

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Aboubekr Belkaid- Tlemcen



Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie et des Sciences
de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Mémoire
En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie
Option : Sciences des Aliments

Thème

***Dosage de l'hémoglobine glyquée dans une
population de Tlemcen : Étude transversale***

Présenté par : M^r Habi Mohammed Amine

Devant le jury composé de :

Président : M^r AZZI Rachid ; Maitre de conférences A, Université de Tlemcen

Examineur : M^r BENZAADA Tayeb ; Résident en médecine interne CHU Tlemcen

Encadreur : M^r RAHMOUN Mohammed Nadjib ; Maitre de conférences A, Université de
Tlemcen

Année universitaire 2014 - 2015

Résumé

La compréhension de la relation entre les valeurs usuelles de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) en fonction des paramètres liés au sujet (l'âge, le sexe, l'IMC et les complications...etc) pourrait bien être une bonne piste pour le dépistage et le suivi du diabète. Dans ce sens, nous avons recruté dix sujets non diabétiques comme témoins et quarante cinq sujets diabétiques de type 2. Les diabétiques ont fait l'objet d'un dosage de leurs taux de glycémie et d'hémoglobine glyquée ainsi qu'un calcul de leur indice de masse corporelle.

Nos résultats montrent que le diabète de type 2, réparties en 73 % femmes diabétiques et 27 % hommes diabétiques (Fig.3). La tranche d'âge la plus touchée par le diabète est entre 45 et 55 ans chez les femmes (24,44%) et chez les hommes cette tranche est supérieure à 65 ans (20%). L'obésité touche 31,11% des femmes et 8,89% des hommes dans la population étudiée. Nous avons aussi constaté une augmentation des valeurs de l'HbA1c avec l'âge chez les deux sexes.

L'étude de corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez les patients diabétiques montre l'existence d'une corrélation moyennement positive ($r = 0,68$). Enfin nous avons constaté que les complications liées au diabète sont plus fréquentes chez le sexe féminin que le sexe masculin.

La connaissance de l'intervalle de référence correspondant des patients afin de mieux interpréter un diabète est importante pour les cliniciens. La corrélation HbA1c/ Glycémie permettrait un meilleur contrôle de l'équilibre glycémique.

Mots clés : Hémoglobine glyquée ; Glycémie; Diabète

Abstract

The understanding of the relationship between the standard values of glycated hemoglobin (HbA1c) and related parameters of the subject (age, sex, BMI, and complications etc ...) could be a good track for following and the screening of diabetes. In this side, we recruited ten non diabetic subjects as witnesses and forty five type 2 diabetic subjects were assayed for their blood glucose and glycated hemoglobin levels and a calculation of their body mass index.

Our results showed that the diabetes is divided into 73% in women and 27% in men (Fig.3). The most affected age group by diabetes is between 45 and 55 years for women (24.44%), while among men it over 65 years (20%). Obesity affects 31.11% of women and 8.89% of men in the studied population. We also found an increase in HbA1c values with age in both sexes.

The correlation study between the values of HbA1c and blood glucose in diabetic patients shows the existence of a moderate positive correlation ($r = 0.68$). Finally we found that diabetes related complications are more common in females than males.

Knowledge of the range of reference corresponding patients to better interpret diabetes is important for clinicians. The correlation HbA1c / blood glucose level allow better control of glycemic control.

Keywords: Glycated haemoglobin; blood glucose; Diabetes

ملخص

معرفة العلاقة بين قيمة الهيموجلوبين السكري (HbA1c) على حسب العوامل المرتبطة بالفرد (العمر، الجنس، مؤشر كتلة الجسم ومضاعفات... الخ)، يسمح بالكشف و الفحص المبكر و متابعة داء السكري. تم أخذ عشرة أفراد غير مصابين بالسكري كشهود وخمسة و أربعون أفراد مصابين بداء السكري من صنف 2 الذين قاموا بقياس مستوى السكر في الدم و نسبة HbA1c. الهدف الذي قمنا بدراسته هو علاقة بين قياس قيمة السكر في الدم و الهيموجلوبين السكري (HbA1c) و حساب مؤشر كتلة الجسم (IMC).

أظهرت نتائج الدراسة على وجود إلاء السكري صنف 2، بحيث نسبة الإناث 73% و نسبة الذكور 27% (صورة 3). والفئة العمرية الأكثر تضررا من داء السكري مابين 45 و 55 سنة إناث (24.44%)، الذكور ما فوق 65 سنة (20%). السمنة بالنسبة للإناث تقدر بـ 31.11% و 8.89% للذكور. ارتفاع قيمة HbA1c وفقا للتقدم في السن لكلا الجنسين.

الارتباط بين معدل السكر في الدم ونسبة HbA1c لداء السكري للمجموعة التي قمنا بدراستها حصلنا على ارتباط إيجابي متوسط بمعامل الارتباط ($r = 0.68$) و المضاعفات و الأمراض للإناث والذكور. معرفة مجال القيم المتعلقة لمرضى السكري يسمح للأطباء بالتشخيص المبكر و المناسب للتحكم أكثر في توازن نسبة السكر في الدم.

الكلمات المفتاحية: الهيموجلوبين السكري ; نسبة السكر في الدم ; داء السكري

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier **Dieu** le tout puissant qui ma donné la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire de Biochimie du CHU de Tlemcen. Je remercie le Médecin Chef service du laboratoire **Mr Benyoucef Mohammed** professeur en biophysique pour m'avoir accueillie au sein de son service, me permettant ainsi d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions, et n'oublierais jamais d'exprimer ma sympathie à l'ensemble du personnel

Je ne cesserai jamais de remercier très chaleureusement mon encadreur **Monsieur Rahmoun Mohammed Nadjib**, Maitre de conférences A, Département de Biologie, Université de Tlemcen de m'avoir aidé, orienté, conseillé et soutenu pendant toute la durée de ce travail.

Je tiens à remercier **Monsieur Azzi Rachid**, Maitre de conférences A, Département de Biologie, Université de Tlemcen d'avoir accepter de présider le jury de ce travail.

Je remercie aussi **docteur Bensaada Tayeb**, Résident en médecine interne de CHU de Tlemcen d'avoir accepter d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier **docteur Ghembaza Amine**, Assistant en médecine interne de CHU de Tlemcen et **docteur Manaa Rachid**, Assistant en médecine épidémiologique de service préventive de CHU de Tlemcen pour leur aide et leur collaboration scientifique.

Je remercie également **Mr Sellah M.** Doctorant au département de Biologie et **docteur Sari Mohammed F**, Maitre assistant en médecine biochimique pour leurs aides précieuses.

Enfin, je remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes parents

A ma famille

A mes amis et mes collègues

Table des matières

Liste des Abréviations	I
Liste des Tableaux.....	II
Liste des Figures.....	III
Définitions	IV
I. Introduction.....	01
II. Synthèse bibliographique	
1. Généralités.....	03
2. Mécanisme physiologique de glucose.....	03
3. Classification du diabète	04
3.1. Diabète de type 1 – DT1 –	04
3.2. Diabète de type 2 – DT2 –	04
3.3. Diabète gestationnel	05
3.4. Autres types spécifiques de diabète	06
4. Complications du diabète	07
4.1.Complications aiguës	07
4.1.1. Acidocétose diabétique	07
4.1.2. États hyperosmolaires	07
4.1.3. Acidose lactique	07
4.1.4. Hypoglycémie	07
4.2.Complications microangiopathiques	08
4.3.Complications macroangiopathiques	08
4.4.Autres complications.....	08
5. Valeurs définies du diabète	09
6. Hémoglobine glyquée	10
6.1.Définition et nomenclature.....	10
6.2.Dosage de l'HbA1c	12

6.3.Intérêt du dosage de l'HbA1c.....	13
6.4.Méthode du dosage de l'HbA1c.....	15
6.5.Équilibre glycémique des diabétiques.....	16

III. Matériel et méthodes

1. Echantillonnage et collecte des données	18
2. Protocoles d'étude	18
2.1.Dosage de la glycémie.....	18
2.1.1. Mode opératoire	18
2.2.Dosage de l'HbA1c	19
2.2.1. Principe.....	19
2.2.2. Mode opératoire	19
3. Analyse statistique.....	20

IV. Résultats et interprétations

1. Répartition des sujets étudiés selon le sexe.....	21
2. Nombre des sujets selon tranche d'âges et selon le sexe	21
3. Répartition de l'obésité selon le sexe	22
4. Répartition de l'HbA1c des sujets selon le sexe	23
5. Augmentation de l'HbA1c en fonction de l'âge chez les diabétiques	24
6. Corrélation entre la glycémie et l'HbA1c chez les sujets diabétiques	25
7. Complications et maladies liées des participants à l'étude	26

V. Discussion.....	28
---------------------------	-----------

VI. Conclusion.....	31
----------------------------	-----------

VII. Références bibliographiques	32
---	-----------

VIII. Annexes	36
----------------------------	-----------

Liste des abréviations

- ACCORD : Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes
- ADA: American Association Diabetes
- ADAG: A1c-Derived Average Glucose Study Group
- ADVANCE: Action in Diabetes and Vascular Disease Preterax and Diamicron Modified Release Controlled Evaluation

- AVC : Accident Vasculaire Cérébral
- Cardio : Cardiopathie
- Cérébro : Cérébropathie
- CHU : Centre Hospitalo Universitaire
- DCCT: Diabetes Control and Complication Trial (groupe de recherche anglaise)

- DG : Diabète Gestationnel
- EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique
- EPSP : Etablissement Publique de la Sante de Proximité
- FID : Fédération International Diabétique
- GAJ: glycémie à jeun
- GIP : glucose dépendent insulino-tropique peptide
- GLP-1 : glucagon-like peptide-1
- GPP: glycémie post-prandiale
- HAS : Haute Autorité de Santé (association européenne)
- HGPO : Hyperglycémie provoquée par voie orale
- HPLC : Haute Performance Liquide Chromatographie
- HTA : Hypertension Artérielle
- IFCC : International Federation of Clinical Chemistry
- IMC : Indice de Masse Corporelle
- JAMA : Journal of the American Medical Association
- MELAS: mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: mutation d'origine syndrome MELAS.

- MIDD : Maternally Inherited Diabetes and Deafness : lié à la mutation A3243G qui associe aux troubles de la tolérance au glucose de gravité variable une surdité de perception, une dystrophie maculaire réticulée et parfois une atteinte musculaire.

- MODY : Maturity Onset Type Diabetes of the Young :sont caractérisés par une transmission autosomique dominante et une présentation habituelle sous forme d'un diabète non insulino-dépendant du sujet jeune.

- Néphro : Néphropathie
- NGSP: American National Glycohaemoglobin Standardization Program
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé
- Rétino : Rétinopathie
- UKPDS: United Kindom Prospective Diabetes Study (group chercheurs nord American)
- VADT : Veterans Administration Diabetes Trial
- Vasc : Vasculaire

Liste des Tableaux

Tableau n°1 : Les différents types de diabète et leurs manifestations	06
Tableau n°2 : Facteurs pouvant affecter de l'HbA1c.....	13
Tableau n°3 : Les objectifs glycémiques selon les différentes recommandations françaises, internationales et américaines	14
Tableau n°4 : Relation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie moyenne selon le DCCT.....	17

Liste des Figures

Figure n°1. La formation de l'HbA1c glyquée A1c.....	11
Figure n°2. Structure 3D de l'hémoglobine glyquée	11
Figure n°3. Répartitions des sujets diabétiques en fonction du sexe	21
Figure n°4. Répartition des sujets diabétiques selon l'âge et le sexe.....	22
Figure n°5. Répartition de l'obésité selon le sexe.....	23
Figure n°6. Distribution des valeurs de l'HbA1c.....	24
Figure n°7. Distribution des valeurs de l'HbA1c selon le sexe	24
Figure n°8. Tendances de l'HbA1c en fonction de l'âge chez les diabétiques.....	25
Figure n°9. Corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez les patients diabétiques.....	26
Figure n°10. Complications et maladies liées des participants hommes de l'étude.....	27
Figure n°11. Complications et maladies liées des participants femmes de l'étude	27

Définitions

- **AOMI** (artériopathie oblitérante des membres inférieurs) : obstruction des artères des membres inférieurs.
- **Apoptose** : est un mécanisme de mort cellulaire programmée
- **Athérogène** : substance qui produit l'athérome (dépôt de plaques riches en cholestérol sur la paroi interne des artères).
- **Cataracte** : opacité progressive de cristallin provoquant la vision affaiblie ou une cécité.
- **Coronaropathie** : pathologie des vaisseaux qui irriguent le cœur
- **Gingivite** : inflammation des gencives
- **Glaucome** : affection de l'œil caractérisé par une hypertension du globe oculaire
- **Hypothalamus** : c'est une glande située dans le diencephale et forme le plancher du troisième ventricule sert à la régulation des deux grands principaux systèmes de l'organisme (système nerveux et système endocrinien)
- **Otite externe à pyocyanique** : infection de l'oreille par une bactérie bacille (*Pseudomonas aeruginosa*)
- **Parodontites** : infection des tissus dentaires
- **Polydipsie** : fait de boire en grande quantité provoqué par une sensation de soif exagérée
- **Polyurie** : augmentation anormale du volume des urines
- **Pulsatilité** : pulsatile (adjectif), animé de pulsation
- **Splénectomie** est une ablation chirurgicale de la rate
- **Splénomégalie** : augmentation du volume de la rate

Introduction

Entité aux aspects cliniques et étiologies multiples, le diabète se définit par un état d'hyperglycémie persistante dans les conditions normales d'alimentation et en l'absence d'affections intercurrentes ou de prise médicamenteuse susceptible d'induire une hyperglycémie transitoire. La fréquence de la maladie et la gravité de ses complications en font un problème majeur de santé publique, d'autant qu'elle connaît, dans toutes les parties du globe, une augmentation alarmante de sa prévalence [Blickle, 2014]. Dans le monde, 387 millions de personnes étaient atteintes de diabète et 46,3% de cas non diagnostiqué [FID, 2014].

Selon l'OMS, l'incidence du diabète dans la population du Maghreb est de l'ordre de 12%. En Algérie, le nombre des diabétiques a voisine les 4 millions de personnes souffrant de cette maladie. Les spécialistes divergent sur la quantification du diabète, quatrième cause de mortalité chez nous. L'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, en collaboration avec l'Office national des statistiques et des représentations des Nations unies à Alger, classe la pathologie du diabète en deuxième position, derrière l'hypertension artérielle. Selon ces données, le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression. Elle est passée à 0,3% chez les sujets âgés de moins de 35 ans, à 4,1% chez les sujets entre 35-59 ans et à 12% chez les sujets plus de 60 ans [Chakib, 2011]. A Tlemcen, la prévalence de diabétique d'après les statistiques du CHU de Tlemcen est de l'ordre de 570 cas au cours de deux années 2012 et 2013 [Epidémiologie et médecine préventive CHU de Tlemcen, 2014].

Toutes les recommandations actuelles font état de l'intérêt du dosage de l'HbA1c pour la surveillance de l'équilibre glycémique des diabétiques [Selvin *et al.*, 2010 ; Bauduceau *et al.*, 2010]. Ce paramètre est, en effet, très commode puisqu'il reflète grossièrement la moyenne des glycémies des trois derniers mois. Sa standardisation par des techniques validées permet, de disposer d'un indicateur fiable qui n'impose que peu de contraintes pour les malades puisqu'il n'est pas nécessaire d'être à jeun pour se rendre au laboratoire.

Nul ne conteste donc l'intérêt primordial de l'HbA1c dans la surveillance de l'équilibre glycémique de ces nombreux malades, mais chacun lui reconnaît certaines limites. Globalement, différentes recommandations officielles placent les objectifs d'HbA1c entre 6,5 et 7 %. En revanche, une moindre exigence est de mise en cas de diabète ancien et déjà compliqué, notamment chez les sujets âgés [Bauduceau et *al.*, 2010].

Le but de notre travail est de voir la répartition du diabète en fonction du sexe, de l'âge, de l'IMC et des complications micro- et macro-vasculaires, ensuite de rechercher une éventuelle corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et celles des taux de la glycémie à jeun chez les patients diabétiques.

Synthèse
bibliographique

1. Généralités

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie chronique. A l'origine, le terme diabète désignait diverses maladies caractérisées par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense [Calop et *al.*, 2008]. Cette pathologie se distinguait par la saveur sucrée des urines et fut nommée diabète sucré [Rodier, 2001 ; Sharma, 2008].

La cause du diabète peut être un déficit de la production de l'insuline pancréatique ou un déséquilibre entre les hormones hypoglycémiantes (insuline) et hyperglycémiantes (glucagon). Le diabète entraîne une série d'anomalies des tissus liées au fait que l'utilisation du glucose ne se fait plus normalement. Certaines protéines par exemple subissent des altérations de leurs structures par couplage avec des molécules de glucose, c'est le cas de l'hémoglobine qui devient hémoglobine glyquée (HbA1c). Son dosage dans le sang donne une idée de l'ancienneté des troubles et de la gravité de la maladie [Carip, 2004].

2. Mécanisme physiologique de glucose

La concentration du glucose dans le sang ou la glycémie est l'une des constantes imiques les plus importantes que l'organisme maintient dans des limites strictes. Le glucose est le substrat énergétique vital directement et rapidement utilisable pour la couverture des besoins métaboliques des cellules. En effet, le système nerveux ne peut survivre que quelques minutes en l'absence totale du glucose.

Chez un adulte normal, la glycémie se situe entre 0,80 et 0,90 g/L, constatée le matin au réveil, en l'absence de toute ingestion alimentaire et de tout effort récent. Ces valeurs augmentent de manière importante après un repas pour atteindre 1,20, 1,60 voire 2,00 g/L, suivant la première heure après le repas. Les valeurs de la glycémie reviennent à la normale en moyenne deux heures après le repas. Cette rapidité de réaction est due à un ensemble de mécanismes hormonaux, dont la stimulation spécifique de la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans pancréatique. L'augmentation de la glycémie déclenche rapidement la sécrétion d'insuline, qui favorise l'entrée du glucose dans les cellules par l'augmentation de la perméabilité des membranes, en même temps, le pancréas secrète une autre hormone, le glucagon, dont l'effet est inverse.

Le foie est l'organe principal capable de mettre en réserve ou de mobiliser rapidement le glucose et qui joue le rôle de tampon glycémique.

L'hypoglycémie peut avoir lieu par une stimulation de l'hypothalamus qui active l'ensemble du système nerveux végétatif sympathique, ce qui permet d'augmenter la glycémie. Au cours du temps le mécanisme d'hypoglycémie fait intervenir d'autres hormones (hormones de croissance, cortisol, etc) qui diminuent l'utilisation cellulaire du glucose [Carip, 2004].

3. Classification du diabète

Diverses affections, aux étiologies et expressions cliniques extrêmement différentes [ADA, 1997] répondent à la définition du diabète.

3.1. Diabète de type 1 – DT1 –

Autrefois connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète maigre (puisqu'il a été signalé surtout chez le sujet jeune et maigre). C'est un diabète qui apparaît chez les personnes dont le pancréas ne secrète plus d'insuline, suite à une destruction des cellules β par un virus, par un toxique ou par un autre mécanisme [Carip, 2004].

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune spécifique d'organe, survenant sur un terrain favorable, caractérisé par des gènes de susceptibilité, et provoquée par l'intervention de facteurs liés à l'environnement. L'organe concerné est la cellule β qui est spécifiquement et irrémédiablement détruite par les mécanismes immunologiques. Les autres cellules de l'îlot de Langerhans qui produisent d'autres hormones (glucagon, somatostatine...) restent indemnes de l'infiltration de la structure endocrine par les immunocytes [Wémeau, 2014].

3.2. Diabète de type 2 – DT2 –

Autrefois connu sous le nom de diabète non insulino-dépendant (DNID). C'est un diabète qui apparaît chez les personnes qui secrètent des quantités insuffisantes de l'insuline par rapport aux besoins (suite à un dérèglement de la sensibilité des cellules β aux variations de la glycémie), ou sans que les tissus ne soient capables de l'utiliser (résistance tissulaire à l'insuline). Le diabète de type 2 apparaît surtout chez la personne adulte et souvent associé à un surpoids et de ce fait est appelé diabète gras [Carip, 2004]. Il s'agit de loin de la forme la plus

fréquente de diabète, modèle à la fois de maladie chronique et d'affection illustrant l'interaction gène environnement. Classiquement, il se révèle après l'âge de 40 ans dans un contexte d'excès pondéral. Son mode de début est insidieux et très fréquemment la maladie n'est découverte qu'après plusieurs années d'évolution, parfois à l'occasion de complications [Blickle, 2014].

La physiopathologie du DT2 est complexe associée à des degrés variables une insulino-résistance hépatique et périphérique et une défaillance de la cellule β [Reaven, 1988]. Ces anomalies conduisent à une augmentation de la production hépatique de glucose et une diminution de sa capture périphérique et de son stockage musculaire [Kahn, 2003].

La dysfonction β -cellulaire se manifeste précocement par des anomalies de la pulsativité de l'insulino-sécrétion, du clivage de la pro-insuline avec augmentation du rapport pro-insuline/insuline circulantes et une diminution de la phase précoce de sécrétion insulinique après stimulation par le glucose. Progressivement, elle évolue vers un déficit global de l'insulino-sécrétion dont l'accentuation progressive au cours de l'évolution de la maladie explique la tendance à l'accentuation de l'hyperglycémie. Dans cette évolution, la glucolipotoxicité semble jouer un rôle important en favorisant l'apoptose des cellules β , mais d'autres facteurs expliquent vraisemblablement leur régénération insuffisante par rapport au niveau d'apoptose [Blickle, 2014].

3.3. Diabète gestationnel

Il correspond à un diabète découvert à l'occasion d'une grossesse. Le plus souvent, il se présente sous la forme d'une hyperglycémie modérée, d'accentuation progressive après la 24^{ème} semaine d'aménorrhée et disparaissant à l'accouchement. Le diabète gestationnel s'accompagne d'un risque de macrosomie fœtale et de diverses complications obstétricales. Son dépistage est actuellement recommandé en présence de facteurs de risque (âge ≥ 35 ans, IMC ≥ 25 kg/m², antécédents familiaux de DT2 ou personnels de DG ou de macrosomie). Après l'accouchement, les femmes ayant présentées un diabète gestationnel devront faire l'objet d'une surveillance et de mesures de prévention hygiéno-diététiques du diabète en évitant la prise de médicaments susceptibles de détériorer la tolérance au glucose [Blickle, 2014].

3.4. Autres types spécifiques de diabète (Tableau n° 01) [Blickle, 2014] :

Tableau n°01 : Les différents types de diabète et leur manifestation

Types de diabète	Manifestation
Anomalies génétiques de la fonction des cellules β	<ul style="list-style-type: none"> - facteur de transcription nucléaire des hépatocytes (HNF) 4α (MODY 1) : - glucokinase (MODY 2) - HNF-1α (MODY 3) - facteur promoteur de l'insuline (IPF) 1 (MODY 4) - HNF-1β (MODY 5) - ADN mitochondrial - conversion de la pro-insuline ou de l'insuline
Anomalies génétiques de l'action de l'insuline	<ul style="list-style-type: none"> - insulino-résistance de type A - leprechaunisme - syndrome de Rabson-Mendenhall - diabète lipo-atrophique
Maladies du pancréas exocrine	pancréatite, pancréatectomie, cancer, fibrose kystique, hémochromatose
Endocrinopathies	Acromégalie, syndrome de Cushing, glucagonome, phéochromocytome, hyperthyroïdie, somatostatine, syndrome de Conn
Induction médicamenteuse ou par une substance chimique	Vacor, pentamidine, acide nicotinique, glucocorticoïdes, hormones thyroïdiennes, diazoxide, agonistes β -adrénergiques, thiazidiques, phénytoïne, interféron α , inhibiteurs des protéases, clozapine, β -bloquants
Infections	Rubéole congénitale, cytomégalovirus, virus coxsackie
Formes rares de diabète auto-immun	Syndrome de l'homme raide, anticorps antirécepteurs à l'insuline
Autres syndromes génétiques associés parfois au diabète	Trisomie 21, syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, syndrome de Wolfram, ataxie de Friedreich, chorée de Huntington, syndrome de Laurence-Moon-Bardet-Biedl, dystrophie myotonique, porphyrie, syndrome de Prader-Willi

4. Complications du diabète

Il est exposé à des nombreuses complications qui procèdent de mécanismes complexes associant à l'hyperglycémie.

4.1. Complications aiguës

4.1.1. Acidocétose diabétique

Elle résulte d'une carence profonde en insuline à l'origine d'une hyperglycémie, responsable d'une déshydratation et d'une augmentation de la lipolyse, le catabolisme des acides gras libres conduisant à une acidose métabolique par excès de production de corps cétoniques. Cette complication peut être révélatrice du diabète de type 1 ou survenir à l'occasion d'une interruption accidentelle ou volontaire du traitement insulinique ou lors d'une affection intercurrente sévère [Blickle, 2014].

4.1.2. États hyperosmolaires

Une hyperglycémie majeure sans cétose, à l'origine d'une déshydratation sévère à prédominance intracellulaire, peut révéler un diabète de type 2 ou survenir au décours de l'évolution d'un diabète de type 2, en particulier chez le sujet âgé, à l'occasion d'une affection intercurrente ou d'un traitement favorisant la déshydratation ou traduisant une insulino-résistance (diurétiques, corticoïdes...) [Blickle, 2014].

4.1.3. Acidose lactique

Il s'agit d'une complication extrêmement rare, Elle est susceptible de survenir dans un contexte d'intoxication par la metformine (insuffisance rénale) ou d'une hyperproduction tissulaire d'acide lactique à l'occasion d'une hypoxémie tissulaire chez un diabétique traité par metformine [Blickle, 2014].

4.1.4. Hypoglycémie

Il s'agit de la principale complication du traitement par insuline et par sulfamides hypoglycémisants [Cryer et *al.*, 2003]. On parle habituellement d'hypoglycémie lorsque la valeur de la glycémie est inférieure à 0,60 g/L ou qu'il existe des manifestations cliniques

évocatrices. L'hypoglycémie est dite sévère lorsque son traitement nécessite l'intervention d'une tierce personne. Les circonstances favorisantes de l'hypoglycémie sont un surdosage médicamenteux, un apport glucidique insuffisant ou une utilisation majorée de glucose (exercice physique) [Blickle, 2014].

4.2. Complications microangiopathiques

Atteinte des artérioles terminale et des capillaire au niveau de la microcirculation des yeux (rétinopathie), des reins (néphropathie), et système nerveux périphérique (neuropathie). Son incidence et sa gravité sont corrélées avec la durée d'évolution du diabète et la sévérité de l'hyperglycémie [Stratton *et al.*, 2000 ; DCCT, 1995]. Dans les deux types de diabète il est établi que le contrôle glycémique intensif permet de retarder l'apparition et de ralentir l'évolution des complications microangiopathiques [Stratton *et al.*, 2000 ; DCCT, 1993 ; UKPDS, 1998a ; UKPDS, 1998b].

4.3. Complications macroangiopathiques

A la différence de la microangiopathie, l'atteinte est au niveau des artères, il s'agit des accidents cardiovasculaires (AVC) et neurovasculaire en particulier de type 2. Le diabète intervient comme un mécanisme athérogène aux coté des facteurs majeurs représentés par l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et le tabagisme. La coronaropathie représente une cause majeure d'insuffisance cardiaque et de décès.

L'obtention d'un bon contrôle de la glycémie à la phase aigue de l'infarctus semble associée à une amélioration du pronostic, mais le risque des hyperglycémies dans cette situation a également été souligné. Les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs (AOMI) [Blickle, 2014].

4.4. Autres complications

Les infections bactériennes et fongiques sont classiquement plus fréquentes et plus graves, et pour certaines relativement caractéristiques du diabète (otite externe à pyocyanique, mucormycose rhinopharyngienne...), complications cutanées, l'épaississement gravité des doigts, la cataracte, le glaucome néovasculaire, les gingivites et les paradontites [Blickle, 2014].

5. Valeurs définies du diabète

Reposent sur l'analyse épidémiologique de la prévalence de sa complication considérée comme la plus spécifique, la rétinopathie diabétique. Il existe actuellement trois façons de définir le diabète [ADA, 1997]:

- La mise en évidence d'une glycémie casuelle ≥ 2 g/L en présence de la triade symptomatique : polyurie, polydipsie, amaigrissement ;
- L'existence d'une glycémie à jeun $> 1,26$ g/L (7 mmol/L), confirmée par un second prélèvement effectué à quelques jours ou semaines d'intervalle ;
- Une glycémie 2 heures après charge orale de 75 g en glucose > 2 g/L (11,1 mmol/L), qui devrait en principe être confirmée à distance par un prélèvement glycémique effectué à jeun ou un deuxième test d'hyperglycémie provoquée par voie orale. Cette dernière façon de définir le diabète, largement utilisée en épidémiologie, n'est pas recommandée dans la pratique clinique.

Deux situations intermédiaires peuvent être individualisées entre la normo-glycémie et le diabète :

- L'hyperglycémie modérée à jeun qui correspond à l'existence d'une glycémie à jeun comprise entre 1,10 et 1,25 g/L, les experts américains proposant même d'y intégrer une forme mineure définie par une glycémie à jeun comprise entre 1,00 et 1,09 g/L ;
- L'intolérance au glucose qui correspond à une glycémie comprise entre 1,40 et 1,99 g/L, 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose.

Dans les deux cas, le diagnostic devrait être confirmé par un seconde dosage. En dépit de nombreuses tentatives d'utiliser le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) comme critère diagnostique, ce paramètre biologique n'a pu être retenu pour l'instant en raison de la mauvaise standardisation des méthodes de dosages, mais aussi du fait que certains facteurs indépendants de la glycémie sont susceptibles d'en modifier le résultat. En présence d'une valeur glycémique élevée ou limite, une HbA1c élevée constitue toutefois un marqueur de chronicité de l'hyperglycémie [Blickle, 2014].

6. Hémoglobine glyquée

6.1. Définition et nomenclature

L'HbA1c est le résultat d'une réaction générale connue sous le nom de glycation non enzymatique des protéines et qui se traduit par la fixation du glucose sur un résidu amine d'une protéine. Plus exactement, la fixation d'une unité de glucose sur la valine N-terminale d'une chaîne β de globine de l'HbA (hémoglobine n'ayant pas subi le phénomène de glycation). L'HbA peut également fixer des unités de glucose sur des résidus lysine qui se trouvent sur les quatre chaînes de globine entrant dans la structure de l'hémoglobine. C'est pour cette raison qu'il n'y a pas identité entre l'HbA1c et l'hémoglobine glyquée. Cette dernière regroupe toutes les formes d'hémoglobine ayant subi la glycation, quel que soit le site de cette réaction. Dans ces conditions, l'HbA1c n'apparaît que comme une forme particulière, bien que prépondérante, des hémoglobines glyquées [Colette et Monnier, 2014].

Les hémoglobines normales sont constituées d'un hème, de 2 chaînes alpha et de 2 chaînes non alpha, à savoir 2 chaînes β pour l'HbA, 2 chaînes delta pour l'HbA2 et 2 chaînes gamma pour l'HbF. Les hémoglobines HbA1a, HbA1b et HbA1c résultent d'une modification post-traductionnelle. HbA0, composant principal de l'HbA, est glyquée sur des sites qui n'entraînent pas de modification de son pHi, les différents produits de glycation de l'HbA1 sur l'extrémité N-terminale des chaînes beta s'accompagnent d'une modification de leur pHi : il s'agit des HbA1a1, HbA1a2, HbA1b, HbA1c et HbA1d. Avant de donner la fonction cétoamine stable caractéristique de l'HbA1c, il se forme une fonction aldimine (base de Schiff) conduisant à une Hb pré-A1c, labile et minoritaire, qui ne doit pas être évaluée en même temps que l'HbA1c (Figure n°01).

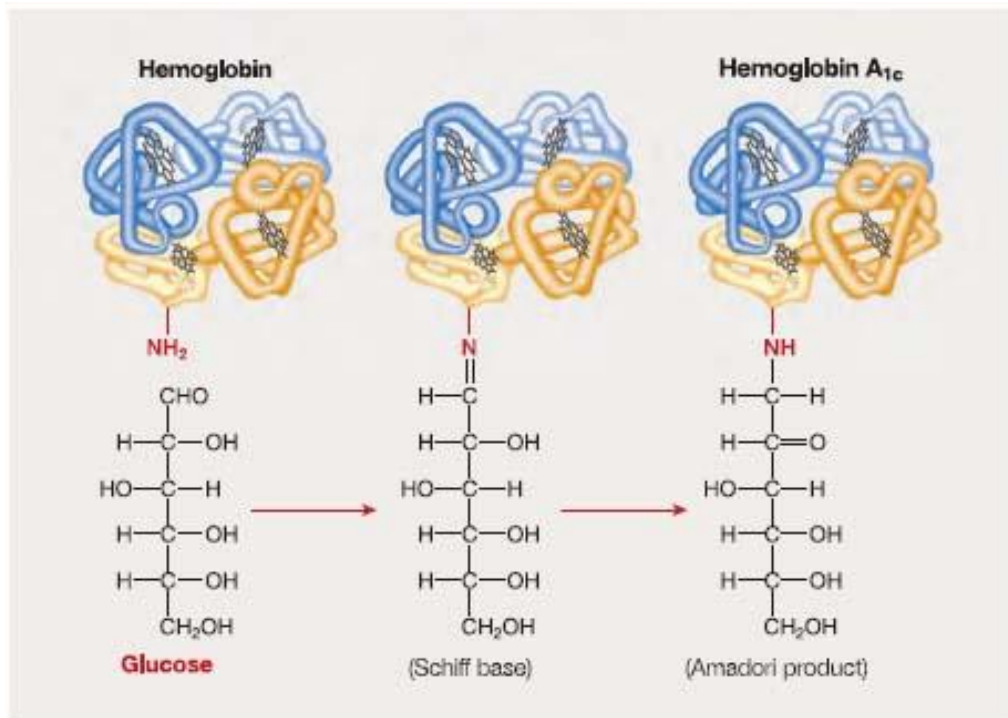


Figure n°01. La formation de l'hémoglobine glyquée A1c (Marchetti, 2009)

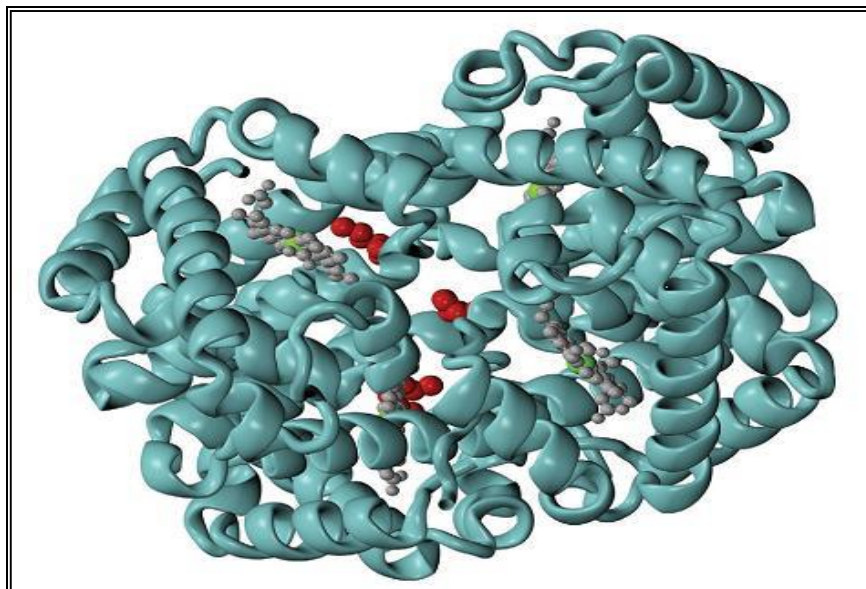


Figure n°02. Structure 3D de l'hémoglobine glyquée (Leblanc, 2013)

6.2. Dosage de l'HbA1c

Le dosage de l'HbA1c est un atout considérable dans la prise en charge des patients diabétiques. La connaissance du mécanisme de glycation de l'hémoglobine et des principes de dosages utilisés sont indispensables aux biologistes pour assurer une interprétation des résultats pleinement utile au clinicien [Leblanc, 2013].

L'HbA1c permet dans la plupart des cas de faire une estimation fiable de la glycémie moyenne au cours des trois à quatre derniers mois [Mc Carter *et al.*, 2006]. La glycémie moyenne représente 50% de la valeur dans les 30 jours précédant immédiatement le prélèvement sanguin (jours 0 à 30), et 10% dans les 90 à 120 jours précédant le prélèvement [Goldstein *et al.*, 2004; Calisti et Tognetti, 2005]. Dans certaines circonstances plutôt rares, quand il y a augmentation ou diminution significative de la vitesse de renouvellement des globules rouges ou quand la structure de l'hémoglobine est altérée, l'HbA1c peut ne pas être un reflet fidèle de la glycémie (voir le tableau n°02).

L'HbA1c est actuellement la norme pour évaluer l'hémoglobine glyquée et des laboratoires sont encouragés à normaliser la méthode de dosage selon les valeurs de référence de l'étude DCCT [ADA, 2007 ; ADA, *et al.*, 2007 Sacks, 2002]. L'HbA1c représente un bon indicateur de l'efficacité du traitement et doit être mesurée tous les trois mois quand les objectifs glycémiques ne sont pas atteints et qu'on ajuste le traitement. Quand les objectifs glycémiques sont atteints et maintenus (Tableau n°03), on peut envisager de mesurer l'HbA1c tous les six mois [ADA, 2007].

Tableau n°02 : Facteurs pouvant affecter l'HbA1c (Goldenberg et *al.*, 2011)

Facteur	Elévation du taux d'HbA1c	Baisse de l'HbA1c	Fluctuation de l'HbA1c
Erythropoïèse	-Carence en fer -Carence en vitamine B ₁₂ -Réduction de l'érythropoïèse	-Prise d'érythropoïétine, de fer ou de vitamine B ₁₂ -Réticulocytose -Hépatopathie chronique	
Altération de l'hémoglobine			-Hémoglobine fœtale -hémoglobinopathies -Méthémoglobine -Déterminants génétiques
Altération de la glycation	-Alcoolisme -Insuffisance rénale chronique -Baisse du pH des érythrocytes	-prise d'AAS, de vitamine C ou de vitamine E -Hémoglobinopathies -Augmentation du pH des érythrocytes	
Destruction des érythrocytes	-Prolongation de la durée de vie des érythrocytes : splénectomie	-Baisse de la durée de vie des érythrocytes : <ul style="list-style-type: none"> • Insuffisance rénale chronique • Hémoglobinopathies • Splénomégalie • Polyarthrite rhumatoïde • Antirétroviraux • Ribavirine • Prise de dapsone 	
Tests	-Hyperbilirubinémie -Hémoglobine carbamylée -Alcoolisme -Fortes doses d'AAS -Usage chronique d'opiacés	Hypertriglycémie	Hémoglobinopathies

6.3. Intérêt du dosage de l'HbA1c

La cible d'HbA1c ne peut se situer au-dessous de 6 % aux vues des résultats de l'étude ACCORD. En effet, un objectif d'HbA1c inférieur à 7 % est globalement proposé dans la plupart des recommandations internationales. Cependant, la durée de l'évolution du diabète doit constituer un paramètre à prendre en compte. Ainsi, l'UKPDS a bien établi qu'un traitement intensif, dès la découverte du diabète, réduisait les complications

micro- et macro-vasculaires. En revanche, lorsque la durée d'évolution du diabète dépasse dix ans, comme dans l'étude ADVANCE, ce traitement intensif diminue les complications micro-vasculaires mais n'a pas d'effet sur les complications macro-vasculaires. Dans VADT, un traitement intensif du diabète devient néfaste dès lors que le diabète de type 2 évolue depuis plus de 12 ans. La dernière étude observationnelle, très critiquable en raison de ses nombreux biais, attire toutefois l'attention sur le fait qu'un abaissement trop important de l'HbA1c n'est probablement pas sans conséquence délétère et que l'HbA1c optimale serait de 7,5 % [Currie *et al.*, 2010]. Quoi qu'il en soit, l'objectif d'HbA1c doit être déterminé de façon individuelle en fonction de l'historique du diabète, des complications et des facteurs de risque cardiovasculaire. Les recommandations publiées par la HAS en 2006 prenaient déjà en compte ces paramètres en prônant un équilibre plus ambitieux au stade initial par des mesures hygiéno-diététiques (HbA1c < 6%) pour être moins exigeant sous mono- ou bithérapie (HbA1c < 6,5 %) et moins encore lors d'une trithérapie ou d'une insulinothérapie (HbA1c < 7 %) (Tableau n° 03). Enfin, chez les sujets âgés fragiles, l'objectif d'HbA1c situé entre 7,5 et 8,5% apparaît raisonnable [Constans, 2005].

Tableau n°03 : Les objectifs glycémiques selon les différentes recommandations françaises (HAS), internationales (IDF) et américaines (ADA).

	HbA1c (%)	Glycémie à jeun (g/L)	Glycémie postprandiale (g/L)
HAS 2006	< 6 sous mesures hygiéno-diététiques < 6,5 sous monothérapie et bithérapie < 7 sous trithérapie et insulinothérapie	0,80 à 1,20	< 1,80
IDF 2007	< 6,5	< 1	< 1,40 (2 heures après le repas)
ADA 2008	< 7	0,90 à 1,30	< 1,40 (1 heures après le repas) < 1,80 (2 heures après le repas)

6.4. Méthodes du dosage de l'HbA1c

Des efforts considérables ont été faits depuis des décennies pour améliorer et standardiser ce dosage notamment par plusieurs sociétés savantes internationales. Une démarche particulièrement active et efficiente a été faite en ce sens par le Diabetes Control and Complication Trial [DCCT, 1993], l'United Kindom Prospective Diabetes Study [UKPDS, 1998] et de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) [Jeppson et al., 2002]. Le rapprochement des différentes standardisations est largement entamé mais pas tout à fait complet car ce sont encore actuellement les recommandations du DCCT qui font le plus souvent référence pour le suivi des patients. Une équation dénommée *gold equation* permet d'établir le lien entre les systèmes NGSP et IFCC : $NGSP = (0,915 \times IFCC) + 2,15$ [Miedema, 2004]. Il existe actuellement sur le marché une vingtaine de techniques différentes pour ce dosage [Little et al., 2008]. Malgré cette diversité, les résultats produits sont assez proches et quasiment commutables d'une méthode à une autre. Parmi ces méthodes :

- ✓ Méthode utilisant l'affinité du glucose pour l'acide phényl-boronique, c'est la plus ancienne et dose l'ensemble des hémoglobines glyquées [Leblanc, 2013].
- ✓ Méthodes utilisant les variations de charge mettent en évidence l'HbA0, HbA1a, HbA1b et l'HbA1c. Il s'agit des techniques par électrophorèse, ou le plus souvent par chromatographie sur résine échangeuse d'ions [Leblanc, 2013], ou Chromatographie liquide haute performance (HPLC) ont acquis la reconnaissance de méthodes dites de référence. Elles ont de nombreux atouts : automatisation, spécificité, capacité à identifier les variant de l'hémoglobine.
- ✓ Méthodes utilisant le caractère immunologique de l'HbA1c, par immuno-turbidimétrie Ou immuno-inhibition, donnent des résultats variables selon les épitopes reconnus [Leblanc, 2013].
- ✓ Méthodes utilisant la reconnaissance enzymatique d'un site spécifique de l'Hb glyquée sont une autre alternative au dosage de l'HbA1c. Les résultats sont fonction de la glycémie, de la durée de vie des globules rouges, de la concentration en hémoglobine, de la méthode de dosage selon si elle reconnaît ou pas les variantes, des interférences (immunoglobinopathies...). Il s'agit de la technique HbA1cnetFS. Elle se mesure à partir d'un hémolysat, avec pesage de l'hémoglobine totale et de l'hémoglobine glyquée

puis calcul du ratio et utilisation d'un modèle mathématique de standardisation [Leblanc, 2013].

Indépendamment de la méthode de dosage, l'interprétation du résultat d'HbA1c doit tenir compte des éventuelles interférences physiopathologiques comme la présence d'hémoglobinopathies, d'anémies, d'hémorragies, etc [Leblanc, 2013].

6.5. Équilibre glycémique des diabétiques

L'HbA1c à 7 % peut correspondre aussi bien à un équilibre parfait qu'à un diabète instable comportant de fréquentes hypoglycémies. La surveillance des glycémies capillaires permet de pallier cette insuffisance. La constatation d'une discordance entre l'excellence des glycémies capillaires à jeun et la médiocrité de l'HbA1c doit conduire à la vérification des glycémies postprandiales qui sont habituellement très élevées. Le traitement doit alors être modifié de façon à normaliser ces glycémies post-prandiales afin de parvenir aux objectifs d'HbA1c [Bauduceau, 2010].

On peut confirmer HPGO (hyperglycémie par voie orale), GAJ et GPP, exploration à long terme pour prévenir les complications macroangiopathiques et microangiopathiques à savoir l'albumine glyquée ou fructosamine qui explore la glycémie de 3 semaines précédente ou l'HbA1c qui explore la moyenne glycémique de 3 mois précédente.

Les méthodes développées pour évaluer l'hyperglycémie globale sont spécifiques de l'HbA1c, le résultat devant être fourni en pourcentage d'hémoglobine totale. Les techniques utilisées dans les laboratoires doivent être rapportées à une méthode de référence recommandée par les organisations internationales. Le DCCT et ultérieurement l'UKPDS ont fourni des référentiels d'HbA1c avec une normalité comprise entre 4 et 6 %. Depuis, certaines sociétés (American National Glycohaemoglobin Standardization Program: NGSP) ont amélioré la standardisation du dosage de l'HbA1c qui est aujourd'hui exprimée en équivalent DCCT. Malgré ce, de nombreuses incertitudes persistent en termes de référentiel. Seules les méthodes très sophistiquées permettent d'obtenir des résultats parfaitement fiables. Elles sont malheureusement trop complexes pour être applicables sur une large échelle en routine clinique, ce qui est tout de même l'objectif du dosage de l'HbA1c [Colette et Monnier, 2014].

L'HbA1c d'un sujet qui n'est pas diabétique est comprise entre 4 et 6 %. Ceci signifie que toute personne, même exempte de diabète, est soumise à une exposition chronique au glucose. Cette exposition naturelle et incontournable ne devient pathologique et ne se transforme en exposition hyperglycémique que lorsque l'HbA1c devient supérieure à 6 %. En effet, l'étude ADAG [Nathan *et al.*, 2008] a démontré qu'une glycémie moyenne à 1,26 g/L correspond à une HbA1c égale à 6 %. Bien que le diabète sucré soit défini par une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L, on peut considérer que la glycémie à jeun et la glycémie moyenne sont voisines [Colette et Monnier, 2014].

Les valeurs correspondent de l'HbA1c et la glycémie moyenne est montrée au Tableau n°04.

Tableau n°04 : Relation entre valeurs HbA1c et la glycémie moyenne selon le DCCT [Rohlfing *et al.*, 2002]

Valeurs HbA1c (%)	Glycémie moyenne (g/L)
5	0,97
6	1,26
7	1,54
8	1,83
9	2,12
10	2,40
11	2,69
12	2,98

N.B. L'élévation de 1 % des valeurs d'HbA1c représente une augmentation moyenne de la glycémie d'environ 0,29 g/L.

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage et collecte des données

L'étude a porté sur 55 sujets de la région de Tlemcen, soit 10 sujets non diabétiques (témoins) et 45 diabétiques. Les enquêtes ont été réalisées durant la période Février-Mars 2015 au niveau de service de médecine interne du CHU de Tlemcen et de la Polyclinique de Chetouane (EPSP Tlemcen). Pour chaque sujet ont été notés son : identification, âge, poids, taille, type de diabète, HTA, et les éventuelles complications. Les sujets ont fait l'objet du dosage de leur taux de glycémie à jeun ainsi que l'HbA1c.

Il a été exclu de notre échantillon toute personne :

- N'ayant pas les résultats de dosage HbA1c.
- N'ayant pas les résultats de la glycémie.
- Dont le dossier était incomplet.

Les sujets témoins sont retenus comme tels si leur taux de glycémie (normale) est inférieur à 1,26g/l et le dosage de l'HbA1c inférieur à 6 %, ce sont des valeurs de référence chez les non diabétiques par rapport aux diabétiques.

2. Protocoles d'étude

L'échantillon de sang veineux a été recueilli dans des tubes à EDTA (mauve) et fluorure-héparine (vert) comme anticoagulants. L'EDTA a été utilisé pour dosage de l'HbA1c et l'Héparine a été utilisée pour la glycémie à jeun.

2.1. Dosage de la glycémie

Le dosage de la glycémie a été effectué manuellement avec un spectrophotomètre «biosystème BTS-310» en utilisant les réactifs Biomaghreb.

2.1.1. Mode opératoire (voir l'annexe)

- Centrifuger le sang total à 2000 tour/ mn pendant 10 mn.
- Pipetter 10 µl de plasma dans un tube à essai et lui ajouter 1000 µl (1 ml) de la solution de travail.
- Pipetter 10 µl de standard (étalon) et lui ajouter 1000 µl (1 ml) de solution de travail.

- La préparation du blanc a été réalisée avec 1000 µl de la solution de travail. Ce tube sert pour ajuster le zéro du spectrophotomètre.
- Mélanger et incuber à 37°C pendant 10 mn.
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre contre le blanc du réactif.
- Lire l'absorbance de standard à une longueur d'onde de 505 nm
- Lire l'absorbance de l'échantillon

2.2. Dosage de l'HbA1c

Le dosage a été effectué à l'aide d'une chromatographie à résine échangeuse de cations. La formation de l'HbA1c dans les érythrocytes se fait de manière irréversible et progressive tout au long de leur durée de vie normale (120 jours). Etant stable pendant toute la durée de vie de l'érythrocyte, la concentration de l'HbA1c est le reflet du taux moyen de glucose dans le sang pour les 4 à 6 semaines antérieures au dosage.

2.2.1. Principe

Le sang a été mélangé avec un agent lysant contenant un détergent et une grande concentration en ions borate. L'élimination de la base labile de Schiff a été ainsi achevée durant l'hémolyse. Le sang hémolysé a été mélangé pendant 5 mn, à une faible résine échangeuse de cations. Durant ce temps, l'HbA0 est reliée à la résine. Après avoir mélangé l'ensemble, un séparateur spécial a été utilisé pour éliminer la résine du surnageant qui contient l'HbA1. La proportion de HbA1 est donnée en pourcentage de l'Hb totale dans l'échantillon et ceci par le dosage de la fraction d'HbA1 et de l'Hb total à 415 nm en comparaison avec le dosage du standard de l'HbA1 obtenu au cours de la réaction.

2.2.2. Mode opératoire

➤ **Etape 1** : préparation de la lyse

Pipetter 100 µl dans des CUP (ou tube sec) étiqueté pour chacun échantillon (sang total), standard (STD), contrôle de l'Hb normale (GCN) ou contrôle de l'Hb pathogène (GCA) et ajouter 0,5 ml de la lyse (avant l'emploi bien mélanger) dans chaque tube en suite mélanger et incuber à 15 – 25°C pendant 5 min.

➤ **Etape 2** : détermination de l'HbA1 :

Pipetter 100 µl de l'hémolysat de l'étape 1 dans RGT étiqueté (micro-colonne contient 2,5 ml de la résine).

Insérer SEP (micro-colonne vide) de manière à ce que le caoutchouc soit environ à 1 cm au dessus du niveau de la suspension de résine, agiter dans un agitateur hématologique pendant 5 mn. Pousser SEP au bas jusqu'à ce que la résine soit fermement tassée. Verser le surnageant dans une cuve.

Lire l'absorbance à 415 nm de l'HbA1 STD/échantillon/ contrôle.

➤ **Etape 3** : détermination de l'Hb totale :

- Pipetter 20 µl de l'hémolysat de l'étape 1 dans des tubes étiquetés.
- Ajouter 5 ml de l'eau distillée et mélanger soigneusement.
- Lire l'absorbance A Hb total STD/ échant/ contrôle.

✓ Détermination du facteur F :

$$F = \frac{A_{\text{Hb total STD}} \times \% \text{HbA1}_{\text{STD}}}{A_{\text{HbA1 STD}}}$$

✓ Détermination de HbA1 dans l'échantillon:

$$\% \text{HbA1}_{\text{éch}} = F \times \frac{A_{\text{HbA1 éch.}}}{A_{\text{Hb total éch.}}}$$

N.B. Voir l'annexe: protocole de Glycohémoglobine HbA1- Test (réactif Human).

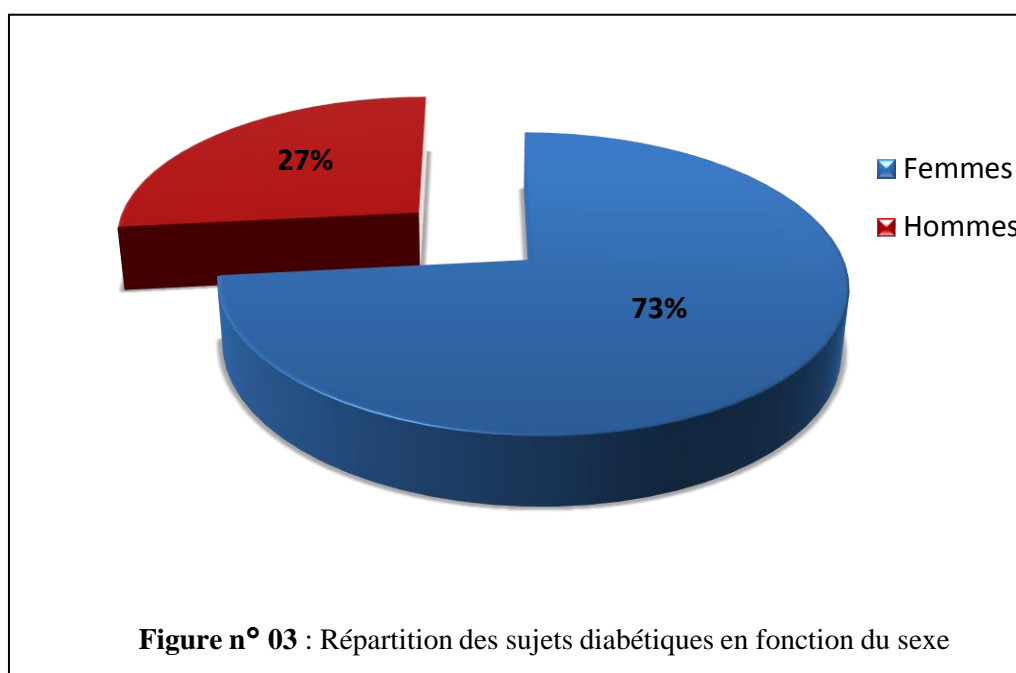
3. Analyse statistique

L'analyse statistique des données (calcul des moyennes, écart type et corrélation) a été réalisée avec le logiciel informatique Microsoft Excel version 2007.

**Résultats et
interprétations**

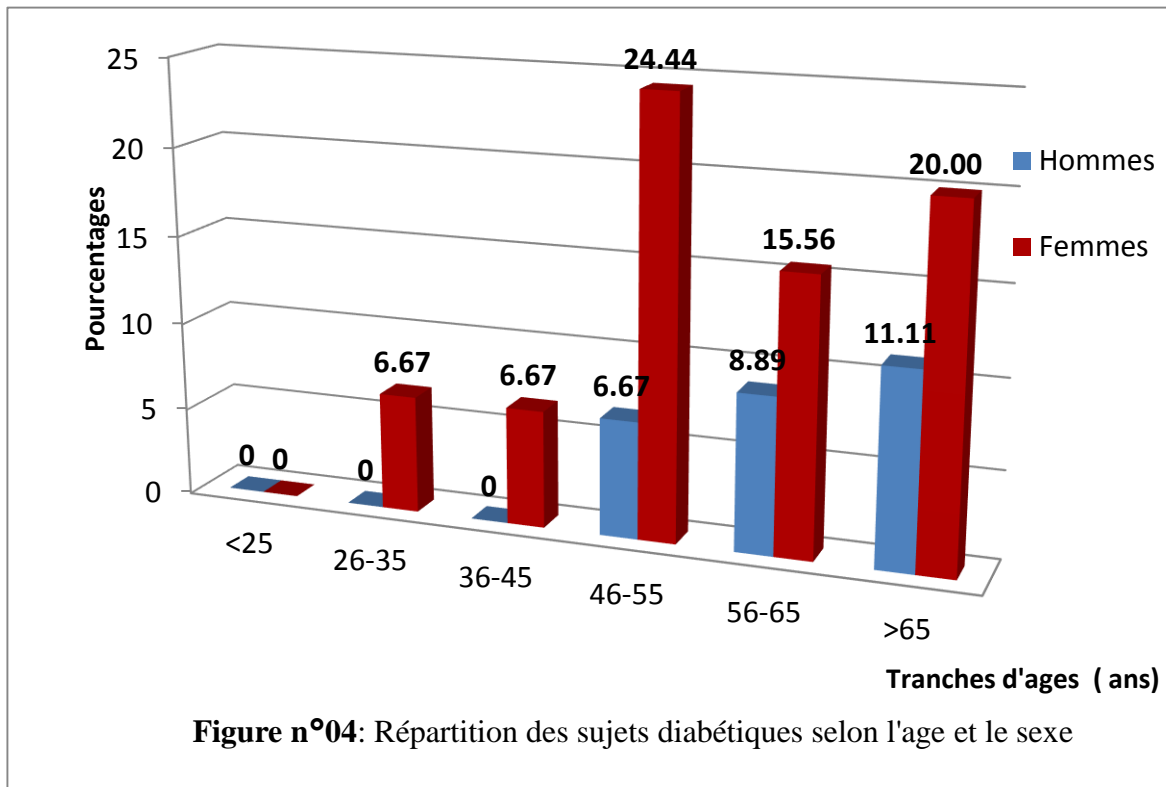
1. Répartition des sujets étudiés selon le sexe

Dans cette étude, la répartition des sujets étudiés selon le sexe est représentée dans la figure n°03. L'analyse des résultats montre une nette dominance du diabète type 2 chez les sujets de sexe féminins que le sexe masculin avec un pourcentage de 73% pour les femmes contre 27% pour les hommes. Ceci qui correspond à un sexe ratio proche de trois.



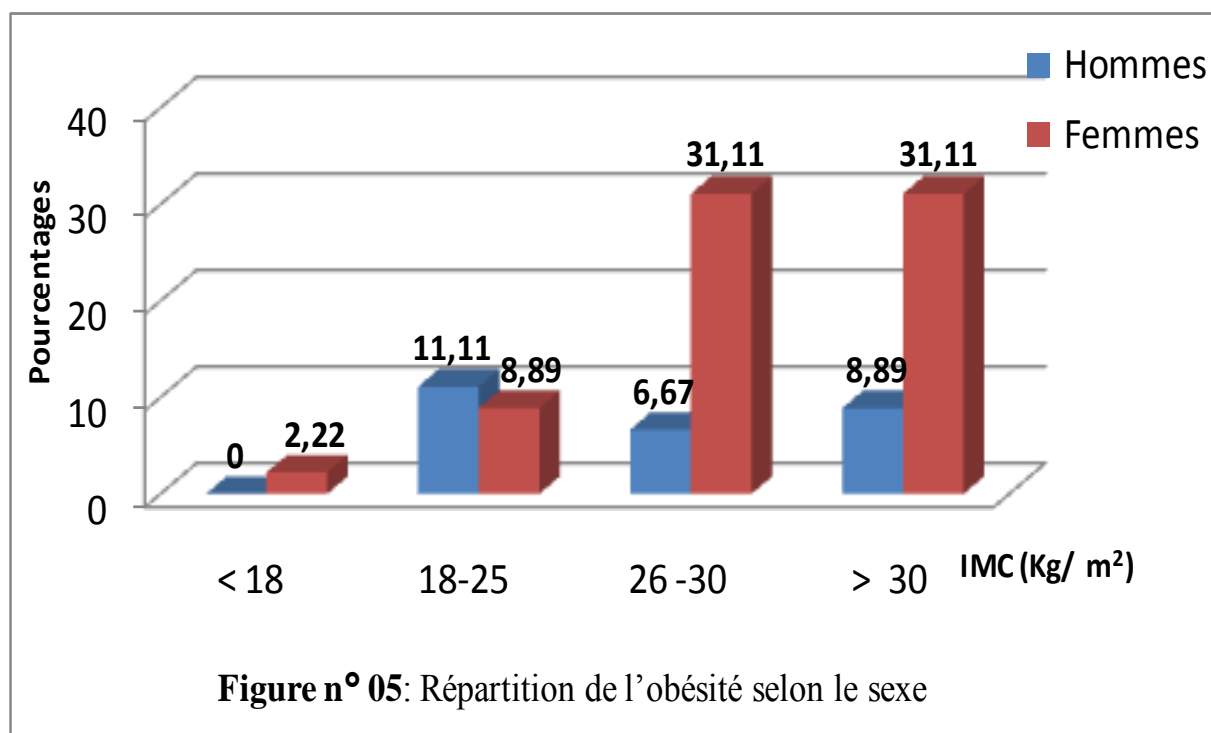
2. Nombre des sujets selon les tranches d'âge et selon le sexe

La figure n°04 représente le nombre des sujets par classes d'âges et de sexe. L'analyse de cette figure montre une augmentation de la fréquence des diabétiques en fonction de l'âge. La tranche d'âge la plus touchée par le diabète est celle comprise entre 45-55 ans (24,44%) pour les femmes alors que pour les hommes la tranche d'âge la plus touchée est celle supérieure à 65 ans (20%). La répartition des sujets selon l'âge montre aussi une prédominance des sujets féminins sur les sujets masculins dans toutes les tranches d'âges sélectionnées.



3. Répartition de l'obésité selon le sexe

La répartition de l'obésité selon le sexe est représentée dans la figure n° 05. Cette figure indique que le surpoids est retrouvé chez 31,11% des sujets du sexe féminins et 31,11% des femmes montrent une obésité. Cependant le surpoids et l'obésité ne sont observés que chez un nombre largement inférieur chez les sujets du sexe masculins (6,7 et 8,89 % respectivement). La corpulence normale est remarquée chez 11,11 % des hommes et 8,89 % chez les femmes et une maigreur est enregistrée chez simplement 2.22 des femmes.



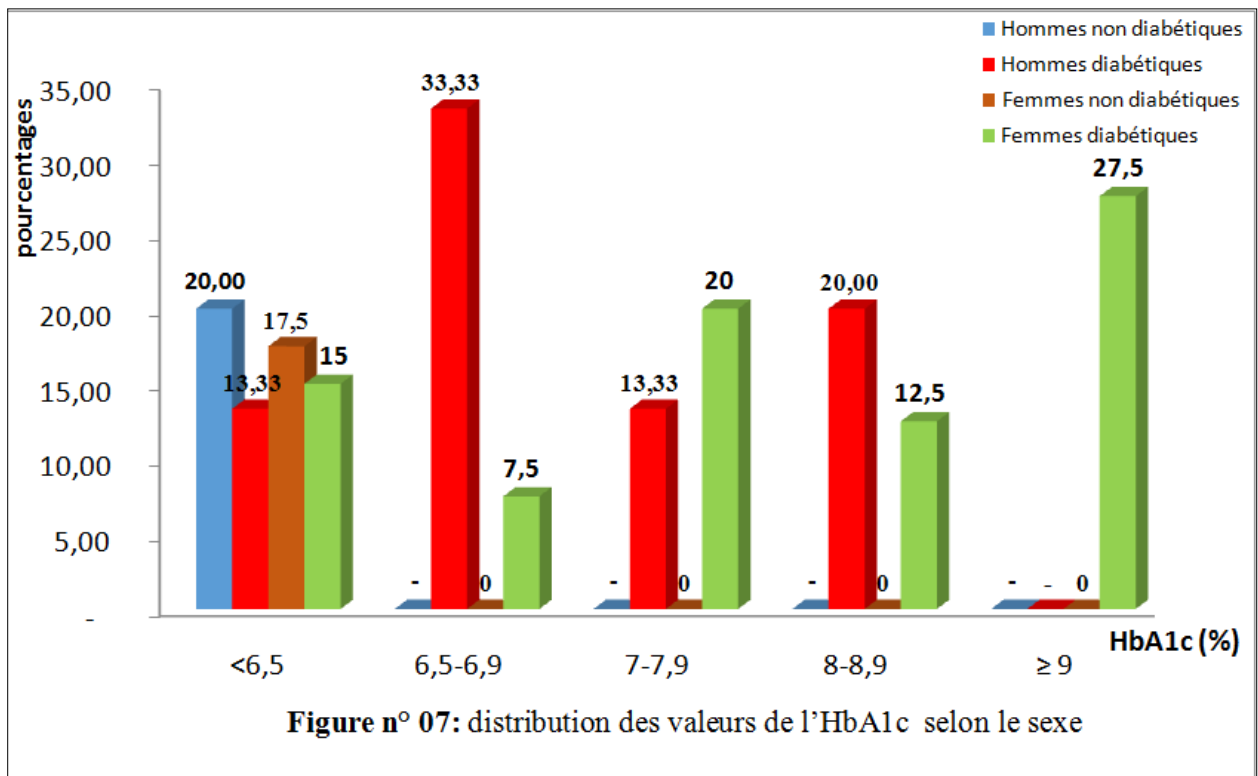
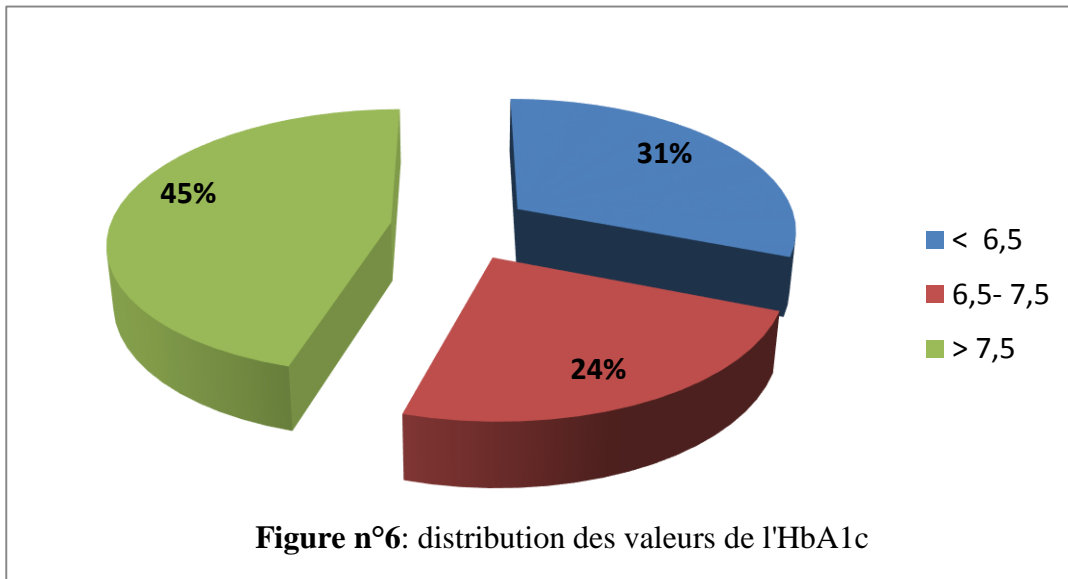
Obésité : IMC > 30 ; Surpoids: IMC entre 26-30 ; Corpulence normale : IMC entre 18-25
Maigre : IMC <18

4. Répartition de l'HbA1c des sujets selon le sexe

La distribution des valeurs de l'HbA1c sont représentés dans la figure n°06. Nous constatons que 45% de notre population montrent des valeurs de l'HbA1c supérieures à 7,5%, 31% montrent des valeurs inférieures à 6,5% alors que seulement 24% exhibent des valeurs comprises entre 6,5 et 7,5%.

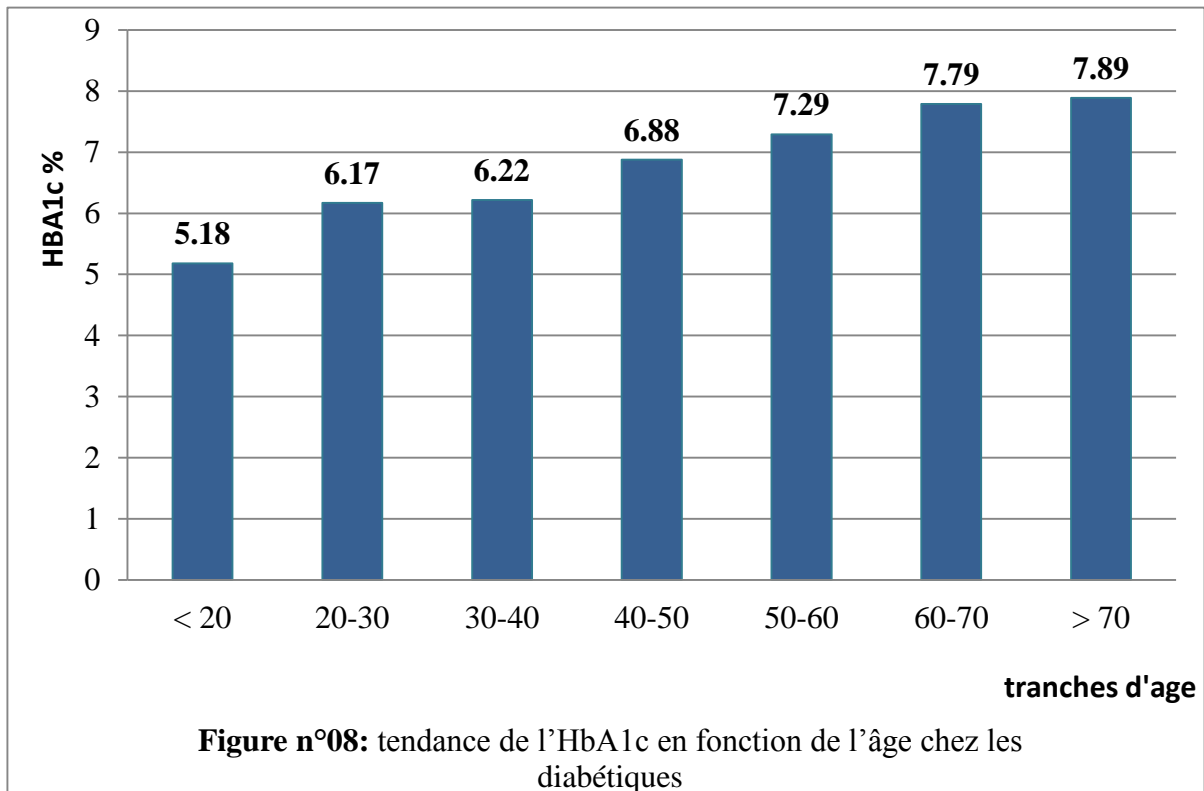
Les résultats de la répartition de l'HbA1c selon le sexe des sujets sont représentés dans la figure n° 07. 33,33% des hommes diabétiques montrent des valeurs de l'HbA1c comprises entre 6,5 et 7% et 27,5% des femmes diabétiques révèlent des valeurs de l'HbA1c supérieures à 9%. Cependant chez les autres sujets diabétiques, la distribution de l'HbA1c est sans différence significative entre les deux sexes ; La moyenne de l'hémoglobine glyquée calculée chez notre population de diabétiques est de l'ordre de 7,72%.

Tous les sujets non diabétiques ont montré des valeurs de l'HbA1c inférieures à 6% et il y a des patients diabétiques leurs valeurs de l'HbA1c inférieures à 6,5%.



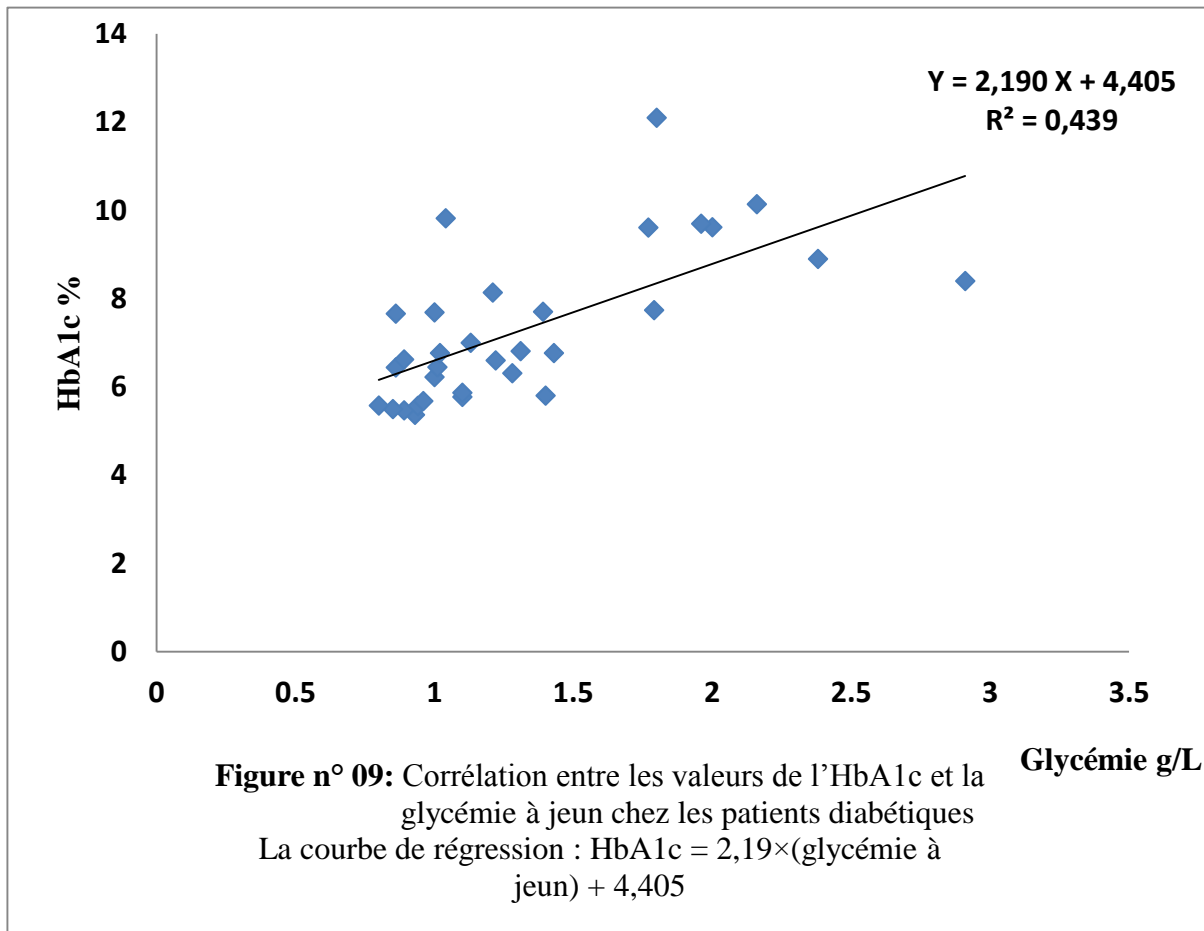
5. Augmentation de l'HbA1c en fonction de l'âge chez les diabétiques

La figure n°08 représente la tendance de l'HbA1c en fonction de l'âge chez les diabétiques. Nous constatons une augmentation des valeurs de l'HbA1c avec l'âge. La valeur moyenne de l'HbA1c était croissante de l'intervalle [< 20 ans] jusqu'à l'intervalle [plus de 70 ans] respectivement de 5,18 jusqu'à 7,89 %.



6. Corrélation entre la glycémie et l'HbA1c chez les sujets diabétiques

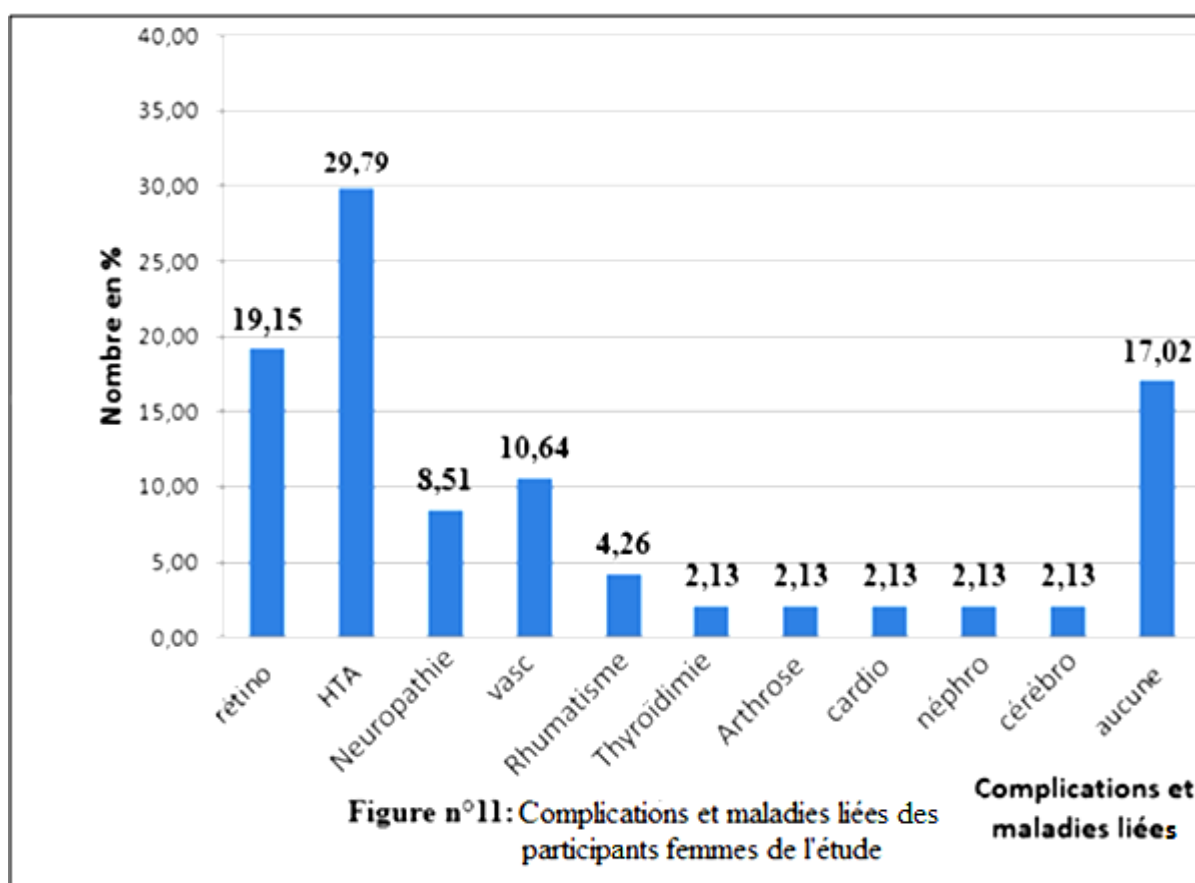
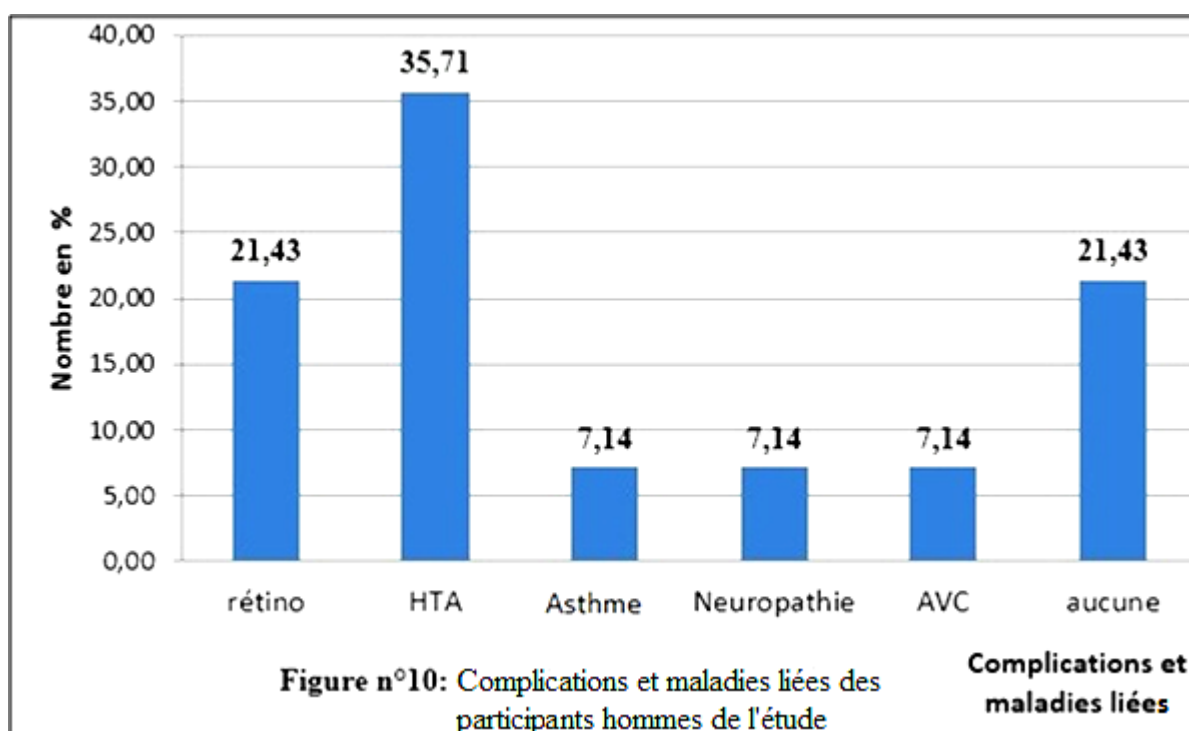
La figure n° 09 montre la corrélation entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez les patients diabétiques. Le calcul du coefficient de corrélation ($r = 0,68$) montre l'existence d'une corrélation moyennement positive entre les valeurs de l'HbA1c et la glycémie à jeun chez la population ayant fait l'objet de notre étude. L'équation de la régression linéaire est comme suit: $HbA1c = 2,19 \times (\text{glycémie à jeun}) + 4,405$. Ainsi, la mesure de l'hémoglobine peut être un indicateur-clé de l'équilibre du diabète.



7. Complications et maladies liées des participants à l'étude

Comme le montrent les deux figures n°10 et n°11, nous constatons que les patients de sexe féminin présentaient plus de complications et des maladies que les patients de sexe masculin. Face à plusieurs complications et maladies retrouvées chez les femmes, seulement moins sont retrouvées chez les hommes. Cependant il n'y a aucune différence significative entre les deux sexes pour les maladies et les complications communes (HTA, rétinopathie et neuropathie).

Enfin pour la population non atteinte nous ne constatons pas aussi de différence importante entre les deux sexes.



N.B. HTA, Rhumatisme, Thyroïdimie, Arthrose et l'Asthme sont des maladies liées au diabète.

(Discussion)

Le diabète est une maladie aggravant l'invalidité, provoquant la diminution de l'espérance de vie, et engendrant de forts coûts médicaux. Notre étude a porté sur quarante cinq patients diabétiques de type 2 répartis en 23 patients suivis à la Polyclinique de Chetouane et 22 patients suivis au service de médecine interne (CHU Tlemcen).

Dans les sujets d'études, les femmes représentent 73% de notre population. Nous ne pouvons pas affirmer à partir de ce pourcentage une prévalence plus élevée des sujets du sexe féminins comparés à ceux du sexe masculin. Ceci peut être en relation avec la petite taille de ce l'échantillon choisi et par occurrence à la période d'étude. En effet, la prédominance du sexe féminin dans la population diabétique de type 2 avait été rapportée par plusieurs études en l'occurrence celle de [Glitho, 2006]. Cet état de chose peut être expliqué par le fait que les femmes ont une faible activité physique, une nourriture riche en lipides générant une obésité associée à un taux plasmatique et tissulaire élevé en acides gras libres.

Dans notre étude tous les diabétiques sont de type 2. Le diabète de type 1 dit diabète juvénile, touche principalement les gens de classe d'âge moins de 20 ans, cependant, le diabète de type 2 dit diabète de maturité touche les gens de plus de 40 ans.

La moyenne de l'hémoglobine glyquée chez ces diabétiques est de 7,72%. Ce résultat montre que la majorité de ces patients étudiés ont un diabète non équilibré. Cela s'explique par le fait qu'ils ne respectent pas les prescriptions hygiéno-diététiques ou ne suivent pas correctement le traitement du diabétologue, ou la dose du médicament ne convient pas.

Nos résultats ont montré qu'il existe une corrélation significative entre le pourcentage d'hémoglobine glyquée et la glycémie ($r = 0,68$). A priori, cela laisse penser que la détermination de l'HbA1c suffit pour préjuger de l'évolution de la maladie. Mais une glycémie isolée contrairement à l'avantage pour le diagnostic de diabète.

Il est très connu que le diagnostic du diabète repose sur la glycémie à jeun. Pour la première fois, un comité d'experts internationaux s'est réuni afin de définir les normes de l'hémoglobine glyquée qui pourraient servir pour le diagnostic de diabète. Ce travail a été publié dans le Journal of the American Medical Association (JAMA), revue très lue par les médecins. Les auteurs envisagent les avantages et les inconvénients de la méthode, ainsi que les valeurs pouvant être qualifiées de références.

La glycémie à jeun définit le diabète lorsque, dosée deux fois, elle est supérieure à 1,26 g/L (7mmol/L). Encore faut-il souligner toutefois que le taux est variable selon la température, les modalités de dosage, et diffère d'un jour à l'autre. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) est plus fiable. Comme toutes les protéines, l'HbA1c fixe le glucose tant qu'elle vit, c'est-à-dire quatre mois, durée de vie du globule rouge contenant l'hémoglobine qui lui donne sa belle couleur. Chaque dosage de l'hémoglobine glyquée fait donc une moyenne des glycémies des mois précédents. C'est dire qu'il n'y a pas de variations d'un jour à l'autre.

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. Sa mesure repose sur un examen de routine, une prise de sang, réalisée tous les trois mois. « C'est l'indicateur de référence pour savoir comment au cours des trois derniers mois, le diabète a été contrôlé », souligne le Pr Reach.

« 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.

Deux études randomisées réalisées par le DCCT et l'UKPDS ont clairement montré le lien entre l'augmentation de l'HbA1c (reflet de la glycémie moyenne) et l'augmentation exponentielle du risque de complications. Grossièrement, pour chaque 1% d'élévation de l'HbA1c, on observe une augmentation relative de 30% des complications microvasculaires [UKPDS, 1998 et DCCT, 1993].

Ces mêmes études ont établi que l'abaissement du taux d'hémoglobine glyquée, en comparant des patients traités de manière «intensive» par rapport à un autre groupe avec des objectifs moins stricts, permettait de réduire les complications liées au diabète. Dans l'étude UKPDS, une baisse d'environ 1% de l'HbA1c a permis une réduction de 30% des

complications microvasculaires sur un suivi de dix ans (rétinopathie et albuminurie) [UKPDS, 1998 et DCCT, 1993].

Une étude multicentrique internationale menée entre avril 2006 et août 2007 afin d'établir de façon précise la relation existant entre la valeur d'HbA1c et la glycémie moyenne au cours des trois mois précédents a montré une corrélation significative entre la glycémie et le taux d'hémoglobine glyquée [Nathan *et al.*, 2008].

A la différence de ces auteurs, nous n'avons déterminé qu'une seule valeur de glycémie chez ces patients. Par conséquent, nous n'avons aucune information sur les taux de glycémie les mois précédents. Dans ces conditions, la moyenne corrélation relevée dans notre travail entre l'hémoglobine glyquée et le taux de glycémie pourrait être fortuite et de ce fait ne nous autorise pas à faire une extrapolation de la glycémie au taux d'hémoglobine glyquée.

[Conclusion]

Nous avons trouvé dans notre étude que la valeur de l'HbA1c dépend de l'âge, sexe et l'obésité. Le taux de l'HbA1c croît selon l'âge et il est moins maîtrisé selon les complications microangiopathiques et macroangiopathiques.

Notre étude a permis de trouver une moyenne corrélation entre les valeurs de la glycémie à jeun et le taux de l'HbA1c chez les diabétiques de la région de Tlemcen, ce qui pourrait être utile en pratique clinique.

La corrélation HbA1c et glycémie à jeun (GAJ) sont des paramètres biologiques essentiels dans le suivi du diabète, il permet d'estimer le risque de complications encouru par le patient. Il ne faut cependant pas oublier que le dosage de l'HbA1c n'est plus réservé à l'unique piste de suivi diabétique ; les cliniciens discutent son positionnement comme outil de dépistage du diabète.

L'interprétation du taux de l'HbA1c utilisée lors de la surveillance des diabétiques surtout le DT2 différenciés doit être particulièrement prudente en raison des nombreux facteurs : anémie, Insuffisance rénale chronique, alcoolisme, Hépatopathie chronique et Hémoglobinopathies etc.

**Références
bibliographiques**

1. American Diabetes Association (ADA), European Association for the Study of Diabetes (EASD), International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), and the International Diabetes Federation (IDF). 2007. Consensus statement on the worldwide standardization of the HbA1c measurement. *Diabetologia*; 50:2042–3.
2. American Diabetes Association (ADA). 2007. Standards of medical care in diabetes 2007. *Diabetes Care*; 30(suppl 1):S4–41.
3. American Diabetes Association Expert Committee (ADA). 1997. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 20:1183–97.
4. Baggio L.L., Drucker D.J. 2007. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*; 132:2131–57.
5. Bauduceau B., Bordier L., Dupuy C., Mayaudon H. 2010. La prise en charge du diabète type 2 : l'HbA1c reste-t-elle le seul objectif. *Médecine Nucléaire* 34. pp 561.
6. Blickle J.F. 2014. Chapitre 17 - Diabète. *Nutrition Clinique Pratique* (2^{ème} édition). pp 189-206.
7. Blickle J.F. 2011. Chapitre 15 - Diabète. *Nutrition clinique pratique* ; pp 183-200.
8. Calisti L., Tognetti S. 2005. Measure of glycosylated hemoglobin. *Acta Biomed*; 76(suppl 3):59–62.
9. Calop J., Limat S., Frnandez C., 2008. pharmacie clinique et thérapeutique. 3^{ème} Ed. Masson, *Elsevier Masson*, Paris. pp 417-427.
10. Carip C. 2004. Biologie appliquée à la santé. 2^{ème} tirage. Editions TEC et DOC, Editions médicales internationales. *Londres, Paris, New York*. pp 282-284.
11. Chakib M. 2011. Prévalence du diabète en Algérie : la valse des chiffres. *Santé-Mag*;1:31.
12. Colette C., Monnier L. 2014. Désordres glycémiques dans les états diabétiques. Chapitre 14. *Diabétologie* ; 47–69.

13. Constans T. 2005. Plasma glucose goals and therapeutic management in elderly diabetic patients. *Diabetes Metab*; 31:5S58–61.
14. Cryer P.E., Davis S.N, Shamooh H. 2003. Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care*; 26:1902–12.
15. Currie C.J., Peters J.R., Tynan A., Evans M., Heine R.J., Bracco O.L., et al. 2010. Survival as a function of HbA1c in people with type 2 diabetes: a retrospective cohort study. *Lancet*; 375:481–9.
16. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. 1995. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) in the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes*; 44:968–83.
17. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. 1993. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*; 329:977–86.
18. Duckworth W., Abraira C., Moritz T., Reda D., Emanuele N., Reaven P.D., et al. 2009. Glucose control and vascular complications in veterans with type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 358:2545–59.
19. Epidémiologie et médecine préventive CHU de Tlemcen. 2014. Prévalence du diabète.
20. Fédération International Diabétique (FID). 2014. Atlas du diabète. 6^e édition.
21. Glitho S. 2006. Trouble digestif au cours du diabète, une étude épidémiologique au sein de la population des diabétiques suivis à Cotonou et à Porto-Novo. *Thèse med. Cotonou, Faculté des sciences et de la santé, n°1282 : 103*
22. Goldenberg R.M., Cheng A.Y.Y., Punthakee Z., Clement M. 2011. Use of glycated hemoglobin (A1C) in the diagnosis of type 2 diabetes mellitus in adults. *Can J Diab*; 35:247–9.
23. Goldstein D., Little R., Lorenz R., et al. 2004. Tests of Glycemia in Diabetes. *Diabetes Care*; 27:1761–73.

24. Holman R.R., Paul S.K., Bethel M.A., Matthews D.R., Neil H.A. 2008. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 359:1577–89.
25. Jeppson J.A., Kobold U., Barr J., et al. 2002. Appoved IFCC reference method for measurement of HbA1c in Human Blood. *ClinChem Lab Med*; 40:78–89.
26. Kahn S.E. 2003. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*; 46:3–19.
27. Leblanc R.M. 2013. Le dosage des hémoglobines glyquées. *Pratique hémoglobine* ; 495 : 23–24.
28. Little R.R., Rohlfing C.L., Hanson S., Connolly S., Higgins T., Weykamp C.W., D’Costa M., Luzzi V., Owwen W.E., Roberts W. 2008. Effects of Hemoglobin (Hb) E and HbD traits on Measurements of GlycatedHb (HbA1c) by 23 methods. *ClinChem*; 54(8):1277–82.
29. Marchetti P. 2009. Advanced glycation end products (AGEs) and their receptors (RAGE) in diabetic vascular disease. *Medicographia*; 31:257-265.
30. McCarter R.J., Hempe J.M., Chalew S.A. 2006. Mean blood glucose and biological variation have greater influence on HbA1c levels than glucose instability: an analysis of data from the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*; 29:352–5.
31. Miedema K. 2004. Towards worldwide standardisation of HbA1c determination. *Diabetologia*; 47:1143–8.b.
32. Nathan D.M., Keunen J., Borg R., et al. 2008. A1c-Derived Average Glucose Study Group. Translating the A1c assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*; 31:1473–8.
33. Reaven H.M. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*; 37:1595–607.
34. Rodier M. 2001. Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique* ; 25, 2 : 5-18.

35. Sacks D.B., Bruns D.E., Goldstein D.E., et al. 2002. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *ClinChem*; 48:436–72.
36. Selvin E., Steffes M.W., Zhu H., Matsushita K., Wagenknecht L., Pankow J., et al. 2010. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *N Engl J Med*; 362:800–11.
37. Stratton I.M, Adler MI, Neil AW, Matthews DR, et al. 2000. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*; 321:405–12.
38. The action to control cardiovascular risk in diabetes study group. 2008. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 360:129–39.
39. The advance collaborative group. 2008. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*; 358:2560–72.
40. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998a. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*; 352:854–65.
41. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998b. Intensive blood-glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*; 352:837–53.
42. Wémeau J.L. 2014. Chapitre 15- Le diabète de type 1. *Endocrinologie, Diabète, Métabolisme et Nutrition pour le Praticien* ; pp 215-225.

[ANNEXES]

Questionnaire

Le diabète dans la région de Tlemcen

Fiche d'enquête

1. Identité et anthropométrie du patient

N° d'enregistrement :

Nom :

Prénom :

Sexe : 1. Masculin, 2. Féminin

Age :

Taille : Poids (kg):

Périmètre Abdominal (cm) : IMC (kg/m²):

Pression Artérielle (mm Hg) PAS : PAD :

2. Historique du diabète

Ascendants diabétiques 1 Oui - 2 Non

Descendants diabétiques 1 Oui - 2 Non

Collatéraux diabétiques 1 Oui - 2 Non

Date début du diabète :

Type du diabète 1. DT1 – 2. DT2

Obésité

HTA

Autres

3. Evolution du diabète

Complications : Ophtalmologique

Rénale

Vasculaire

Cardiaque

Cérébrale

Cutané (gangrène, ulcère des jambes, etc.)

Neurologique

Autres

Glycémie à jeun (g/L):

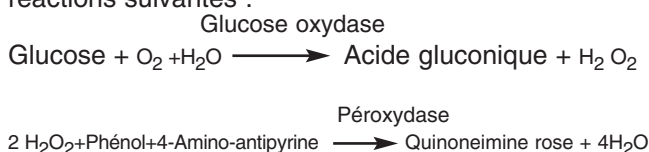
Taux d'HbA1c (%) :

PRESENTATION

Réf. 20121, (1000 Tests) R1 : 2 x 500 ml R2 : 2 flacons (lyoph) R3 : 2 x 6 ml	Réf 20124, (3000 Tests) R1 : 6 x 500 m R2 : 6 flacons (lyoph) R3 : 3 x 11 ml	Réf 20127, (400 Tests) R1 : 4 x 100 ml R2 : 4 flacons (lyoph) R3 : 1 x 5 ml
Réf 20122, (3000 Tests) R1 : 3 x 1000 ml R2 : 3 flacons (lyoph) R3 : 3 x 11 ml	Réf 20126, (1000 Tests) R1 : 5 x 200 ml R2 : 5 flacons (lyoph) R3 : 2 x 10 ml	

PRINCIPE

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



REACTIFS

Réactif 1	Tampon Tris pH= 7	100 mmol/l
Solution tampon	Phénol	0,3 mmol/l
Réactif 2	Glucose oxydase	10 000 U/l
Enzymes	Péroxydase Amino 4 -Antipyrine	1000 U/l 2,6 mmol/l
Réactif 3	Glucose	100 mg/dl
Standard		1g/l 5,56 mmol/l

PREPARATION ET STABILITE

Dissoudre le lyophilisat R2 dans le tampon R1.
Protéger de la lumière.

Stabilité du réactif de travail

- 8 semaines à 20 - 25°C
- 8 mois à 2 - 8°C

ECHANTILLONS

Sérum (non hémolysé)
Plasma recueilli sur fluorure-héparine ou héparine-ioda-
cétate (non hémolysé)
Liquide Céphalo-rachidien.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde :505 nm (492-550)
Température :37° C (20-25°C)
Cuve :1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

GLUCOSE

Méthode enzymatique (GOD - PAP)

CALCUL

$$\text{Glucose} = \frac{\text{D.O Echantillon}}{\text{D.O Standard}} \times n$$

mg/dl	n = 100
g/l	n = 1
mmol/	n = 5,56

LINÉARITÉ

La méthode est linéaire jusqu'à 5 g/l (500 mg/dl-
27,8 mmol/l).

Si la concentration en glucose est supérieure à 5 g/l,
recommencer le dosage sur l'échantillon dilué au 1/2
avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat
par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum, plasma	70 - 105 mg/dl 0,70 - 1,05 g/l 3,89 - 5,84 mmol/l
Liquide céphalo rachidien	50 - 70 mg/dl 0,50 - 0,70 g/l 2,78 - 3,89 mmol/l

NOTES

Les substances suivantes n'interfèrent pas :
Hémoglobine (jusqu'à 4 g/l), Bilirubine (jusqu'à 200
mg/l), créatinine (jusqu'à 100 mg/l), Galactose
(jusqu'à 1 g/l) et EDTA (jusqu'à 2 g/l).

BIBLIOGRAPHIE

Dingeon B., Ann. Biol. Clin. 33,3 (1975)
Lott J.A. Clin. Chem. 21. 1754 (1975)
Trinder P.n Ann. Clin. Biochem 6,24 (1969)

Mélanger, lire les DO après une incubation de 10
minutes à 37 °C ou 30 mn à 20-25 °C.
La coloration est stable 30 minutes.