques sur le plan clinique [28].

- **Autres variants**

D'autres variants sont rares mais restent importantes à connaître car sont présentes dans les populations où l'HbS a une forte prévalence, notamment en Afrique subsaharienne. C'est le cas de l'HbD-Punjab ( $\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Gln}$ ) rencontrée principalement dans le Sud de l'Asie, (dans la région du Punjab au Nord-ouest de l'Inde, au Pakistan et en Iran) et de l'HbO-Arab ( $\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$ ). Ils sont asymptomatiques à l'état hétérozygote ou homozygote. Cependant, les formes hétérozygotes composites S/D-Punjab et S/O-Arab sont cliniquement importantes et favorisent les propriétés de polymérisation de l'hémoglobine S. Ces variants D-Punjab et O-Arab sont respectivement « S-like » et « C-like » en électrophorèse sur gel à pH alcalin [29].

### **3.2.4.2. Anomalies quantitatives**

Les thalassémies constituent un groupe hétérogène d'anomalies moléculaires qui a en commun un défaut de synthèse d'une des chaînes de globine. Sur le plan physiopathologique, ces anomalies

sont à l'origine d'un déséquilibre de synthèse avec accumulation de chaînes non appariées responsable de dysérythropoïèse. Les anomalies les plus fréquentes sont :  $\alpha$  et  $\beta$  thalassémies. Les thalassémies touchant les gènes  $\gamma$  ont une expression exclusivement anté- et néo-natale. Celles touchant les gènes  $\delta$ , compte tenu de la faible expression de ce gène, sont sans conséquence pathologique [24].

### **3.3. Hémoglobine glyquée**

#### **3.3.1. Historique et définition**

Depuis la mise au point de son dosage en 1958, l'HbA1c est considérée comme le « gold standard » de la surveillance des états diabétiques. Ce dosage paraît aujourd'hui d'une telle banalité que l'on finit par oublier toutes les étapes qui ont mené à l'obtention d'un dosage fiable. Le succès de l'HbA1c en tant que marqueur de l'équilibre glycémique est lié à deux éléments : il intègre l'exposition totale au glucose sur une période de 3 mois et son dosage trimestriel est indépendant de l'heure du prélèvement, puisque le taux de l'HbA1c n'est pas influencé par la proximité d'une prise alimentaire [10].

L'hémoglobine glyquée est le produit de la fixation non enzymatique, lente et irréversible d'ose sur les fonctions amines de la globine. On parle d'hémoglobine A1 quand la fixation d'ose est localisée à l'extrémité N-terminale des chaînes et comporte plusieurs fractions selon la nature de l'ose. Ainsi, on distingue la fraction HbA1a1 (fixation du fructose 1,6 biphosphate), HbA1a2 (fixation du glucose-6-phosphate), HbA1b (pyruvate) et surtout HbA1c, dont la valine N-terminale des chaînes a fixé une molécule de glucose. L'HbA1c représente la forme majoritaire de l'hémoglobine glyquée et son dosage constitue un examen clé de la prise en charge du patient diabétique [29].

#### **❖ Fructosamine [30].**

La fructosamine désigne l'ensemble des protéines glyquées présentes dans le sérum, en particulier l'albumine glyquée (80 %). La concentration de ces protéines est proportionnelle au taux du glucose dans le sang, mais leur renouvellement est beaucoup plus rapide que celui de l'HbA1c. Ainsi la fructosamine est un témoin du niveau moyen du glucose sanguin sur une période courte de deux à trois semaines. Son utilisation pour le suivi thérapeutique du diabète est moins fréquente que celle de l'hémoglobine glyquée sauf dans 3 circonstances.

- Hémoglobinopathies : thalassémies, drépanocytoses

- Evaluation d'un changement thérapeutique antidiabétique
- Au cours de la grossesse, les dosages de fructosamine peuvent être prescrits en même temps que les glycémies, pour aider à surveiller et à adapter les besoins en glucose et en insuline.

### **3.3.2. La glycation des protéines**

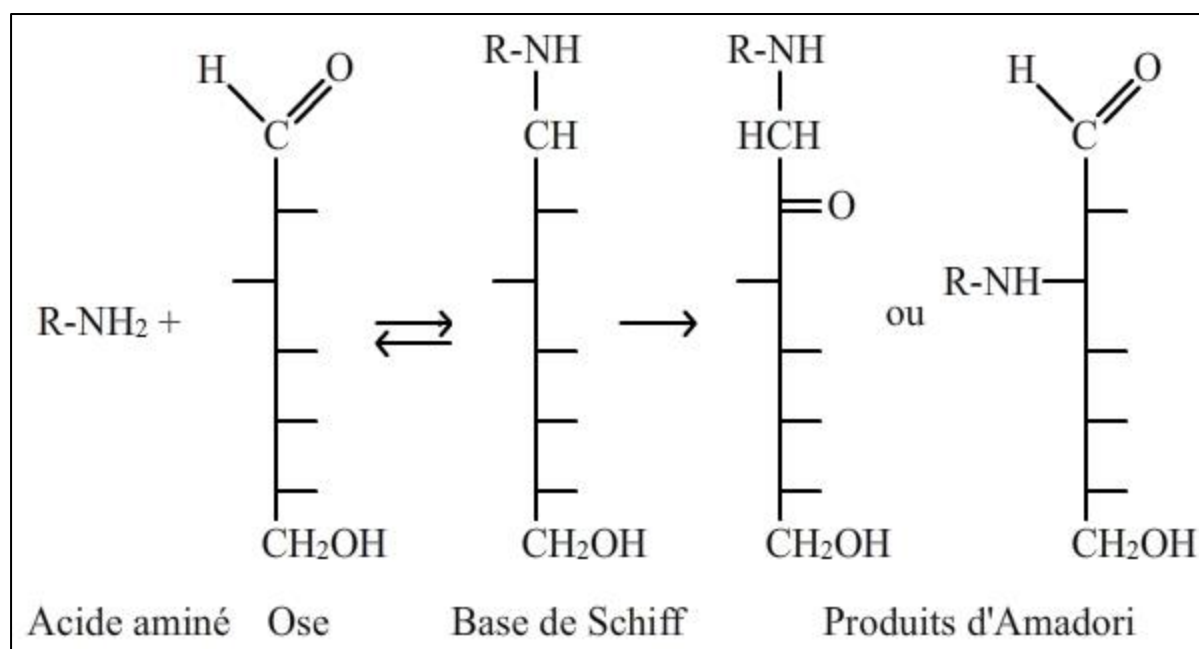
L'histoire des produits de glycation avancée commence avec Louis Camille Maillard a découvert en 1912 un chimiste français qui a laissé son nom à certains composés chimiques résultant de la fixation de sucre sur des acides aminés appelés produits de glycation avancée ou advanced glycation end products (AGE) [31].

La glycation non enzymatique désigne la fixation lente et irréversible de glucose sur les groupements aminés libres des protéines. Dans l'HbA1c, la réaction est caractérisée par la fixation de glucose à l'extrémité N-terminale des chaînes  $\beta$  de l'hémoglobine A. L'hémoglobine A, qui représente plus de 95% de l'hémoglobine adulte, subit une réaction non enzymatique de glycation pour former l'hémoglobine A1 dont la quantité est proportionnelle au niveau de glycémie et à la durée de vie des globules rouges. Elle est une réaction physiologique générale (in vivo/in vitro), irréversible et cumulative qui concerne toutes les protéines de l'organisme : circulantes et tissulaires, extracellulaires et intracellulaires. La réaction de glycation des protéines est possible par de nombreux oses mais tous ne présentent pas le même pouvoir glyquant. Ainsi à concentration normale dans le sang le glucose est faiblement glyquant (environ 10 fois moins que le fructose et 20 fois moins que le ribose), cependant en situation d'hyperglycémie l'augmentation de la glycation entraîne une production exagérée de protéines glyquées dont les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles vont être modifiées [32].

- La glycation est la première étape de la réaction de Maillard. Il s'agit d'une réaction chimique non enzymatique correspondant à la réaction entre la fonction aldéhyde d'un sucre et la fonction amine d'une protéine. Le glucose et le fructose vont ainsi se fixer sur les groupements -aminés de la lysine et arginine de la protéine et/ou sur les groupements -aminés N-terminaux des protéines. La liaison covalente aldimine qui se forme entre la fonction aldéhyde du glucose et le radical -NH<sub>2</sub> de la protéine aboutit à une base de Schiff. Cette réaction physiologique est assez rapide et potentiellement réversible. Sa vitesse dépend de la concentration en glucose et du temps d'exposition [32].



- La deuxième étape appelée réarrangement d'Amadori correspond à un changement de conformation spatiale de la base de Schiff ou isomérisation pour former une liaison cétoamine plus stable que la liaison aldimine. Cette deuxième étape est irréversible in vivo et dépend de la concentration en glucose [32].
- La troisième étape correspond à des réactions de déshydratation, d'oxydation, de clivages et de pontages donnant naissance aux produits finaux de glycation ou advanced glycation end products (AGE). Cette dernière étape dépend de l'hyperglycémie et du turn-over de la protéine. Les biomarqueurs utilisables dans la surveillance de l'équilibre glycémique du sujet diabétique sont des protéines ayant subi cette glycation ainsi que le réarrangement d'Amadori : il s'agit de l'HbA1c, des fructosamines et de l'albumine glyquée [32].



**Figure 7 :** Etapes de condensation et de réarrangement aboutissant à la glycation irréversible des protéines [33]

La réaction initiale entre une amine primaire et un carbonyle, avec déshydratation, est suivie par des réarrangements (dits d'Amadori). Les produits d'Amadori qui en sont issus évoluent avec le temps en AGE (*Advanced Glycated End Products*) ou PTG (produits terminaux de glycation) qui peuvent être de nature très variée [33].

**Tableau II** : Différentes fractions d'hémoglobines chez un sujet non diabétique, exprimé en pourcentage de l'hémoglobine totale [10]

Hémoglobine	Pourcentage	Structure
<b>HbA0</b>	90%	Hémoglobine non glyquée, deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\beta$
<b>HbA1c</b>	=4%	1 à 1,5% Hb glyquée formée par fixation de glucose sur l'extrémité N-terminale des chaînes $\beta$ de l'HbA Fonction cétoamine stable
<b>HbA1a1</b>	0,2%	Hb glyquée formée par fixation de fructose-1,6-diphosphate sur l'extrémité N-terminale des chaînes $\beta$ de l'HbA
<b>HbA1a2</b>	0,2%	Hb glyquée formée par fixation glucose6-phosphate sur l'extrémité N-terminale des chaînes $\beta$ de l'HbA
<b>HbA1b</b>	0,5%	Hb glyquée formée par fixation pyruvate sur l'extrémité N-terminale des chaînes $\beta$ de l'HbA
<b>Hb glyquées diverses</b>	1 à 1,5%	Hémoglobine glyquée sur différents acide aminés des chaînes $\alpha$ et $\beta$ de l'HbA
<b>HbA2</b>	2,5%	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\beta$ non glyquées
<b>HbF</b>	0,5%	Deux chaînes protéiques $\alpha$ et $\gamma$ non glyquée

### 3.3.3. Méthode de dosage de l'hémoglobine glyquée

Plusieurs méthodes de dosage sont utilisées en routine dans les laboratoires. Les plus courantes sont :

#### 3.3.3.1. Electrophorèse

##### 3.3.3.1.1. Historique

L'origine de cette technique a été imaginée par S.E. Linder et H. Picton en 1892. Ils se sont inspirés des études d'Hermann Von Helmholtz menées sur l'électro-osmose. Celui-ci constate qu'il est possible, sous un champ électrique, de déplacer des particules chargées vers le pôle de signe opposé à leur charge.

En 1937, Arne Wilhelm Kaurin Tiselius, met au point la première électrophorèse : l'électrophorèse libre. Cette technique lui a permis de séparer les protéines du sérum sanguin en appliquant un champ électrique. La solution est placée dans un tube en U de section carrée afin de réaliser des mesures optiques au travers du tube.

En 1939, P. König et D Von Klobusitzky ont séparé avec succès les composants du venin de serpent en élaborant la technique d'électrophorèse sur papier.

En 1952, Pierre Grabar élabore, en collaboration avec C.A. Williams, une méthode connue sous le nom d'analyse immuno-électrophorétique, qui permet d'analyser de manière précise des mélanges très complexes d'antigènes.

En 1955, O. Smithies met au point la technique d'électrophorèse en gel d'amidon.

En 1957, Joachim Kohn sépare les différents phénotypes de l'hémoglobine en élaborant la technique d'électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose.

En 1969, Beber et Osborn introduisent l'agent dénaturant SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) pour séparer les différentes sous-unités protéiques [34].

### **Définition**

L'électrophorèse (EP) est une méthode d'analytique qui permet déplacement, sous l'effet d'un champ électrique, de granules, de particules chargées, en solution ou en émulsion. Cette technique a de nombreuses applications en chimie, biologie, médecine et dans l'industrie [35].

#### **3.3.3.1.2. Principe**

Le principe consiste à soumettre un mélange de molécules à un champ électrique ce qui entraîne la migration des molécules chargées. En fonction de différents paramètres (charge, masse, forme, nature du support, conditions physico-chimiques) la vitesse de migration va être variable, ce qui permet la séparation des différentes molécules. A pH basique les protéines sériques sont chargées négativement. En biologie clinique, elles peuvent donc par cette technique être séparées en fractions [35].

#### **3.3.3.1.3. Différents types d'électrophorèse**

##### **3.3.3.1.3.1. Sur support liquide ou électrophorèse en veine liquide**

L'électrophorèse libre est réalisée dans un tube en U de section carrée (ceci afin de pouvoir réaliser des mesures optiques au travers du tube, comme avec une cuve de spectrophotomètre) : la séparation n'est pas totale, mais les frontières qui se forment sont mises en évidence par des

méthodes optiques (absorption UV, indice de réfraction, fluorescence...). Cette méthode est utilisée en recherche pour mesurer la mobilité électrophorétique et pour vérifier la pureté des protéines[35].

### **3.3.3.1.3.2. Electrophorèse sur zone**

#### **3.3.3.1.3.2.1. Electrophorèse sur papier**

Cette technique d'électrophorèse est surtout destinée à séparer des molécules de petite taille, dont les acides aminés. Des phénomènes d'interférences liés à la charge des acides aminés et de la cellulose du papier interviennent de façon notable. Une goutte de solution contenant l'échantillon à analyser est déposée sur une bande de papier, puis séchée. La bande de papier est humidifiée avec un tampon convenablement choisi, puis les deux extrémités de la bande sont plongées dans deux réservoirs contenant le tampon. Chaque réservoir est connecté à une électrode. Un champ électrique continu est appliqué, et acides aminés se déplacent en fonction de leur charge nette [36].

#### **3.3.3.1.3.2.2. Electrophorèse sur ACETATE DE CELLULOSE**

Cette technique, peu résolutive, permet de séparer grossièrement des groupes de protéines. Elle permet une analyse rapide des protéines sériques. Le principe de la simulation utilisée est le même que pour l'électrophorèse des hémoglobines sur gel d'agarose [37].

#### **3.3.3.1.3.2.3. Électrophorèse sur gel d'agarose**

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour séparer les éléments en fonction de leur masse moléculaire. La technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose est basée sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel d'agarose : les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures [38].

Cette technique est utilisée pour confirmer l'identification de variants de l'hémoglobine de migration anormale lors de l'électrophorèse en tampon alcalin. Il est ainsi possible de différencier l'HbC de l'HbE et l'HbO' Arab, et l'HbS de l'HbD [39].

#### **3.3.3.1.3.2.4. Électrophorèse en champ pulsé**

Le principe de l'électrophorèse en champ expulsé consiste à alterner l'orientation du champ électrique au cours du temps. Chaque changement de champ électrique réoriente la molécule d'ADN dans le gel en augmentant ainsi la probabilité que la molécule d'ADN soit orientée de façon à passer à travers les mails du gel. L'électrophorèse en champ expulse permet ainsi de séparer des

fragments d'ADN d'une taille allant de moins de 1 kb à une dizaine de mégabases. Pour ce type d'électrophorèse, il n'est pas possible d'utiliser des ADN purifiés par les techniques classiques car ces techniques les cassent en fragments d'une taille inférieure à 100 kb. Pour éviter la cassure mécanique des molécules d'ADN les cellules sont incluses dans des blocs d'agarose. [40].

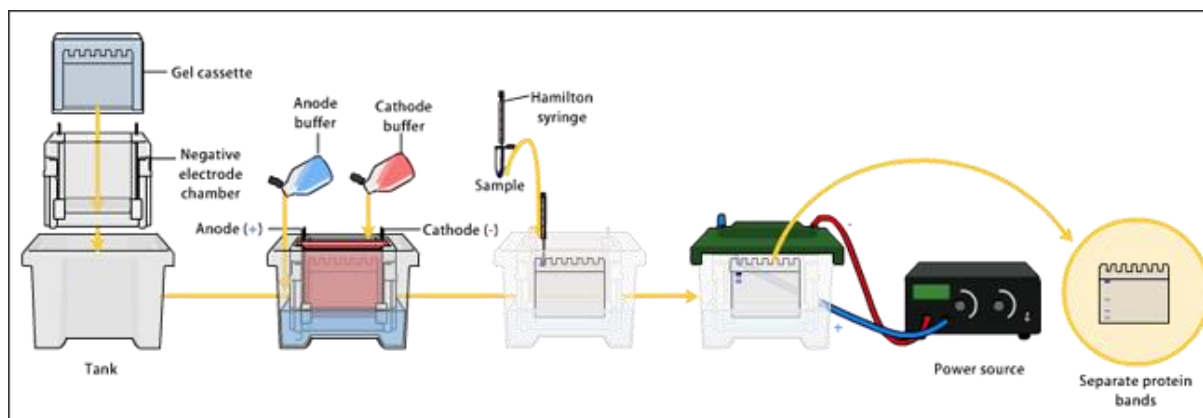
### **3.3.3.1.3.2.5. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)**

C'est une électrophorèse de zone des protéines dans un gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes. Les protéines extraites de l'organisme sont solubilisées dans une solution chauffée à 100°C, tamponnée au pH 6,8 par du Tris-HCl et contenant un excès de sodium dodécyl sulfate (SDS) et d'agent réducteurs des thiols (DTT ou le  $\beta$ -mercaptoéthanol). Le SDS chargé négativement les protéines et les dénature, aidée par le chauffage, en entourant le squelette polypeptidique. L'agent réducteur réduit les ponts disulfures des protéines ce qui a pour conséquence de les dissocier en sous-unités polypeptidiques individuelles. Les protéines ainsi solubilisées migrent dans un système d'électrophorèse discontinu constitué de deux gels de polyacrylamide de porosité différente et tamponnés à des pH différents. Les gels sont coulés et polymérisés dans un système vertical « en sandwich » entre 2 plaques de verre. L'échantillon est déposé au-dessus d'un premier gel appelé gel de concentration (stacking gel) tamponné au pH 6,8 par du Tris-HCl et de réticulation très lâche. Dans ces conditions, la présence de glycine dans la solution de la cuve d'électrophorèse va permettre de concentrer les protéines dans le gel au cours de la migration. Au pH 6,8 du gel, la glycine est faiblement chargée et présente une faible mobilité contrairement au Cl<sup>-</sup> complètement ionisé avec une forte mobilité. Lorsqu'une tension est appliquée au système, les ions Cl<sup>-</sup> migrent plus vite dans le gel laissant derrière eux une zone de faible conductivité, un gradient de tension important et un pH plus élevé qui accélère la migration de la glycine de façon à ce qu'elle suive les ions Cl<sup>-</sup>. Ce front constitué par les ions Cl<sup>-</sup> et les ions glycine migrent au travers de l'échantillon puis au travers du gel. Les protéines chargées négativement par le SDS possèdent une vitesse de migration intermédiaire et vont de ce fait se trouver emprisonnées et donc concentrées dans la fine zone délimitée par les ions Cl<sup>-</sup> et les ions glycine. Les protéines ainsi concentrées sont ensuite séparées suivant leur taille dans le gel de séparation (running gel) tamponné à pH 8,8 avec des pores plus petits. La migration des protéines dans ces pores va être ralentie jusqu'à devenir plus faible que celle des ions glycine. Le pH 8,8 a pour effet d'augmenter la vitesse de migration des ions glycine qui vont alors dépasser les protéines

et se trouver juste derrière les ions Cl<sup>-</sup>. Les protéines ne sont plus emprisonnées dans la fine zone et sont alors séparées suivant leur taille par migration vers l'électrode positive. La comparaison du profil de migration des protéines à celles de marqueurs de taille (M) connus et traités de la même façon permet de donner la masse moléculaire relative (Mr) des protéines séparées [41].

La manipulation nécessite :

- Une cuve à électrophorèse + un générateur électrique,
- Un gel de polyacrylamide (précoulé en cassette ou à préparer) contenant des puits pour dépôt,
- Des solutions tampons adaptées au gel [38].



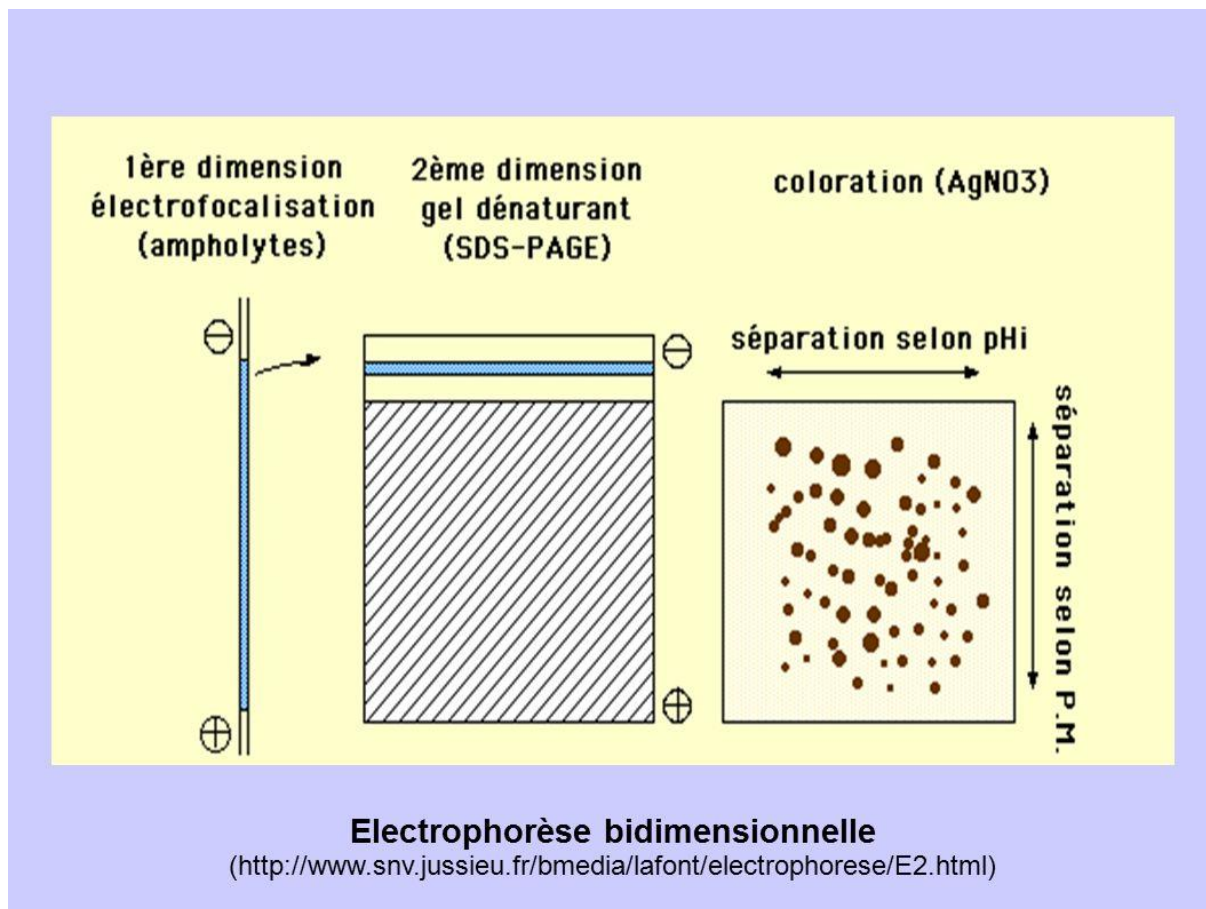
**Figure 8 :** Electrophorèse SDS-PAGE [38]

### 3.3.3.1.3.2.6. Electrophorèse bidimensionnelle.

L'électrophorèse bidimensionnelle sur les gels de polyacrylamide est, à l'heure actuelle, la seule méthode permettant la séparation et la quantification simultanée de plusieurs milliers de protéines (jusqu'à 10000 protéines [35]).

L'électrophorèse bidimensionnelle des protéines dénaturées (EBD) est une combinaison de deux électrophorèses. La première, une isoélectrofocalisation (IEF), fait se déplacer tout polypeptide contenu dans l'échantillon jusqu'à une position fonction de son point isoélectrique (PI). La deuxième, une électrophorèse en présence de dodécyl sulfate de sodium (SDS), le fait se déplacer en fonction de sa masse moléculaire (MM). Ces deux électrophorèses, perpendiculaires l'une par rapport à l'autre, combinent deux critères indépendants, c'est ce qui rend cette technique particulièrement résolutive : plusieurs centaines des constituants d'un mélange de polypeptides

peuvent être individualisés sous forme de spots sur un gel. Les applications sont multiples, depuis la vérification de la pureté d'un échantillon jusqu'à des études de variabilité génétique, en passant par le suivi des variations d'expression en fonction de différents facteurs : développement, différenciation, traitements (drogues, stress, hormones, etc.) [42].



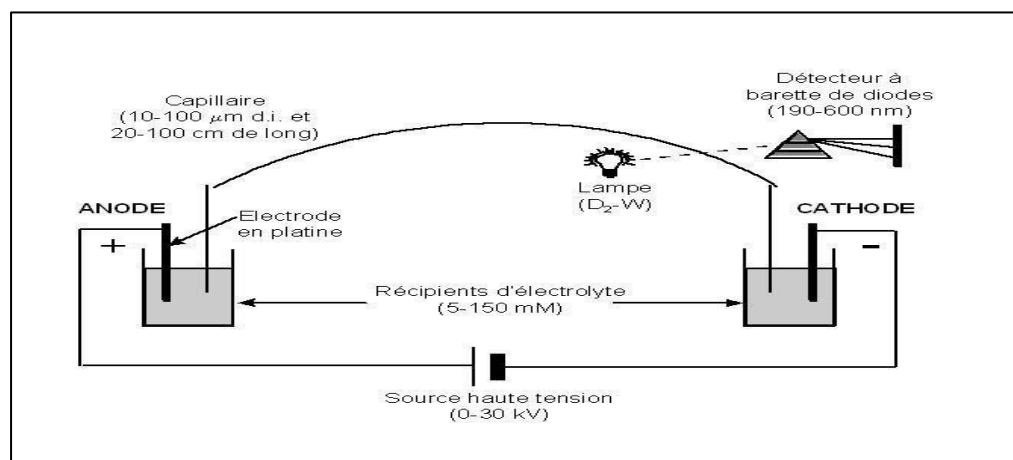
**Figure 9 :** Electrophorèse bidimensionnelle [42].

#### 3.3.3.1.4. Techniques électrophorétiques

##### 3.3.3.1.4.1. Electrophorèse capillaire :

L'électrophorèse capillaire est une technique séparative analytique basée sur la migration différentielle d'espèces chargées sous l'influence d'un champ électrique. Le capillaire est fin (typiquement 50µm) ainsi que les flacons situés à l'entrée et à la sortie du capillaire, les séparations sont réalisées dans capillaires en silice fondue de 30 à 100 cm de longueur, le volume total du capillaire représente généralement moins d'un µL, tandis que les volumes injectés sont de l'ordre

de quelques nL. Une fois injectés, les solutés de l'échantillon acquièrent un état d'ionisation qui dépend de leurs propriétés acido-basiques et le pH de l'électrolyte [43].



**Figure 10** : Schéma de principe de l'instrumentation d'électrophorèse capillaire [44].

L'électrophorèse capillaire correspond à une évolution de l'électrophorèse de zone (micro électrophorèse), technique d'exécution semi-manuelle qui a vu le jour il y a près de 50 ans et qui est encore largement utilisée dans le domaine de la bio-analytique [44].

#### 3.3.3.1.4.2. Electrophorèse des protéines sériques :

L'électrophorèse des protéines sériques est un examen biologique simple qui permet une appréciation quantitative mais également qualitative (sur l'aspect du tracé) des principales composantes protéiques du plasma. Les protéines sont analysées par migration dans un champ électrique et dépôt en fonction de poids et de leur charge électrique, permet de réaliser en routine de dépister et participe du suivi de nombreuses pathologies.... Syndromes inflammatoires, certains cancers, désordres physiologiques et nutritionnels [45].

Il doit être à la fois qualitatif et quantitative pour 6 fractions protéiques : albumines, alpha 1, alpha 2, beta 1, beta 2 et gamma [46].

#### 3.3.3.1.4.3. Electrophorèse de l'hémoglobine

Une électrophorèse de l'hémoglobine se pratique à partir d'un échantillon sanguin et permettra de séparer les différents types d'hémoglobine contenus dans le sang. En effet, l'hémoglobine sanguine existe sous diverses variétés, essentiellement l'HbA1 représentant habituellement 98% de l'hémoglobine chez l'adulte, et l'HbA2. Mais il reste généralement une quantité d'hémoglobine foétale chez l'adulte, et certains types d'hémoglobine sont en rapport avec des maladies du sang



appelées "hémoglobinoses", comme l'hémoglobine S notamment, responsable de la drépanocytose modifiant la forme des globules rouges [47].

### **3.3.3.2. Chromatographie**

#### **3.3.3.2.1. Historique**

Quelques noms et dates :

- 1903 : mise en évidence par Mikhaïl TSWETT, botaniste russe
- 1931 (KUHN et LEDERRER) : chromatographie sur colonne (chromatographie liquide-solide CLS)
- 1938 (IZMALOV et SCRAIBER) : chromatographie sur couche mince (CCM ou TLC), TAYLOR et UREY : chromatographie par échange d'ions
- 1941 (MARTIN et SYNGE, Nobel en 1952) : concept de chromatographie gaz-liquide, chromatographie de partage liquide-liquide
- 1952 : développement pratique de la chromatographie gaz-liquide
- 1955 : 1<sup>er</sup> chromatographie gaz-liquide sur le marché (chromatographie en phase gazeuse : CPG ou GC)
- 1965 (HALASZ, HORVATH) : Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP ou HPLC) [48].

#### **3.3.3.2.2. Définition**

La chromatographie est une méthode d'analyse destinée à séparer les constituants d'un mélange (ou soluté) en les distribuant entre deux phases : une phase stationnaire (PS) ou fixe et une phase mobile (PM) non miscibles. Le système chimique est l'ensemble (PS, PM, solutés) [49].

#### **3.3.3.2.3. Principe**

Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : la phase stationnaire (emprisonnée dans la colonne) et la phase mobile (l'éluant) qui se déplace [49].

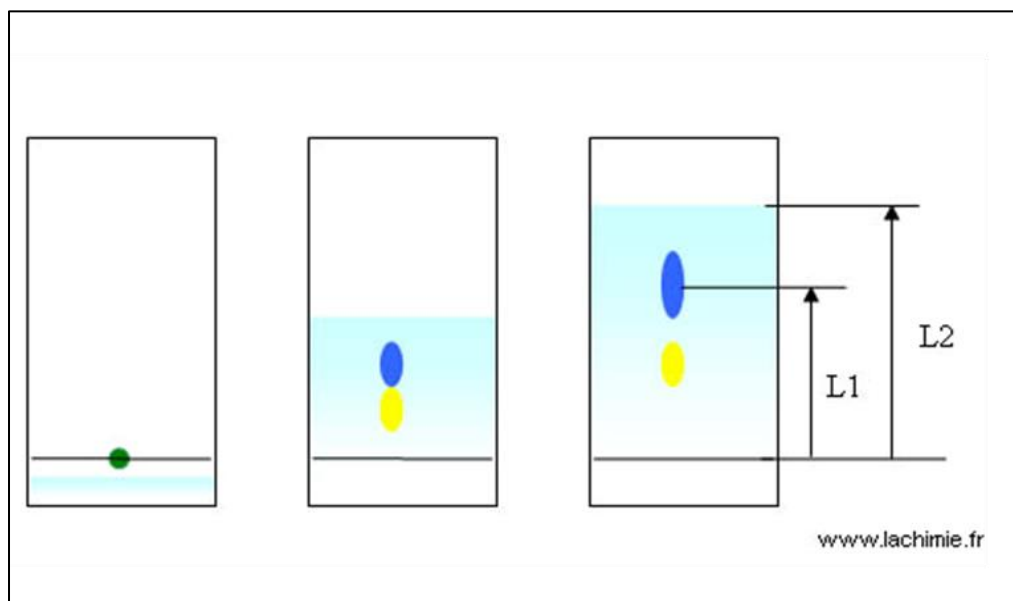
La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants présents dans la colonne. Ces derniers la parcourent avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure, ...) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...). A leur arrivée en bout de colonne, le détecteur mesure en continu la quantité de chacun des constituants du mélange [49].

### 3.3.3.2.4. Différents types de chromatographie selon la nature de la phase mobile

#### 3.3.3.2.4.1. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation physico-chimique et de caractérisation par rapport à un témoin. La chromatographie sur couche mince (CCM) est basée essentiellement sur des phénomènes d'adsorption et sur le principe de la capillarité. [50].

La chromatographie sur couche mince s'effectue généralement sur une fine couche de silice (phase stationnaire) déposée sur un support. Le mélange à étudier est ensuite posé à l'aide d'un capillaire (pipette Pasteur par exemple ou micropipette) à environ 1 cm du bord puis placé dans une cuve contenant l'éluant. Le niveau de l'éluant devrait être en dessous du produit déposé. La cuve de chromatographie est ensuite refermée par un couvercle. L'éluant migre sur la plaque de silice par capillarité et entraîne les composés du mélange étudié. Si les vitesses de migration des composés sont différentes, ils seront séparés, Il y a plusieurs façons d'identifier les endroits où se trouvent les produits ainsi séparés : La plaque de chromatographie est lue directement si les composés sont visibles (colorés), ou placée sous une lumière UV s'ils sont fluorescents. Ils peuvent également être révélés en pulvérisant un révélateur qui réagira chimiquement avec les produits (en les détruisant) et dont le résultat sera coloré. (Ex : une solution d'acide sulfurique puis chauffé dans une étuve) [51].



**Figure 11** : Exemple d'éluion en chromatographie sur couche mince [52]

On détermine le ratio frontal  $R_f = L_1/L_2$  étant le rapport entre la distance parcourue par le soluté divisé par la distance parcourue par le front du solvant.

#### 3.3.3.2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse ou *gas chromatography* est une technique de séparation d'un mélange de molécules volatiles [53].

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode de séparation dont les principes généraux sont les mêmes que pour la chromatographie en général, c'est-à-dire fondés sur la migration différentielle des constituants du mélange à analyser au travers d'un substrat choisi. La particularité du procédé est d'opérer en totalité sur des produits volatilisés, ce qui implique de maintenir une température minimale convenable, mais sans qu'il y ait volatilisation du substrat, et de travailler en circuit étanche aux gaz [54].

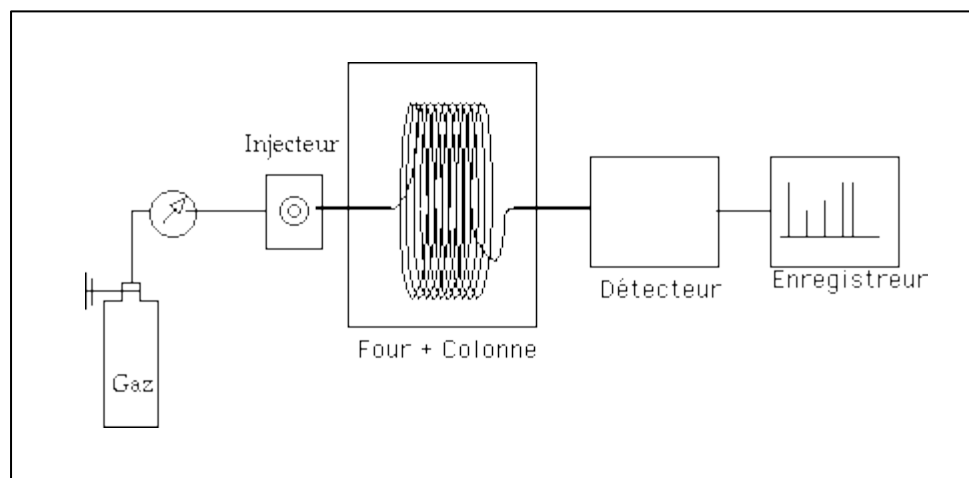


Figure 12 : la chromatographie en phase gazeuse [54].

#### 3.3.3.2.4.3. Chromatographie liquide haute performance ou HPLC :

##### 3.3.3.2.4.3.1. Définition

La chromatographie en phase liquide de haute performance est une technique chimique analytique servant à séparer, identifier, et qualifier les composants d'un mélange [55].

##### 3.3.3.2.4.3.2. Principe

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

poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire [56]. 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 [57].

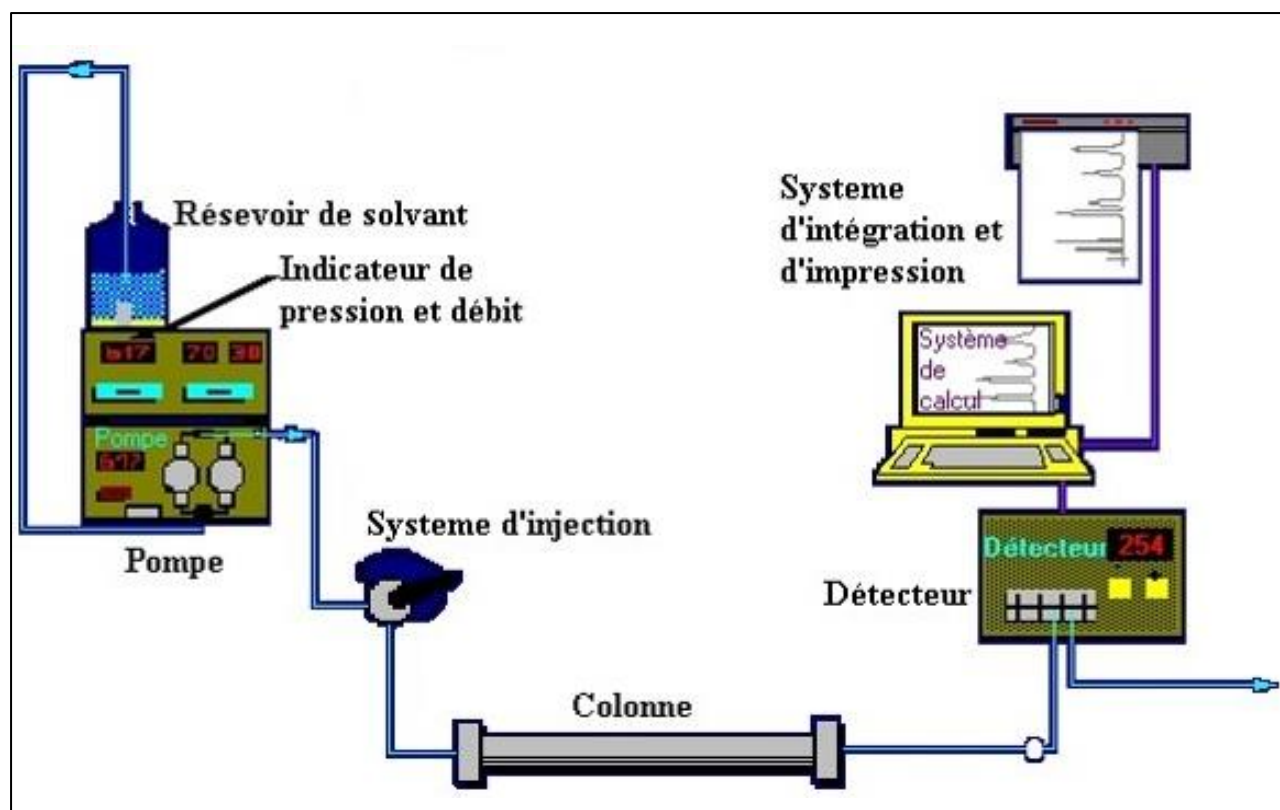


Figure 13 : Principe de fonctionnement de l'HPLC [56]

#### 3.3.3.2.4.4. Les différents types de chromatographie selon les interactions développées par la phase stationnaire

##### 3.3.3.2.4.4.1. La chromatographie d'exclusion

Ce type de chromatographie, est également appelé tamisage moléculaire ou gel-filtration, vise à séparer les molécules en fonction de leur masse moléculaire.

Dans ce type de chromatographie, la phase stationnaire est donc solide (les billes) et la phase mobile est liquide (un tampon dont le flux entraîne les molécules). Selon la taille des pores des billes, on peut séparer efficacement des molécules dont la masse moléculaire est comprise dans une fourche différente [58].

#### **3.3.3.2.4.4.2. La chromatographie de partage**

Dans la chromatographie de partage, le principe de la séparation provient d'un paramètre appelé coefficient de partage [58].

C'est une chromatographie liquide-liquide. La phase stationnaire est un liquide fiché sur un support inerte. Le facteur principal qui intervient est le coefficient de partage entre chaque phase. On peut séparer des solutés dont les coefficients de partage entre les deux phases sont différents. Les plus solubles dans la phase mobile se déplacent plus facilement que ceux qui le sont moins [59].

#### **3.3.3.2.4.4.3. La chromatographie d'affinité**

Dans la chromatographie d'affinité, la séparation des molécules va se faire selon leur capacité à se lier à un ligand spécifique fixé sur une résine. Lors du dépôt du mélange contenant la molécule à purifier, seules les molécules possédant de l'affinité pour le ligand attaché à la résine vont se lier (dans l'idéal, une seule espèce moléculaire) [58].

#### **3.3.3.2.4.4.4. Chromatographie d'adsorption**

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire. En effet, selon la plus ou moins grande affinité entre les solutés et la phase stationnaire ou mobile, les constituants du mélange migrent à des vitesses différentes et ainsi séparés [60].

#### **3.3.3.2.4.4.5. Chromatographie d'échange d'ions**

Son mécanisme de rétention principal repose sur l'interaction électrostatique entre une protéine chargée et une surface de charge opposée. En effet, selon le pH, une protéine peut donc être globalement chargée positivement ( $\text{pH} < \text{pI}$ ) ou négativement ( $\text{pH} > \text{pI}$ ). La phase stationnaire en chromatographie d'échange d'ions est le plus souvent composée de petites billes de résines extrêmement poreuses – les résines échangeuses d'ions – dont la surface présente une multitude de ligands (ou sites) chargés, qui sont fixés sur la matrice de la résine et donc immobiles. Ces sites chargés vont attirer des ions de charge opposée, que l'on appelle les contre-ions. Par convention, une résine est dite "cationique" lorsqu'elle échange des cations et "anionique" lorsqu'elle échange des anions. Pendant le passage du mélange à purifier à travers la phase stationnaire, la protéine se fixe sur le support chromatographique en déplaçant les contre-ions initialement présents sur les sites de l'échangeur. Cette fixation est réversible et la compétition entre la protéine et les contre-

ions, qui sont de même charge, est toujours présente. Dans des solutions tampons de faible force ionique, la compétition est faible et la protéine passe la plupart du temps fixée sur le support. Cependant, une protéine, même fortement attachée, est entraînée et continue de descendre le long de la colonne. Le temps que mettra une protéine à sortir de la colonne dépend du temps qu'elle passe en solution : par exemple, si une protéine descend à 10% de la vitesse du tampon (ce qui signifie qu'elle passe 90% du temps accrochée au support), il faudra 10 volumes de colonne pour faire sortir la protéine. Ainsi, les protéines possédant les plus faibles charges nettes électriques devraient sortir les premières. [61].

#### **3.3.4. Méthodes basées sur la modification de la charge [31].**

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. Cette propriété est mise à profit dans les techniques suivantes :

- Les techniques chromatographiques avec résine échangeuse de cations séparent les diverses fractions de l'hémoglobine donnant des pics correspondant à chaque fraction sur le chromatogramme. Les automates de chromatographie liquide de haute performance (HPLC) ou chromatographie liquide à basse pression (BCLC) sont préférables aux mini-colonnes qui sont en voie de disparition car elles ne sont pas certifiées NGSP. Ces techniques ont l'avantage de mettre en évidence les variants d'hémoglobine. Toutefois, le coût de ces automates reste relativement élevé ;
- La seule technique électrophorétique retenue est l'électrophorèse capillaire commercialisée par les laboratoires Sebia®.

Les méthodes basées sur la modification de la charge sont très sensibles aux conditions opératoires comme le pH et la température.

#### **3.3.5. Méthodes basées sur la modification de la structure [31].**

Ce sont :

- La chromatographie d'affinité : un groupement cis-diol de l'HbA1c réagit avec le boronate. Il n'y a pas d'interférences avec les fractions labiles, carbamylées ou acétylées ;
- Les techniques immunologiques : elles font appel à des anticorps dirigés contre l'extrémité N-terminale de la chaîne de la globine. Elles existent sous forme de module qui équipe les

analyseurs multiparamétriques de biologie clinique. Elles ont l'inconvénient d'être limitées par la nature de l'épitope reconnu.

### 3.3.6. Standardisation [62].

La standardisation des dosages d'HbA1c ne constitue pas une préoccupation récente. Dès les années 1980, tout en favorisant la mise en place du dosage et en exploitant les résultats sur le plan clinique, les diabétologues et les biologistes ont rapidement constaté la dispersion des résultats et des modes d'expression. Ce phénomène était dû au développement, parfois mal contrôlé, de nombreuses techniques de principes différents, évaluant un constituant différent. Ainsi, pendant plusieurs années, les résultats d'HbA1c ont coexisté avec des résultats d'HbA1 et des résultats d'hémoglobine glyquée totale. Pour cette raison, de nombreux diabétologues préféraient ne travailler qu'avec un laboratoire qu'ils connaissaient bien, qui utilisait toujours la même technique, et en lequel ils avaient confiance. Les études avaient été réalisées en prenant comme référence la méthode de CLHP d'échange ionique développée par le NGSP, dans le laboratoire de l'Université de Columbia (Missouri, États-Unis), et c'est sur la base de ces chiffres qu'ont été établis les seuils de diagnostic et de décision que nous utilisons encore à l'heure actuelle (par exemple, valeurs de référence de 4 à 6 % ; objectif thérapeutique à 6,5 ou 7 %).

Pour cette raison, un groupe de travail de l'*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) a établi les conditions d'une standardisation internationale du dosage. Le paramètre de référence choisi a été l'hexapeptide N-terminal des chaînes  $\beta$  de l'hémoglobine, glyqué ou non glyqué, respectivement pour l'HbA1c et HbA0. La méthode de référence, utilisant des préparations d'hémoglobines purifiées, a été définie comme une méthode de CLHP couplée à la spectrométrie de masse ou à l'électrophorèse capillaire. La spécificité de cette méthode, dite « méthode IFCC », conduit à des valeurs d'HbA1c plus basses (d'environ 2 %) que celles obtenues par la méthode NGSP, et les deux méthodes sont liées par une équation directrice dont la formule est la suivante : **HbA1c (NGSP) = 0,0915 HbA1c (IFCC) + 2,15.**

### 3.3.7. Intérêt de dosage de l'HbA1c

La glycation est un processus physiologique dont l'intensité augmente avec la glycémie. Le taux d'HbA1c est un reflet cumulatif et rétrospectif de la qualité de l'équilibre glycémique sur une période de trois mois précédant le dosage. Ce marqueur a d'abord été utilisé pour le suivi des patients diabétiques, vu la corrélation qui existe entre sa valeur et le risque de complications. Sur

proposition d'un comité international d'experts, l'HbA1c a été retenue par l'OMS (Organisation mondiale de la santé) depuis 2011 pour le diagnostic du diabète. L'HbA1c présente un avantage certain par rapport à la glycémie concernant la préparation du patient qui n'est pas nécessaire (le jeûne n'est pas obligatoire) et une meilleure stabilité de l'échantillon ; elle est donc moins sujette aux erreurs pré-analytiques [32].

### **3.3.8. Les limites de dosage de l'HbA1c.**

#### **3.3.8.1. Variations physiologiques [63].**

Le taux d'HbA1c dépendant de la durée d'exposition de l'hémoglobine au glucose, il est évident que celui-ci sera altéré dans toute situation modifiant l'âge moyen des globules rouges.

Une hémolyse (auto-immune, mécanique, toxique ou médicamenteuse), une hémorragie, un traitement par saignée (hémochromatose) ou toute correction d'une anémie récente par du fer, de l'érythropoïétine ou de la vitamine B12 conduira à une stimulation de l'érythropoïèse responsable d'une augmentation de la proportion de jeunes globules rouges relativement pauvres en HbA1c.

Des transfusions répétées, un traitement par hémodialyse ou une séquestration splénique accrue (splénomégalie, cirrhose) aboutira à une diminution de la durée de vie des globules rouges et dès lors, d'une part, à une diminution de la moyenne d'âge de ceux-ci, et, d'autre part, à une stimulation de l'érythropoïèse si une anémie s'installe. Ces deux situations seront responsables d'une augmentation de la proportion de jeunes globules rouges présents dans le sang, contribuant à des valeurs d'HbA1c anormalement basses.

L'insuffisance splénique, voire l'asplénie, responsable d'un déficit de clairance érythrocytaire, provoque une augmentation de l'âge moyen des globules rouges, et donc une surestimation du taux d'HbA1c. Une carence en fer, en B12, en acide folique ou en érythropoïétine (EPO) peut également conduire à une surestimation du taux d'HbA1c par diminution de la régénération des jeunes érythrocytes, même s'il faut analyser prudemment les résultats obtenus si une anémie est concomitante de ce déficit.

#### **3.3.8.2. Présence des variants d'hémoglobine dans le dosage de l'HbA1c**

La mutation ou modification de structure de la protéine, sera susceptible d'induire une altération du taux d'HbA1c mesuré pour une glycémie donnée. Ce phénomène peut s'expliquer par trois grandes raisons potentielles : diminution de la durée de vie des érythrocytes, altération du phénomène de glycation, interférence directe avec la méthode [63].



### 3.4. Analyse statistique

#### ❖ Diagramme de Bland-Altman et la régression linéaire.

Régression linéaire et étude de concordance sont deux techniques complémentaires destinées à répondre à deux types de questions différentes. La technique de régression linéaire recherche l'existence d'une relation de proportionnalité entre deux séries numériques sans relation obligatoire de dimension ou d'unité entre elles. Une fois cette relation établie (jugement de signification), elle nécessite d'être expliquée au plan clinique (jugement d'interprétation) car la mise en évidence de cette relation n'en fournit pas l'explication. La méthode d'analyse de concordance de deux séries de valeurs consiste à étudier l'écart existant au sein des couples de valeurs de la même grandeur obtenus par deux méthodes différentes. Cette méthode est l'outil adapté pour l'appréciation clinique d'une nouvelle technique de mesure par rapport à une technique utilisée en référence [64].

#### ❖ La concordance et la corrélation

Il s'agit de la capacité d'une méthode de mesure à fournir une valeur d'un paramètre quantitatif aussi proche que possible de celle obtenue avec une autre méthode de mesure considérée par les hommes de l'art comme la référence.

##### • Principe

La méthode d'évaluation de la concordance de Bland et Altman consiste à réaliser un graphe comportant en ordonnée la différence entre les valeurs obtenues par les deux techniques A et B (soit A-B) et en abscisse la moyenne des valeurs obtenues par ces deux techniques, soit  $(A + B) / 2$ . Cette moyenne représente une estimation acceptable au plan technique en l'absence de connaissance préalable du biais existant [64].

Les méthodes numériques que l'on rencontre dans la littérature permettant a priori de quantifier la concordance entre deux séries de mesures quantitatives sont les suivantes : le coefficient de variation, les coefficients de corrélation de Pearson et de Spearman, les comparaisons de séries appariées avec le test de Student, l'analyse des moindres carrés en traçant une droite d'équation  $y = a.x + b$  (en testant a et b), le coefficient de corrélation interclasse, et le coefficient de concordance de Lin[64].

#### - Présentation de la méthode graphique de Bland et Altman

La méthode graphique de Bland et Altman repose sur la définition même de la concordance entre deux séries de mesures (Bland and Altman, 1986). Les deux séries sont concordantes si l'une ne

surestime ou ne sous-estime pas l'autre de façon trop importante, et si les écarts entre les deux séries pour chaque individu mesuré (deux fois) ne sont pas trop importants [65].

- **La régression linéaire**

La régression linéaire simple permet d'évaluer la significativité du lien linéaire entre deux variables. La forme linéaire entre les deux variables est donc présumée. Autrement dit, on fait l'hypothèse que la forme de la relation entre les variables est linéaire. Néanmoins, il est préférable de vérifier si cette hypothèse est acceptable, ou non, car si ce n'est pas le cas, les résultats de l'analyse n'auront pas de sens [66].

Cette technique, à laquelle les médecins sont souvent confrontés, consiste, en présence de deux variables quantitatives, à tester l'hypothèse de l'existence d'une relation de proportionnalité entre elles. Cette méthode présume que la liaison qui existerait entre les variables soit de nature linéaire, ce qui est fréquent, mais n'est qu'un cas particulier parmi toutes les relations qui peuvent unir deux grandeurs. En connaissance de cause, on peut souvent se ramener à la linéarité par l'intermédiaire d'une transformation mathématique des valeurs [67].

Divers types de renseignements sont fournis par la régression linéaire. En premier lieu, le coefficient R de Pearson évalue le degré de linéarité de la relation testée, son carré ( $R^2$ ) représentant le pourcentage de variabilité expliquée par le modèle linéaire. Ainsi, une valeur de  $R^2$  de 0,5 signifie que 50 % de la variabilité est expliquée par le modèle linéaire choisi. La valeur absolue de R se situe entre 0 (aucune linéarité) et 1 (les points observés sont tous situés sur une même droite). Son signe donne le sens de variation de la droite qui décrit le mieux cette relation linéaire et donc le sens de la relation [67].

- 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

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.

## 4. Méthodologie

### 4.1. Lieu d'étude

Notre étude a été réalisée au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux au Mali (CICM-Mali).

Le CICM-Mali est un établissement à but non lucratif créé en 2005 grâce à une convention signée entre le Ministère de la Santé du Mali et la Fondation Mérieux.

Le centre dispose d'un laboratoire d'analyses médicales appelé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) d'une unité de recherche et d'un centre de formation. Il est constitué d'un accueil, trois salles de prélèvements bien équipées, deux laboratoires (Labo1 pour la microbiologie et Lab2 pour l'analyse d'immunologie, de biochimie et d'hématologie) et un laboratoire P3.

Le Laboratoire Rodolphe Mérieux, est un laboratoire d'excellence en biologie clinique et est accrédité à la norme **MN ISO 15189** (annexe 21). Il met à la disposition des populations l'ensemble des examens de biologie grâce à son plateau technique élevé et diversifié, et grâce à un personnel qualifié. Il reçoit les patients des différents centres de santé, les patients hospitalisés et des différentes structures comme ECOBANK, ORANGE-MALI, des mines, etc.

Il est doté des équipements de qualités et a reçu 26024 patients en 2021.

Le CICM mène des activités de recherche essentiellement dans les domaines des maladies infectieuses ayant un impact significatif sur la sante publique au Mali tels que : la tuberculose, les hépatites virales, la COVID-19, les maladies diarrhéiques, respiratoires, les pathogènes émergents/ré-émergents et la résistance antimicrobienne.

Le CICM reçoit des étudiants en pharmacie et médecine pour leur stage et leurs thèses de doctorat.

Il reçoit également des stagiaires de nombreuses écoles de Bamako et d'autres pays.

Le CICM accueille également quatre types de formation :

- ✓ Des formations diplômantes ;
- ✓ Des formations qualifiantes ;
- ✓ Des formations continues ;
- ✓ Des ateliers et conférences.

### 4.2. Type et période d'étude

Nous avons réalisé une étude prospective transversale de 5 mois s'étendant d'octobre 2020 à février 2021.

### 4.3. Population d'étude

Elle a porté sur l'ensemble des patients quel que soit l'âge, le sexe, les diabétiques et les non diabétiques qui venaient au CICM pour un bilan de diagnostic du diabète et/ou son suivi biologique.

#### ➤ Critères d'inclusions

- Tout patient ayant dans son bilan l'HbA1c, reçus au Rodolphe Mérieux.
- Les patients qui avaient l'électrophorèse des hémoglobines dans leur bilan dont le profil était anormal avec la présence d'un variant d'hémoglobine.
- Les patients ayant l'hémoglobine normale A/A, anormale A/S ou A/C

#### ➤ Critères de non inclusion

- Les patients n'ayant pas dans leurs bilans l'HbA1c.
- Les patients n'ayant pas dans leur bilan l'électrophorèse des hémoglobines.
- Les patients ayant l'hémoglobine anormale S/S, C/C ou S/C
- Les patients reçus hors de la période d'étude.

### 4.4. Matériels

#### 4.4.1. Matériels de prélèvement

Les matériels prélèvements sont : Des chaises ; des garrots ; des écouvillons, des tubes de prélèvement ; des portoirs ; du Coton ; de l'alcool ; de l'eau de javel ; du sparadrap ; des gants à usage unique, des étiquettes, des aiguilles de prélèvement ; etc.

#### 4.4.2. Matériels d'analyses et dosage

##### 4.4.2.1. Dosage de l'HbA1c

##### 4.4.2.1.1. CHPLC : D10® BIORAD

###### • Principe

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

- **Mode opératoire**

L'analyseur D10® Bio-Rad, est un automate de HPLC multiparamétrique pour le dosage des hémoglobines A1c, A2, F et le dépistage des variants de l'hémoglobine. Un appareil compact (poids=35 kg).

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

Il comprenant :

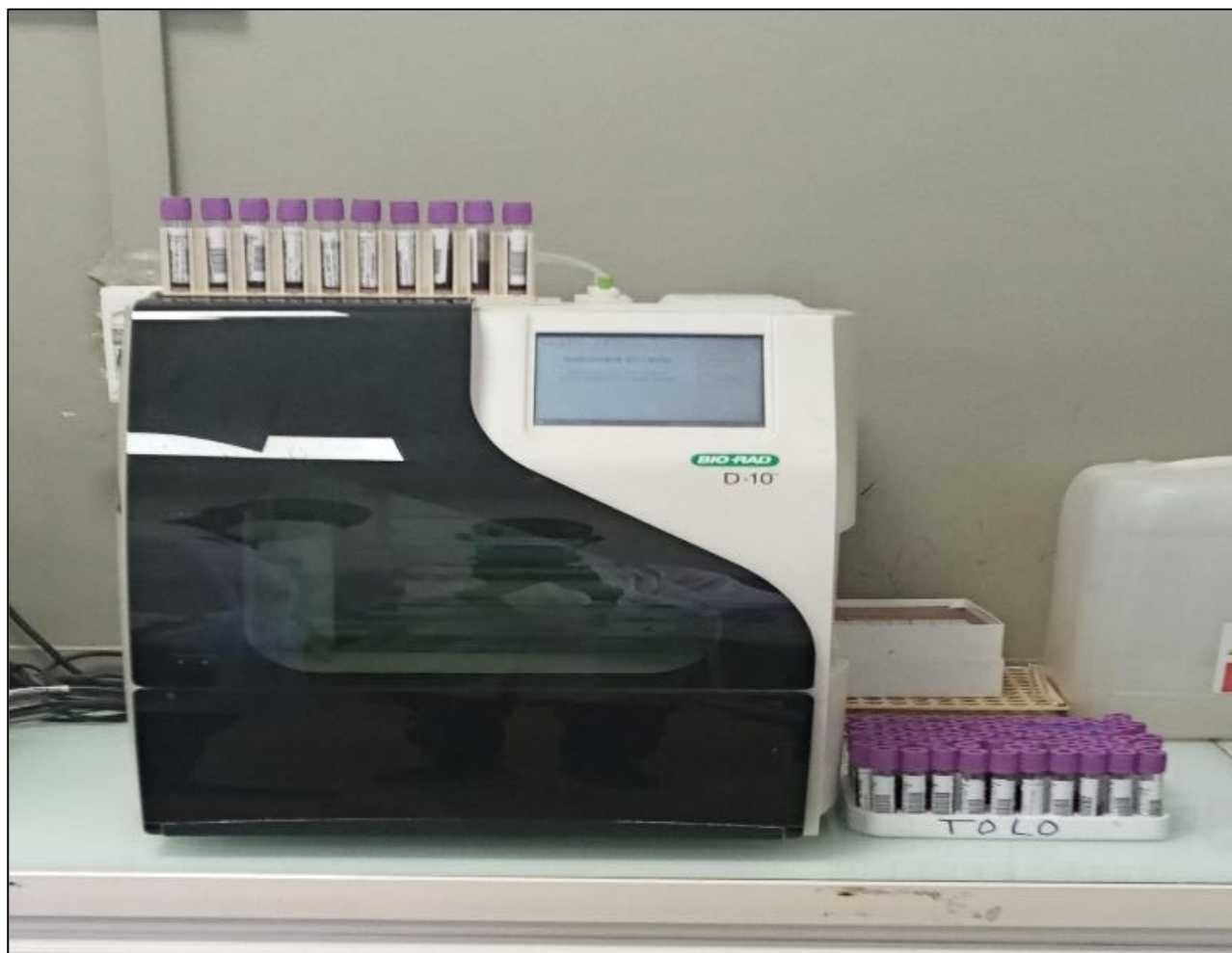
- Un système de prélèvement, de dilution des échantillons, et de lavage
- Un module chromatographique contenant une pompe double piston, une vanne et une boucle d'injection de 25µL, une enceinte thermostatée contenant la colonne échangeuse d'ions, un détecteur (diode électroluminescente)
- Un module électronique comprenant une imprimante, un écran tactile.

Le passeur d'échantillons permet le chargement en continu et le stockage après analyse des échantillons autorisant une capacité de chargement de 10 par série.

Le coffret D10® Bio-Rad de l'HbA1c fournit différents réactifs nécessaires à l'analyse :

Chaque kit du programme D-10® hémoglobine A1c contient 400 tests

- Tampon d'élution 1 : deux flacons de 2000 ml de tampon, pH= 6,0 ;
- Tampon d'élution 2 : une bouteille avec 1000 ml de tampon, pH= 6,7 de lavage
- Solution de lavage/diluant
- Cartouche de test
- Disquette avec les paramètres des programmes D - 10 HbA1c
- Jeu de calibrateurs/diluant : trois flacons de calibrateur de niveau 1, trois flacons calibrateur de niveau 2 et flacon de diluant de calibrateur
- Papier thermique



**Figure 14** : Vue photographique de l'appareil D-10® BIO-RAD du CICM-Mali (photographie personnelle au LRM).

- **Résultats et interprétation**

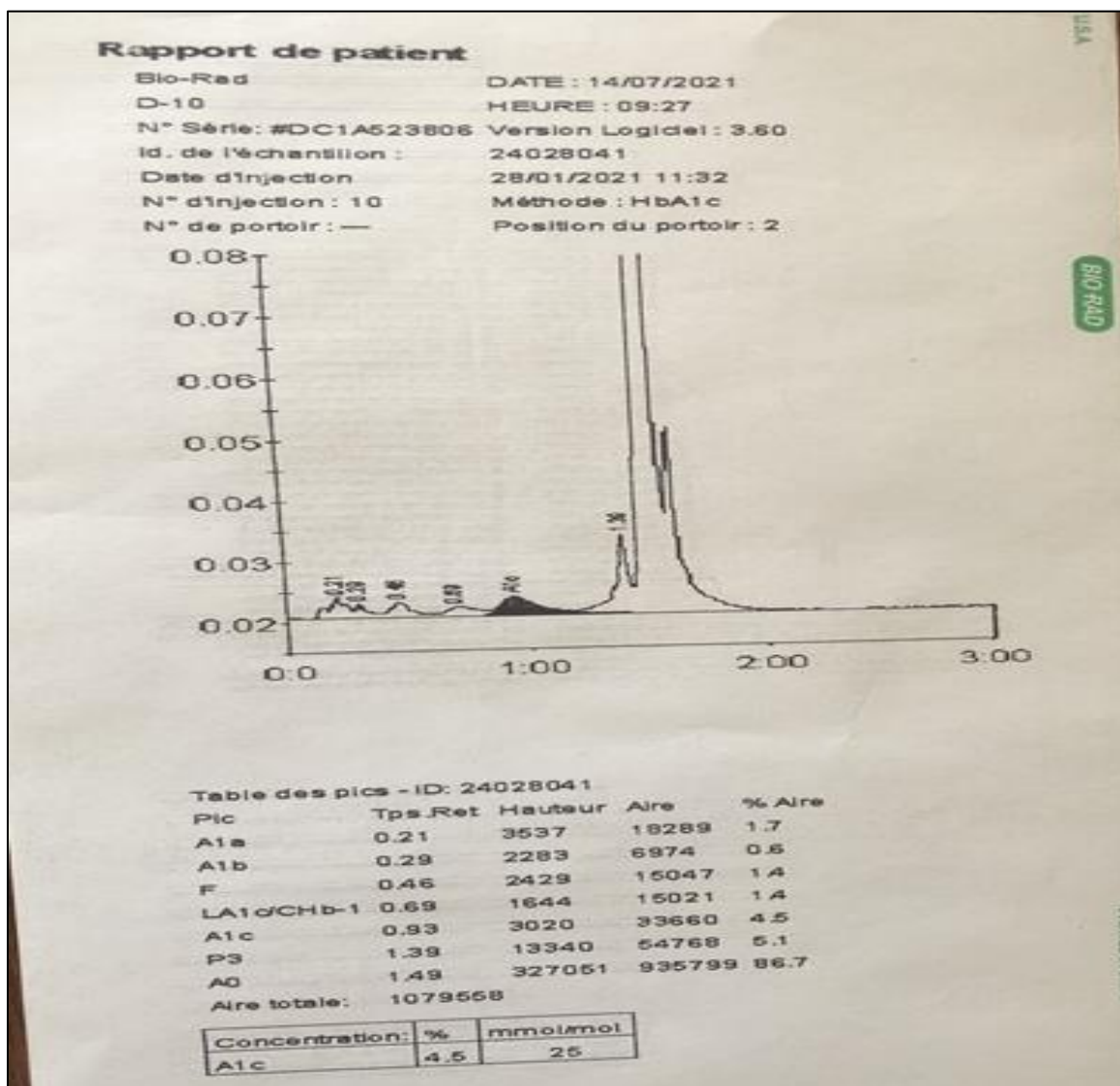
Le compte rendu comporte les informations suivantes : date et heure du dosage, identification de l'échantillon (calibrant, contrôle, patient), identification de l'injection (numéro de la série, numéro de l'injection, position de l'échantillon sur le rack), le chromatogramme, les surfaces et les temps de rétention des différents pics identifiés et le taux de l'HbA1c en (%) et en mmol/mol. La figure 15 illustre l'exemple d'un chromatogramme. La figure 14 montre une photo du D10® prise au LRM-Mali.

Le résultat est obtenu en 3 minutes pour chaque échantillon ;

Les fractions suivantes sont identifiées sur le chromatogramme : HbA1a, HbA1b, HbF, HbA1c labile identifiée « LA1c » sur le chromatogramme, HbA1c, HbA0. La surface de l'hémoglobine

Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

A1c est calculée à l'aide d'un algorithme gaussien exponentiellement modifié qui permet d'exclure la surface des pics dus à l'HbA1c labile et à l'hémoglobine carbamylée de la surface du pic A1c.



**Figure 15** : Vue du résultat d'électrophorèse de l'hémoglobine d'un patient sur D-10 Bio-Rad (Image personnelle du LRM-MALI)

#### 4.4.2.1.2. MINICAP FLEX PIERCING (Sebia)

- **Principe**

L'instrument MINICAP FLEX-PIERCING utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre. Avec cette technique, les molécules chargées sont séparées par leur mobilité électrophorétique dans un tampon alcalin avec un pH spécifique. La séparation se produit également en fonction du pH de l'électrolyte et flux électro-osmotique. Il possède des capillaires en silice fonctionnant en parallèle permettant 2 analyses simultanées pour la quantification de l'HbA1c à partir d'échantillon de sang total. Un échantillon dilué avec une solution hémolysante est préparé et injecté par aspiration à l'extrémité anodique du capillaire.

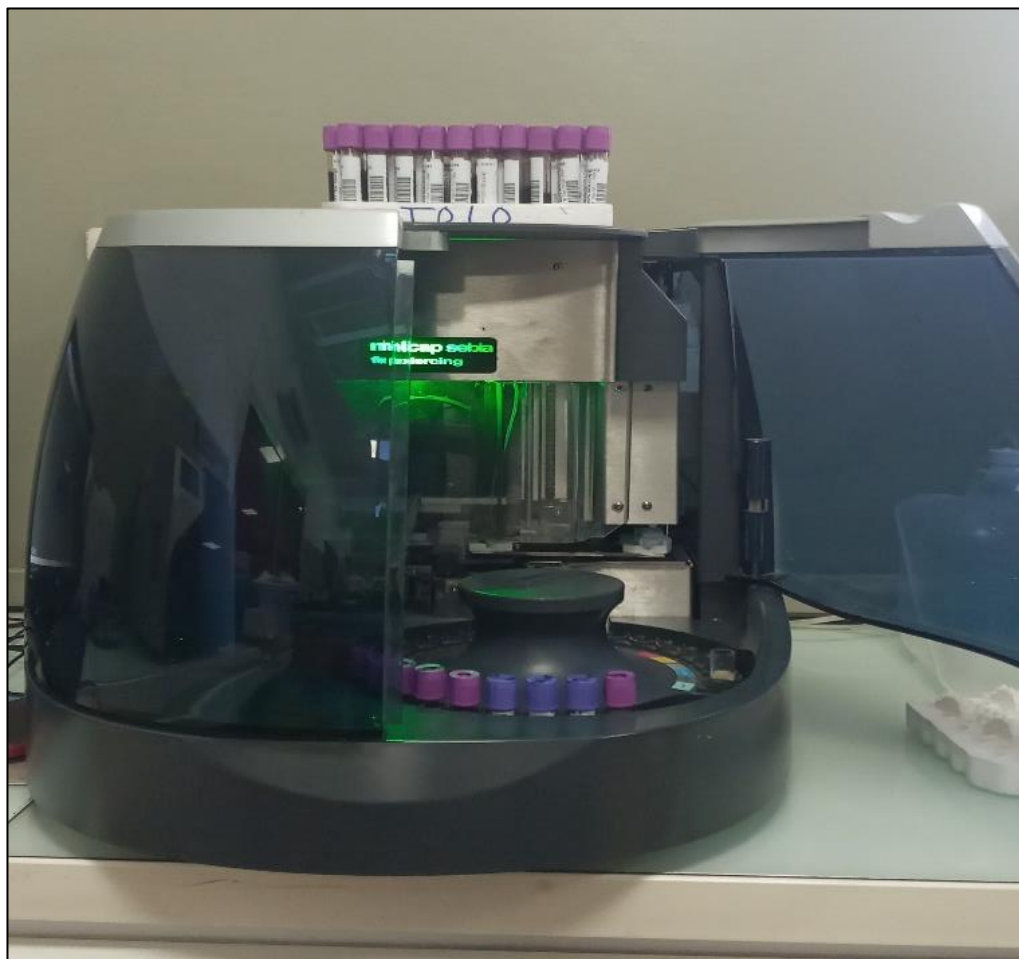
- **Mode opératoire**

L'automate MINICAP assure l'analyse sur deux capillaires en parallèle, permettant deux analyses simultanées. Il s'agit de capillaires en silice fondue de diamètre interne inférieur à 100µm. Les échantillons à analyser sont placés sur un carrousel, ce dernier comportant 28 positions.

Sur ce système, l'injection dans les capillaires, de l'échantillon (dilué dans le tampon d'analyse) est effectuée par aspiration à l'anode. La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes de chaque capillaire, la détection des hémoglobines est effectuée à 415 nm côté cathode. Avant chaque analyse, les capillaires sont lavés avec une solution de lavage et préparés pour l'analyse suivante avec tampon.

La détection directe fournit une quantification relative précise de la fraction individuelle d'hémoglobine A1c.





**Figure 16 :** Vue photographique de l'appareil d'électrophorèse MINICAP® FLEX PIERCING (SEBIA®) du CICM-Mali (photographie personnelle au LRM).

Le système MINICAP assure l'analyse de l'HbA1c selon les étapes suivantes :

- L'identification d'échantillons par un système de lecture code-barres des types de prélèvement.
- Prélève les échantillons de sang total directement dans des tubes EDTA.
- Effectue la dilution de ces échantillons dans une cupule réactive à usage unique qui inclut la cuve anodique.
- Injecte les échantillons dans les capillaires par mise en contact d'une extrémité des capillaires avec des échantillons dilués, puis aspiration à l'intérieur de chaque capillaire d'un très faible volume d'échantillon dilué.
- Effectue la migration à température constante (35,5) à l'aide d'un système à effet Peltier.

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

- Détecte par spectrophotométrie d'absorbance, à l'aide d'une cellule de détection.
- Après l'analyse, les capillaires sont immédiatement lavés par une solution de lavage puis remplie par tampon, pour préparer l'analyse suivante.

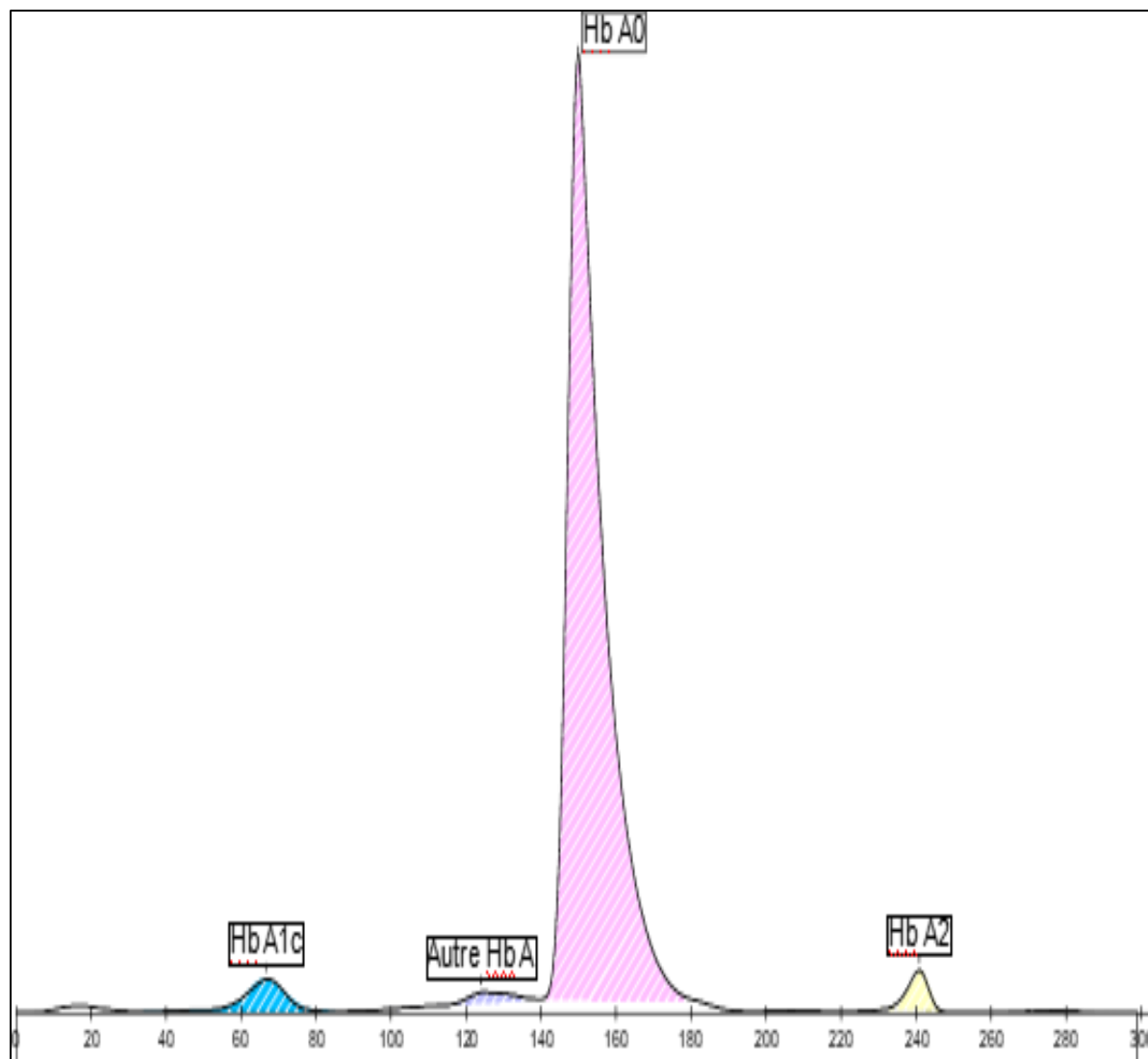
La technique est équipée d'un logiciel de lecture PHORESIS installé sur l'ordinateur du système et permettant le traitement des résultats.

Le système effectue une identification automatique des fractions obtenues, quantification directe par une mesure en ligne de l'absorption à la cathode à une longueur d'onde de 415 nm, ensuite les profils électrophorétiques sont analysés pour détecter les valeurs d'HbA1c et envoyé directement les résultats dans l'ordinateur (PHORESIS) connecté dans l'automate.

- **Résultats et interprétation**

De plus, la haute résolution de la procédure MINICAP® HbA1c permet la quantification de l'HbA1c, et particulièrement, même en présence d'HbA1c labile, les hémoglobines carbamylées et acétylées et les principaux variants de l'hémoglobine.

En utilisant un tampon pH alcalin, les hémoglobines normales et anormales (ou variants) sont détectées dans l'ordre suivant, de la cathode à l'anode : A2/C, E, S/D, F, A0, autre Hb (y compris Hb mineur A1) puis A1c. Le taux de l'HbA1c est en (%) et en mmol/mol.



**Figure 17 :** Vue d'un résultat montrant le profil électrophorétique d'une patiente homozygote hémoglobine A/A sur l'appareil MINICAP FLEX PIERCING® montrant le profil électrophorétique, le taux d'HbA1c est : 4,50 % pour ce patient. (Image personnelle du LRM)

#### 4.4.2.2. Dosage de la glycémie.

- **Principe**

L'enzyme hexokinase (HK) catalyse la réaction entre le glucose et l'adénosine triphosphate (ATP) pour former du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). En présence de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), le G-6-P est oxydé par l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase en 6-phosphogluconate et en nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).

L'augmentation de la concentration en NADH est directement proportion à la concentration en glucose et peut-être mesurée par spectrophotométrie à 340 nm.



- **Mode opératoire**

La glycémie à jeun est prélevée sur tube gris (tube fluorure), qui contient un anticoagulant, le fluorure de sodium et l'oxalate de potassium. Le fluorure empêche la dégradation de glucose. Les feuilles de prescriptions sont enregistrées avant le prélèvement et après le prélèvement les tubes sont étiquetés et acheminés au laboratoire pour être dosés. Les tubes à bouchon gris sont centrifugés à 3500tr/min pendant 10 min.

Nous avons procédé l'analyse sur le cobas C311. Il effectue un test UV pour détecter le glucose dans le sérum sanguin et le plasma

Le cobas® C311 est un analyseur multiparamétrique sélectif destiné aux analyses de biochimie classique et immunoanalyse en phase homogène.

#### **4.5. Etude de concordance**

##### **4.5.1. Prélèvement sanguin**

Les prélèvements ont été effectués, pour chacun des patients de notre étude, sur tube Ethylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA). L'hémoglobine glyquée est alors dosée du lundi au vendredi de 07H30 à 12H00 et le samedi de 08H00 à 10H00 en cas de demande. Les prélèvements sont immédiatement acheminés en paillasse pour être dosés.

##### **4.5.2. Techniques utilisées**

###### **Réalisation de l'électrophorèse sur D10® et Minicap® :**

Pour chaque échantillon, les dosages d'HbA1c ont été réalisés parallèlement sur les deux systèmes automatisés basés sur des principes différents. Il s'agissait du système D-10® (Bio-Rad) utilisant une méthode de chromatographie liquide haute performance (CLHP) par échange d'ions et du Minicap Flex Piercing® (Sebia) dont le principe repose sur l'électrophorèse capillaire.

Ces deux systèmes automatisés peuvent travailler directement sur tubes primaires et leurs méthodologies sont toutes deux certifiées NGSP/DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) et IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*). Sur les deux automates les résultats sont exprimés à la fois en unités NGSP (%) et IFCC (mmol/mol) en utilisant l'équation appelée « Gold equation » :  **$IFCC (mmol/mol) = 10,93 NGSP (\%) - 23,50$** .

L'ensemble des résultats étaient directement consignés sur un tableau Excel. Dans notre étude les résultats ont été exprimés seulement en unité NGSP (%).

#### **4.6. Saisie et analyse des données**

Les données ont été saisies sur Microsoft Excel version 2013 et analysées avec le logiciel SPSS.21. La concordance et la corrélation des résultats entre les différentes techniques ont été étudiées à l'aide du diagramme des différences de Bland-Altman et de la droite de régression de Passing-Bablok. Le seuil de significativité a été fixé à  $p \leq 0,05$ .

#### **4.7. Considérations éthiques :**

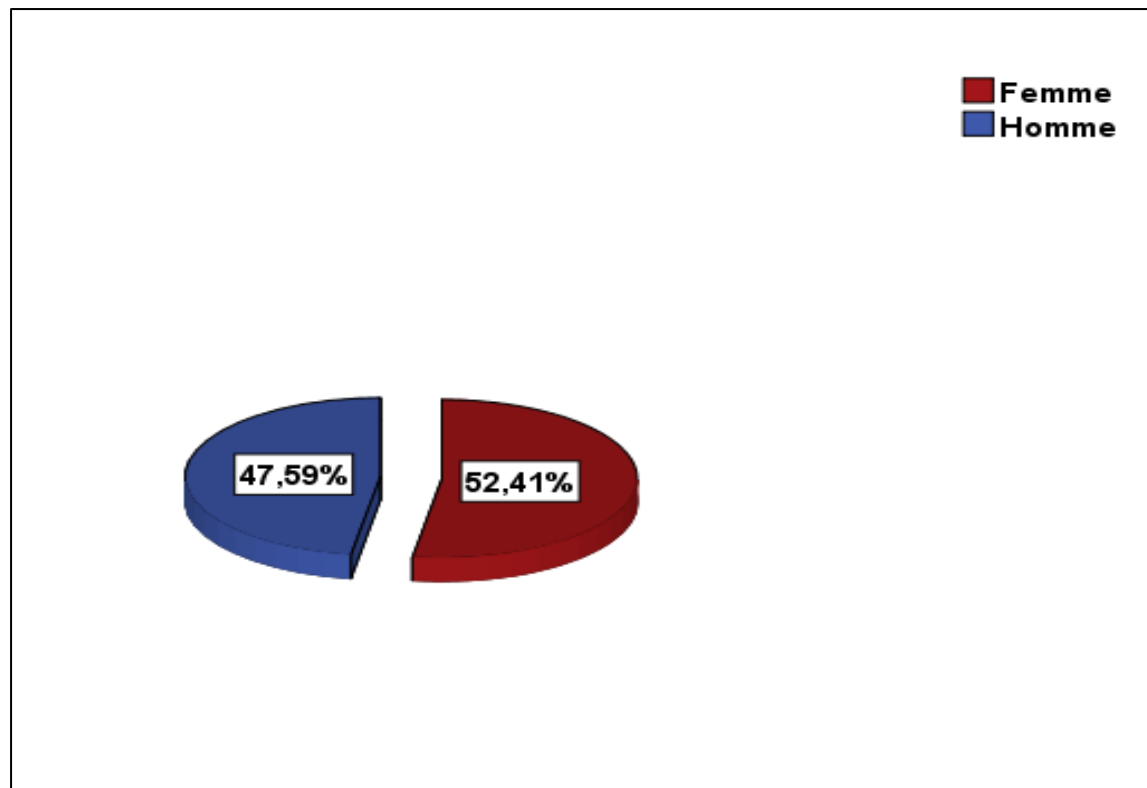
Le protocole n'a pas été soumis à un comité d'éthique. Cependant les renseignements sur les patients seront totalement confidentiels et ne s'auraient être divulgués. Ils sont uniquement utilisés à des fins de recherche. Les renseignements personnels concernant chaque patient ont été codifiés par un numéro qui ne permettra pas d'identifier le malade lors de la publication des résultats de l'étude. Les bonnes pratiques laboratoires ont été respectés et diffusées.

## **5. Résultats**

### **5.1. Caractéristiques de la population**

Pendant la période d'étude, nous avons enregistré 101 patients sans variants d'hémoglobine de type A/A (normaux), 65 patients avec variants d'hémoglobine de type A/S ou A/C, 4 patients homozygotes (S/S ou C/C) et 7 patients hétérozygotes composites (S/C) pour un total de 177 patients collectés.

Mais notre étude de concordance était basée seulement sur 166 patients (homozygotes A/A et hétérozygotes A/S ou A/C).



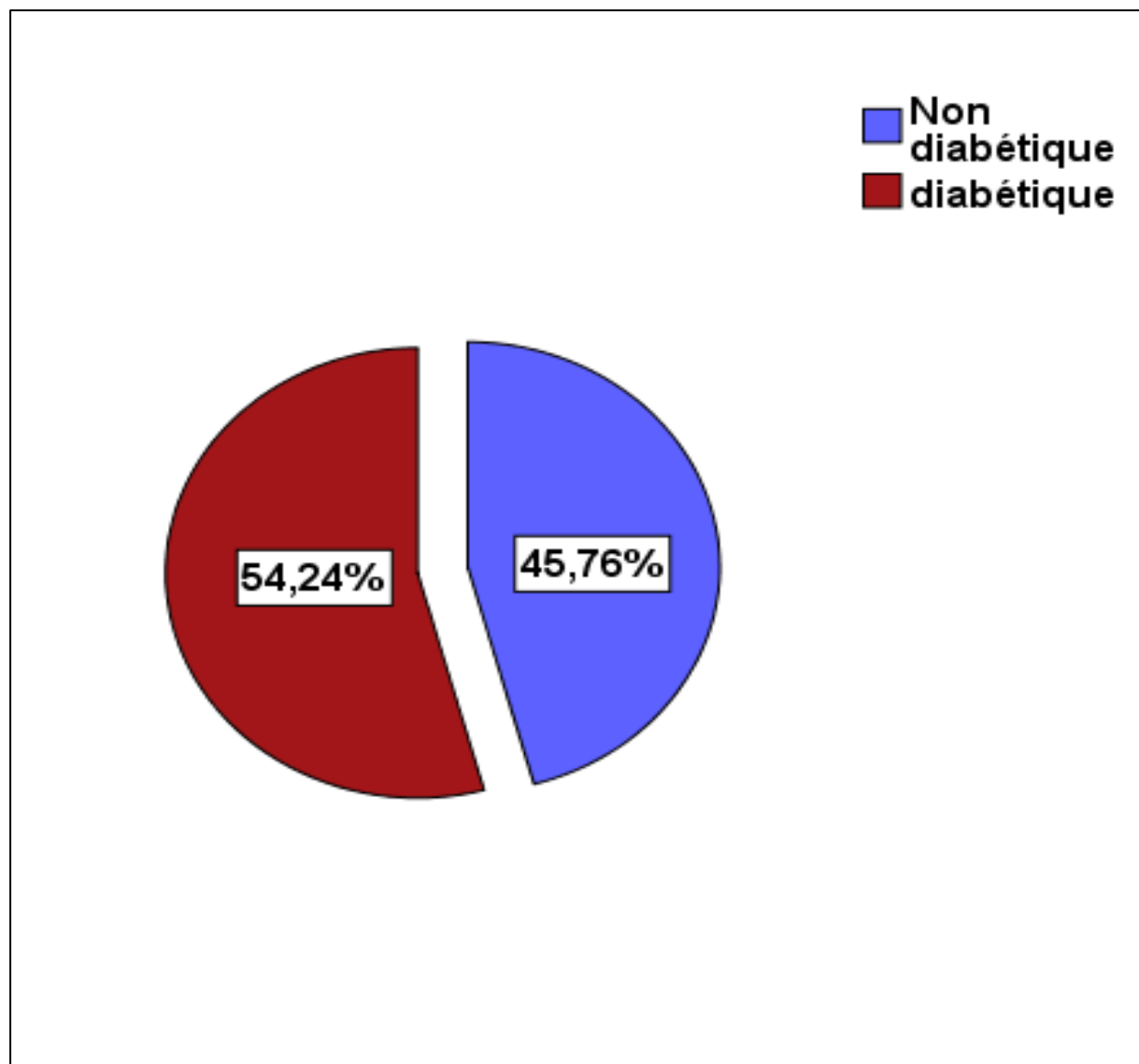
**Figure 18:** Répartition des patients selon le sexe de la population totale.

Les femmes étaient majoritaires 52,41% avec sex-ratio de 0,9.

**Tableau III :** Répartition des patients selon la tranche d'âge de la population totale.

Tranche d'âge (ans)	Effectifs	Pourcentage (%)	Moyenne ± Ecart-type
0 à 20	4	2	9,25±5,90
20 à 40	47	28	33,09±5,34
<b>40 à 60</b>	<b>79</b>	<b>48</b>	<b>49,74±5,78</b>
>69	36	22	67,83±5,95
Total	166	100	47,98±14,80

Dans notre étude 48% de nos patients avaient un âge compris entre 40-60 ans. L'âge moyen était de 47,98±14,80 avec une médiane de 47 ans et des extrêmes de 2 et 88ans.

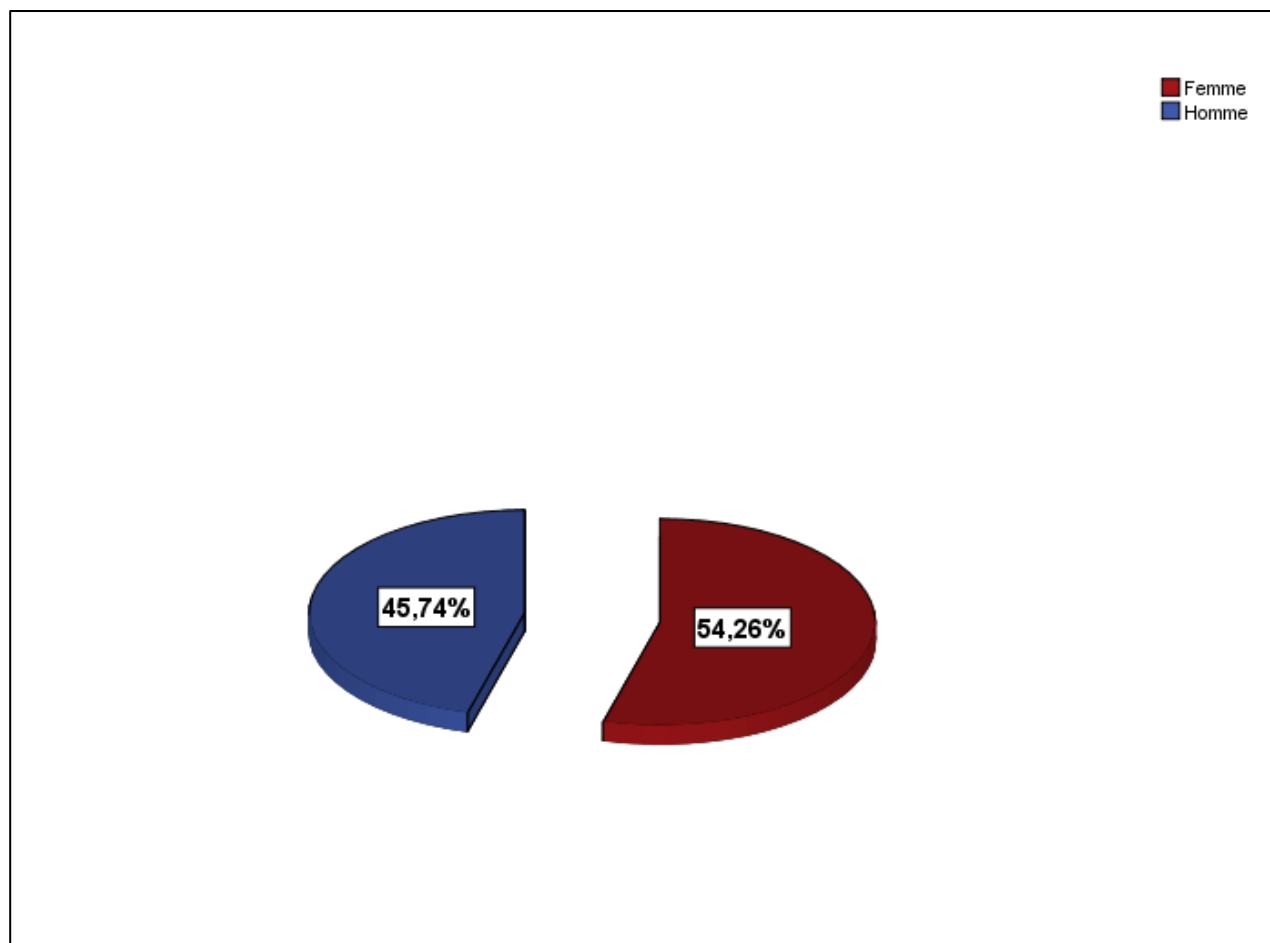


**Figure 19:** Pourcentage des patients selon les statuts du diabète parmi les personnes ayant demandé le dosage de l'HbA1c

Dans notre étude, les patients diabétiques étaient majoritaires 54,24%.



**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



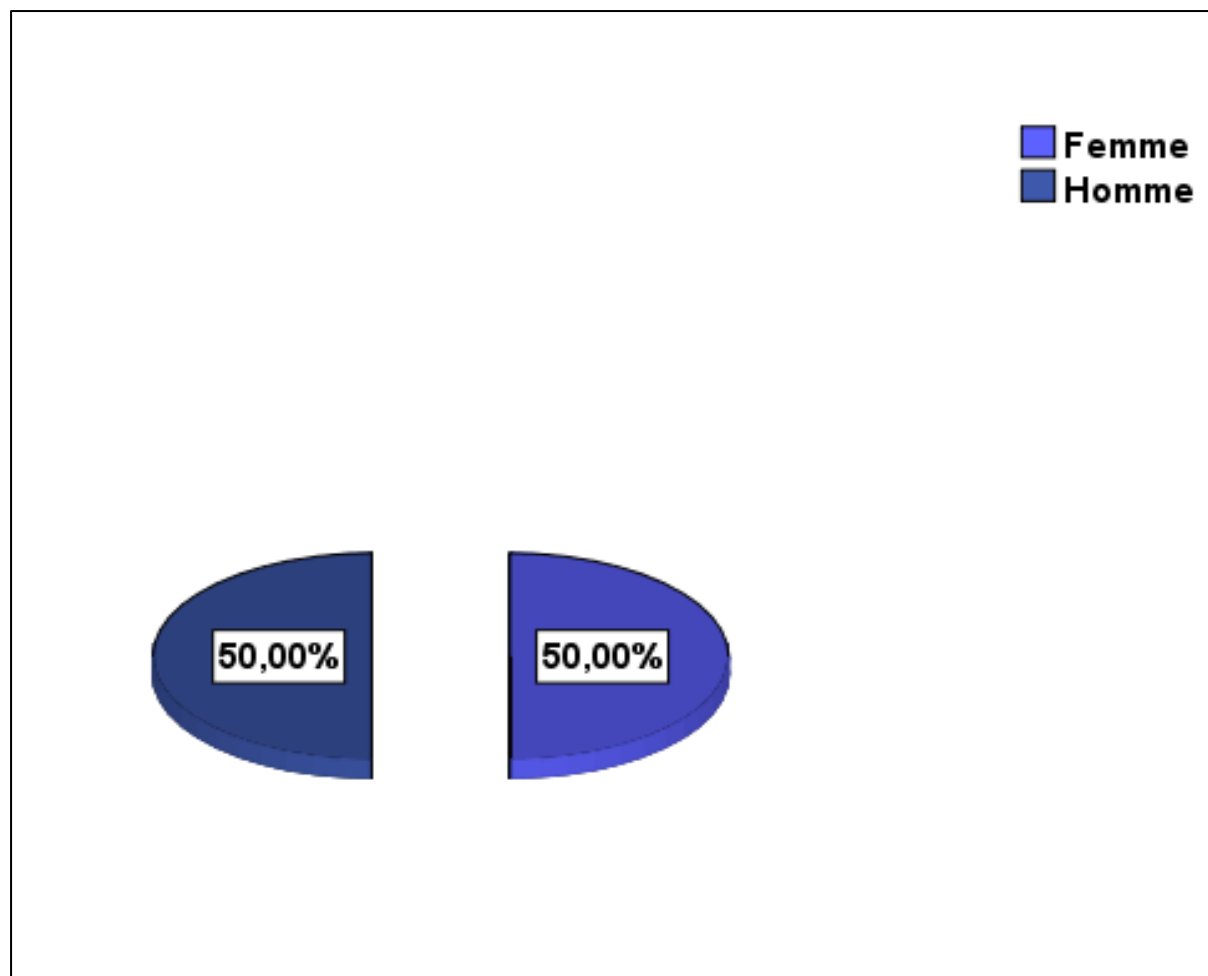
**Figure 20 :** Répartition des patients diabétiques de la population totale selon le sexe

Dans notre série, parmi les diabétiques les femmes étaient majoritaires 54,26% avec une sex-ratio H/F = 0,84.

**Tableau IV:** Répartition des patients diabétique de la population totale selon la tranche d'âge

Tranche d'âge (ans)	Effectifs	Pourcentage (%)	Moyenne ± Ecart-type
0 à 20	1	1	7
20 à 40	18	19	35,94±3,87
<b>40 à 60</b>	<b>49</b>	<b>52</b>	<b>49,40±6,24</b>
>69	26	28	67,50±6,60
Total	94	100	51,77±13,14

Dans notre étude 52% de nos patients avaient un âge compris entre 40-60 ans. L'âge moyen était de 51,77±13,14 avec une médiane de 51 ans et des extrêmes de 7 et 88ans.



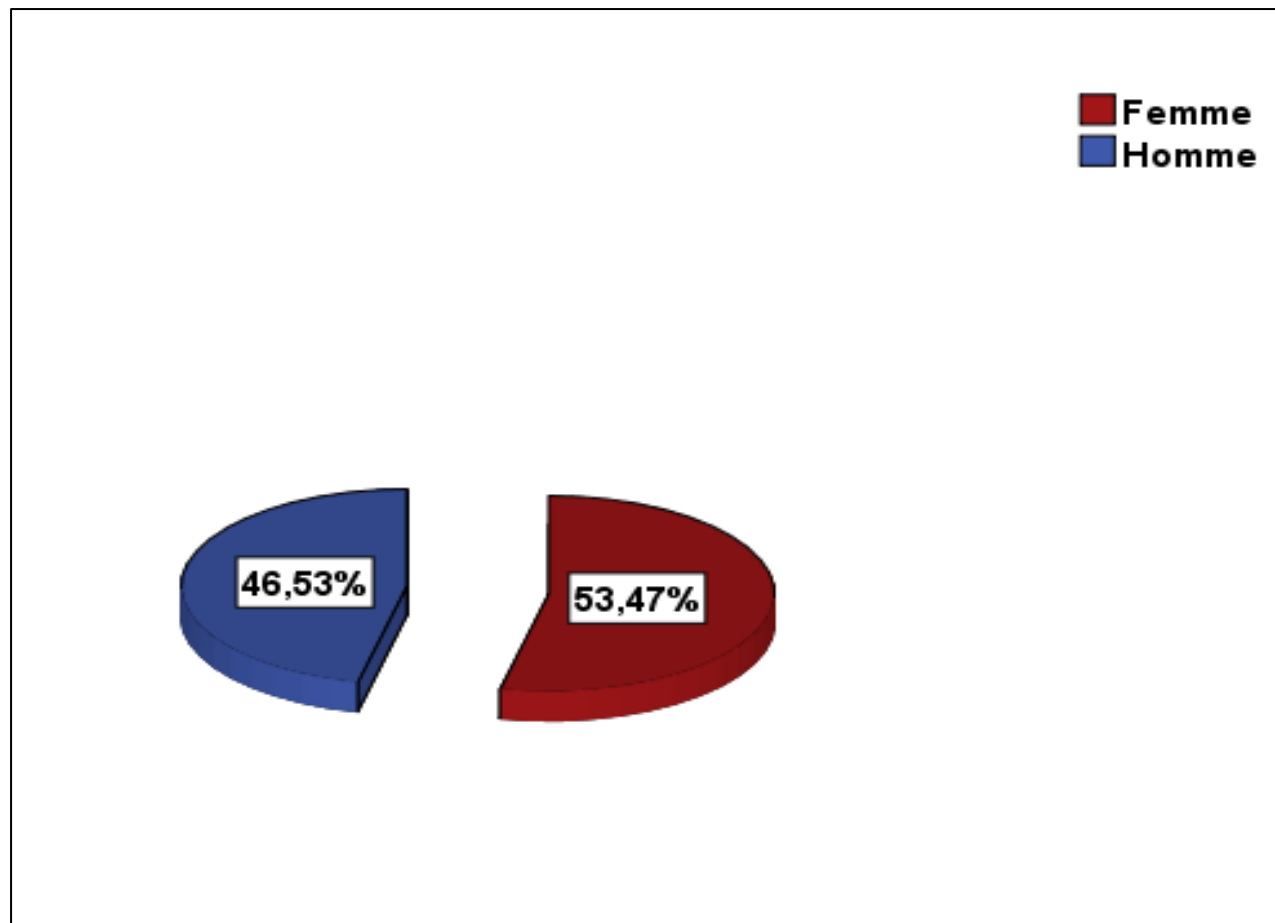
**Figure 21:** Répartition des patients non diabétiques de la population selon le sexe

Dans notre série, parmi les patients non diabétiques nous avons trouvé autant sexe féminin que masculin (50%).

**Tableau V:** Répartition des patients non diabétiques de la population totale selon la tranche d'âge

Tranche d'âge (ans)	Effectifs	Pourcentage (%)	Moyenne $\pm$ Ecart-type
0 à 20	3	4	10 $\pm$ 7
20 à 40	29	40	31,31 $\pm$ 5,41
<b>40 à 60</b>	<b>30</b>	<b>42</b>	<b>49,07<math>\pm</math>5,70</b>
>69	10	14	68,70 $\pm$ 3,95
Total	72	100	43,01 $\pm$ 15,44

Dans notre étude 42% de nos patients avaient un âge compris entre 40-60 ans. L'âge moyen était de 43,01 $\pm$ 15,44 avec une médiane de 47ans et des extrêmes de 2 et 74ans.



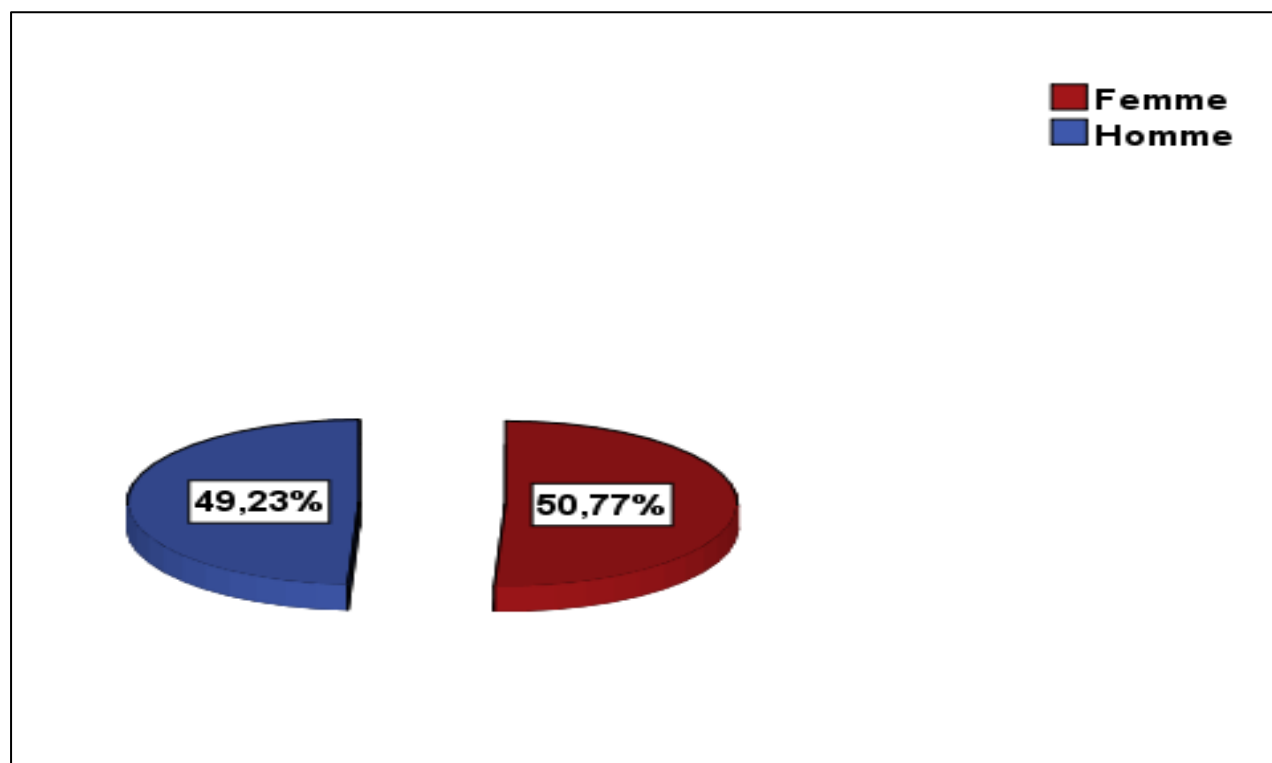
**Figure 22:** Répartition des patients sans variant d'hémoglobine selon le sexe.

Dans notre étude les femmes étaient majoritaires 53,47% chez les patients sans variant d'hémoglobine, avec une sex-ratio H/F = 0,87.

**Tableau VI:** Répartition des patients sans variants selon la tranche d'âge

Tranche d'âge (ans)	Effectifs	Pourcentage (%)	Moyenne ± Ecart-type
0 à 20	1	1	13
20 à 40	29	29	34,35±3,52
<b>40 à 60</b>	<b>52</b>	<b>51</b>	<b>49,25±5,71</b>
>69	19	19	67,11±5,15
Total	101	100	48,14±12,54

Dans notre étude 51% de nos patients avaient un âge compris entre 40-60 ans. L'âge moyen était de 48,14±12,54 avec une médiane de 46 ans et des extrêmes de 13 et 80ans.



**Figure 23 :** Répartition des patients hétérozygotes AS ou AC selon le sexe.

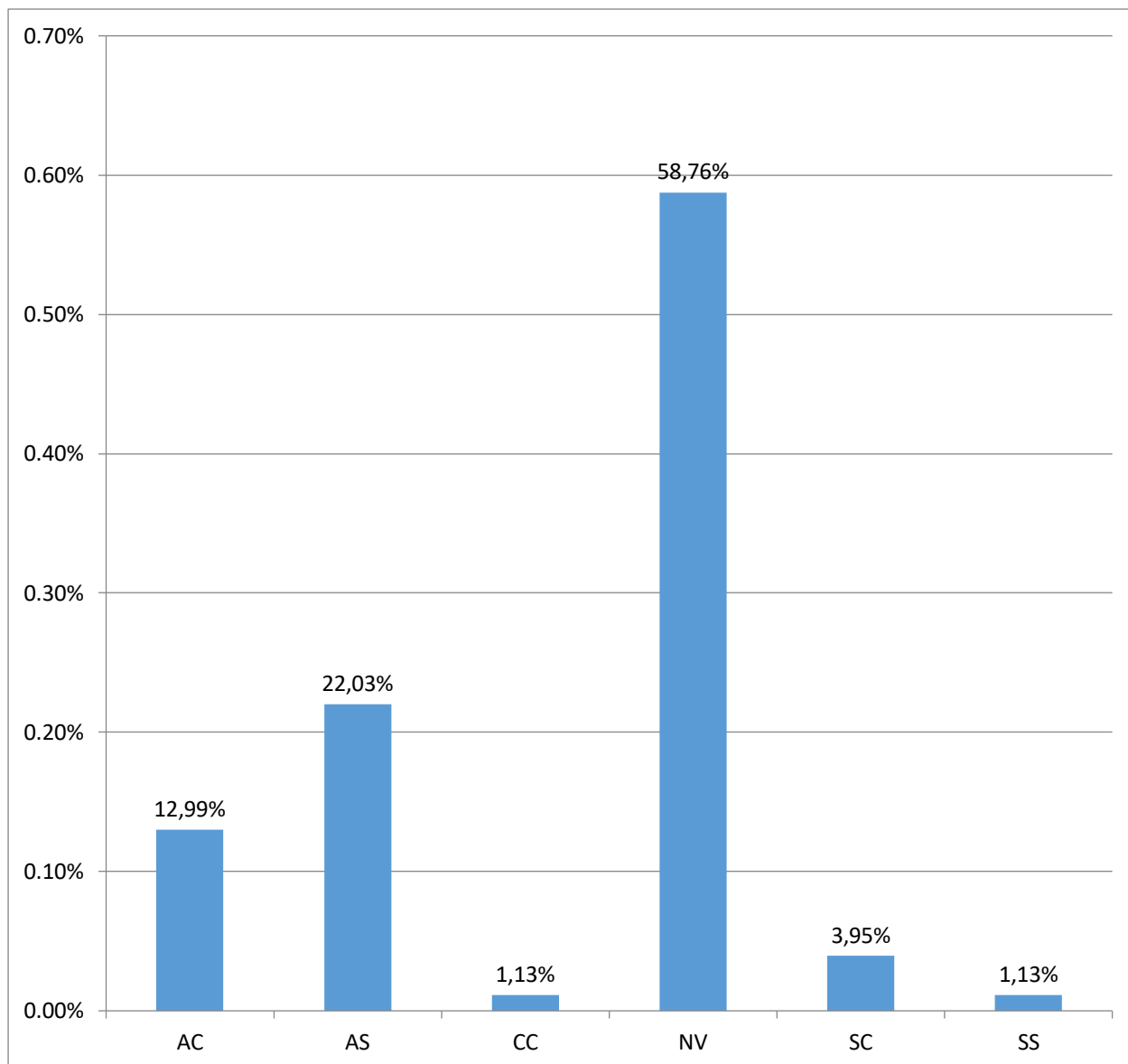
Dans notre étude les femmes étaient majoritaires 50,77% chez les patients avec variant d'hémoglobine, avec une sex-ratio H/F = 0,97.

**Tableau VII:** Répartition des patients hétérozygotes A/S ou A/C selon la tranche d'âge

Tranche d'âge (ans)	Effectifs	Pourcentage (%)	Moyenne ± Ecart-type
0 à 20	3	5	8±6,56
20 à 40	18	28	29,32±6,56
<b>40 à 60</b>	<b>27</b>	<b>42</b>	<b>50,70±5,90</b>
>69	16	25	68,63±7,03
Total	65	100	47,72±17,85

Dans notre étude 42% de nos patients avaient un âge compris entre 40-60 ans. L'âge moyen était de 47,72±17,85 avec une médiane de 49ans et des extrêmes de 2 et 88ans.

Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)



**Figure 24:** Répartition des patients selon le profil d'hémoglobinique

**NV=** Sans Variant (patient normal d'Hb A/A)

**Tableau VIII:** Répartition des patients selon le profil hémoglobinique

<b>Formes d'hémoglobine</b>	<b>Effectifs</b>	<b>Fréquence (%)</b>
Hémoglobine A/A	101	<b>58,76</b>
Hémoglobine A/S	41	22.0.%
Hémoglobine A/C	24	12,99%
Hémoglobine S/C	7	3.95%
Hémoglobine S/S	2	1,13%
Hémoglobine C/C	2	1,13%
Total	177	100%

Dans notre étude les patients normaux (homozygote AA) étaient majoritaires 58,76% et les patients ayant l'hémoglobine hétérozygote AS représentaient 22,03% de la population.

## 5.2. Caractéristiques biologiques

**Tableau IX :** Analyse multivariée des facteurs influençant le dosage de l'HbA1c sur le D-10® et le Minicap FP®.

Facteurs associés	D-10			Minicap FP®		
	β	Analyse multivariée		β	Analyse multivariée	
		p	IC 95%		p	IC 95%
Sexe	0,008	0,980	[-0,623;0,639]	-0,008	0,978	[-0,617;0,600]
Age	-0,005	0,685	[-0,027;0,018]	-0,011	0,326	[-0,032;0,011]
<b>Variants S ou C</b>	<b>0,035</b>	<b>0,914</b>	<b>[-0,611;0,682]</b>	<b>-0,068</b>	<b>0,829</b>	<b>[-0,691;0,554]</b>
<b>Diabétique</b>	<b>2,867</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>[2,200;3,534]</b>	<b>2,472</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>[1,829;3,114]</b>

IC : Intervalle de Confiance

Une analyse multivariée a montré que seul le diabète reste indépendamment lié aux variations du taux d'HbA1c.

Sur D-10® les taux d'HbA1c augmente de 2,867% chez des patients du même âge, du même sexe, ayant le même variant d'hémoglobine et cette augmentation est statistiquement significative ( $p < 0,001$ ). L'hémoglobinoopathie (hétérozygotie AS ou AC) a aussi été ajustée malgré son augmentation non significative de 0,035% ( $p = 0,914$ ).

Sur Minicap FP® les taux d'HbA1c augmente de 2,472% chez des patients du même âge, du même sexe, ayant le même variant d'hémoglobine et cette augmentation est statistiquement significative ( $p < 0,001$ ). L'hémoglobinoopathie (hétérozygotie AS ou AC) a aussi été ajustée malgré son augmentation non significative de -0,068% ( $p = 0,829$ ).

Le modèle de régression multivariée explique 32,6% des variations de dosage de l'HbA1c sur le D-10® et 27,1 % sur le Minicap FP®.

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

La fonction de prédiction Y (D-10® HbA1c) = 2,674+0,008 (sexe)-0,005 (Age) +0,035 (hétérozygote AS ou AC) +2,867 (diabétique) et Y (Minicap FP® HbA1c) = 3,527-0,008 (sexe)-0,011 (âge)-0,068 (hétérozygote AS ou AC) +2,472.

**Tableau X :** Description statistique taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes de la population totale

Population d'étude n = 166		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de Confiance (95%)	Coefficient de corrélacion R
Age		47,96	14,79	<b>&lt;0,001</b>	[-0,88 ;1,30]	
HbA1c NGSP (%)	D10	<b>7,00</b>	<b>2,47</b>			
	CAP	<b>6,79</b>	<b>2,28</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,21	0,56	<b>0,001</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,9*x+0,47</b>				<b>avec p &lt;0,001</b>

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

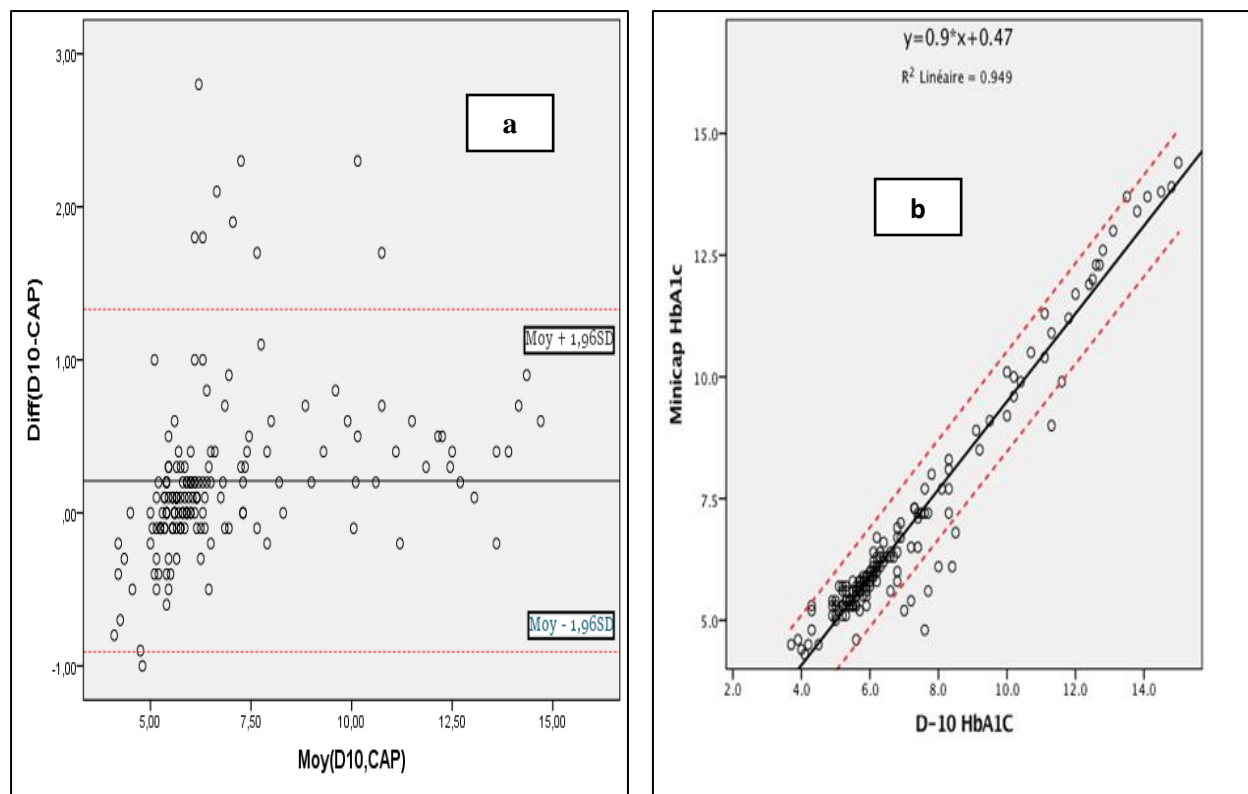
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® =7,00% ± 2,47

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP® = 6,79 ± 2,28

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,21. Signification : valeur-p < 0,001.

La corrélation est positive et très significative avec coefficient de corrélation R = **0,974** et la droite de régression linéaire **y = 0,9\*x+0,47** avec p <0,001





**Figure 25:** a= Graphique de Bland-Altman de la population générale diabétique, b= droite de la régression linéaire de la population totale.

**Figure 25a :** ——— la valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... La limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). ● Écarts.

**Figure 25b :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10® et Minicap FP® par la réalisation du graphique de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,21% (IC95% : -0,88 à 1,30) (**figure 25a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression  $y = 0,9x + 0,47$  avec un coefficient de corrélation  $R=0,974$  ( $p < 0,001$ ) (**figure 25b**).

Le graphique de Bland-Altman montre que la concordance entre les deux systèmes semble meilleure dans les valeurs élevées  $> 11\%$  et les valeurs basses  $< 6\%$ . En effet le D-10® donne des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP® et cette majoration semble importante entre 6 et 11%. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XI :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour les patients diabétiques.

Population totale diabétique		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	94 (56,7%)					
Age		51,77	13,14			
HbA1c	<b>D10</b>	<b>8,22</b>	<b>2,65</b>	<b>&lt;0,001</b>	[-0,82 ;1,64]	<b>0,970</b>
	<b>CAP</b>	<b>7,81</b>	<b>2,58</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,41	0,63	<b>&lt;0,001</b>		
Equation de corrélation			<b>y = 0,94*x+0,05avec p &lt;0,001</b>			

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® =8,22%±2,65

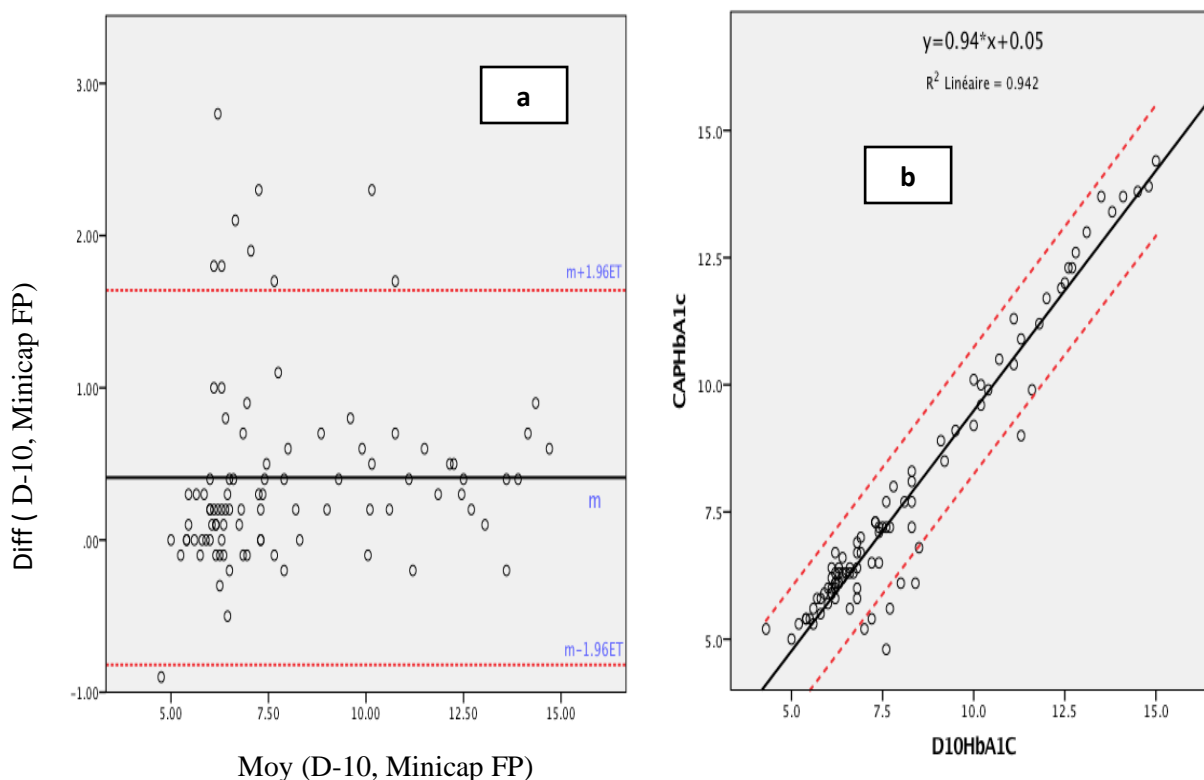
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP®=7,87±2,58

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,41

Signification : valeur-p < 0.001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,970** et la droite de régression linéaire y = 0,94\*x+0,05 avec p <0,001

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 26:** a= Graphique de Bland-Altman population générale diabétique, b= droite de la régression linéaire Population générale diabétique.

**Figure 26a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure IC (95%).    • Écarts.

**Figure 26a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap par la réalisation du graphique de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,41% (IC95% : -0,82 à 1,64) (**figure 26a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,94*x+0,05$  avec un coefficient de corrélation  $R=0,970$  ( $p<0,001$ ) (**figure 26b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population diabétique avec le D-10® donnant des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP®. L'intervalle de confiance dans lequel se trouve 95% de nos écarts entre les deux techniques est beaucoup plus élevé avec une plage de 0,82. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XII** : La description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population totale non diabétique.

Population totale non diabétique		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	72(43,3%)					
Age		43,01	15,45			
HbA1c	<b>D10</b>	<b>5,39</b>	<b>0,56</b>	<b>&lt;0,001</b>		<b>0,836</b>
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>5,44</b>	<b>0,41</b>			
Diff (%) D10 et CAP		-0,05	0,31	<b>0,217</b>	[-0,64 ;0,56]	
Equation de corrélation		<b>y = 0,61*x+2,14 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® = 5,39%±0,56

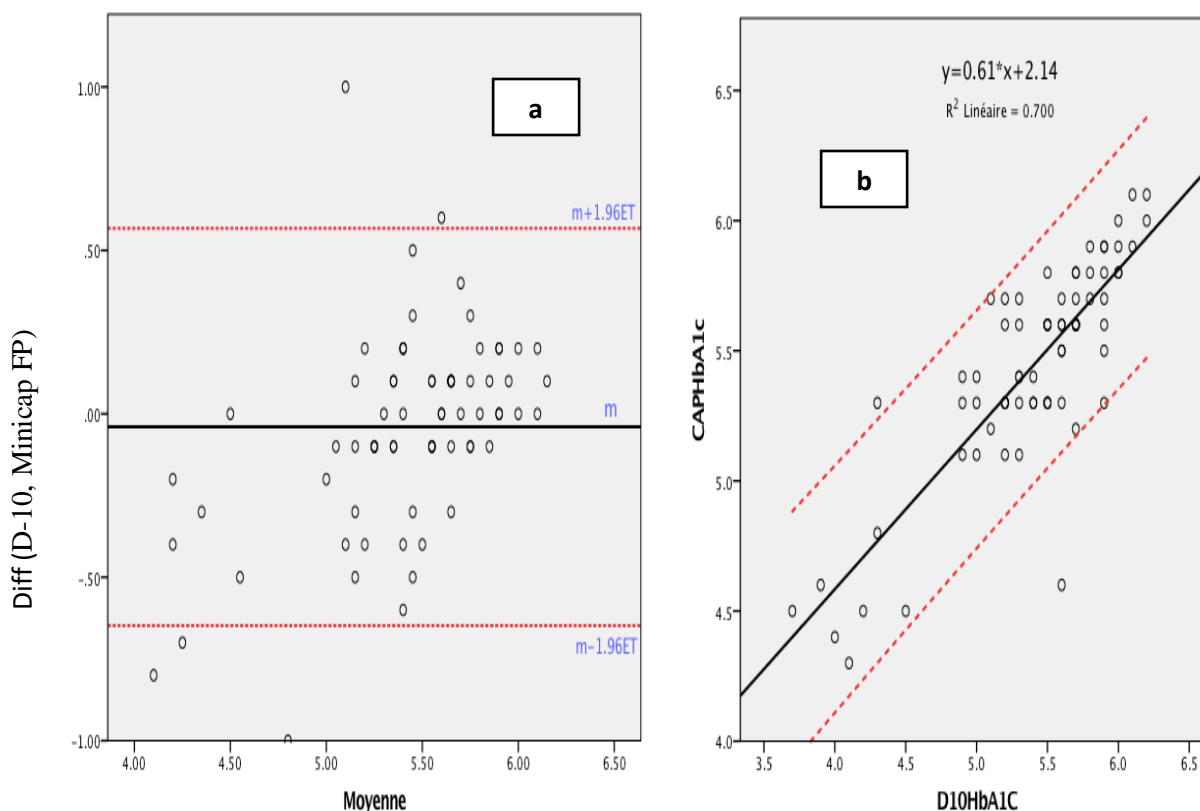
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP® = 5,44±0,41

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = -0,05

Signification : valeur-p = **0,217**

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,836** et la droite de régression linéaire **y = 0,61\*x+2,14 avec p <0,001**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 27:** a= Graphique de Bland-Altman population générale non diabétique, b= droite de la régression linéaire population totale non diabétique

- Figure 27a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). ● Écarts.
- Figure 27b :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap® par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de -0,05% (IC95% : -0,64 à 0,56) (**figure 27a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,61 \cdot x + 2,14$  avec un coefficient de corrélation  $R = 0,836$  ( $p < 0,001$ ) (**figure 27b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population non diabétique avec le D-10® donnant des valeurs légèrement basses que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XIII** : Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population avec variant d'hémoglobine.

Population avec variant		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	65(39,2 %)				[2,44 ; -1,19]	<b>0,945</b>
Age		47,72	17,84			
HbA1c	<b>D10</b>	<b>7,16</b>	<b>2,63</b>	<b>&lt;0,001</b>		
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>6,87</b>	<b>2,87</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,29	0,86	= 0,008		
Equation de corrélation			<b>y = 0,85*x+0,76 avec p &lt;0,001</b>			

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® = 7,16%±2,63

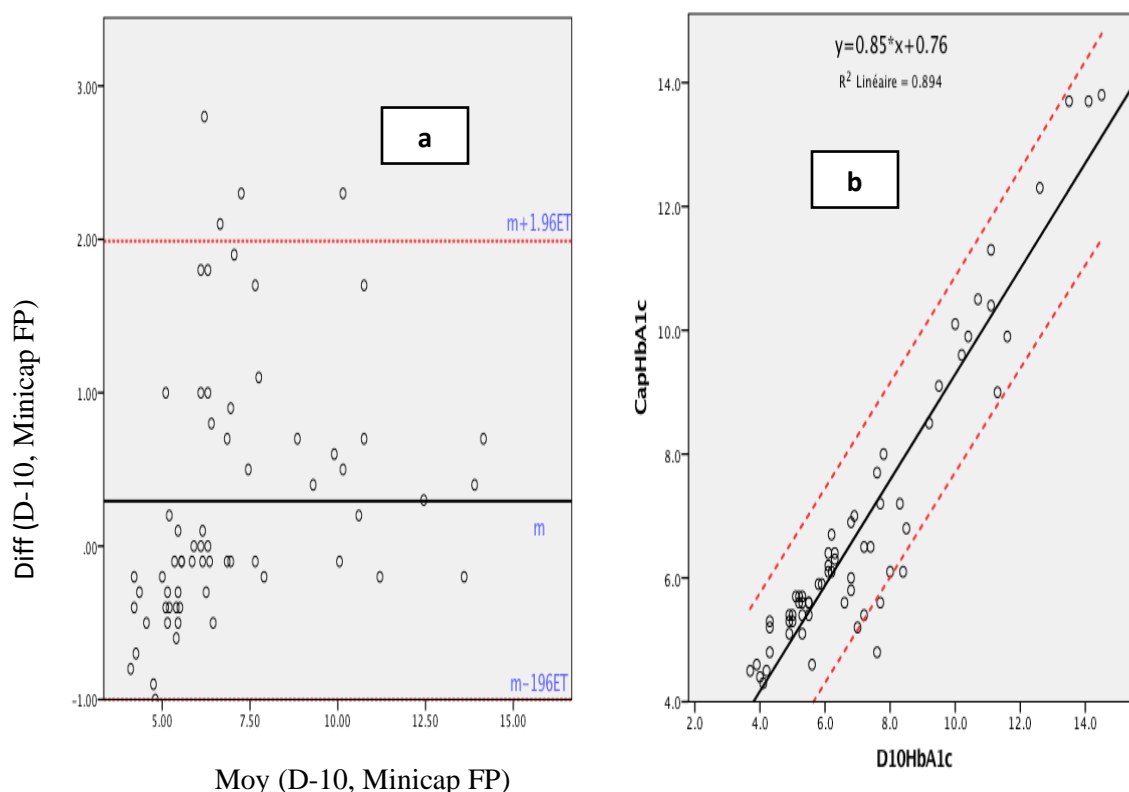
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP® = 6,87±2,87

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,29

Signification : valeur-p = **0,008**

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,945** et la droite de régression linéaire **y = 0,85\*x+0,76 avec p <0,001**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 28:** a= Graphique de Bland-Altman population avec variant d'hémoglobine, b= droite de la régression linéaire population avec variant d'hémoglobine

**Figure 28a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.

..... Limite de concordance supérieure et inférieure. ● Écarts.

**Figure 28a :** ——— droite de régression linéaire

..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap® par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,29% (IC95% : 2,44 à -1,19) (**figure 28a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,85 \cdot x + 0,76$  avec un coefficient de corrélation  $R=0,945$  ( $p < 0,001$ ) (**figure 28b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population non diabétique avec le D-10® donnant des valeurs légèrement basses que le Minicap FP®. L'intervalle de confiance dans lequel se trouve 95% de nos écarts entre les deux techniques est beaucoup important avec une plage de 1,30. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XIV:** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population sans variant d'hémoglobine.

Population sans variants		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	101(60,8%)					
Age		48,13	17,84			
HbA1c	<b>D10</b>	<b>6,90</b>	<b>2,36</b>	<b>&lt;0,001</b>		<b>0,997</b>
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>6,73</b>	<b>2,23</b>			
Diff (%) D10 et CAP		<b>0,16</b>	0,21	<b>&lt;0,001</b>	[0,59 ; -1,19]	
Equation de corrélation			<b>y = 0,94*x+0,22avec p &lt;0,001</b>			

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

D'après ce tableau nous constatons que :

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® = 6,90%±2,36

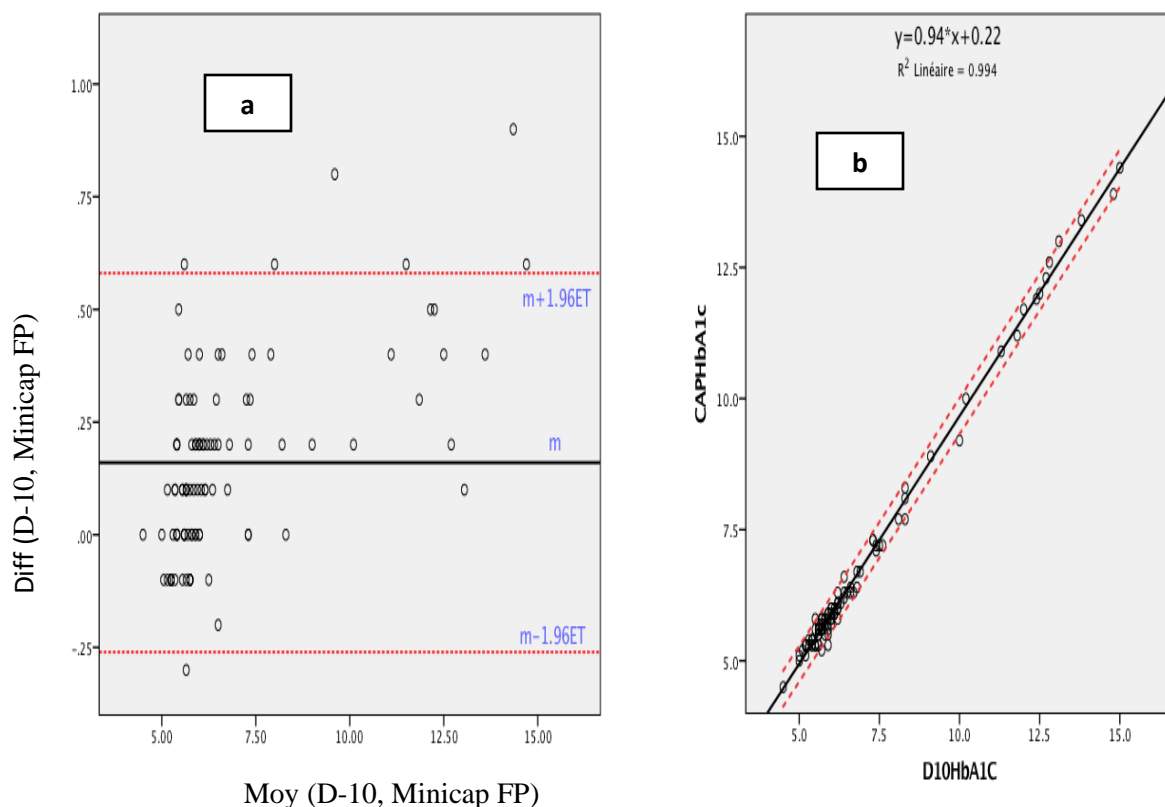
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP® = 6,73±2,23

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,16. Signification : valeur-p<0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,997** et la droite de régression linéaire **y = 0,94\*x+0,22 avec p <0,001**



**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 29:** a= Graphique de Bland-Altman population sans variant d’hémoglobine, b= droite de la régression linéaire population sans variants d’hémoglobine

**Figure 29a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). ● Ecarts.

**Figure 29a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L’évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap® par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,16% (IC95% : 0,59 à -0,27) (**figure 29a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,94 \cdot x + 0,22$  avec un coefficient de corrélation  $R = 0,997$  ( $p < 0,001$ ) (**figure 29b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu’il existe une concordance des valeurs chez la population non diabétique avec le D-10® donnant des valeurs légèrement basses que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l’HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XV:** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population A/S ou A/C diabétique.

Diabétique A/S ou A/C		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de coefficient (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	40(24,1%)					
Age		52,58	14,72			
HbA1c	<b>D10</b>	<b>8,52</b>	<b>2,42</b>	<b>&lt;0,001</b>	[-1,13 ;2,43]	<b>0,937</b>
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>7,82</b>	<b>2,53</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,65	0,89	<b>&lt;0,001</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,96*x+0,27 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

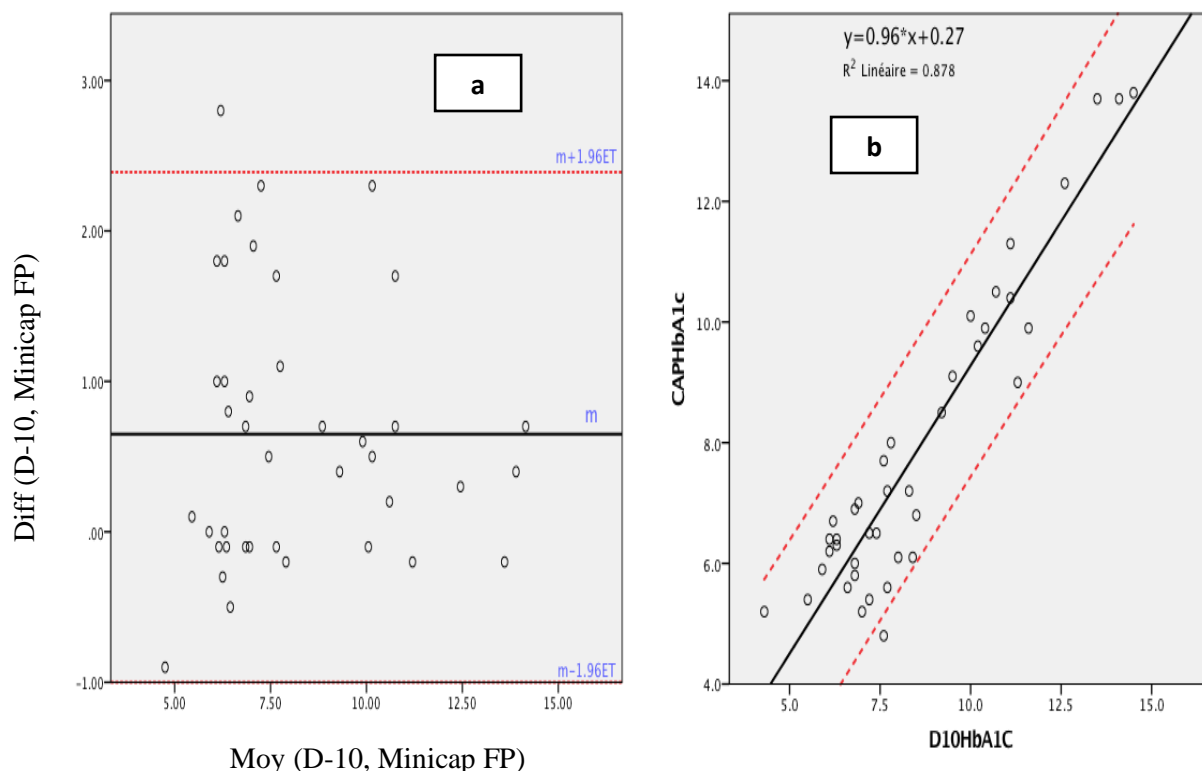
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® = 8,52%±2.42

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap FP® = 7,82±2,53

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,65. Signification : valeur-p < 0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,937** et la droite de régression linéaire **y = 0,96\*x+0,27 avec p <0,001**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 30:** a= Graphique de Bland-Altman Diabétique A/S ou A/C, b= Droite de la régression linéaire Diabétique A/S ou A/C.

**Figure 30a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.

..... Limite de concordance supérieure et inférieure IC (95%).    • Écarts.

**Figure 30a :** ——— droite de régression linéaire

..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10® et Minicap® par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence très élevée 0,65% (IC95% -1,13 à 2,43) (**figure 30a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y=0,96*x+0,27$  avec un coefficient de corrélation  $R=0,937$  ( $p<0,001$ ) (**figure 30b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population diabétique portant un variant d'Hb avec le D-10® donnant des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XVI:** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population A/S ou A/C non diabétique.

Non diabétique A/S ou A/C		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence	25(15,1%)					
Age		39,96	19,88			
HbA1C	<b>D10</b>	<b>4,98</b>	<b>0,67</b>	<0,001	[-1,04 ;0,46]	<b>0,824</b>
NGSP%	<b>CAP</b>	<b>5,26</b>	<b>0,53</b>			
Diff (%) D10 et CAP		-0,28	0,38	<b>0,001</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,65*x+2,01 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10®=4,98%±0,67

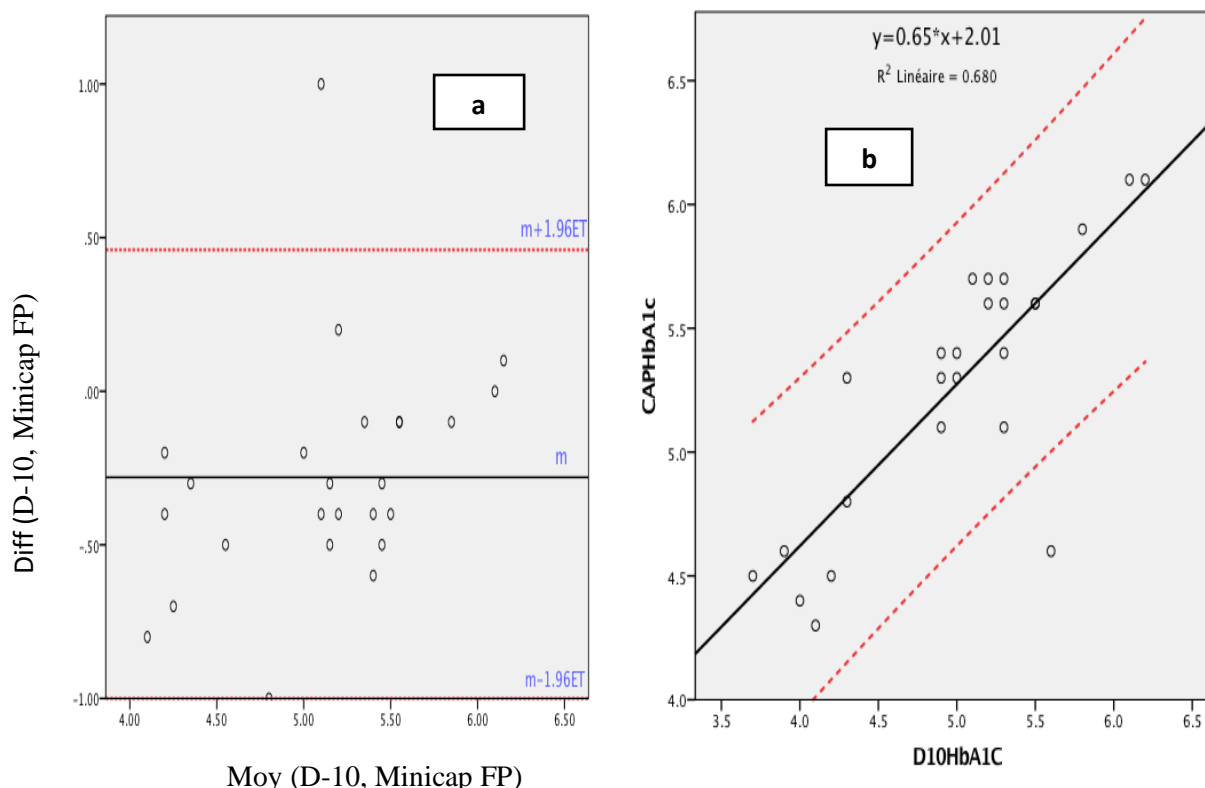
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap® FP = 5,28±0,38

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = -0,28

Signification : valeur-p = 0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,824** et la droite de régression linéaire **y = 0,65\*x+2,01 avec p <0,001**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 31:** a= Graphique de Bland Altman Non diabétique A/S ou A/C, b= Droite de la régression linéaire non diabétique A/S ou A/C.

**Figure 31a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.

..... Limite de concordance supérieure et inférieure IC (95%). ● Écart.

**Figure 31a :** ——— droite de régression linéaire

..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10® et Minicap® par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une faible moyenne de différence de -0,28% (IC95% -1,04 à 0,46) (**figure 31a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,65 \cdot x + 2,01$  avec un coefficient de corrélation **0,824** ( $p < 0,001$ ) (**figure 31b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population non diabétique portant un variant d'Hb avec le D-10® donnant des valeurs légèrement basses que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XVII :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population sans variant diabétique.

Sans variant diabétique		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence (%)	54(32,5%)					
Age		51,18	11,94			
HbA1c NGSP (%)	<b>D10</b>	<b>8,00</b>	<b>2,77</b>	<b>&lt;0,001</b>	[-0,20 ;0,66]	<b>0,997</b>
	<b>CAP</b>	<b>7,77</b>	<b>2,63</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,23	0,22	<0,001		
Equation de corrélation		<b>y = 0,95*x+0,17 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® =8,00%±2,77

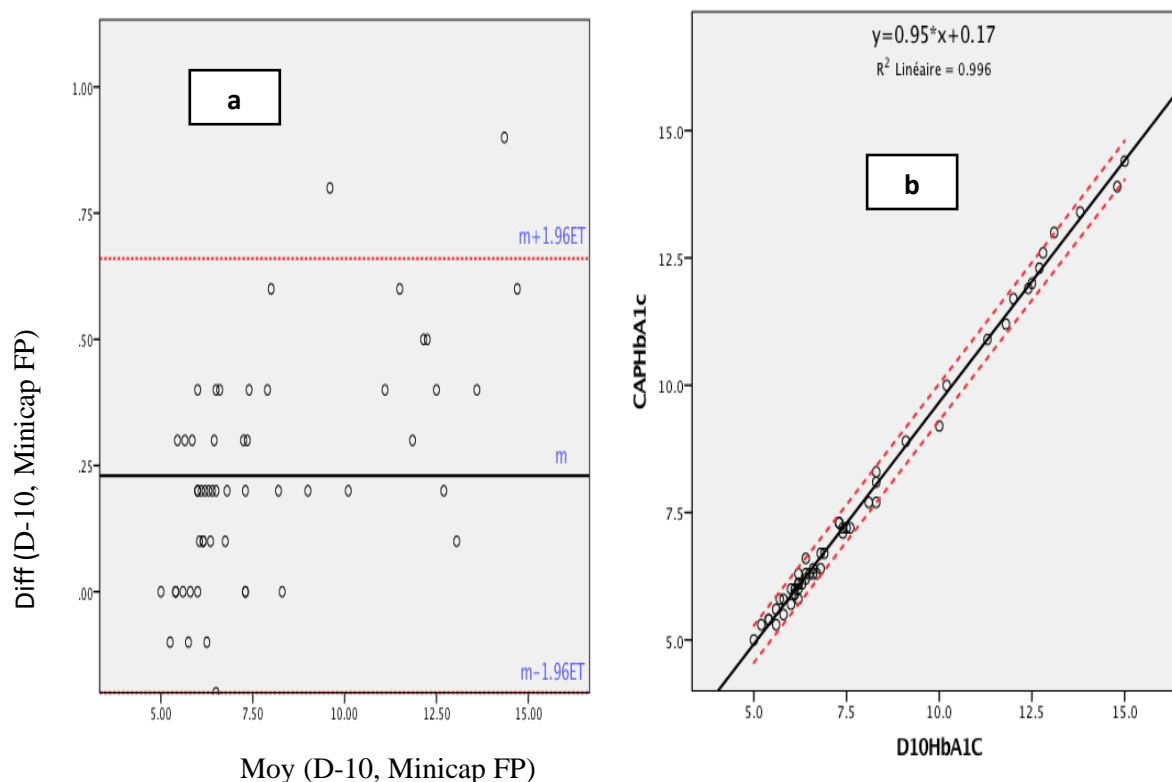
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique D-10® = 8,00%±2,77

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,23

Signification : valeur-p < 0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,997** et la droite de régression linéaire **y = 0,95\*x+0,17 avec p <0,001.**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 32:** a= Graphe de Bland-Altman Sans variant diabétique, b= Droite de la régression linéaire Sans variant diabétique.

**Figure 32a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%).    • Écarts.

**Figure 32a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,23% (IC95% - 0,20 à 0,66) (**figure 32a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,95*x+0,17$  avec un coefficient de corrélation **0,997** ( $p < 0,001$ ) (**figure 32b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population ne portant pas de variant d'Hb. Le D-10® donnant des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XVIII :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux méthodes pour la population non diabétique ne possédant pas de variant d'Hb

Sans variantes non diabétique		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence (%)	47(28,3%)					
Age		44,63	12,41	<b>&lt;0,001</b>	[-0,24 ;0,38]	<b>0,856</b>
HbA1c	<b>D10</b>	<b>5,61</b>	<b>0,32</b>			
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>5,53</b>	<b>0,29</b>			
Diff (%) D10 et CAP		0,07	0,16	<b>0,002</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,77*x+1,21 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® = 5,61%±0,32

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap® FP = 5,53±0,29

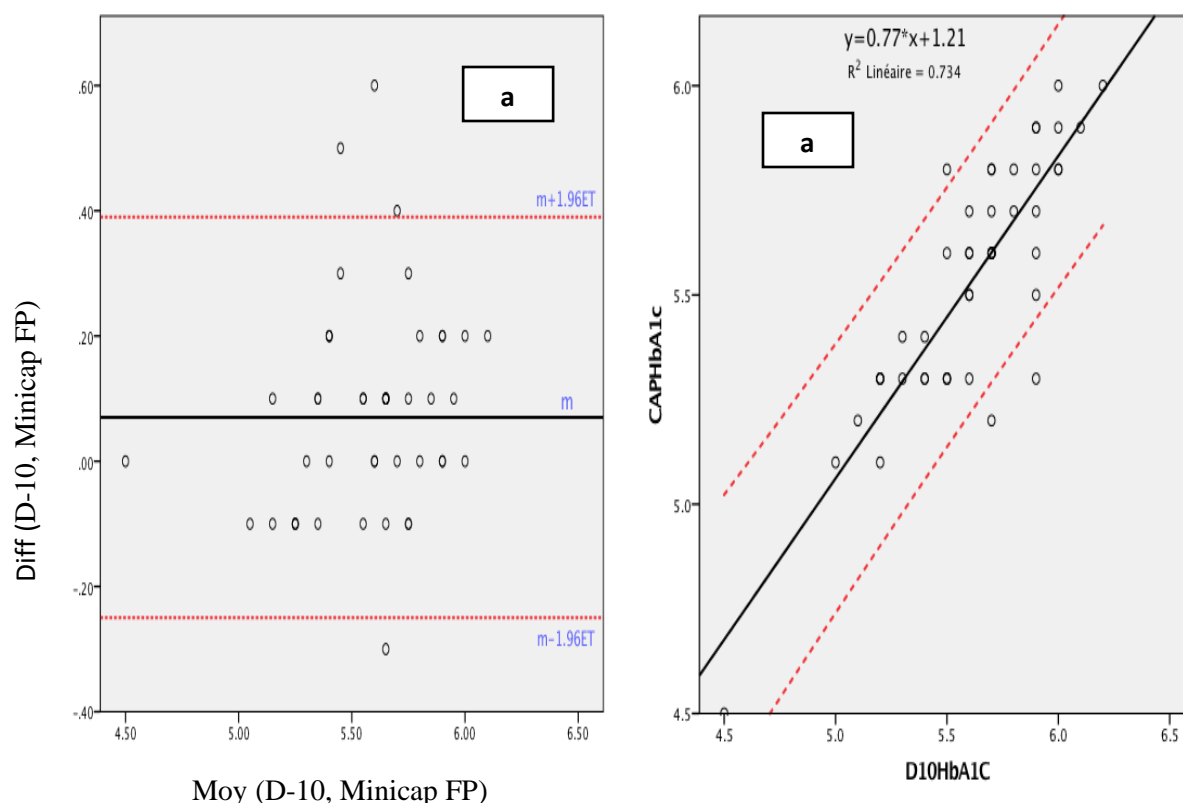
La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,07

Signification : valeur-p = 0,002

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,856** et la droite de régression linéaire **y = 0,77\*x+1,21 avec p <0,001**



**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 33:** a= Graphique de Bland Altman Sans variantes non diabétique, b= Droite de la régression linéaire Sans variant non diabétique.

**Figure 33a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). ● Écarts.

**Figure 33a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une très faible moyenne de différence de 0,07% (IC95% -0,24 à 0,38) (**figure 33a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,77*x+1,21$  avec un coefficient de corrélation **0,856** ( $p<0,001$ ) (**figure 33b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population non diabétique ne portant pas de variant d'Hb avec le D-10® donnant des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative entre les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XIX :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes pour la population hétérozygote A/S

Hémoglobine A/S		Moyenne	Ecart Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence (%)	41(28,7%)				[-1,09 ;2,35]	<b>0,919</b>
Age		54,00	15,68			
HbA1c	D10	7,60	2,24	<b>&lt;0,001</b>		
NGSP (%)	CAP	6,97	2,08			
Diff (%) D10 et CAP		0,63	0,88	<b>&lt;0,001</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,86*x+0,46 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® =7,60%±2,24

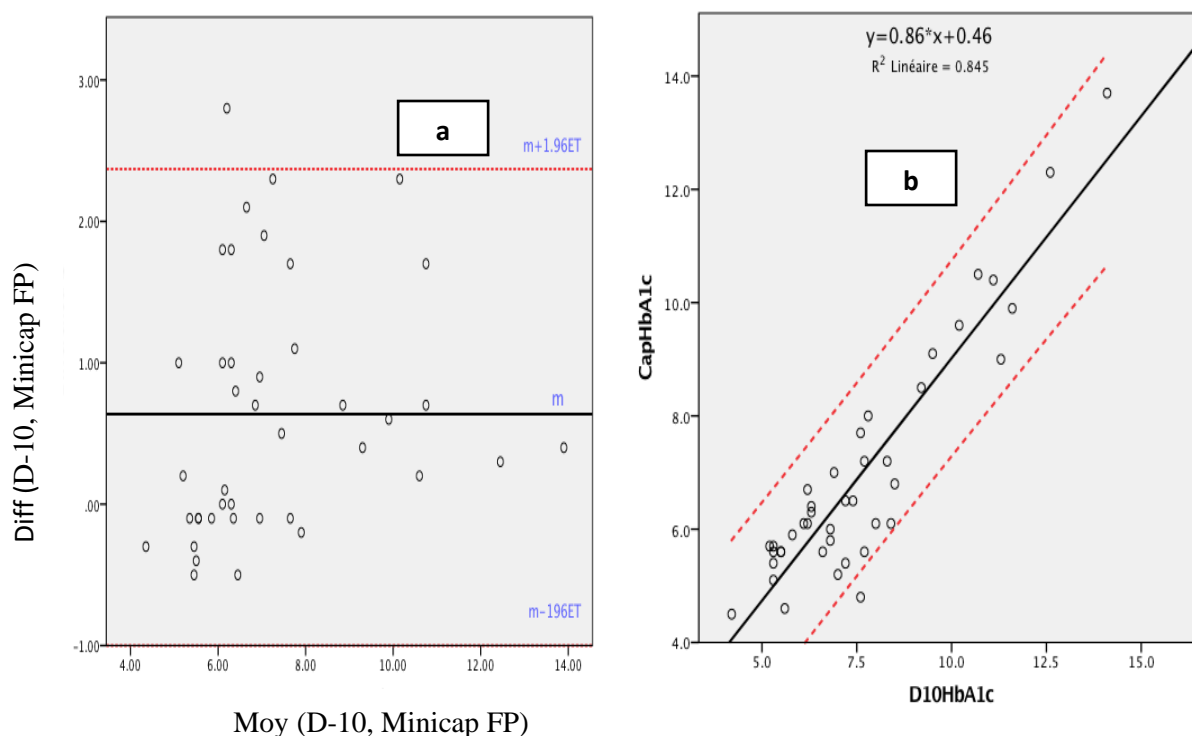
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap® FP = 6,97±2,08

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = 0,63

Signification : valeur-p < 0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,919** et la droite de régression linéaire **y = 0,86\*x+0,46 avec p <0,001.**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 34:** a= Graphe de Bland-Altman des patients avec hémoglobine A/S, b= droite de la régression linéaire des patients avec hémoglobine A/S.

**Figure 34a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). • Écarts.

**Figure 34a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de 0,63% (IC95% - 1,09 à 2,35) (**figure 34a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,86 \cdot x + 0,46$  avec un coefficient de corrélation **0,919** ( $p < 0,001$ ) (**figure 34b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population hétérozygote A/S avec le D-10® donnant des valeurs légèrement plus élevées que le Minicap FP®. L'intervalle de confiance dans lequel se trouve 95% de nos écarts entre les deux techniques est beaucoup plus important avec une plage de 1,26. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Tableau XX :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec les deux méthodes pour la population hétérozygote A/C.

Hémoglobine A/C		Moyenne	Ecart-Type	p	Intervalle de confiance (95%)	Coefficient de corrélation R
Fréquence (%)	24(14,5%)				[-1,05 ;0,47]	<b>0,994</b>
Age		37,00	16,38	<b>&lt;0,001</b>		
HbA1c	<b>D10</b>	<b>6,39</b>	<b>3,09</b>			
NGSP (%)	<b>CAP</b>	<b>6,68</b>	<b>2,83</b>			
Diff (%) D10 et CAP		-0,29	0,39	<b>0,001</b>		
Equation de corrélation		<b>y = 0,91*x+0,85 avec p &lt;0,001</b>				

D'après ce tableau nous constatons que :

Une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenues parallèlement avec les deux méthodes avec **p <0,001**

La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode HPLC D-10® =6,39%±3,09

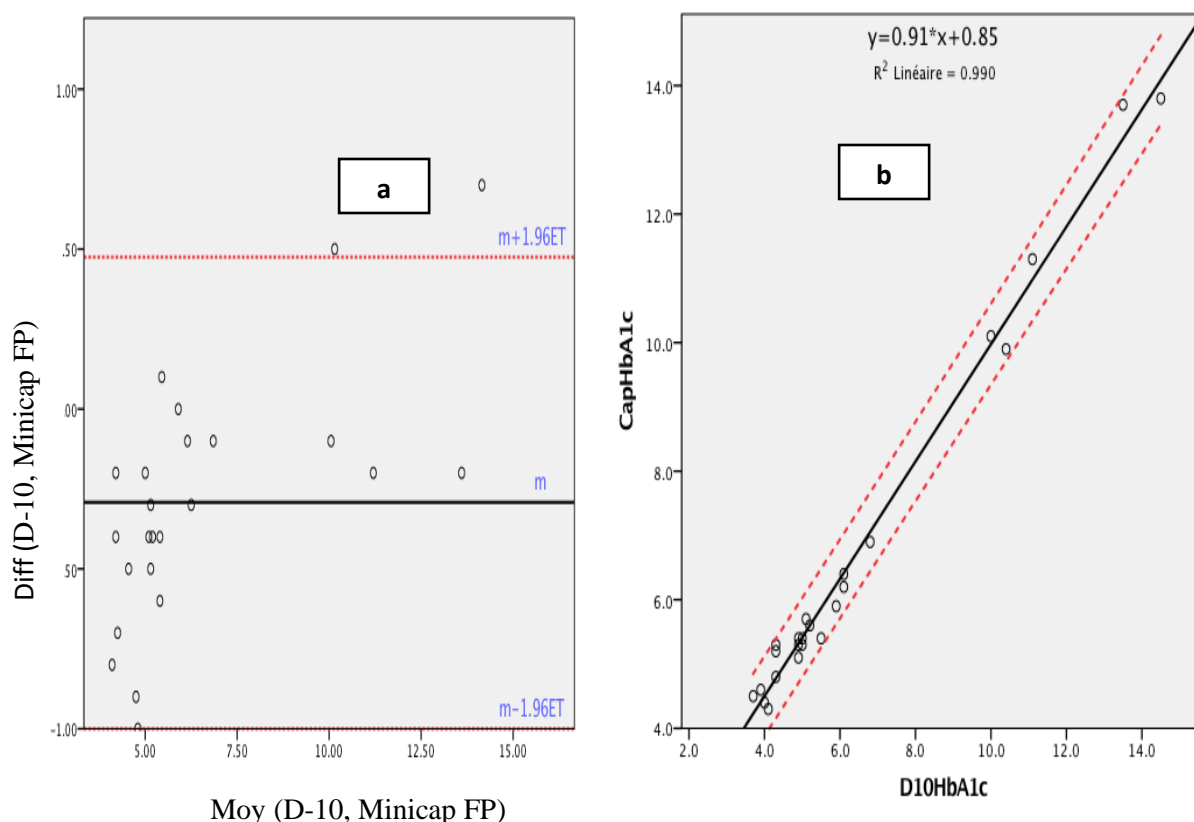
La moyenne des valeurs de l'HbA1C obtenu par la méthode électrophorétique Minicap® FP = 6,68±2,83

La moyenne de la différence entre les deux valeurs = -0,29

Signification : valeur-p < 0,001

La corrélation est positive et très signification avec coefficient de corrélation R=**0,994** et la droite de régression linéaire **y = 0,91\*x+0,85 avec p <0,001.**

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**



**Figure 35:** a= Graphe de Bland-Altman des patients avec hémoglobine A/C, b= droite de la régression linéaire des patients avec Hémoglobine A/C.

**Figure 35a :** ——— Valeur moyenne de différence (biais) entre D-10® et Minicap FP®.  
 ..... Limite de concordance supérieure et inférieure, IC (95%). ● Écarts.

**Figure 35a :** ——— droite de régression linéaire  
 ..... IC (95%)

L'évaluation de la concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec D-10 et Minicap par la réalisation du graphe de Bland-Altman a donné une moyenne de différence de -0,29% (IC95% - 1,05 à 0,47) (**figure 35a**) et la corrélation entre les deux méthodes a donné une droite de régression est  $y = 0,91*x+0,85$  avec un coefficient de corrélation **0,994** ( $p<0,001$ ) (**figure 35b**).

Le graphique de Bland-Altman montre qu'il existe une concordance des valeurs chez la population hétérozygote A/C avec le D-10® donnant des valeurs légèrement plus basses que le Minicap FP®. Selon la droite de régression, il existe bien une corrélation positive et significative les valeurs de l'HbA1c obtenue par les deux méthodes.

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

**Tableau XXI :** Description statistique des taux d'HbA1c (en %) obtenus parallèlement avec deux les méthodes (D-10® et Minicap FP®).

Population d'étude	Fréquence n (%)	Age (années)	NGSP (%)		Différences des valeurs (%) entre D-10 et Minicap FP®				Droite de corrélation		
			D-10®	Minicap FP®	Moyenne	p	IC 95%	Plage	R	p	Equation
Population totale	166	47,96±1,47	7,00±2,47	6,79±2,28	<b>0,21±0,56</b>	<0,001	[-0,88 ; 1,30]	<b>0,42</b>	0,974	< <b>0,001</b>	y = 0,9*x+0,47
Diabétiques (56,7 %)	94	51,77±1,31	8,22±2,65	7,81±2,58	<b>0,41±0,63</b>	<0,001	[-0,82 ; 1,64]	<b>0,82</b>	0,970	< <b>0,001</b>	y = 0,94*x+0,05
Non diabétiques (43,3 %)	72	43,01±1,54	5,39±0,55	5,44±0,41	<b>-0,04±0,31</b>	0,217	[-0,64 ; 0,56]	<b>-0,08</b>	0,836	< <b>0,001</b>	y = 0,61*x+2,14
Variants AS ou AC (39,2 %)	65	47,72±1,78	7,16±2,63	6,87±2,87	<b>0,29±0,86</b>	0,008	[2,44 ; -1,19]	<b>1,25</b>	0,945	< <b>0,001</b>	y = 0,85*x+0,76
Sans variants (0,8 %)	101	48,13±1,25	6,90±2,36	6,73±2,23	<b>0,16±0,21</b>	<0,001	[0,59 ; -0,27]	<b>0,32</b>	0,996	< <b>0,001</b>	y = 0,94*x+0,22
Variants diabétiques (24,1 %)	40	52,58±1,47	8,52±2,48	7,87±2,53	<b>0,65±0,89</b>	<0,001	[-1,13 ; 2,43]	<b>1,30</b>	0,937	< <b>0,001</b>	y = 0,96*x+0,27
Variants non diabétiques (15,1 %)	25	39,96±1,98	4,96±0,67	5,40±0,53	<b>-0,28±0,38</b>	<0,001	[-1,04 ; 0,46]	<b>-0,58</b>	0,824	< <b>0,001</b>	y = 0,65*x+2,01
NV diabétiques (32,5 %)	54	51,18±1,94	8,00±2,77	7,77±2,63	<b>0,23±0,22</b>	<0,001	[-0,20 ; 0,66]	<b>0,46</b>	0,994	< <b>0,001</b>	y = 0,95*x+0,17
NV non diabétiques (28,3 %)	47	44,63±1,24	5,61±0,32	5,53±0,29	<b>0,07±0,16</b>	0,002	[-0,24 ; 0,38]	<b>0,14</b>	0,856	< <b>0,001</b>	y = 0,77*x+1,21
Hb A/S (24,7 %)	41	54,00±1,56	7,60±2,24	6,97±2,08	<b>0,63±0,88</b>	<0,001	[-1,09 ; 2,35]	<b>1,26</b>	0,919	< <b>0,001</b>	y = 0,86*x+0,46
Hb A/C (14,5 %)	24	37,00±1,63	6,39±3,09	6,68±2,83	<b>-0,29±0,39</b>	0,001	[-0,24 ; 0,38]	<b>0,24</b>	0,994	< <b>0,001</b>	y = 0,91*x+0,85

NV= Population sans Variant d'hémoglobine

X= D-10® et Y= Minicap FP®.

La demande de l'hémoglobine glyquée durant notre étude, la valeur moyenne des différences de l'HbA1c obtenu par les méthodes sont nettement plus important chez les diabétiques.

La moyenne de différence indique le diabète influe la variation de l'HbA1c ainsi que le trait drépanocytaire.

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

La méthode HPLC D-10® donne les valeurs légèrement plus élevées que la méthode électrophorétique Minicap FP® chez les patients totaux, les diabétiques, les variants diabétiques, les non variants diabétiques et les patients hétérozygote A/S.

La valeur moyenne de différence chez la population totale est de 0,21

La valeur moyenne de différence chez la population totale diabétique est de 0,41 et pour population totale non diabétique est de -0,04.

La valeur moyenne de différence chez la population avec variant d'Hb est de 0,29 et pour population sans variant d'Hb est de 0,16.

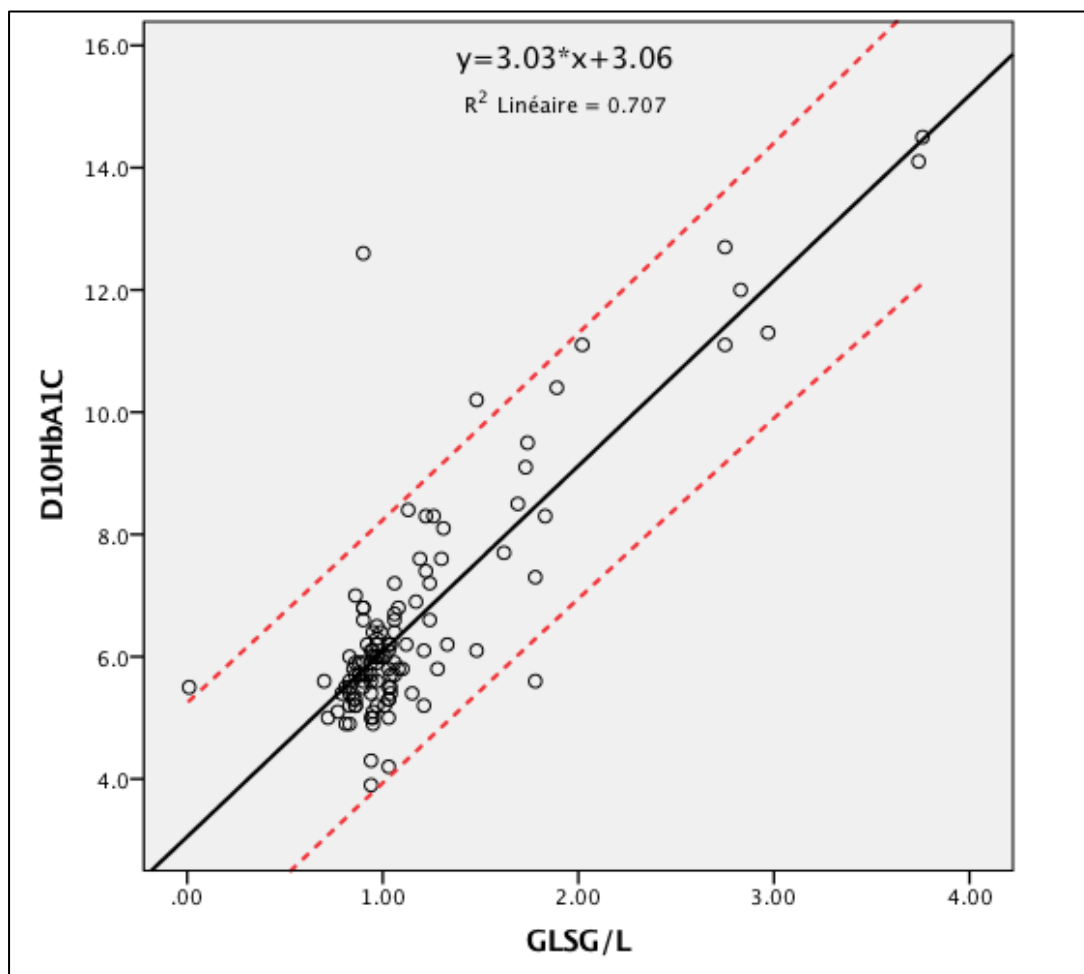
La valeur moyenne de différence chez les variants diabétiques d'hémoglobine est de 0,65 et pour la population variant non diabétique est de -0,28.

La valeur moyenne de différence chez les variants hétérozygotes A/S est de 0,63 et pour les variants hétérozygotes A/C est de -0,29.

Pour assurer la transférabilité des résultats fournis par les deux analyseurs, il est nécessaire d'appliquer l'équation de régression comme le recommandent l'IFCC et le NGSP, en vue de ne pas rendre un résultat pathologique à un patient sain et modifier ainsi la décision clinique et la prise en charge thérapeutique que nous avons fait plus haut.

### ❖ Corrélation entre l'hémoglobine glyquée et glycémie à jeun.

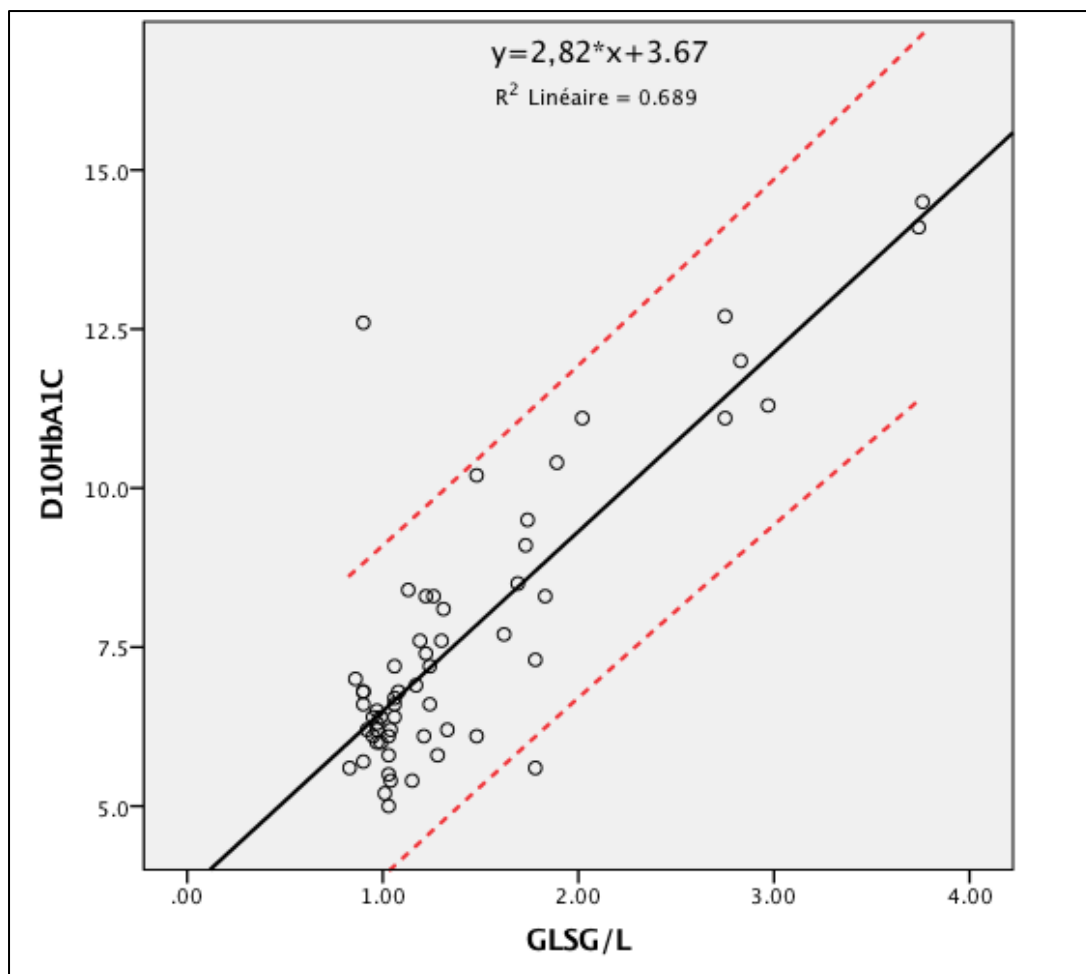
Les patients chez lesquels la glycémie à jeun a été dosée étaient au nombre de 114. La valeur moyenne était de  $1,16 \pm 0,55$ .



**Figure 36:** la corrélation entre l'HbA1c et la glycémie de la population totale sur D-10

La courbe de régression de nos résultats obtenus chez la population diabétique montre l'existence d'une corrélation positive et significative entre les taux d'HbA1c et de glycémie avec coefficient de corrélations de  $R = 0,840$  et la droite de régression linéaire est  $y = 3,03 * x + 3,06$





**Figure 37:** la corrélation entre l'HbA1c et de la glycémie de la population totale diabétique sur D-10.

La courbe de régression de nos résultats obtenus chez la population diabétique montre l'existence d'une corrélation positive et significative entre les taux d'HbA1c et de glycémie avec coefficient de corrélations de  $R = 0,830$  et la droite de régression linéaire est  $y = 2,82 * x + 3,67$ .

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

Dans notre étude nous avons colligé 4 profils homozygotes dont 2 profils pour C/C et 2 profils pour S/S ainsi que 7 de profils hétérozygotes composites S/C.

Ces profils ne possédant pas d'Hb normal A, ne peuvent pas donner d'HbA1c sur les deux systèmes.

**Tableau XXII :** Caractéristiques des profils homozygotes (S/S C/C) et hétérozygotes composites(S/C)

ID	Sexe	Age	Variantes	Minicap®	D-10® en (%)		Diabète
				HbA1c (%)	HbA1c	A0	
<b>F1</b>	F	46	CC	<b>ND</b>	<b>ND</b>	1,4	<b>O</b>
<b>F2</b>	M	4	SC	<b>ND</b>	<b>ND</b>	ND	<b>N</b>
<b>F3</b>	F	30	CC	<b>ND</b>	<b>ND</b>	ND	<b>N</b>
<b>F4</b>	M	28	SC	<b>ND</b>	<b>17,8</b>	2,7	<b>N</b>
<b>F5</b>	M	9	SC	<b>ND</b>	<b>ND</b>	ND	<b>N</b>
<b>F6</b>	F	10	SS	<b>ND</b>	<b>ND</b>	ND	<b>N</b>
<b>F7</b>	M	24	SC	<b>ND</b>	<b>41,7</b>	ND	<b>N</b>
<b>F8</b>	M	42	SC	<b>ND</b>	<b>25,6</b>	ND	<b>O</b>
<b>F9</b>	M	47	SC	<b>ND</b>	<b>14</b>	ND	<b>N</b>
<b>F9</b>	F	10	SS	<b>ND</b>	<b>8,1</b>	5,8	<b>N</b>
<b>F11</b>	F	5	SC	<b>ND</b>	<b>18,2</b>	2,5	<b>N</b>

**O** : diabétique, **N** : non diabétique

F : sexe Féminin, M : sexe : Masculin

D'après le tableau XXII, le Minicap FP® ne donne pas des valeurs de l'HbA1c

Trois patients diabétiques âgés de 42, 46 et 46 ans avec homozygote ou hétérozygote (C/C, C/C et S/C). Ces patients n'ont pas d'hémoglobine A, ne peuvent pas donner d'HbA1c sur les deux systèmes.

## 6. Discussion

Le diabète est une maladie aggravant l'invalidité, provoquant la diminution de l'espérance de vie, et engendrant de forts coûts médicaux. L'HbA1c joue un rôle important, non seulement dans le suivi de l'équilibre du diabète, mais aussi dans la prévention des complications du diabète [68].

### 6.1. La caractéristique de la population

#### • Population totale et la population diabétique

Nos résultats montrent qu'il y a une prédominance féminine avec 52,41% et un sexe ratio H/F = 0,91 chez les patients globaux.

Les patients âgés de 40-60 ans sont plus fréquents avec un pourcentage de 52%, et une moyenne d'âge de  $47,98 \pm 14$ . La médiane était de 47 ans et des extrêmes de 2 et 88 ans chez les patients totale.

Pour la population diabétique, les femmes étaient toujours majoritaires avec 54,26% et un sexe ratio H/F = 0,84 sur un effectif de 94 patients. Cette dominance avait été rapportée par plusieurs études, Sylla B et al. en 2014 au Mali [69] qui a trouvé 57,8% pour les femmes avec un sexe ratio H/F=0,73, YASSINE B.A. TAYA et al. en 2020 en Algérie [70], ont trouvé respectivement 58,80% des femmes.

L'âge moyen de nos patients était de  $51,77 \pm 13,14$ , la tranche d'âge la plus fréquentent était 40-60 ans qui représentent 52% chez les patients diabétiques. Comparativement à notre résultat, Cédric et al. en 2011 au Mali [71], ont montré que les patients âgés d'au moins 44 ans représentaient 73,8%. Leur moyenne d'âge était de  $50,68 \pm 5$  ans et des extrêmes de 20ans et 71 ans. Dans notre étude, on n'a pas séparé les patients diabétiques de type 1 et de type 2, selon l'OMS, le diabète de type 1 peut survenir à tout moment, mais les symptômes apparaissent principalement chez les enfants. Le diabète de type 2 n'est le plus souvent diagnostiqué que bien plus tard, après 40 ans dans 80% des cas [13].

Dans notre études les diabétiques étaient majoritaire avec 54,24%. Cette dominance avait été rapportée par Belkacem S. et al. [72] en 2020 en Algérie ont trouvés 43% des diabétiques.

#### • Population anormale (variants S ou C) et étiologie des variants de l'hémoglobine

Dans notre étude les femmes étaient majoritaires et représentaient 50,77% chez les patients avec un variant d'hémoglobine, avec un sexe ration H/F = 0,97 sur une population de 65 patients hétérozygote S ou C. Contrairement à notre résultat, Keita et al. en 2006 au Mali [72], ont trouvé

54% pour des hommes et 46% pour les femmes sur une étude d'impact de la supplémentation martiale chez des enfants d'âge scolaire anémiques et porteurs d'hémoglobinopathies S et C au Mali sur 246 patients collectés et Thiero et al. en 2020 au Mali, [73] ont trouvé 57% de sexe masculin contre 43% de sexe féminin.

Les variants d'hémoglobine (S, C, D, et E), sont décrits par le fabricant de D-10® et Minicap FP® comme n'interférant pas sur le dosage de l'HbA1c. Alors qu'en pratique, toute situation entraînant une modification de la durée de vie des hématies telles que : l'hémolyse, la destruction prématurée des érythrocytes les plus âgés qui contiennent les formes d'hémoglobine les plus intensément glyquées, impactent les valeurs de dosage d'HbA1c.

Dans notre étude, nous avons trouvés des formes de variants d'hémoglobines S et C. La forme hétérozygote A/S était majoritaire avec 22,03% et A/C qui représentait 12,99% sur un effectif de 166 échantillons collectés. Il y a une prédominance de l'hémoglobine S parmi les variants dans notre étude. Comparativement à notre résultat, Bouchrata et al. en 2018 au Maroc [30], ont trouvé 241 cas de variants identifiés (soit 91.3%) qui étaient de type S ou C sur 79066 patients. A l'échelle mondiale, la prévalence des porteurs sains du trait drépanocytaire (A/S) est d'environ 2% [75].

## **6.2. Analyse biologique.**

L'utilisation de l'HbA1c pour dépister et diagnostiquer le diabète sucré s'est largement développée, conduisant à la suggestion de l'HbA1c comme outil diagnostique en conjonction avec le profil du patient, par l'American Diabètes Association et d'autres grandes sociétés savantes [76].

Le dosage de l'HbA1c 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 [76].

Dans notre étude, le D-10® avec sa méthode HPLC était la méthode de référence comparée à la méthode électrophorétique du Minicap FP®.

### **➤ Analyse multivariée**

Une analyse multivariée a montré que seul le diabète reste indépendamment lié aux variations du taux d'HbA1c. En effet, sur le D-10® en ajustant sur le diabète, les taux d'HbA1c augmente de 2,867% chez des patients du même âge, du même sexe, ayant le même variant d'hémoglobine et cette augmentation est statistiquement significative ( $p < 0,001$ ).

Un bon "contrôle" du diabète. C'est-à-dire le maintien de glycémies proches de la zone normale, peut empêcher ou, en tout cas, freiner radicalement l'installation et l'évolution de ces complications potentiellement invalidantes. [77].

Il est indispensable que les sujets diabétiques s'efforcent d'obtenir un contrôle glycémique optimum depuis le début de la maladie, ce qui se juge "objectivement" par les dosages bimestriels de l'hémoglobine glycosylée ou glyquée (HbA1c) [77].

L'hémoglobinoopathie (hétérozygotie AS ou AC) a aussi été ajustée malgré son augmentation non significative de 0,035% ( $p=0,914$ ). Le modèle de régression multivariée explique 32,6% des variations de dosage de l'HbA1c sur le D-10® et 27,1 % sur le Minicap FP® avec la fonction de prédiction  $Y$  (D-10® HbA1c) = 2,674+0,008 (sexe)-0,005 (Age)+0,035 (hétérozygote AS ou AC) +2,867 (diabétique) et  $Y$  (Minicap FP® HbA1c) = 3,527-0,008 (sexe)-0,011 (âge)-0,068 (hétérozygote AS ou AC) +2,472 (diabétique) (tableau IX).

#### ➤ Population totale

Dans notre étude, nous avons trouvé une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenus parallèlement avec les deux méthodes qui étaient respectivement de D-10® = 7,00±2,47 et de Minicap FP®=6,79±2,28 pour la population totale. La valeur moyenne de différence était de 0,21±0,56 ( $p<0,001$ ). Le test-t sur série appariée est un test très sensible pouvant mettre en évidence des différences très faibles, statistiquement significatives, mais qui n'ont pas d'impact sur le plan clinique [78]. En effet, lors du suivi des patients diabétiques, une différence absolue de 0,5% (5 mmol/mol) entre deux échantillons de patient est considérée comme un changement significatif de l'équilibre glycémique sur le plan clinique [5]. Dans notre étude, l'intervalle de confiance (IC) dans lequel se trouve 95% des écarts entre les deux techniques s'étend de -0,88 à 1,30% soit une plage de 0,42% ce qui affirme l'absence d'impact clinique dans notre étude. La valeur de D-10® était légèrement plus élevée par rapport à Minicap FP®, mais les deux méthodes sont corrélées avec un coefficient de corrélation  $R= 0,974$  (tableau X). La corrélation de notre étude entre les deux méthodes réalisées a donné une droite de régression dont l'équation  $y = 0,9*x+0,47$  avec  $p<0,001$ .

Ces résultats diffèrent de celles trouvées par Kesso Barry et al. en 2019 au Sénégal [5], qui ont eu des moyennes plus élevées avec une absence de différence significative ainsi qu'un IC plus important (de -0,08 à 1,01% soit une plage de 0,93%). Ces différences peuvent s'expliquer par les

phénomènes d'intégration des pics et les modalités d'étalonnage des systèmes qui leur ai propre pouvant conduire à des résultats légèrement différents et ce malgré les mêmes automates utilisés dans les deux études. Aussi, de par l'hétérogénéité de notre population avec des patients diabétiques (56,7%) et non diabétiques (43,3%) ainsi qu'une forte prévalence de patients possédant des hémoglobines anormales S et C (39,2%) qui a été l'une des limites de l'étude de Kesso Barry et al. en 2019 au Sénégal [5].

➤ **Population totale diabétique et non diabétique**

Dans notre étude chez les diabétiques, nous avons trouvé une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenus parallèlement avec les deux méthodes qui étaient respectivement de D-10® =  $8,22 \pm 2,65$  et de Minicap FP® =  $7,81 \pm 2,58$  chez les patients diabétiques. La valeur moyenne de différence était de  $0,41 \pm 0,63$ . Le D-10® donnait une valeur légèrement plus élevée que du Minicap FP® (tableau XI), mais les deux méthodes sont corrélées avec  $R = 0,970$ . La corrélation de notre étude entre les deux méthodes réalisées a donné une droite de régression dont l'équation  $y = 0,94 * x + 0,05$  ( $p < 0,001$ ).

La concordance entre les résultats obtenus parallèlement avec les deux méthodes par la réalisation du graphique selon Bland et Altman nous a donné un biais de 0,41% (IC95% : - 0,82 à 1,64 %).

Dans notre étude chez les non diabétique, nous avons trouvé une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenus parallèlement avec les deux méthodes qui étaient respectivement de D-10® =  $5,39 \pm 0,56$  et de Minicap FP® =  $5,44 \pm 0,41$  chez les patients non diabétiques. La valeur moyenne de différence  $-0,05 \pm 0,31$  et D-10® donne des valeurs légèrement plus basses que sur le Minicap FP® (tableau XII). Mais les deux méthodes sont corrélées avec  $R = 0,830$ . La corrélation de notre étude entre les deux méthodes réalisées a donné une droite de régression dont l'équation  $y = 0,61 * x + 2,14$  avec  $p < 0,001$ .

Comparativement à notre étude, une étude issue de 21 centres de diabétologie pédiatrique de 17 pays, ont trouvé une moyenne des patients normaux : 5,4 % ; écarts : 4,4-6,3% [77].

Chez les diabétiques et les non diabétiques nous avons observé une très bonne concordance entre les résultats avec une corrélation significative ( $p < 0,001$ ) (**figure 26b et 27b**). Cependant, une différence significative a été trouvé sur les écarts entre les valeurs moyennes chez les diabétiques (biais = 0,41% ;  $p < 0,001$ ) alors qu'aucune significativité n'a été observée chez les non diabétiques (biais = -0,04 ;  $p = 0,217$ ).

Aussi, la similitude entre les graphiques de Bland et Altman chez les diabétiques (**figure 26a**) et la population générale (**figure 27b**) permet d'affirmer l'influence du diabète sur la variabilité des dosages parallèles sur les deux automates. Cette augmentation du biais chez les diabétiques peut être expliquée par la différence de technique (résolution de séparation des protéines et différence de calibration) mais aussi par les possibilités de variations intra et inter-individuelles.

Ces variabilités inter-individuelles de glycation s'expliquent par divers facteurs comme la perméabilité de la membrane érythrocytaire au glucose, le pH ainsi que le taux de 2,3-diphosphoglycérate intra-érythrocytaire qui joue un rôle important dans le processus de glycation [63].

À l'égard à toutes ces variations et malgré les efforts de standardisation, il est préférable pour une meilleure comparaison des résultats successifs, d'effectuer le dosage de l'HbA1c dans le même laboratoire et surtout avec la même méthode ou d'avertir le clinicien des différences entre les méthodes utilisées.

➤ **Population avec variant d'hémoglobine (hémoglobine S et C)**

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenus parallèlement avec les deux méthodes chez les patients avec variant d'Hb qui étaient respectivement de D-10® =  $7,16 \pm 2,63$  et de Minicap FP® =  $6,87 \pm 2,87$ . La valeur moyenne de différence est de  $0,29 \pm 0,86$  et D-10® donne une valeur légèrement plus élevée qu'à Minicap FP®. Mais les deux méthodes sont corrélées avec coefficient de corrélation  $R = 0,945$  (tableau XIII). La corrélation de notre étude entre les deux méthodes réalisées a donné une droite de régression dont l'équation  $y = 0,85 * x + 0,76$  avec  $p < 0,001$ .

Dans notre étude, nous avons trouvé une différence significative entre les valeurs moyennes d'HbA1c obtenus parallèlement avec les deux méthodes chez les patients sans variant d'Hb qui étaient respectivement de D-10® =  $6,90 \pm 2,36$  et de Minicap FP® =  $6,73 \pm 2,23$ . La valeur moyenne de différence est de  $0,16 \pm 0,21$  et D-10® donne une valeur légèrement plus basse qu'à Minicap FP®. Mais les deux méthodes sont corrélées avec coefficient de corrélation  $R = 0,996$  (tableau XIV). La corrélation de notre étude entre les deux méthodes réalisées a donné une droite de régression dont l'équation  $y = 0,94 * x + 0,22$  avec  $p < 0,001$ .

Nous avons trouvé une augmentation du biais et un IC très important chez les patients avec un variant d'hémoglobine (biais =  $0,29\%$  ;  $p = 0,008$ ) par rapport au groupe sans variante S ou C

(biais=0,16 ;  $p<0,001$ ) (tableau XXI). Par ailleurs, l'absence de diabète a entraîné une forte diminution du biais et de l'IC. La présence des variants S et C n'a pas empêché l'intégration des pics nécessaire au calcul du taux d'HbA1c. Ce constat conforte l'analyse multivariée menée, où la présence d'un variant d'hémoglobine n'influence pas significativement le taux d'HbA1c. Nos résultats concordent avec ceux publiés par le NGSP [79] où l'interférence des hémoglobines anormales S, C, E ou D dans leur forme hétérozygotes et une hémoglobine E élevée ont été étudiées selon les techniques analytiques les plus couramment utilisées en routine. Selon cette étude, il n'existe aucune interférence des variants S et C pour le dosage de l'HbA1c avec les méthodes Biorad D-10® et Sebia Capillarys 2 FP® qui utilise la même méthode que le Minicap FP®. Cependant, des résultats très hétérogènes avec des écarts pouvant atteindre 1,5% entre deux techniques de chromatographie liquide haute pression, ont été trouvés par Jaisson et al. en 2011 en France [80], pour les variants C, S et D décrits par les fabricants comme n'interférant pas sur le dosage. Par ailleurs, on note toujours une différence statistiquement significative ( $p<0,05$ ) entre les valeurs moyennes des deux techniques dans les deux groupes (avec et sans variants d'hémoglobines), relevant des différences de calibration et d'intégration des pics, comme énoncé plus haut. Malgré la résolution de la technique, la présence d'hémoglobines anormales reste délicate à interpréter, du fait du processus de glycation des formes mutées mal connu et de la modification de la durée de vie des hématies contenant ces hémoglobines. Quelle que soit la méthode utilisée, en présence de mutants de l'hémoglobine, la valeur obtenue de l'HbA1c ne correspond qu'à la fraction glyquée de l'HbA et ne tient pas compte de la glycation des autres formes mutées. Elle ne donne pas un reflet réel de l'équilibre du patient diabétique [81].

En effet, certaines mutations peuvent causer une amputation de la durée de vie érythrocytaire, conduisant à une sous-estimation du taux d'HbA1c. C'est le cas, par exemple, des mutations HbS ou HbC à l'état homozygote, ainsi que de la présence des deux mutations simultanément (hétérozygote composite HbSC). Il faudra, dès lors, être prudent lors de l'interprétation des résultats du dosage de l'HbA1c chez ces patients. Les sujets porteurs d'une des 4 mutations HbC, HbD, HbE ou HbS à l'état hétérozygote seront, en général, asymptomatiques et ne présenteront pas de problème hématologique. Dès lors, le suivi par dosage de l'HbA1c peut être réalisé sans danger chez ces patients à condition de choisir une méthode ne donnant pas de réaction croisée avec le variant dont ils sont porteurs [63].



L'altération potentielle du phénomène de glycation en raison d'une modification de la structure et/ou charge de la protéine d'hémoglobine. On retrouve, par exemple, ce problème chez les patients présentant un taux accru d'hémoglobine fœtale (HbF). En effet, cette dernière forme est constituée de deux chaînes  $\gamma$  à la place des deux chaînes  $\beta$  de l'HbA ; or, la glycation de cette chaîne  $\gamma$  semble être plus lente que pour les chaînes  $\beta$ . Dès lors, comme ces dernières représentent 60% du phénomène de glycation, il existe un risque de sous-estimer l'importance du phénomène de glycation si une méthode de dosage non spécifique est utilisée, comme celle de la chromatographie d'affinité mesurant le taux de glycation total et non uniquement celui de l'HbA. Une autre situation illustrant cette interférence potentielle est celle d'une patiente porteuse de la mutation HbS sur un de ses allèles et de la mutation Hb Raleigh sur l'autre allèle. Lorsque l'on utilisait la méthode immunochimique, l'anticorps était capable de reconnaître l'HbS glyquée qui était donc prise en compte, mais l'Hb Raleigh ne pouvant être glyquée, le rapport hémoglobine/hémoglobine glyquée était modifié, conduisant à une valeur anormalement basse [63].

Une éventuelle interférence directe avec la méthode. Ces interférences sont variables en fonction des méthodes utilisées, et il est important de les connaître afin de pouvoir choisir la méthode la plus favorable pour chaque situation. Les méthodes de chromatographie d'affinité, comme dit précédemment, ne sont pas spécifiques. Dès lors, elles seront moins affectées par la présence d'un variant que les méthodes plus spécifiques, à condition que le phénomène de glycation et la durée de vie érythrocytaire ne soient pas altérés. Concernant les méthodes immunochimiques, l'impact de la présence d'un variant sur la détermination du taux d'HbA1c varie en fonction du type de mutation. En effet, les anticorps utilisés réagissent avec la valine N-terminale glyquée. Dès lors, les variants présentant une mutation dans cette région « clé » seront sources d'erreurs de mesure. C'est le cas des variants HbS et HbC, mais également de l'HbF. Par contre, l'HbE et l'HbD Punjab présentent une mutation à distance de cette zone et n'altèrent donc pas les mesures par immunochimie en général. Pour la chromatographie par échanges d'ions, le problème se pose lorsque le variant (ou sa forme glyquée) ne peut être séparé de l'HbA ou de l'HbA1c. En effet, tout variant co-éluant avec l'HbA fera chuter le rapport HbA1c/HbA, et tout variant co-éluant avec l'HbA1c fera augmenter le rapport HbA1c/HbA. On retrouvait ce problème auparavant avec les patients présentant un taux accru d'HbF par exemple : l'HbFco-éluait avec l'HbA1c, ce qui entraînait un taux anormalement élevé d'hémoglobine glyquée [63].

Il est donc préférable de recourir pour les patients avec une hémoglobine anormale homozygote ou hétérozygote composite (S ou C) à un dosage de substitution comme celui des fructosamines.

➤ **Corrélation entre l'HbA1c et la glycémie moyenne**

La courbe de régression de nos résultats obtenus chez la population diabétique montre l'existence d'une corrélation positive et significative entre les taux d'HbA1c et de glycémie avec respectivement des coefficients de corrélations de  $R= 0.830$  pour D-10®.

L'hémoglobine glyquée a vu son dosage standardisé et maintenant fiable. Cependant l'inconvénient du dosage de l'HbA1c c'est qu'il n'est pas praticable partout. Il faut disposer d'un appareil spécial. L'hémoglobine glyquée est donc un bon indicateur de la présence du glucose dans notre organisme. Il témoigne de certains mécanismes qui peuvent conduire à des complications oculaires, rénales, vasculaires ou neurologiques [9].

La valeur de l'HbA1c est « en-dessous de 7%, c'est un bon résultat, entre 7% et 8%, c'est moyen, entre 8% et 10%, ce n'est pas bon et au-delà de 10, c'est catastrophique. » Donc, l'hémoglobine glyquée ne rend pas compte des pics d'hyperglycémie enregistrés les jours précédents. L'hémoglobine glyquée permet d'évaluer le risque d'exposition du patient aux complications [9].

Notre résultat est similaire à celui obtenu par Khadidia et al. en 2017 en Algérie [82], qui ont trouvé un coefficient de corrélation ( $R=0,48$ ) en confirmant l'existence d'une corrélation entre l'HbA1c et la glycémie en jeun. Et aussi, une étude a été faite par HOUNKPATIN et al. en 2015 au Cotonou [83], chez les diabétiques de type 2 ont trouvé  $R= 0, 63$ .

De même en Algérie 2020, TAYAR et al. en 2020 en Algérie [70], ont trouvé l'existence d'une corrélation positive entre la glycémie et l'HbA1c chez les diabétiques ( $R =0,1565$ ). Ces résultats montrent et ils ont que la détermination de glycémie est insuffisante à elle seule pour établir le statut du diabétique et nécessite la détermination d'hémoglobine glyquée pour connaître l'évolution de diabète.

➤ **Les homozygote et hétérozygotes (S/C, S/S, C/C)**

Le raccourcissement de la demi-vie des globules est d'autant plus important que le taux d'HbA1c devienne ininterprétable à cause de l'absence d'Hb normal A. L'espérance de vie dépend de la prise en charge et est d'autant plus élevée que le pays est développé. Aux Etats-Unis, elle est de 40-50 ans pour les malades SS et de 65 ans pour les SC [84].

La valeur sémiologique de l'HbA1c est conditionnée, sur le plan de l'hémoglobine, par une durée de vie normale des globules rouges (120 jours) et une synthèse normale de l'hémoglobine (97 à 99% d'HbA). Si l'un de ces paramètres est modifié, l'équilibre entre réactions de synthèse/dégradation et réactions de glycation non enzymatique est perturbé. L'interprétation du dosage d'HbA1c devient au minimum délicat et au maximum impossible [85].

Dans ces cas précis il n'est pas possible de sortir des taux d'HbA1c.

Les valeurs d'HbA1c trouvées dans le cas du D-10 pour ces profils peuvent s'expliquer par l'éluion de ces variants au même niveau que l'HbA1c. Ceci entraîne la formation de faux pics d'HbA1c pouvant induire en erreur.

### • Limite de l'étude

Les difficultés dans la réalisation de notre travail ont été :

- Absence de renseignements cliniques : Nous avons été confrontés à une indisponibilité de données cliniques qui nous permettraient d'approfondir notre analyse. Il serait donc souhaitable de sensibiliser les cliniciens sur l'importance des renseignements cliniques et d'améliorer l'outil de l'archivage des données.
- Beaucoup de paramètre qui affecte le dosage de l'hémoglobine glyquée n'ont pas été demandés par les cliniciens. La non disponibilité des dosages de : bilirubines, triglycérides, taux d'hémoglobine, créatinémie n'a pas permis de mieux discuter nos résultats.

## **7. Conclusion et recommandations**

### **7.1. Conclusion**

Le D-10® BIO-RAD et Minicap® FLEX PERCING présentent l'avantage de fournir des résultats exploitables même en présence des variants d'hémoglobine.

Ce sont des appareils fiable et facile à l'utiliser en répondant aux exigences des critères de certification NGSP que dispose beaucoup de laboratoire.

Dans notre étude, le taux de l'hémoglobine glyquée donné par les deux méthodes, nous a donné une bonne concordance et excellente corrélation significative entre les valeurs de dosage de l'HbA1c chez les diabétiques, chez les non diabétiques et même chez les patients avec variants d'hémoglobine S et C.

Afin d'éviter un résultat erroné, il est nécessaire de garder la même technique de dosage l'HbA1c et le même laboratoire pour une bonne surveillance du diabète.

## 7.2. Recommandations

### Aux biologistes

- ❖ Être attentifs à la détection de l'hémoglobinopathie en dosant l'HbA1c ;
- ❖ Accompagner les cliniciens l'interprétation des résultats de l'HbA1c surtout en présence de variant d'hémoglobine ;
- ❖ Signaler sur le résultat, la méthode utilisée pour dosage l'HbA1c,
- ❖ Informer le clinicien en cas de changement de technique.

### Aux cliniciens

- ❖ Toujours accompagner les renseignements cliniques dans le bilan du diabète ;
- ❖ Signaler le type d'hémoglobine dans le renseignement clinique chez les variants d'hémoglobine ;
- ❖ De prescrire le dosage de l'électrophorèse d'hémoglobine chez tous les patients diabétiques ;
- ❖ Exiger une technique répondant aux exigences du NGSP et de l'IFCC : HPLC ou électrophorèse capillaire ;
- ❖ Prendre en compte le dosage de l'HbA1c pour le diagnostic du diabète mais aussi pour son dépistage et celui du prédiabète ;
- ❖ Prescrire le dosage l'HbA1c chaque 3 mois pour la prise en charge des patients diabétiques;
- ❖ Donner les renseignements cliniques de façon large et explicite y compris le traitement en cours pour une bonne interprétation des résultats.

### Aux personnes à risques

- ❖ Fréquenter le même laboratoire, pour éviter les variations de résultats
- ❖ Respecter le délai prescrit par le diabétologue pour le dosage l'HbA1c ;

### A l'autorité de l'état et ses partenaires

- ❖ Subventionner l'analyse de l'hémoglobine glyquée et l'électrophorèse de l'hémoglobine et aussi les matériels de dosage ;
- ❖ Mettre en place un programme de sensibilisation sur l'importance du dosage de l'hémoglobine glyquée et l'électrophorèse de l'hémoglobine ;

- ❖ De doter les services de santé en personnel qualifié pour la prise en charge des personnes diabétiques, sur toute l'étendue du territoire national ;
- ❖ D'améliorer le plateau technique des services de diabétologie, pour la prise en charge adéquate des personnes diabétiques ;
- ❖ D'améliorer le plateau technique des laboratoires, pour faciliter l'accès aux analyses médicales pour toute la population malienne ;

## **8. Perspectives**

- ❖ Ce travail doit continuer en incluant plus de donner pour les variants de l'hémoglobine pour confirmer la concordance des résultats de l'hémoglobine glyquée obtenu entre les techniques ;
- ❖ Etablir les valeurs usuelles locales de l'hémoglobine glyquée

## 9. Références

1. Thom CS, Dickson CF, Gell DA, Weiss MJ. Hemoglobin Variants: Biochemical Properties and Clinical Correlates. Cold Spring Harb Perspect Med. 3 janv 2013 ;3(3) : a011858.
2. Habi MA. Dosage de l'hémoglobine glyquée dans une population de Tlemcen : étude transversale, Mémoire, Tlemcen-Algérie ; 2016, 56p
3. Nonnotte AC. Discordance entre HbA1c et résultat de l'autosurveillance glycémique. 2017. ELSEVIER. Disponible sur <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/medecine/discordance-entre-hba1c-et-resultat-de-lautosurveillance-glycemique>.
4. Gariani K, Tran C, et Philippe J. Hémoglobine glyquée : nouvel outil de dépistage, Rev Med Suisse. 2011; 7 :1238 42.
5. Kesso Barry N, Djite M, Kandji P, Ndour EH, Gueye-Tall F, Hader K, et al. Évaluation de la concordance des valeurs d'hémoglobine glyquée entre les automates de biochimie D-10® (Biorad) et Minicap Flex piercing® (Sebia). Revue Francophone des Laboratoires. 1 nov 2019 ;19 23.
6. Darmon P. À la hausse ou à la baisse HbA1c : attention aux pièges. Diabétologie en Médecine Générale. 14 avril 2014 ;11(9318).
7. Bouzid K, Bahlous A, Hamdane Y, Chelbi A, Mohsni A, Zerelli L, et al. Dosage de l'hémoglobine glyquée dans une population tunisienne : valeurs de référence chez les non diabétiques et corrélations avec les glycémies à jeun chez les diabétiques. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée 1 févr 2011 ;26(1) :19 22.
8. Galacteros F. Dosage de l'hémoglobine A1C et hémoglobinopathies : problèmes posés et conduite à tenir. Annales de Biologie Clinique. 2000 ; 58(4) :425 9.
9. Goldenberg R, et Punthakee Z. Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. Canadian Journal of Diabetes. 1 oct 2013 ;37 : S369-72.
10. OMS. Journée mondiale du diabète, Nations Unies, 14 novembre 2021. Disponible sur : <https://www.un.org/fr/observances/diabetes-day>.
11. Agence Mondiale Antidopage. Diabète sucré. Vol. 4. 2017. Disponible sur <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/wada-tpg-diabetes-mellitus-v4-fr.pdf>
12. Droulin P, BLICKLE J.F, CHARBONEL B, al. Diagnostic et classification du diabète sucre les nouveaux critères. Diabetes & Metabolism. 1999 ;25(1) :72-83.

13. Karuranga S, Malanda, B, Saeedi, P, et Salpea, P. L'ATLAS du diabète de la FID. 9ème Édition. 2019.  
Disponible sur : [https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133352\\_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf)
14. Eid C. les différents types de diabètes de. Diabète 66 -Service endocrinologie du centre hospitalier de perpignan. ENDOC66 éd. 3 sept 2020 ;6.
15. Duchemann C. Le diabète. ORS OCEAN INDIEN. DD28, 2020. Disponible sur : [https://www.ors-reunion.fr/IMG/pdf/orsoi\\_ddoc\\_diabete\\_2020.pdf](https://www.ors-reunion.fr/IMG/pdf/orsoi_ddoc_diabete_2020.pdf).
16. Karuranga S, Fernandes, J.D.R, Huang Y, et Malanda, B. Atlas du diabete de la FID huitième édition 2017. 8ème Édition. 2017. 150p. Disponible sur : <https://www.federationdesdiabetiques.org/public/content/1/doc/idf-atlas-8e-fr.pdf>.
17. Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. Canadian Journal of Diabetes. avr 2018;42:S10-5.
18. HAS. Prévention et dépistage du diabète de type 2 et des maladies liées au diabète. 2014.  
Disponible sur : [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/referenciel\\_pratiques\\_diabete.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/referenciel_pratiques_diabete.pdf)
19. CEEDMM. Complications dégénératives et métaboliques du diabète. 2010. Disponible sur : <http://campus.cerimes.fr/endocrinologie/enseignement/item233c/site/html/cours.pdf>.
20. CEED. Diabètes et complications. 2021. Consulté le 28/09/2021. Disponible sur : <http://ceed-diabete.org/fr/le-diabete/diabete-et-complications/>
21. Wajcman, H. Haemoglobins: structure and function. EMC-Hématologie. 2005 ;2(3) :145-57.
22. Couque N, Trawinski E et Elion J. Génétique des maladies de l'hémoglobine. Rev Francoph Lab. 1 avr 2016 ;2016(481) :49-60.
23. Baudin B. Les hémoglobines normales et pathologiques. Rev Francoph Lab. avr 2016 ;2016(481) :27-34.
24. Couque N. et al. Génétique des maladies de l'hémoglobine. Revue Francophone Laboratoire. 1 avril 2016 ;2016(481) :49-60.
25. Wajcman H, Boigne JM, Labie D, Seringe P et Spagnier J. Hemoglobine d los angeles mise en évidence de l'anomalie de structure par une amélioration des méthodes. Biochim Biophys Acta BBA - Protein Struct. Août 1969 ;188(1) :55-8.



26. Loiseau E. Biomimetic approach of sickle cell vaso-occlusion: production of vesicles and microfluidics. Thesis, PhD, France, 2011 ; N°2815. 159p
27. Procopiou, M. Hémoglobine glyquée : mise au point et nouveautés. Rev Médicale Suisse. 2006 ;68(6) : 1660-9379
28. Bouchrata SM. Détection des variants de l'hémoglobine lors du dosage de l'hba1c par HPLC à échange cationique. Expérience du laboratoire de biochimie – toxicologie de l'hmmiv de Rabat. Thèse, Pharmacie, Maroc, 2018 ; 105.
29. Zendjabil M. L'hémoglobine glyquée : indication, interprétation et limites. Ann Pharm Fr. 1 sept 2015 ;73(5) :336-9.
30. Bourgeois S, Kessler D, Marzouk S, Deom A, et Rossier M. Glucose, hémoglobine glyquée et fructosamine. 2018. Disponible sur : [http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF\\_FR/FT-Glucose-HbA1c-Fructosamine.pdf](http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Glucose-HbA1c-Fructosamine.pdf).
31. Wautier M-P, Wautier F.J, et Tessier J.-L. Wautier. Les produits de glycation avancée : un risque pour la santé humaine. Annales Pharmaceutiques Françaises. Novembre 2014 ; 72(6) :400-8.
32. Hay-Lombardie A, Kamel S, et Bigot-Corbel E. Insights on glycated albumin. Ann Biol Clin. Août 2019 ;77(4) :407-14.
33. Camus, G. Glycosylation et glycation : quelles différences. Publié dans Planet Vie, 2014. Consulté le 30/06/2021. Disponible sur : <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/molecules/glycosylation-et-glycation-queelles-differences>.
34. Frédérick M. L'électrophorèse. Publié dans Biotechnologie, 2008. Consulté le 01/07/2021. Disponible sur : <http://biotechnologie.over-blog.com/article-21737522.html>.
35. Fabien B. Procédé de traitement des images de gels d'électrophorèse bidimensionnelle différentielle dans le contexte de la recherche de marqueurs, Thèse, France, 2008 ; N°409IVS. 209p.
36. Atig M.N. Etude comparative de l'électrophorèse sur gel et l'électrophorèse sur l'automate capillarys, mémoire, Tunisie ; 2010.
37. Lafont R. méthodes physiques de séparation et d'analyse et méthodes de dosage des biomolécules ; 2005.

38. Slater GW. DNA gel electrophoresis: The reptation model(s). ELECTROPHORESIS. Juin 2009 ;30(S1): S181-7. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/elps.200900154>.
39. Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, Siebelder C, Higgins T, Molinaro R, et al. Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. 1 avr 2016 ;455 :80-3.
40. Marechal V. L'électrophorèse en champs pulsés. EMC Biologie médicale ; 2007. Elsevier.
41. Ballihaut G. Détection et identification de sélénoprotéines par électrophorèse sur gel associée aux spectrométries de masse atomique et moléculaire. Thèse, Med, France, 2007. 211p.
42. Zivy M. Electrophorèse bidimensionnelle. Laboratoire de Génétique des Systèmes Végétaux Station de Génétique Végétale. 1995.  
Disponible sur : <https://www.gazettelabo.fr/archives/pratic/1995/1elecbi.htm>
43. Cottet H. Nouvelles méthodologies analytiques en électrophorèse capillaire. L'actualité chimique. 2007;(314) :4.
44. Petitjean P, Hénin O, Ellias S, et Gruau G. Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. 2001, N°2, 1626-1925.
45. Thomas C. Interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques. FMC Tourcoing. 15 décembre 2015. Disponible sur : <https://www.fmc-tourcoing.org/new/wp-content/uploads/2015/12/Electrophores-des-proteines-seriques-R.pdf>
46. Bouayadi O, Bensalah M, Rahmani N, Assoufi S, et Choukri M. Electrophorèse des protéines sériques : étude de 410 profils électrophorétiques. Pan Afr Med J. 8 avr 2019 ;32(161).
47. Giorgetta J. Electrophorèse de l'hémoglobine : interprétation, c'est quoi, à jeun. Publié dans le journal des femmes santé. 2020. Consulté le 01/07/2021. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2667623-electrophorese-hemoglobine-interpretation-c-est-quoi-a-jeun-grossesse/>
48. Denat F. LA Chromatographie-L3 Chimie Dijon. 2010. Disponible sur : [https://licence3-chimie.u-bourgogne.fr/cours\\_supports/CM\\_Denat\\_2010\\_Chromatographie.pdf](https://licence3-chimie.u-bourgogne.fr/cours_supports/CM_Denat_2010_Chromatographie.pdf)
49. Crepier J. La chromatographie en phase supercritique couplée avec une détection UV et spectrométrie de masse haute résolution pour l'analyse d'échantillons complexes : application aux bio-huiles. Thèse, France, 2018 ; N°206. 231p.

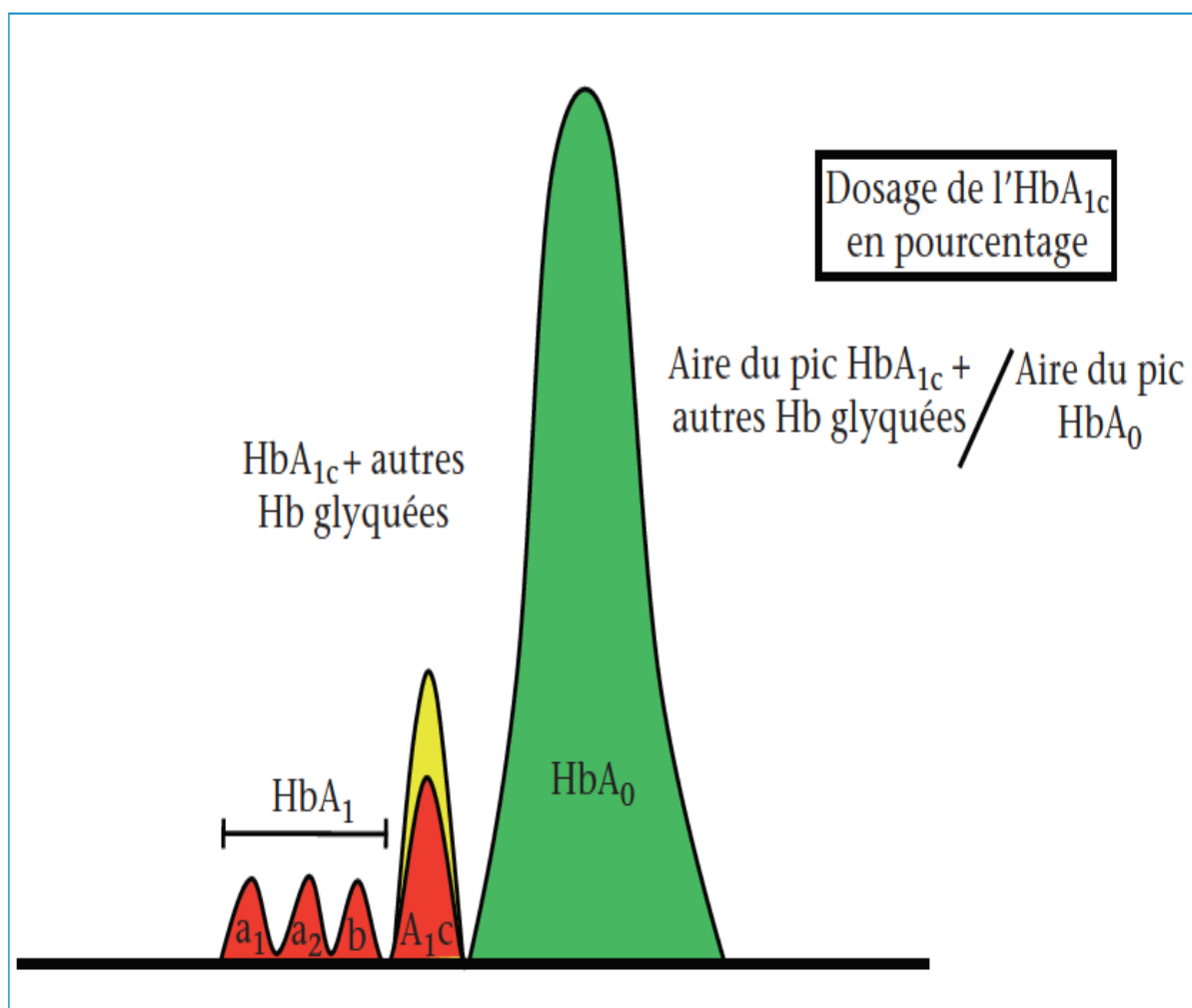
50. Lecomte M. chromatographie sur papier ou en couche mince (ccm). 2010. 12p disponible sur : <http://www.amfb.eu/Publications/2010/chromatographiepapier.pdf>.
51. Surat P. Chromatographie sur couche mince. Publié dans News-Medical, 2018. Consulté le 17/02/2021. Disponible sur : <https://www.news-medical.net/life-sciences/Thin-Layer-Chromatography.aspx>
52. Chimie.fr. Chromatographie sur couche mince (CCM). Publié dans Chimie pour tous. Consulte 01/02/2021.
53. George G. La chromatographie en phase gazeuse : principe. Publié dans Culture Science Chimie, 2017. Consulté le 17/02/2021. Disponible sur : <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/la-chromatographie-en-phase-gazeuse-principe>.
54. Tranchant J. Chromatographie en phase gazeuse. Publié dans Techniques de l'Ingénieur ; 1996. Consulté le 07/02/2021. Disponible sur : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/chromatographie-et-techniques-separatives-42385210/chromatographie-en-phase-gazeuse-p1485/>
55. Dari A. Techniques chromatographiques. Département de Chimie ; 2016. Disponible sur : <http://lpagrocasa.e-monsite.com/medias/files/module-m-53.pdf>.
56. Administrateur. Chromatographie Liquide Haute Performance HPLC. Publié dans Chimie Analytique ; 2020. Consulté le 28/09/2021. Disponible sur : <https://chimieanalytique.com/chromatographie-liquide-haute-performance-hplc/>.
57. Fernard C. HPLC Principe et appareillage. Publié dans Biochimie et Bio moléculaire ; 2010. Disponible sur : [https://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/article\\_PDF/HPLC-Principe-et-appareillage\\_a9.pdf](https://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/article_PDF/HPLC-Principe-et-appareillage_a9.pdf)
58. Ladram A, et Camus, G. La chromatographie. 2015.
59. Sadou N. Analyse des substances naturelles : Chromatographie. 2020. Consulté le 21/02/2021. Disponible sur : <https://elearning-deprecated.univ-annaba.dz/mod/resource/view.php?id=13458>
60. Bourgeois A, et thummen, E. Fiche sur la technique de la chromatographie sur colonne. Publié dans Culture science et chimie ; 2002. Consulté le 21/02/2021. Disponible sur : <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/fiche-sur-la-technique-de-la-chromatographie-sur-0>.

61. TOURNOIS M. Contribution à la compréhension de la chromatographie d'échange d'ions des protéines par un couplage d'approches expérimentales et de simulations moléculaires. Thèse, Med, France, 2020. 183p.
62. Gillery P, Bordas-Fonfrède M, Chapelle, J.P, Hue, G, Périer, C. Le dosage de l'hémoglobine A1c en 2013. Médecine Mal Métaboliques. Juin 2013 ;7(3) :256-61.
63. Sepulchre E Lutteri L, Cavalier E, Guerci B, Radermecker RP. A propos de l'hémoglobine glyquée : Rev Med Liège. 2014 ;69(9) :497-503.
64. Journois D. Concordance de deux variables : l'approche graphique. Revue Maladie Respiratoire. Février 2004 ;21(1) :127-30.
65. Desquilbet L. Guide pratique de validation statistique de méthodes de mesure : répétabilité, reproductibilité, et concordance. Publié dans HAL ; 2012. Consulté le 25/06/2021
66. La régression linéaire simple avec le logiciel R. Publié dans DellaData. Consulté 25 juin 2021. Disponible sur : <https://delladata.fr/la-regression-lineaire-simple-avec-le-logiciel-r/>
67. Grenier B, Dubreuil M, et Journois D. Comparaison de deux méthodes de mesure d'une même grandeur : méthode de Bland et Altman. 1 février 2000 ;19(2) :128-35.
68. Abdelghani C, et Oussama EK. Comparaison de deux méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) par technique HPLC et technique immunoturbidimétrique. Thèse, Pharmacie, Algérie. 2019. 99p.
69. Sylla B. Evaluation dynamique de la glycémie chez le diabétique de type 2 en activité physique suivi au CSRefCI. Thèse, Méd, Mali. 2014 ; N°28M228. 63p
70. Tayar S, et Kheireddine K. Evaluation et suivi de l'état sanitaire d'un échantillon de 200 patients diabétiques dans la région de Bou-Saada. Mémoire, Algérie. 2020. 60p.
71. Cédric ST. Evaluation du contrôle glycémique par l'hémoglobine glyquée chez le diabétique de type 2 au service de médecine interne du chu du Point G. Thèse, Med, Mali, 2011 ; N°11M54. 105p
72. Belkacem S, Semrouni M, et Mimouni S. Comparaison du système Afinion<sup>TM</sup> AS 100 dans le dosage de l'HbA1c avec l'analyseur HPLC. Annales d'Endocrinologie. Septembre 2020 ; 81(4), Page 423.
73. Keita S. Impact de la supplémentation martiale chez des enfants d'âge scolaire anémiques et porteurs d'hémoglobinopathies s & c au Mali. Thèse, Pharmacie, Mali, 2006 ; N°06P26. 44p.

74. Thiero A. Etude des aspects épidémio-cliniques de la drépanocytose chez l'enfant à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou. Thèse, Med, Mali, 2020 ; N°20M315. 87p
75. Martinez AP, Michael A, Androulla E, Beatrice G, Maria Del Mar M.P, Roumyana P.B, et al. Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives Orphanet Journal of Rare Diseases. 1 juillet 2014 ;9(97) :1750-1172.
76. Gariani K, et Christel T. Hémoglobine glyquée : nouvel outil de dépistage. Revue Médicale Suisse. 8 juin 2011;(298) :1660-9379.
77. Dorchy H. Qualité du traitement des enfants et des adolescents diabétiques. 17 mai 2021. AJD 3/2002 Tome 46 p.8
78. SH GTA 04. Guide technique d'accréditation de vérification (portée a) / validation (portée b) des méthodes en biologie médicale. Version 1. 2015. Disponible sur : <https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-04>
79. NGSP. HbA1c Assay Interferences. Consulté le 02/06/2021. Disponible sur : <http://www.ngsp.org/interf.asp>
80. Jaisson S, Guillard E, Leroy N, et Gillery, P. Comparaison des interférences analytiques sur le dosage de l'HbA<sub>1c</sub> par deux analyseurs de chromatographie liquide haute pression. Ann Biol Clin (Paris). 1 février 2011 ;69(1) :63-9.
81. Renacco E, Saunier V, Gras C, et Portugal H. Comparaison de cinq automates pour le dosage de l'hémoglobine glyquée. Immuno-Analyse Biologie Spécialisée. 1 sept 2000 ;15(5) :366-72.
82. Boudouda K, et Boudraa R. Corrélation entre la glycémie et le taux de l'hémoglobine glyquée : Relation avec les facteurs environnementaux des patients diabétiques. Mémoire, Algérie ; 2017. 81p.
83. Hounkpatin A, et Zonon Ornella D. Variation de l'hémoglobine glyquée en fonction de la glycémie chez les sujets diabétiques reçus à l'hôpital saint Jean de cotonou. Mémoire, Benin-cotonou ;2015. 43p.
84. Aubry P, et Gaüzère B-A. Hémoglobinoses. Publié dans Médecine tropicale. 2020. Disponible sur <http://medecinetropicale.free.fr/cours/hemoglobinoses.pdf>. Consulté le 27/09/2021
85. Fonfrede M. Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable. Spectra biologie. 2006 ;152 :48.

## 10. Annexes

**Annexe 1:** Représentation schématique des différentes fractions de l'hémoglobine qui sont identifiées par chromatographie liquide de haute performance (HPLC) dans une cohorte de globules rouges matures.

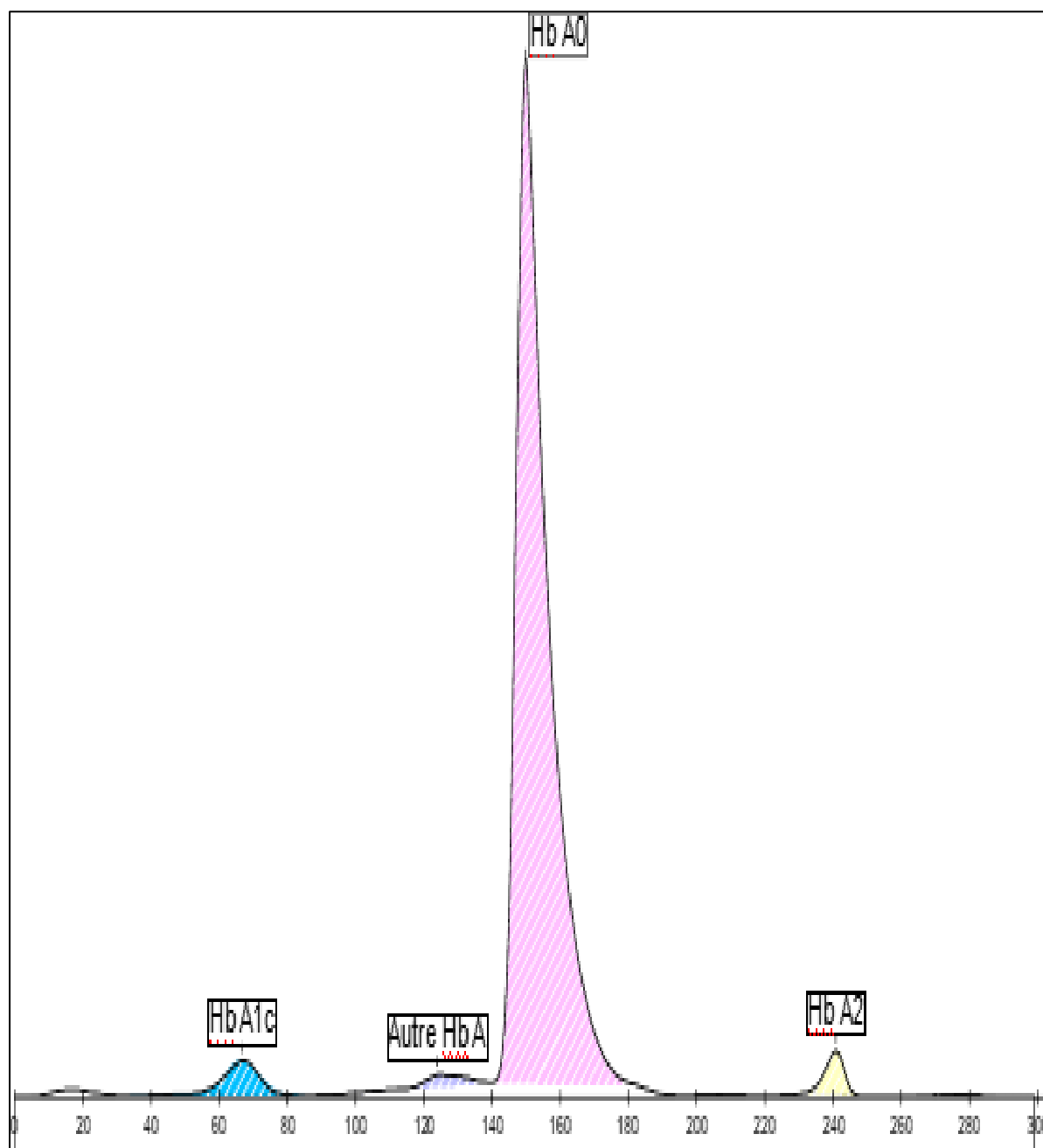


Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

**Annexe 2 :** Automates pour dosage de l'hémoglobine glyquée Minicap® FLEX PERCING et D-10® BIO-RAD du CICM-Mali



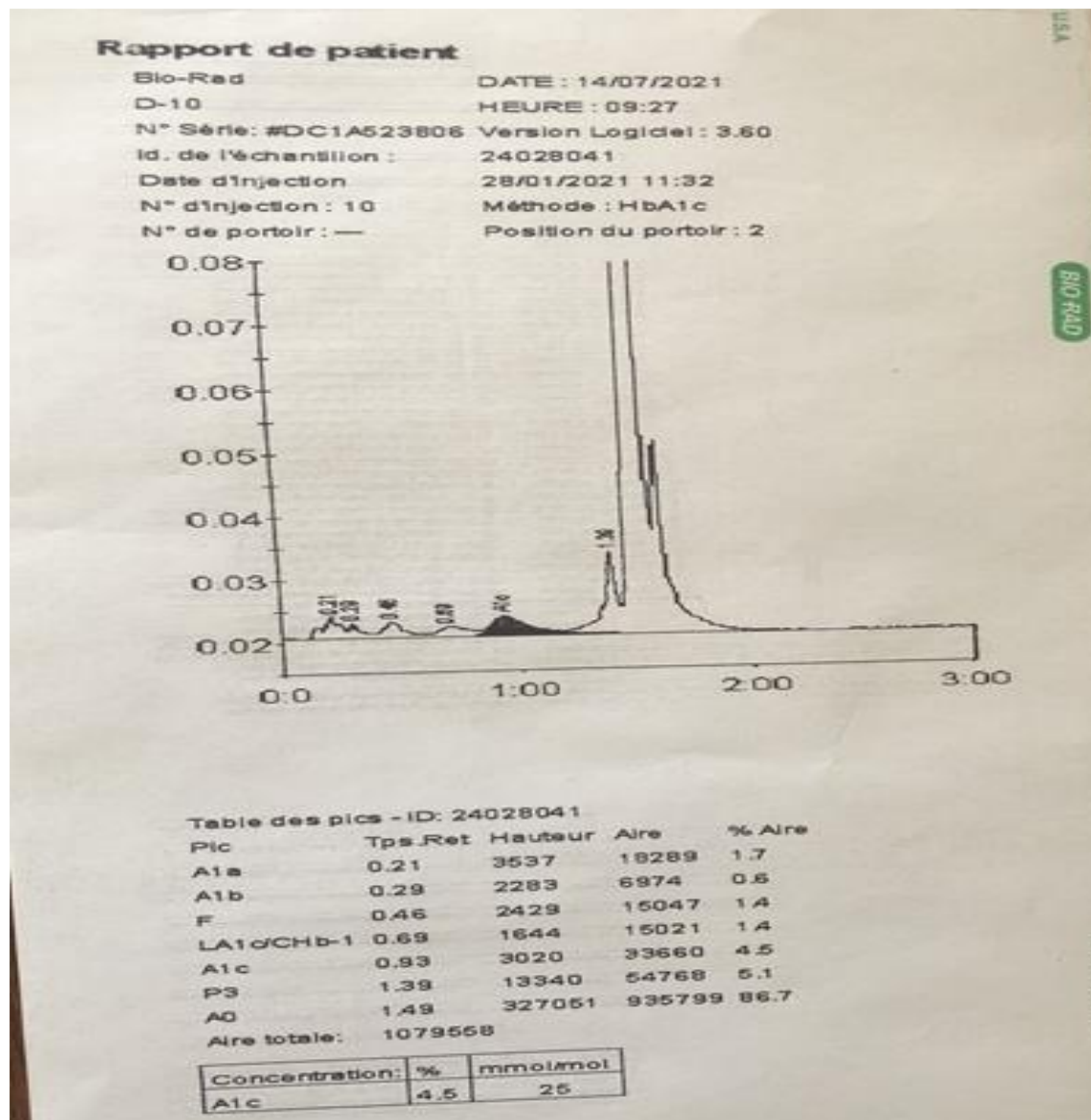
**Annexe 3 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A non diabétique sur Minicap FP®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient normal (Hb A/A) non diabétique contenant un taux d'HbA1c de 4,50 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés.

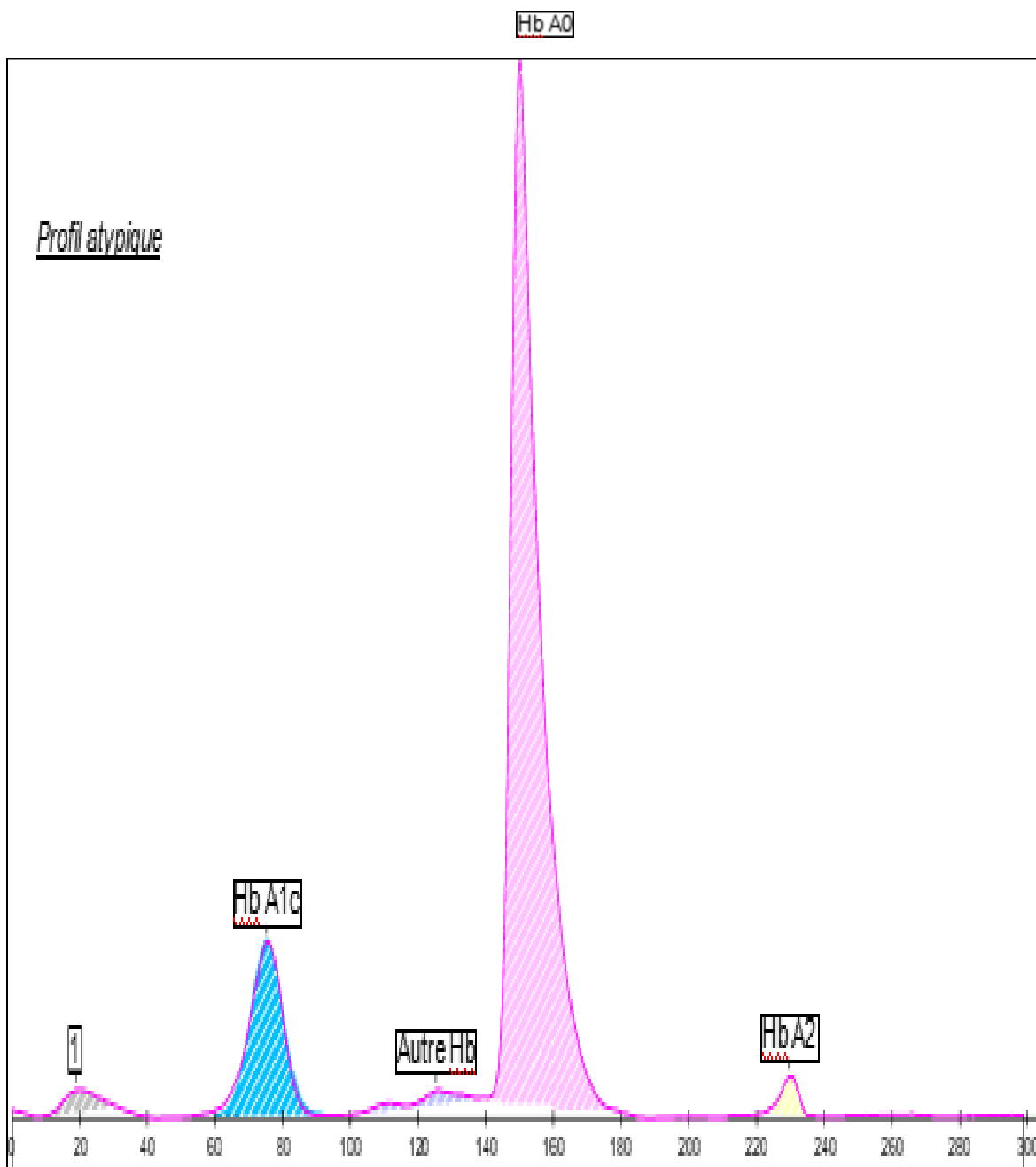


**Annexe 4 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A non diabétique sur D-10®



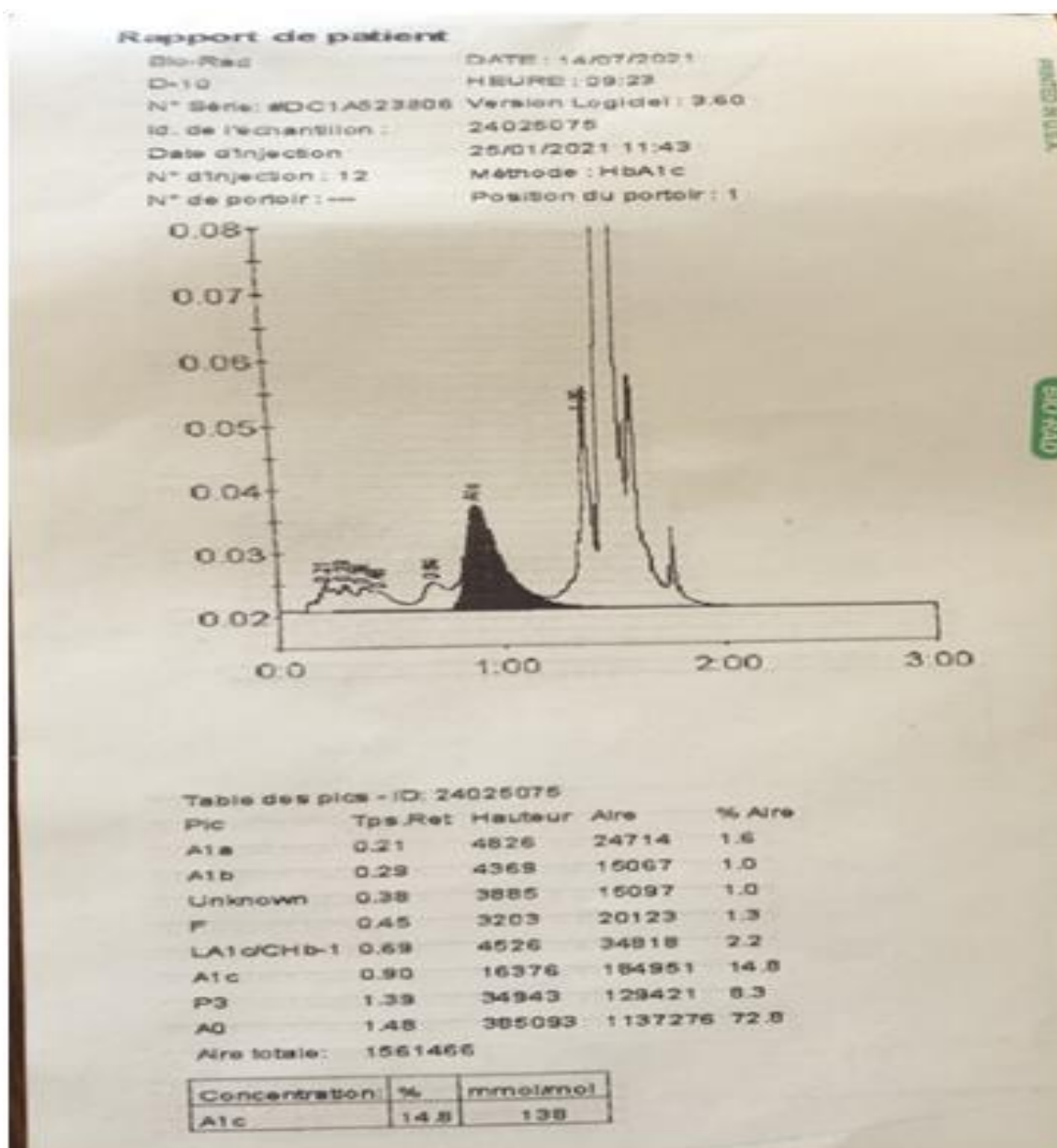
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient normal (Hb A/A) non diabétique contenant un taux d'HbA1c de 4,50 % sur D10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés

**Annexe 5 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A diabétique sur Minicap FP®



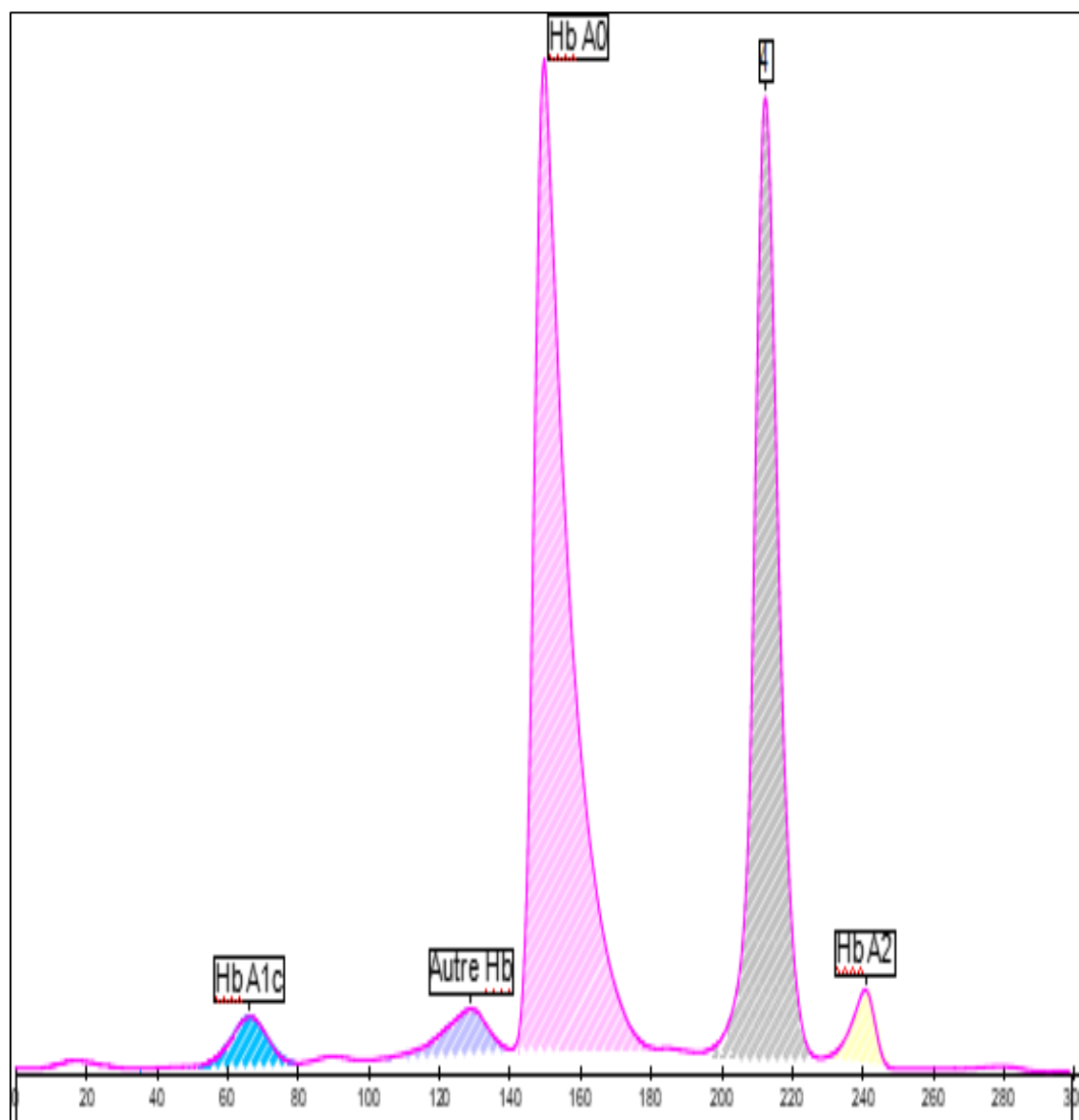
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient normal (Hb A/A) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 13,90 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 6 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient normal homozygote de type A/A diabétique sur D-10®



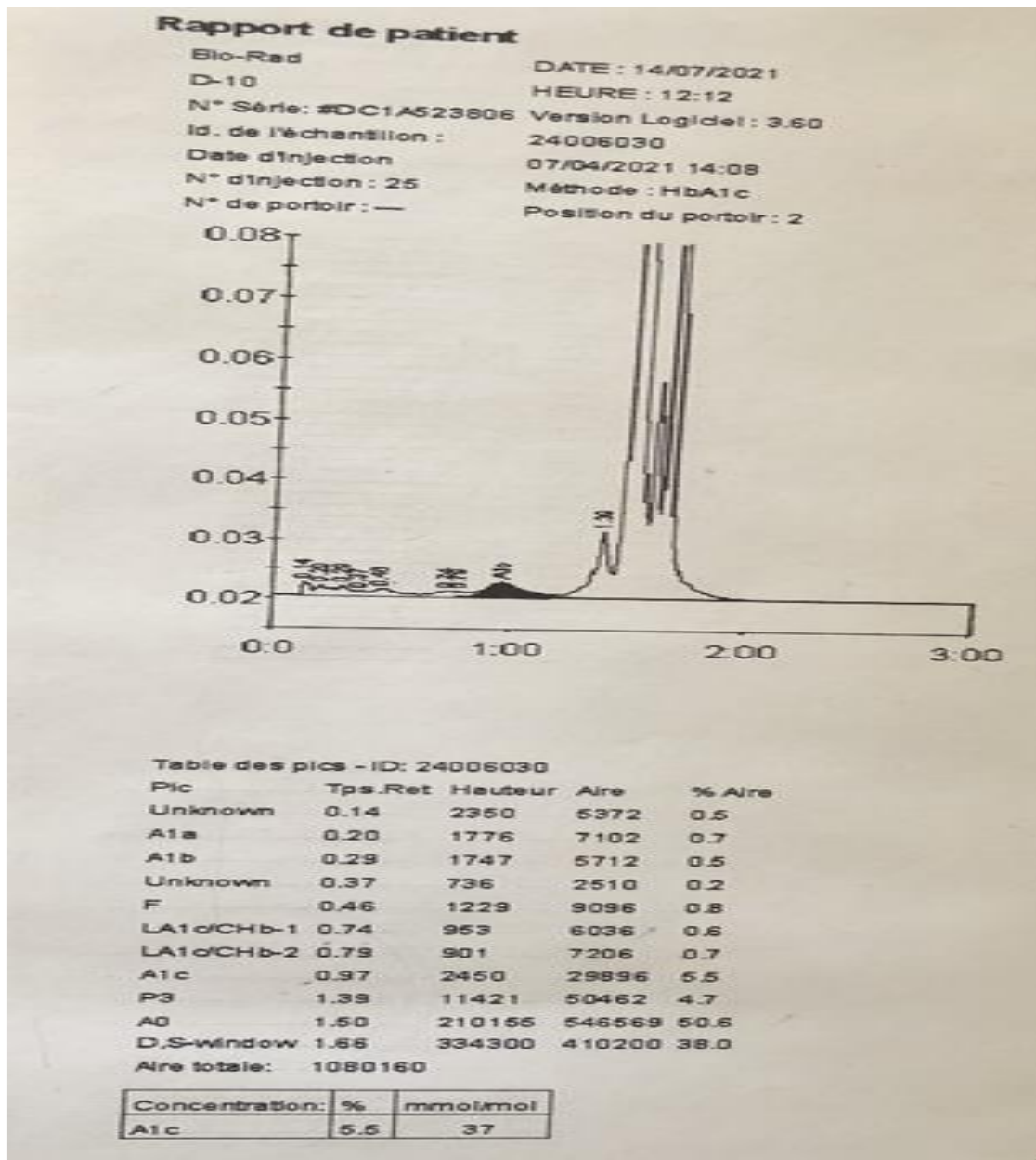
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate D-10® pour un patient normal (Hb A/A) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 14,80 % sur D-10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 7 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/S) non diabétique sur Minicap FP®



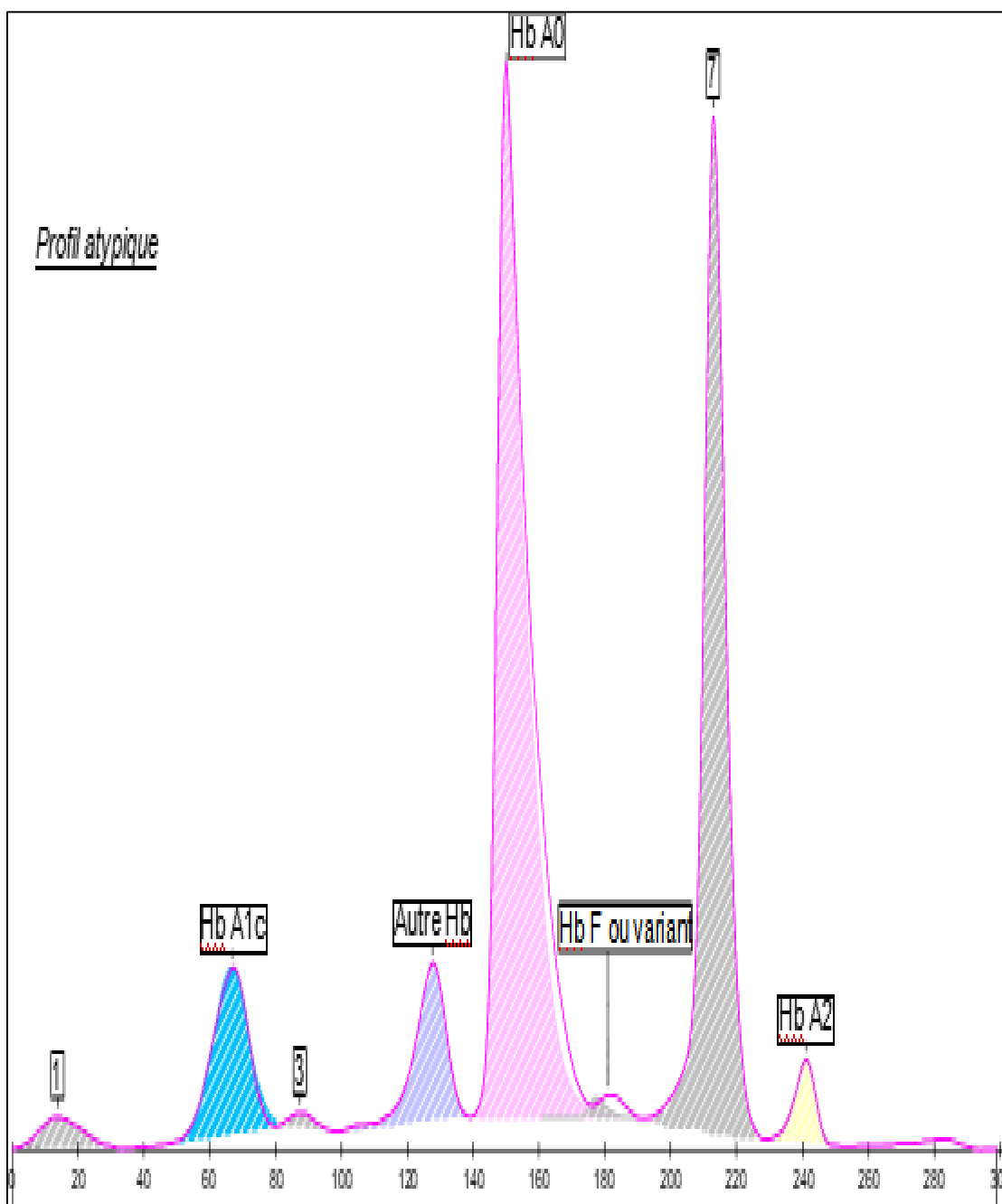
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient hétérozygote (A/S) non diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 5,60 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 8 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec hémoglobine anormale hétérozygote (A/S) non diabétique sur D-10®



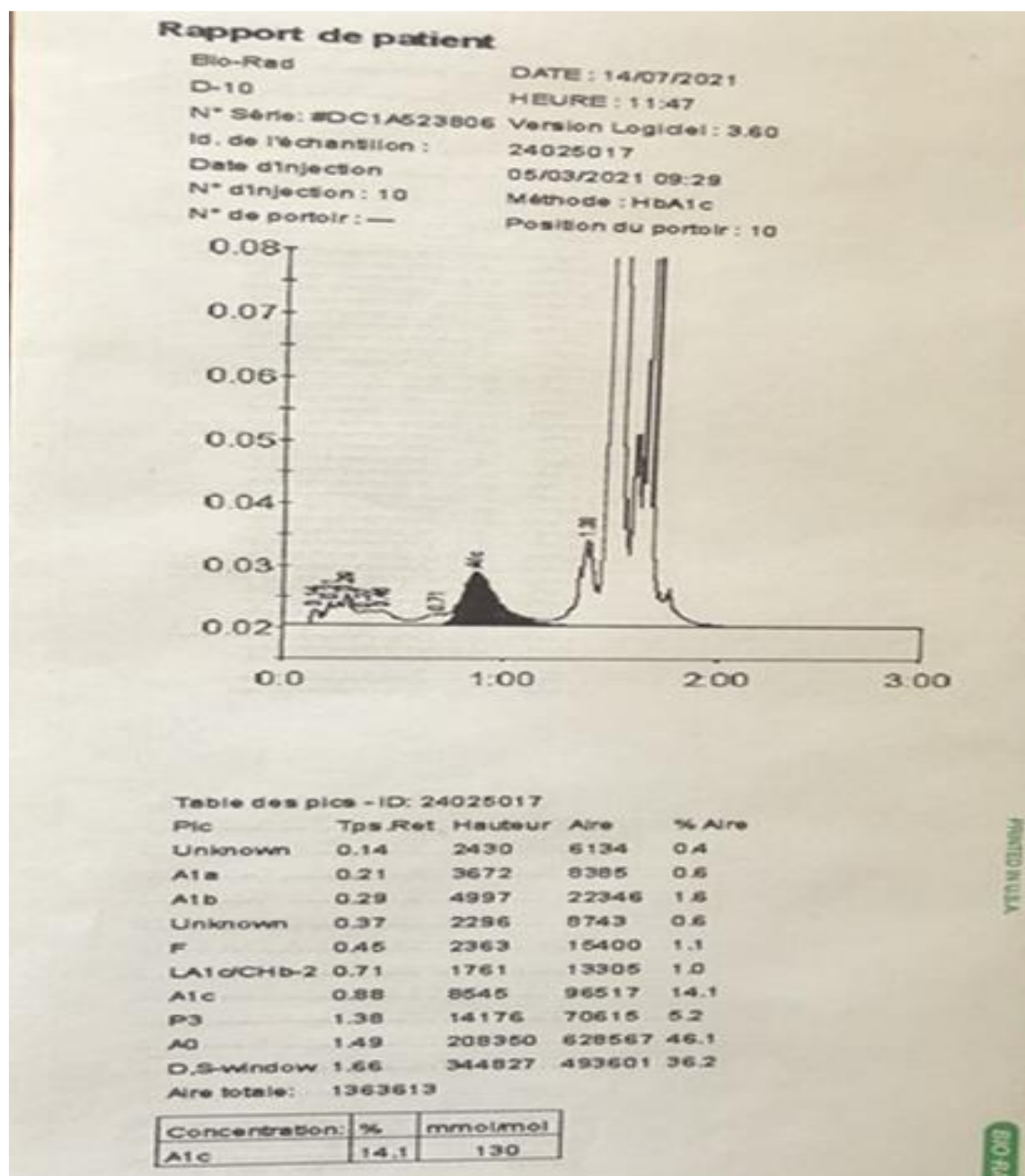
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient hétérozygote (A/S) non diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 5,50 % sur D-10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 9 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/S) diabétique sur Minicap FP®.



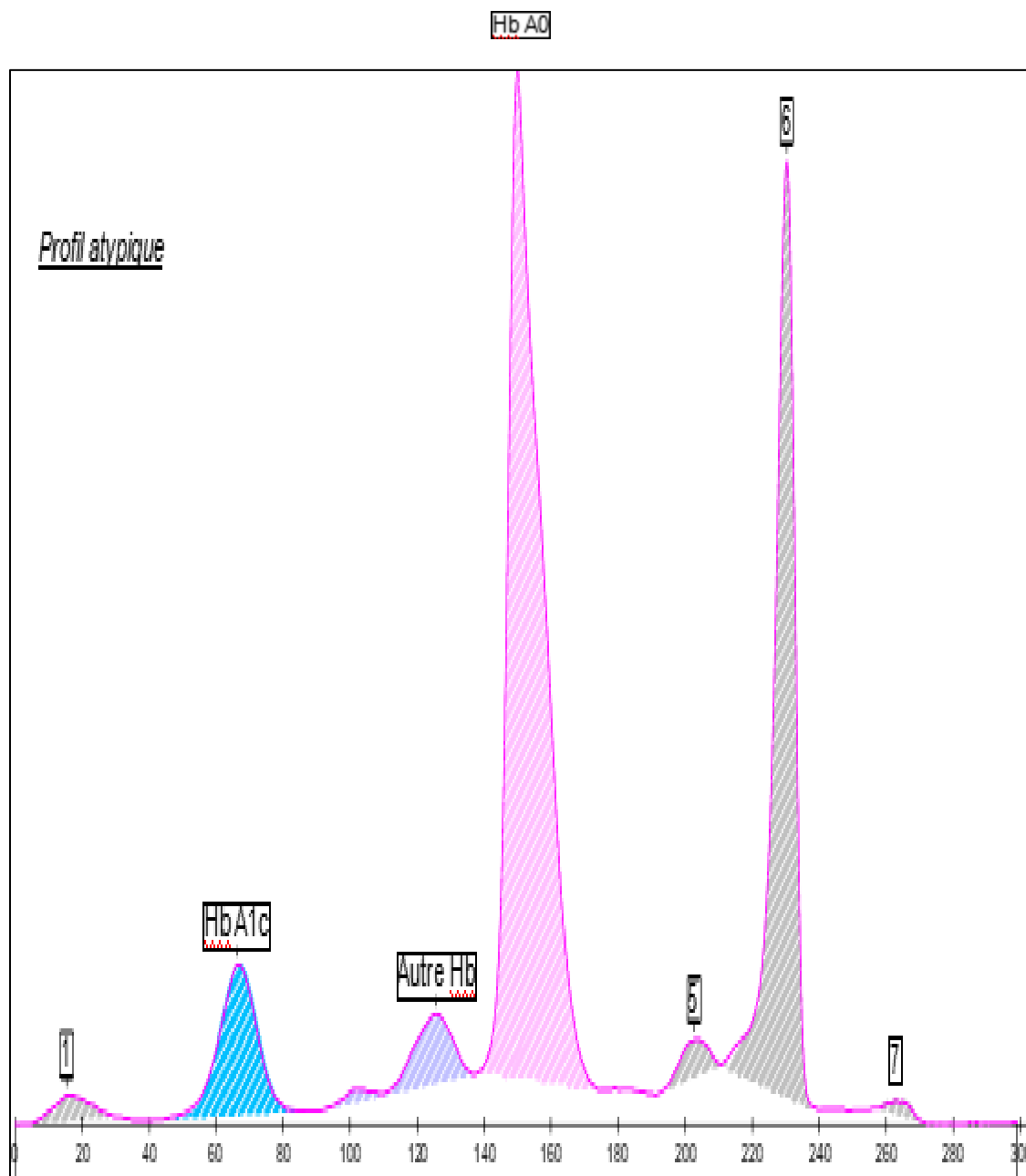
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient hétérozygote (A/S) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 13,70 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 10 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/S) diabétique sur D-10®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient hétérozygote (A/S) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 14,10 % sur D-10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 11** : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/C) diabétique sur Minicap FP®.

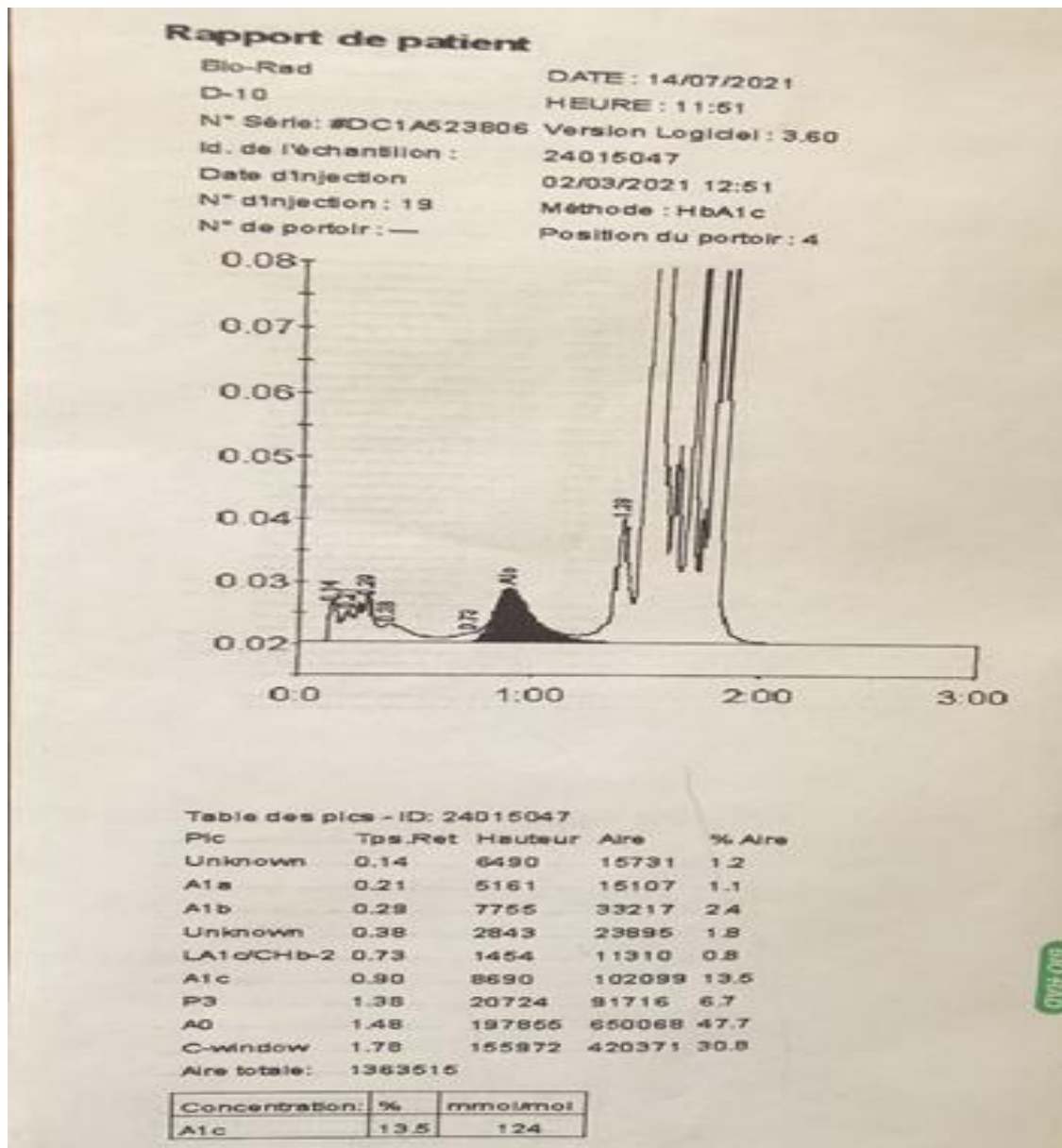


Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient hétérozygote (A/C) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 13,70 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.



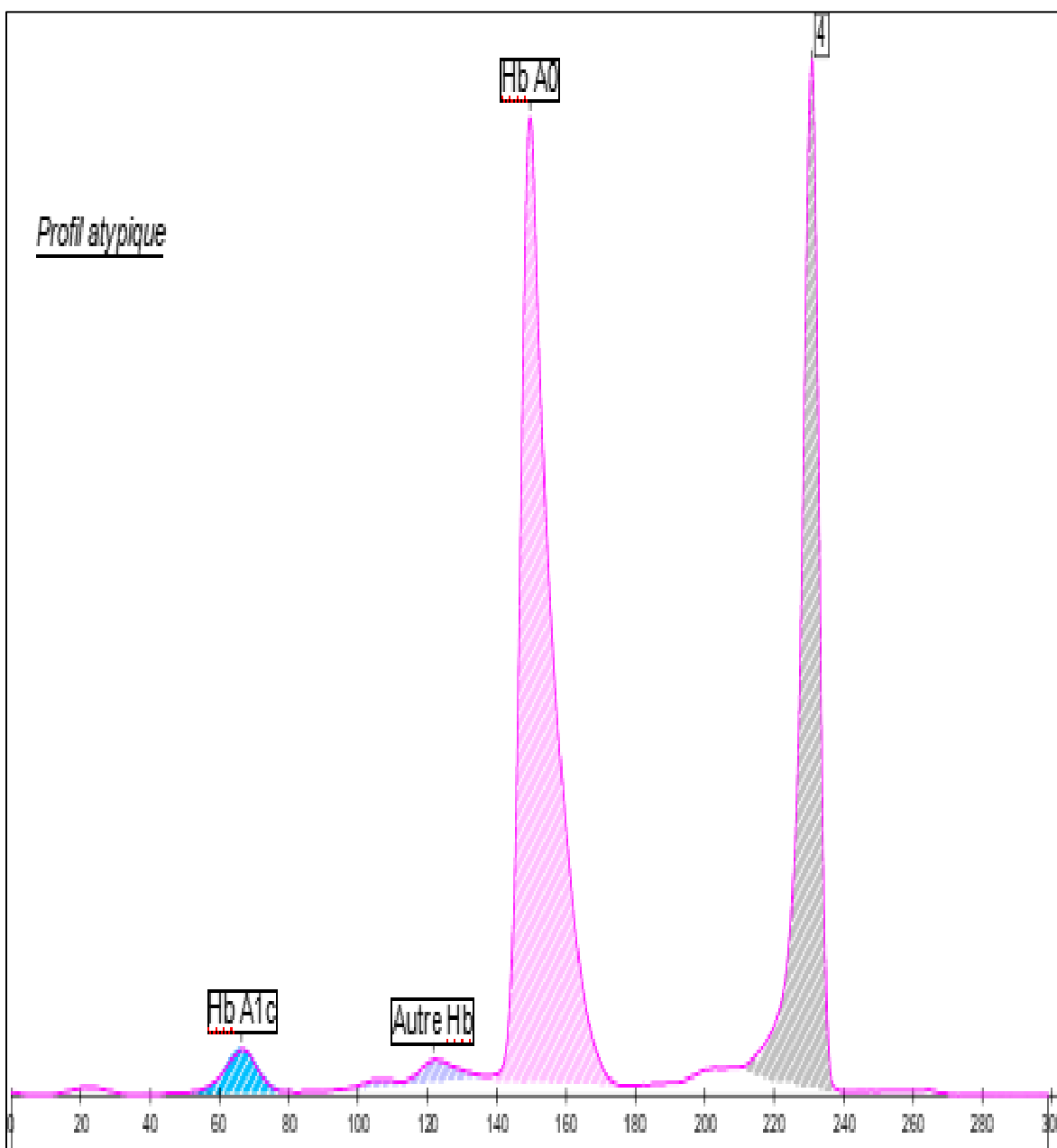
Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

**Annexe 12 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/C) diabétique sur et D-10®.



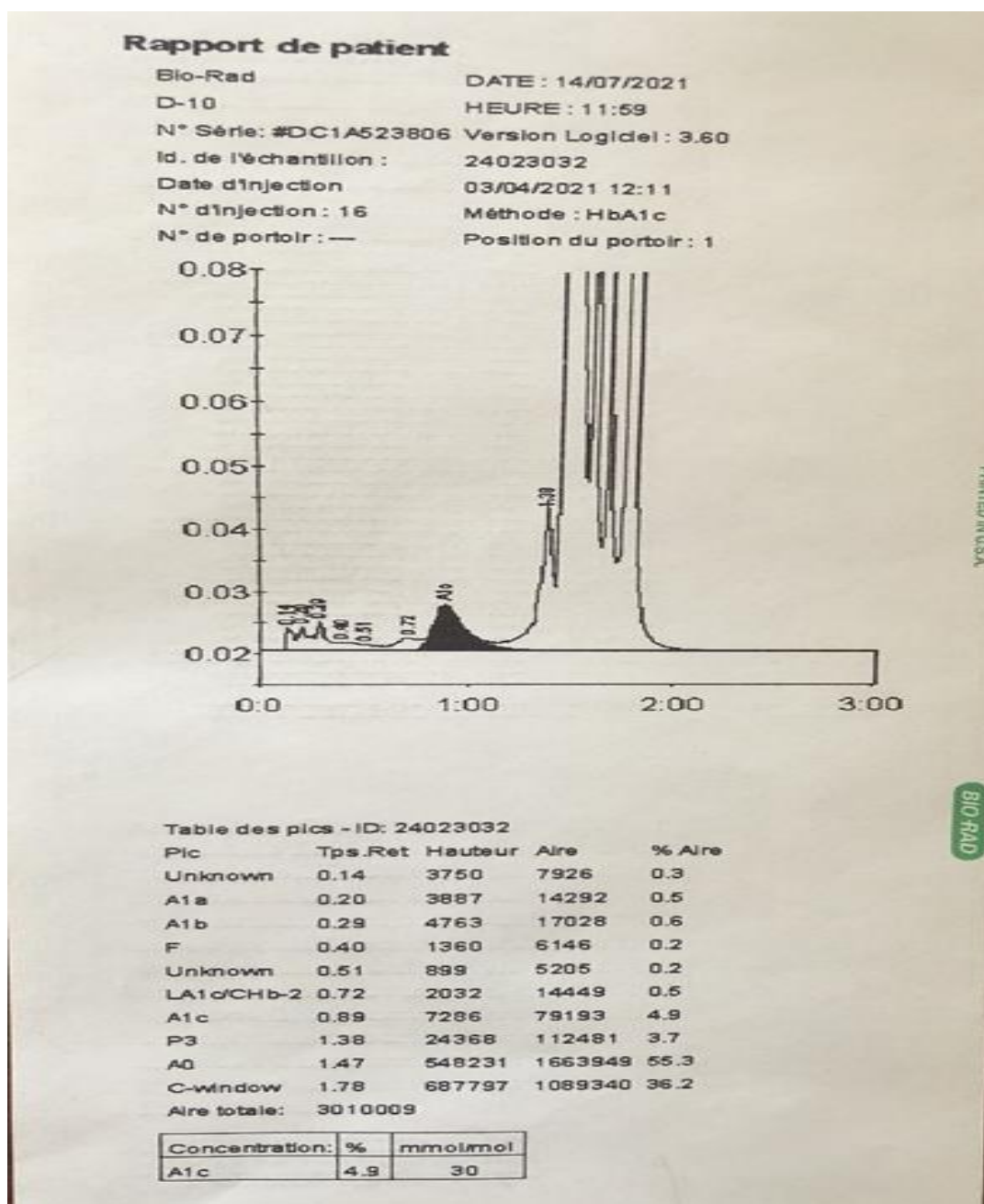
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient hétérozygote (A/C) diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 13,70 % sur Minicap FP® et de 13,50 % sur D-10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 13 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote (A/C) non diabétique sur Minicap FP®



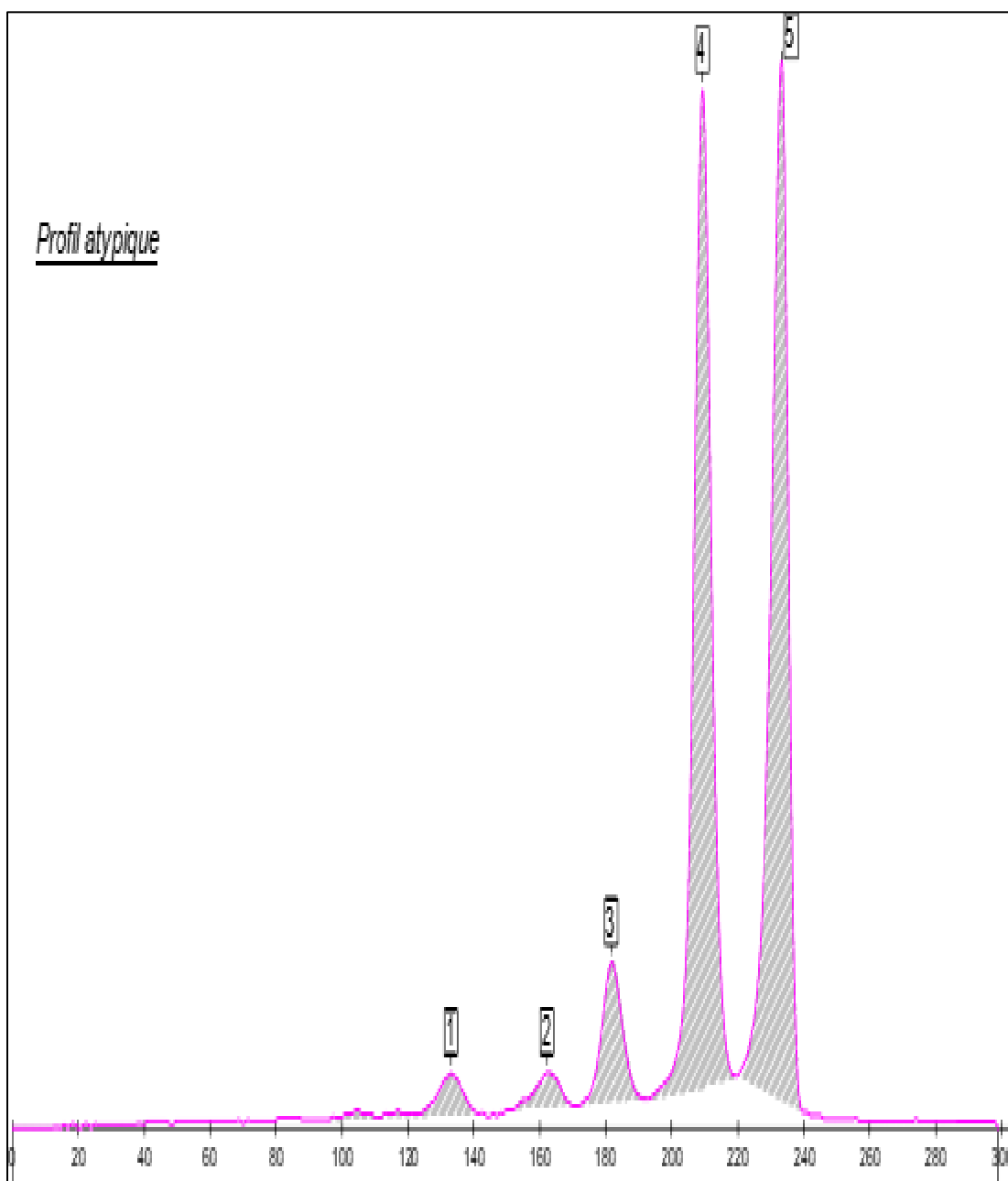
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate Minicap FP® pour un patient hétérozygote (A/C) non diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 5,40 % sur Minicap FP®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

**Annexe 14 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale hétérozygote (A/C) non diabétique sur D-10®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient hétérozygote (A/C) non diabétique contenant un taux d'HbA 1c de 4,90 % D-10®. Les pics et les aires correspondant aux différentes formes de l'hémoglobine sont identifiés sur le chromatogramme.

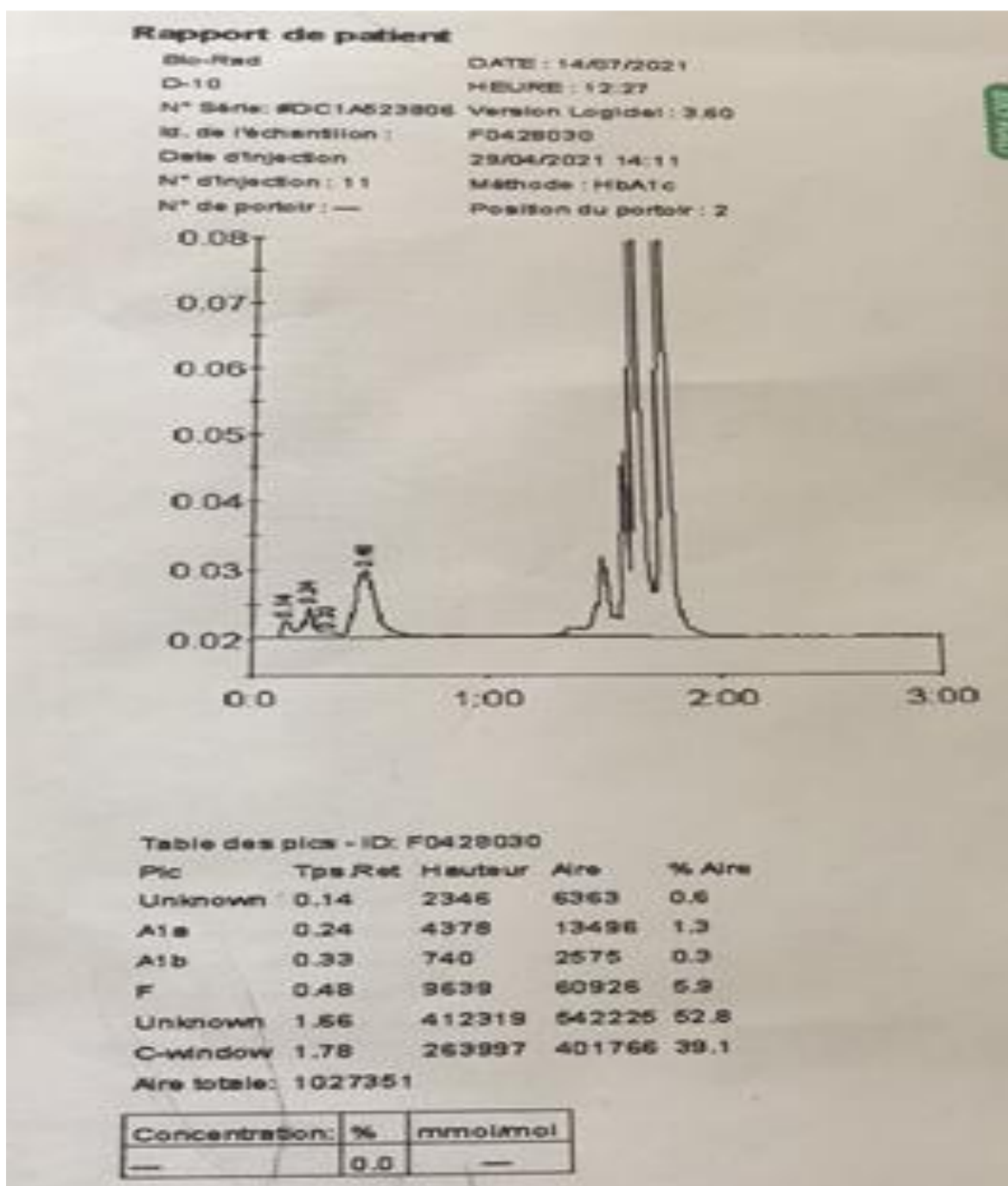
**Annexe 15** : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote composite (S/C) non diabétique sur Minicap FP®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® pour un patient hétérozygote composite (S/C). Il n'a pas détecté l'HbA1c.

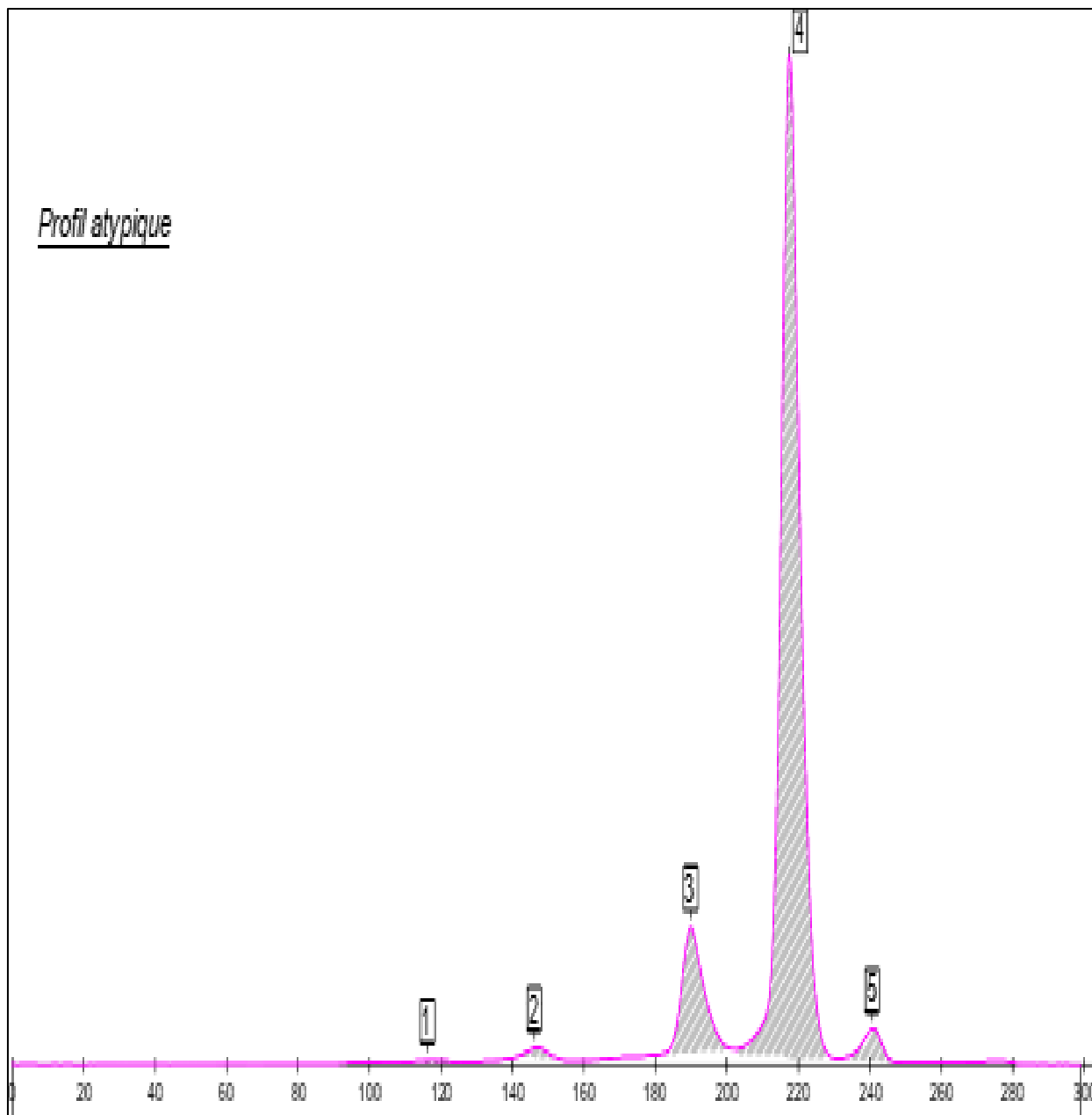
Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

**Annexe 16 :** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient hétérozygote composite (S/C) non diabétique sur D-10®



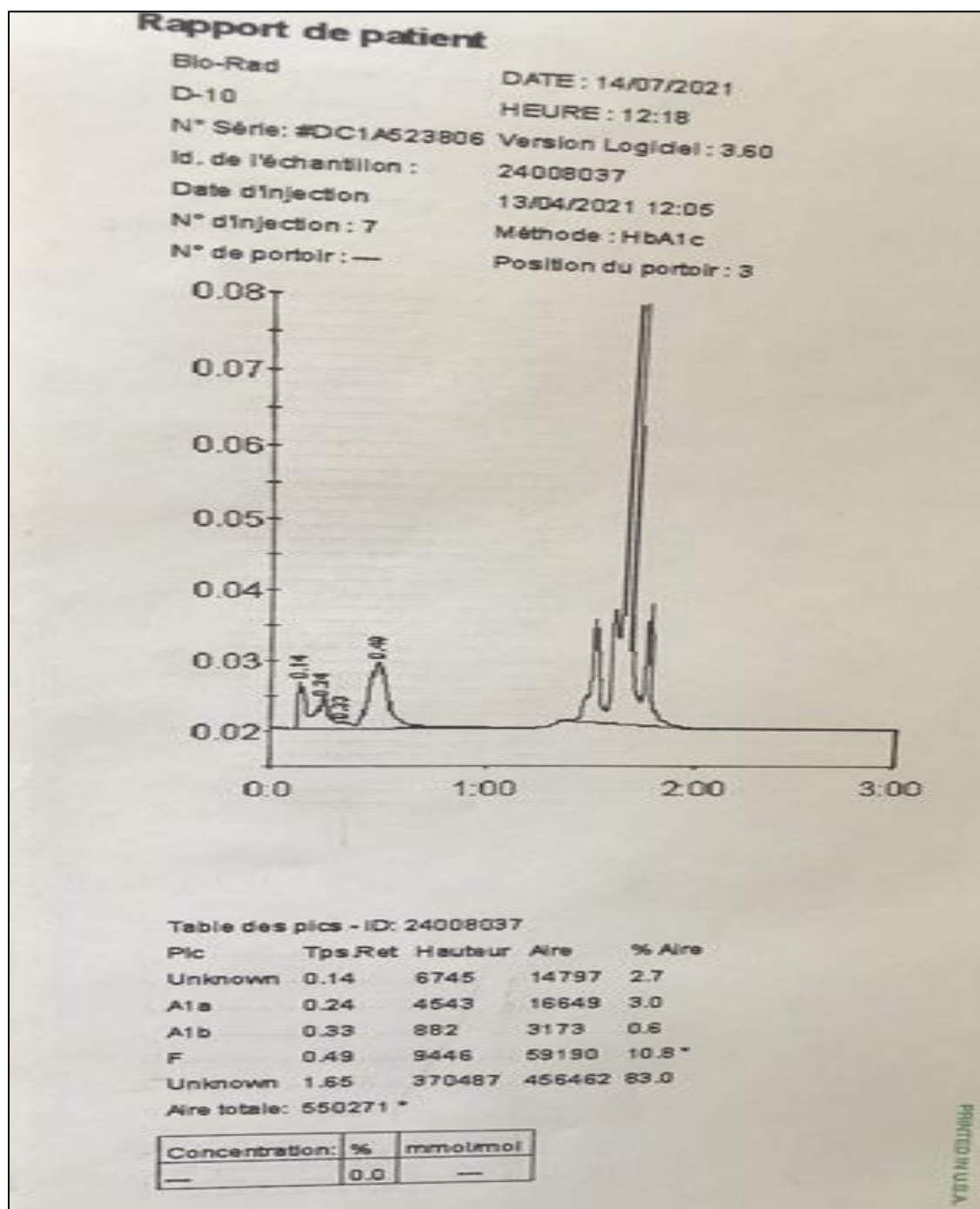
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient hétérozygote composite (S/C). Il n'a pas détecté l'HbA1c.

**Annexe 17 :** Exemple tracés de l'HbA1c d'un patient homozygote (S/S) non diabétique sur Minicap FP®



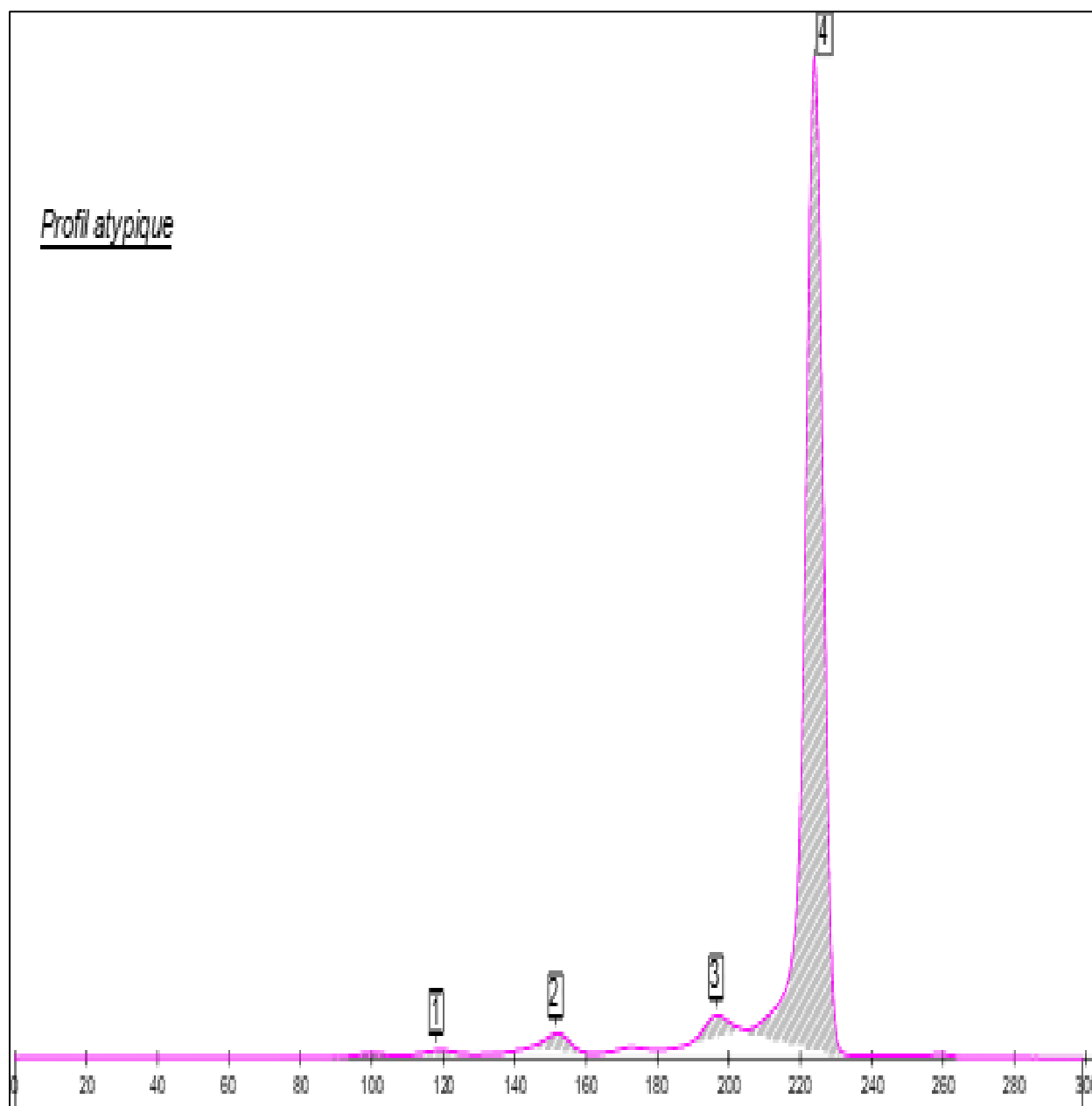
Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® et D-10® pour un patient homozygote (S/S). Il n'a pas détecté l'HbA1c.

**Annexe 18 :** Exemple tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale homozygote (S/S) non diabétique sur D-10®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient homozygote (S/S).  
Il n'a pas détecté l'HbA1c.

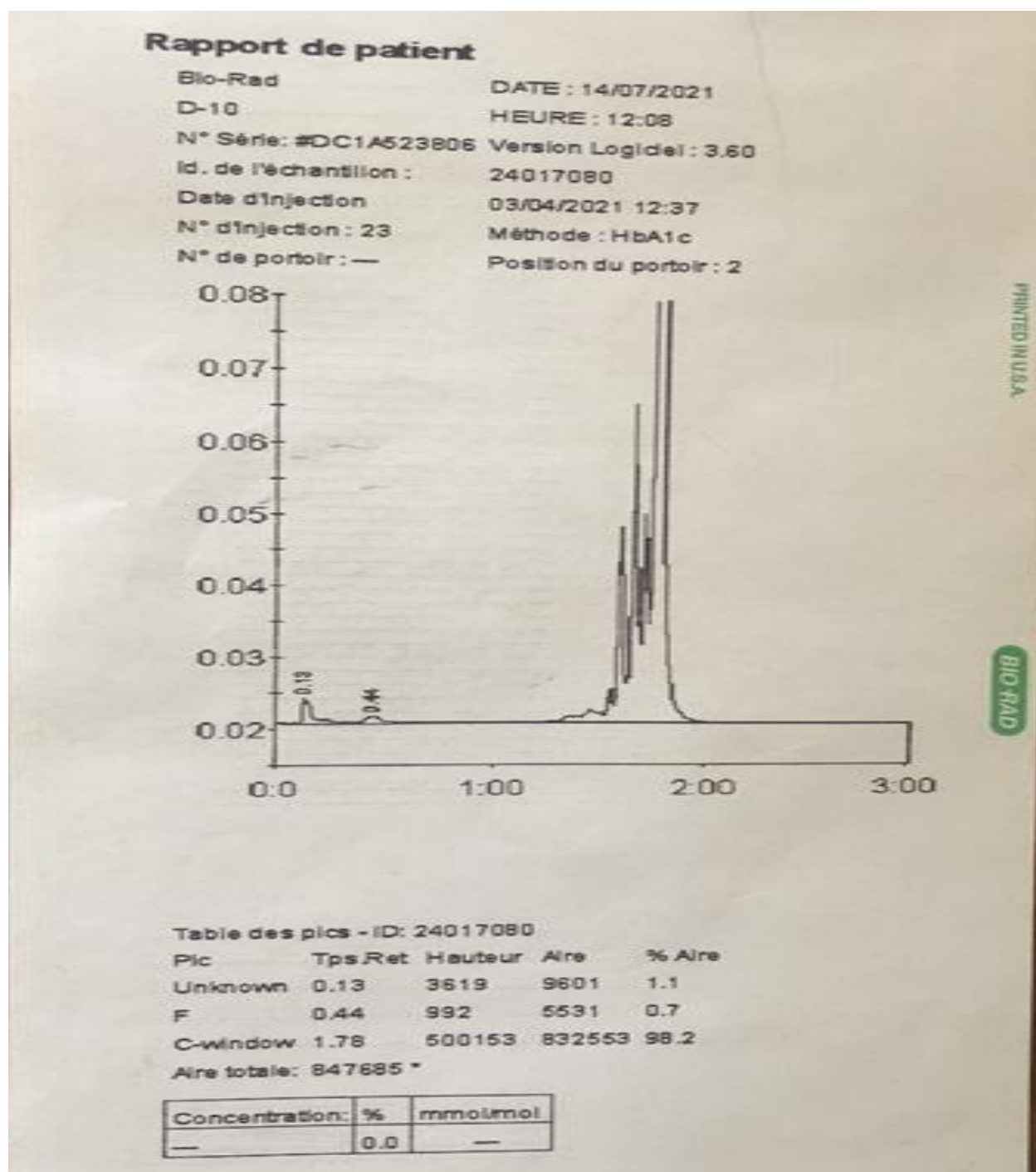
**Annexe 19:** Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient homozygote (C/C) non diabétique sur Minicap FP®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de Minicap FP® et D-10® pour un patient homozygote (C/C). Il n'a pas détecté l'HbA1c.



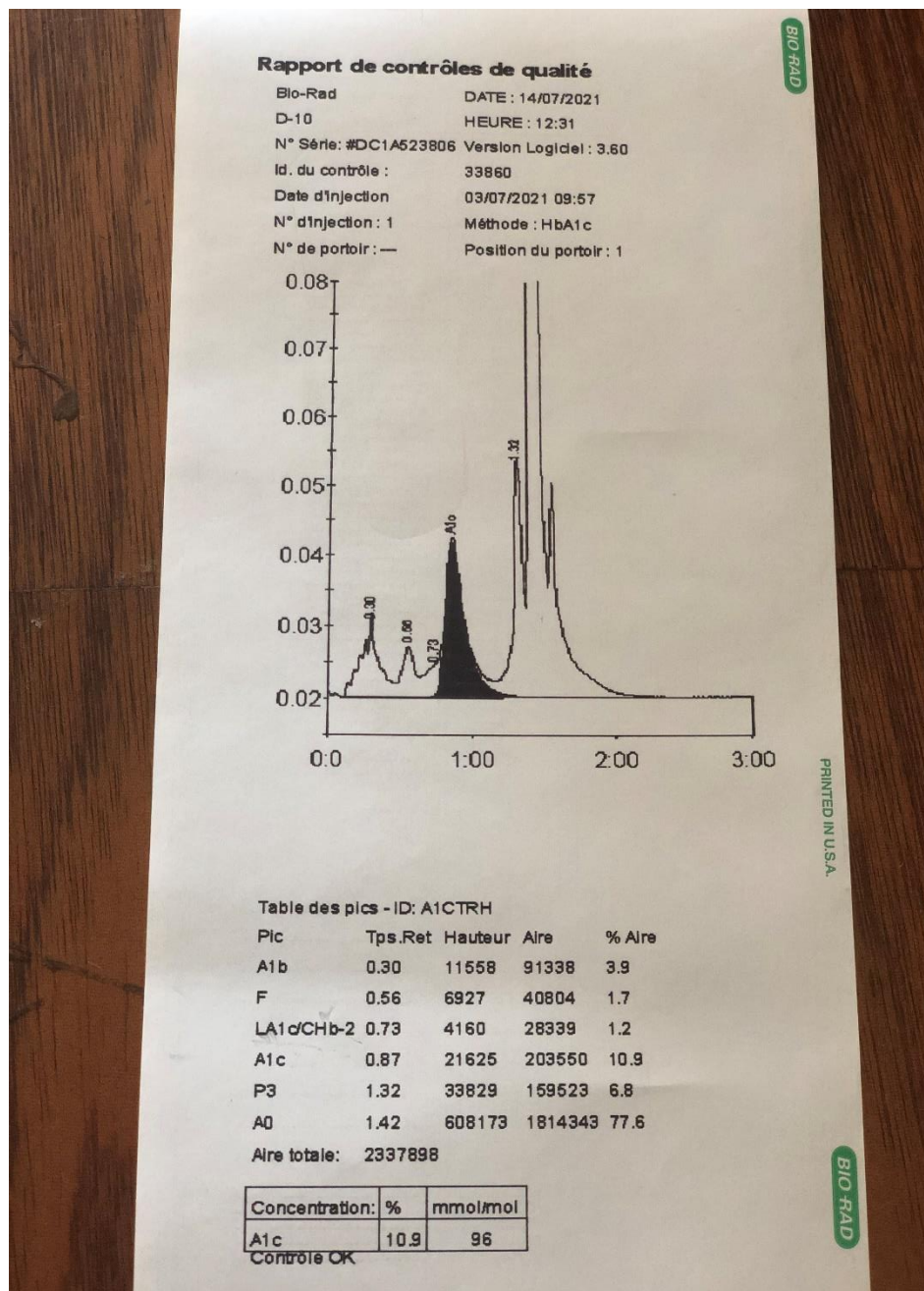
**Annexe 20** : Exemple de tracés de l'HbA1c d'un patient avec l'hémoglobine anormale homozygote (C/C) non diabétique sur D-10®



Aspect des chromatogrammes obtenus sur l'automate de D-10® pour un patient homozygote (C/C). Il n'a pas détecté l'HbA1c

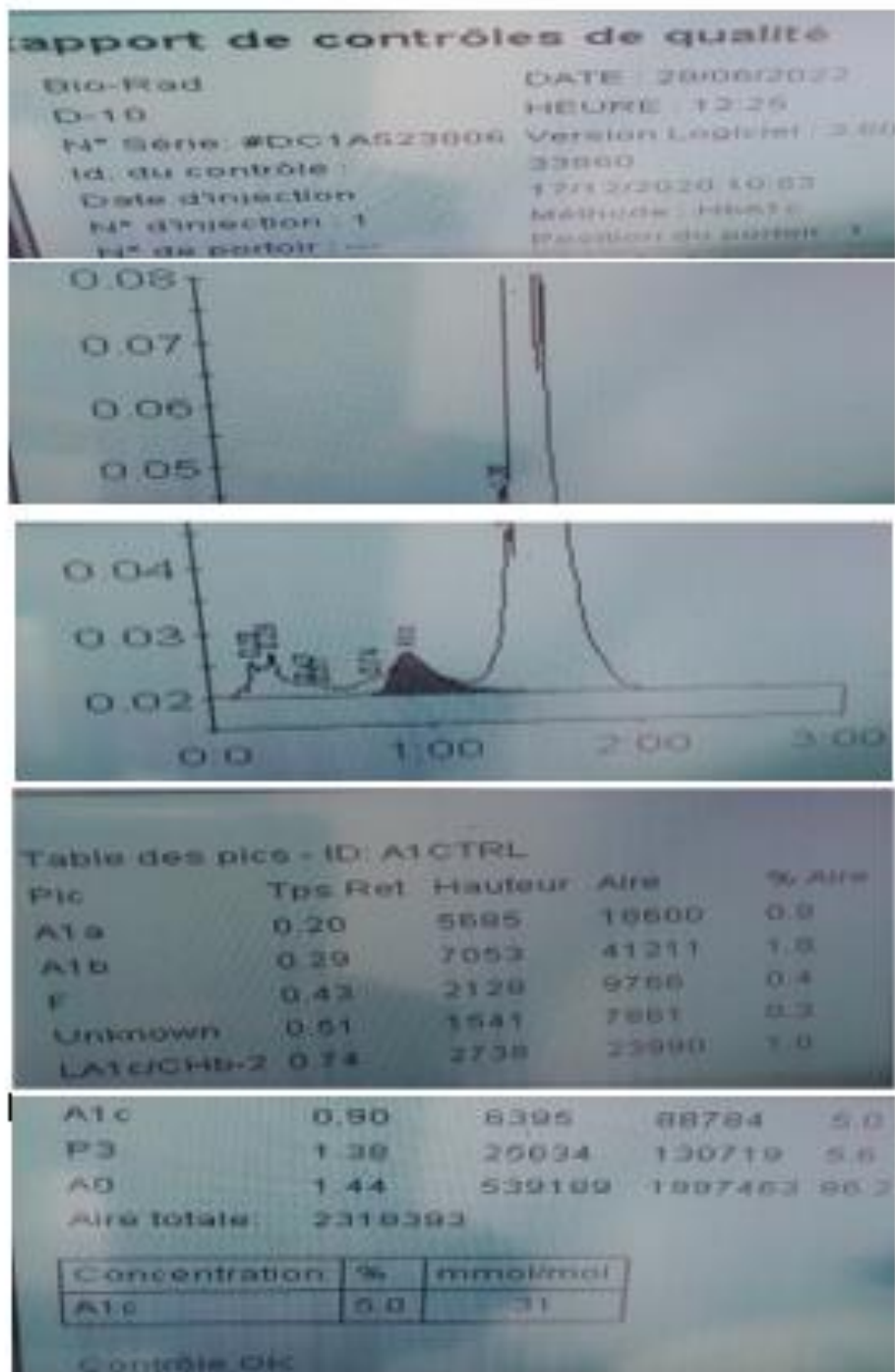
**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

**Annexe 21 : contrôle de qualité sur D-10®. Le contrôle pathologique (LRM-MALI)**



Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)

Annexe 22 : contrôle de qualité sur D-10®. Le contrôle normal (LRM-MALI)



Annexe 23 : contrôle de qualité sur Minicap FP®. Le contrôle pathologique (LRM-MALI)

## LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX

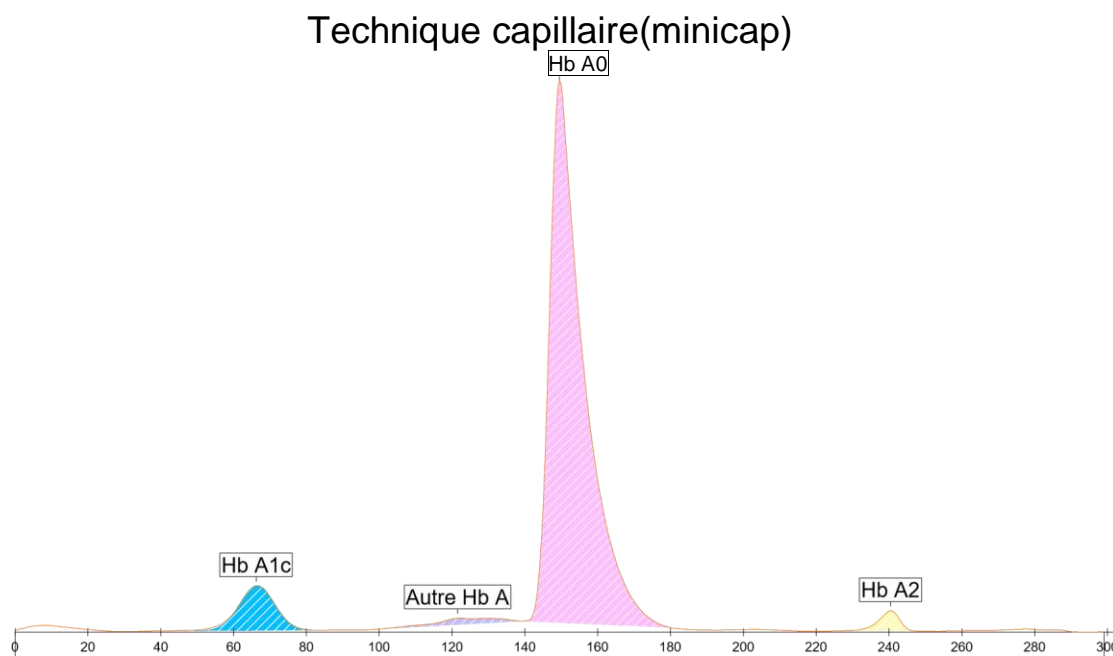
LOT :11079/\*\* EXP :2022/07 P :28

Sample num. 5 Date 03/04/2021

ID : HbA1c control

Age

Sexe



### ELECTROPHORESE DE L'HEMOGLOBINE HbA1c

Fractions	%	mmol/mol	Cal. %
Hb A1c		63	7,9
Autre Hb A	1,7		
Hb A0	88,4		
Hb A2	2,1		

HbA1c % cal: 7,9 %

HbA1c mmol/mol : 63 mmol/mol

Annexe 24 : contrôle de qualité sur Minicap FP®. Le contrôle normal (LRM-MALI)

## LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX

LOT :10079/\*\* EXP :2022/07 P:28

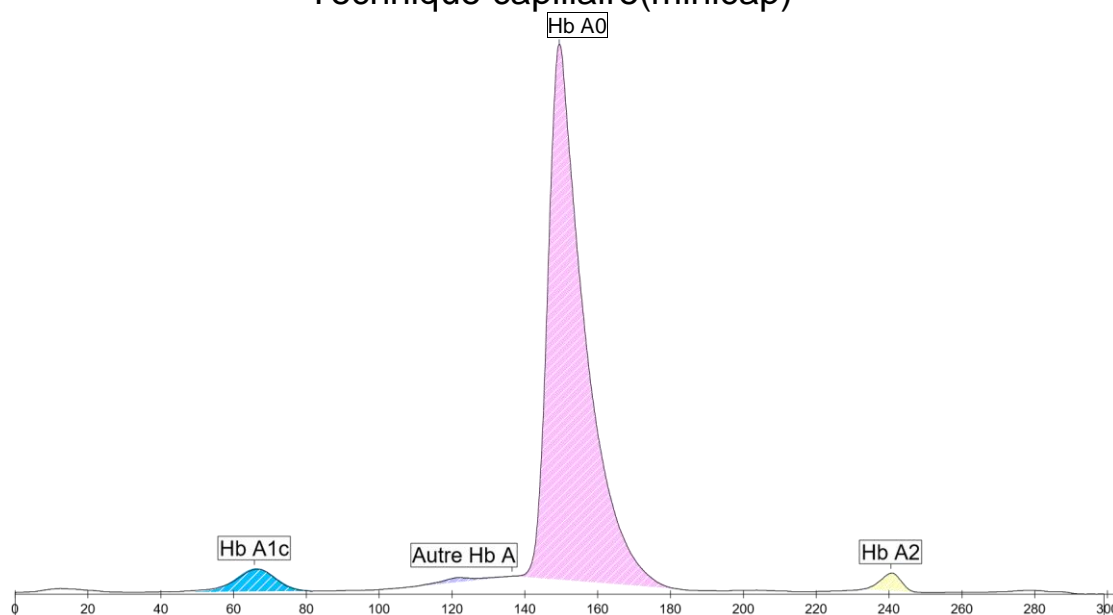
Sample num. 2 Date 07/04/2021

ID : HbA1c control

Age

Sexe

Technique capillaire(minicap)



### ELECTROPHORESE DE L'HEMOGLOBINE HbA1c

Fractions	%	mmol/mol	Cal. %
Hb A1c	-	34	5,3
Autre Hb A	0,7		
Hb A0	93,3		
Hb A2	1,7		

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et  
MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

HbA1c % cal: **5,3 %**

HbA1c mmol/mol: **34 mmol/mol**

**Annexe 25** : portée d'accréditation du laboratoire d'analyse de biologie médicale CICM-MALI.

Royaume du Maroc  
Ministère de l'Industrie, du Commerce,  
de l'Économie Verte et Numérique



المملكة المغربية  
وزارة الصناعة والتجارة  
والاقتصاد الأخضر والرقمي



PORTEE D'ACCREDITATION DU  
LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MEDICALE  
CENTRE D'INFECTIOLOGIE CHARLES MERIEUX

DOSSIER D'ACCREDITATION N° AA 03/2019

Laboratoire : Centre d'infectiologie Charles Mérieux

Adresse : Rue du Dr Charles Mérieux ; ex Base aérienne ; Bamako, Mali

Responsable Technique : Dr Lassina Gadi TIMBINE

Tél : 00 223 76 76 86 74

Fax :

Email : lassana.timbine@cicm-mali.org, ltimbin67@gmail.com

Version : 00 du 29/07/2020

S

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

SEMAG

Portée d'accréditation version 00 du 29/07/2020 du dossier d'accréditation N° MCI/CA AA 03/2019

**1) DOMAINE BIOCHIMIE**

Nature de l'échantillon biologique (urine, sang et dérivés, crachats,...)	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode et le nom de l'automate si méthode automatisée	Référence et version de la méthode utilisée	Lieu de réalisation
Sérum/plasma	Glycémie	Spectrométrie d'absorption	PR-BIO-M-056- Version N°2 du 08/10/2018	Laboratoire
	Transaminases (ASAT)		PR-BIO-M-059- Version N°2 du 08/10/2018	
	Transaminases (ALAT)		PR-BIO-M-060- Version N°2 du 08/10/2018	
	Bilirubine totale		PR-BIO-M-052- Version N°2 du 08/10/2018	
	Triglycéride		PR-BIO-M-043- Version N°2 du 08/10/2018	
	Cholestérol		PR-BIO-M-053- Version N°2 du 08/10/2018	

*es*



**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

SEMAC

Portée d'accréditation version 00 du 29/07/2020 du dossier d'accréditation N° MCI/CA AA 03/2019

**2) DOMAINE HEMATOLOGIE**

Nature de l'échantillon biologique (urine, sang et dérivés, crachats,...)	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode et le nom de l'automate si méthode automatisée	Référence et version de la méthode utilisée	Lieu de réalisation
Sang total	NFS	Impédancemétrie, Cytométrie en flux	PS-MAT-P- 017- Version N°2 du 20/10/2018	Laboratoire
	NFS		PS-MAT-P- 040- Version N°1 du 08/12/2019	

**3) DOMAINE MICROBIOLOGIE : SEROLOGIE INFECTIEUSE**

Nature de l'échantillon biologique (urine, sang et dérivés, crachats,...)	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode et le nom de l'automate si méthode automatisée	Référence et version de la méthode utilisée	Lieu de réalisation
Sérum/plasma	HIV	Méthode immunologique	PR-IMM-P- 023- Version N°2 du 20/10/2018	Laboratoire

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

SEMAC

Portée d'accréditation version 00 du 29/07/2020 du dossier d'accréditation N° MCI/CA AA 03/2019

**4) DOMAINE MICROBIOLOGIE : BACTEROLOGIE**

Nature de l'échantillon biologique (urine, sang et dérivés, crachats,...)	Nature de l'examen/analyse	Principe de la méthode et le nom de l'automate si méthode automatisée	Référence et version de la méthode utilisée	Lieu de réalisation
Échantillons biologiques d'origine humaine Dispositifs implantables Culture bactérienne	Coloration de Gram	Examen morphologique direct macro- et microscopique  à l'état frais et/ou après préparation (coloration (GRAM), culture	PR-BAC-M- 029- Version N°3 du 07/10/2	<b>Laboratoire</b>
Échantillons biologiques d'origine humaine (sang total)	Hémoculture	Mise en culture (ensemencement)	PR-BAC-M- 022- Version N°4 du 06/10/2018	
Culture bactérienne	Identification par Vitek	Caractérisation biochimique (spectrophotométrie, colorimétrie, ...),	PS-MAT-M- 015- Version N°2 du 12/10/2018	

Visa :

Le Chef de la Division  
de l'Accréditation  
*(Signature)*  
Signé : **Abdelmalek CHAFI EL ALAOU**

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** TOLO

**Prénom :** Saidou Djambatolom

**E-mail :** tolosaidoudjambatolom @gmail.com

**Téléphone :** 002367063154-70731471

**Titre de la Thèse :** Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA).

**Année de soutenance :**

**Ville de soutenance :** Bamako

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie de Bamako.

**Secteurs d'intérêt :** sante publique, diabète, hémoglobine glyquée, variants d'hémoglobine

### Résumé

L'hémoglobine glyquée (HbA1c), issue de la fixation non enzymatique du glucose sur l'extrémité N-terminale de la chaîne de l'hémoglobine A. Les tests HbA1c sont standardisés par rapport à une méthode de référence internationale, ce qui permet d'obtenir des résultats comparables d'une méthode à l'autre et d'un laboratoire à l'autre. Notre étude visait à comparer deux méthodes de dosage de l'HbA1c : D-10® et Minicap FP®.

Notre objectif de ce travail était d'évaluer les valeurs diagnostiques des méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée par les automates D10® et MINICAP®.

Nous avons réalisé une étude prospective transversale de 5 mois s'étendant d'octobre 2020 au février 2021 au CICM-Mali.

Pendant la période d'étude, nous avons enregistré 101 patients sans variants d'hémoglobine de type A/A (normaux), et 65 patients avec variants d'hémoglobine de type A/S ou A/C et 4 patients homozygotes (S/S ou C/C) et 7 patients hétérozygotes composites (S/C) sur un total de 177 patients collectés.

Dans notre étude les femmes étaient toujours majoritaires avec 52,41% contre et un sexe ration H/F = 0,90 sur un effectif de 166 patients. L'âge moyen de nos patients était de 47,98±14,80, la tranche d'âge la plus fréquentent était 40-60 ans qui représentent 48%. La médiane était de 47 ans

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

et des extrêmes de 2 et 88 ans chez les patients totale. Une analyse multivariée a montré que seul le diabète reste indépendamment lié aux variations du taux d'HbA1c. Nous avons trouvé la valeur moyenne de différence de l'HbA1c chez la population totale 0,21 ; population totale diabétique 0,4 ; population totale non diabétique -0,04 ; population avec variant 0,29 ; population sans variant 0,16 ; population avec variant diabétique 0,65 ; population avec variant non diabétique -0,28 ; population sans variant diabétique 0,23 ; population sans variant non diabétique 0,07 ; population A/S 0,63 et population A/S -0,29.

Dans notre étude, le taux de l'hémoglobine glyquée donné par les deux méthodes, nous a donné une bonne concordance et excellente corrélation significative entre les valeurs de dosage de l'HbA1c.

**Mots-clés** : Diabète, hémoglobine glyquée, HPLC, électrophorèse, variants d'hémoglobines, corrélation linéaire CICM-MALI.

## DATA SHEET

**Name:** TOLO

**First name:** Saidou Djambatolom

**Email:** tolosaidoudjambatolom@gmail.com

**Phone:** 002367063154-70731471

**Thesis title:** Method comparison for the determination of glycated hemoglobin on two biochemistry automatons: D-10® BIO-RAD and MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA).

**Defense year:**

**Defense city:** Bamako

**Country of origin:** Mali

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology of Bamako.

Areas of interest: public health, diabetes, glycated hemoglobin, hemoglobin variants

### Summary

Glycated hemoglobin (HbA1c), resulting from the non-enzymatic binding of glucose to the N-terminal end of the hemoglobin A chain. HbA1c tests are standardized against an international reference method, which makes it possible to obtain comparable results from one method to another and from one laboratory to another. Our study aimed to compare two HbA1c assay methods: D-10® and Minicap FP®.

Our objective of this work was to evaluate the diagnostic values of the methods of assaying glycated hemoglobin by the D10® and MINICAP® automats.

We carried out a 5-month prospective cross-sectional study extending from October 2020 to February 2021 at CICM-Mali.

During the study period, we registered 101 patients without hemoglobin variants type A/A (normal), and 65 patients with hemoglobin variants type A/S or A/C and 4 homozygous patients (S/S or C/C) and 7 composite heterozygous patients (S/C) out of a total of 177 patients collected.

In our study, women were still in the majority with 52.41% against and a sex ratio M/F = 0.90 out of a population of 166 patients. The average age of our patients was  $47.98 \pm 14.80$ , the most frequent age group was 40-60 years old, which represents 48%. The median was 47 years and extremes of 2 and 88 years in total patients. A multivariate analysis showed that only diabetes

**Comparaison de méthode pour le dosage de l'hémoglobine glyquée sur deux automates de biochimie : D-10® BIO-RAD et MINICAP FLEX PIERCING® (SEBIA)**

remained independently linked to changes in HbA1c level. We found the mean value of HbA1c difference in the total population 0.21; total diabetic population 0.4; total non-diabetic population -0.04; population with variant 0.29; population without variant 0.16; population with diabetic variant 0.65; population with non-diabetic variant -0.28; population without diabetic variant 0.23; population without non-diabetic variant 0.07; population A/S 0.63 and population A/S -0.29.

In our study, the level of glycated hemoglobin given by the two methods gave us good agreement and excellent significant correlation between the HbA1c assay values.

**Keywords:** Diabetes, glycated hemoglobin, HPLC, electrophoresis, hemoglobin variants, CICM-MALI linear correlation.

## **SERMENT DE GALIEN**

- ❖ **Je jure en présence des maîtres de cette Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes chers condisciples.**
- ❖ **D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**
- ❖ **D'exercer dans l'intérêt de la santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**
- ❖ **De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.**
- ❖ **Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**

**Je le jure.**