

## L'hémoglobine glyquée: un marqueur diagnostique du diabète revisité

Michel F. Rossier, R. Riand-Voide, N. Beloeil, Institut Central des Hôpitaux, Hôpital du Valais, Sion

### Introduction

L'hémoglobine glyquée (ou HbA1c) est une forme d'hémoglobine ayant fixé de façon non enzymatique un glucose sur l'extrémité N-terminale de sa sous-unité  $\beta$ . Cette modification irréversible résulte de l'imprégnation glucidique des érythrocytes lors des trois derniers mois et à ce titre reflète le risque de complications cliniques du diabète sucré. Ce marqueur biochimique est couramment utilisé depuis des décennies dans le suivi thérapeutique du diabète, mais depuis peu il est suggéré de l'employer à but diagnostique. Il est donc particulièrement pertinent de revoir les limitations analytiques associées à chaque méthode de dosage et les risques encourus liés aux incertitudes de mesure.

### Méthodes de dosage de l'hémoglobine A1c et limitations

Le taux d'hémoglobine A1c peut être déterminé selon trois principes analytiques distincts : 1) les méthodes chromatographiques (en fonction de la charge ou de l'affinité du glucose pour le bore), 2) les méthodes électrophorétiques, ou 3) les méthodes immunologiques. La variabilité observée entre les laboratoires a été longtemps un frein à l'utilisation de ce marqueur, jusqu'à la mise en place d'un programme de normalisation (NGSP) permettant de comparer les résultats obtenus par différentes techniques et d'émettre ainsi des recommandations de cibles thérapeutiques. Le développement plus récent par l'IFCC d'une méthode de référence basée sur la masse de l'HbA1c a permis de montrer que toute les techniques utilisées jusqu'alors surestimaient sensiblement la concentration de l'analyte et une véritable standardisation a pu alors être mise en place. Afin d'éviter tout risque de confusion, encore aujourd'hui, le résultat exact d'HbA1c (IFCC) est rendu en mmol/mol, alors que le résultat « conventionnel », traçable par rapport aux recommandations issues des premières études (NGSP) est toujours rendu en % de l'hémoglobine totale.

La sensibilité aux interférences varie d'une méthode à l'autre, en particulier lors de présence d'hémoglobinoopathies. Il existe en effet plus d'un millier de variants différents de l'hémoglobine, avec des prévalences très variables. Les méthodes immunologiques ne détectent généralement pas la présence de ces variants, contrairement aux méthodes dont le principe est basé sur la charge (HPLC ou électrophorèse). Dans certains cas, comme par exemple en présence de mutations ponctuelles sur la sous-unité  $\beta$  (HbS ou HbE), cela n'aura pas de conséquence sur la détermination du taux d'HbA1c. Par contre, lors de concentrations inhabituellement élevées d'HbA2 ou d'Hb foetale (où la sous-unité  $\beta$  est remplacée, respectivement, par la sous-unité  $\delta$  ou  $\gamma$ ), le taux d'HbA1c, rapporté à l'Hb totale, présentera des valeurs anormalement basses.

D'autres situations physiopathologiques, indépendamment de la méthode analytique employée, peuvent également rendre l'utilisation de l'HbA1c inadéquate. Il s'agit de toute situation où la demi-vie des érythrocytes est affectée, et par conséquence leur imprégnation glucidique (comme lors d'hémolyse intravasculaire ou de transfusion). En cas d'insuffisance rénale et d'hyperurémie, la carbamylation de la sous-unité  $\beta$  peut également conduire à des taux d'HbA1c ne reflétant pas les glycémies réelles.

### Recommandations analytiques

L'amélioration sensible des performances analytiques du dosage de l'HbA1c, notamment sa précision (CV < 3%), a permis d'envisager l'utilisation de ce marqueur à des fins diagnostiques. Les limites pour le diabète et le pré-diabète ont alors été définies ainsi :

HbA1c	Normalité	Pré-diabète	Diabète
IFCC (mmol/mol)	< 42	42 - 47	> 47
NGSP (%)	< 6	6 - 6.4	> 6.4

Il faut toutefois rappeler que ces valeurs ne conviennent pas au diagnostic du diabète gestationnel ou de type I et doivent être ajustées pour l'âge (>70 ans).

Pour évaluer si un système analytique est adéquat il faut définir ses performances autour des concentrations décisionnelles (soit environ 50 mmol/mol). Les recommandations de performance analytique font l'objet actuellement d'une étude par un groupe de travail de l'IFCC. Dans une approche sigma-métrique [1], on commence par définir une *erreur totale* (la cible) et le *taux d'échec* (les résultats non conformes) admissibles.

Une approche minimaliste pour l'HbA1c à but diagnostique consiste à fixer l'erreur maximale tolérée à 5 mmol/mol (soit la taille de la zone grise correspondant au pré-diabète) et le taux d'échec à 5% (2 sigma). L'erreur totale sur la mesure se compose de deux facteurs combinés, le biais systématique de la méthode (inexactitude) et son manque de reproductibilité (imprécision). Ces deux facteurs étant caractéristiques d'une méthode analytique donnée, il est dès lors possible de comparer diverses techniques sur un même graphique et de déterminer lesquelles sont conformes aux tolérances prédéfinies (fig.1). Il faut cependant s'attendre à voir paraître des recommandations plus strictes avec l'amélioration des méthodes analytiques ces prochaines années.

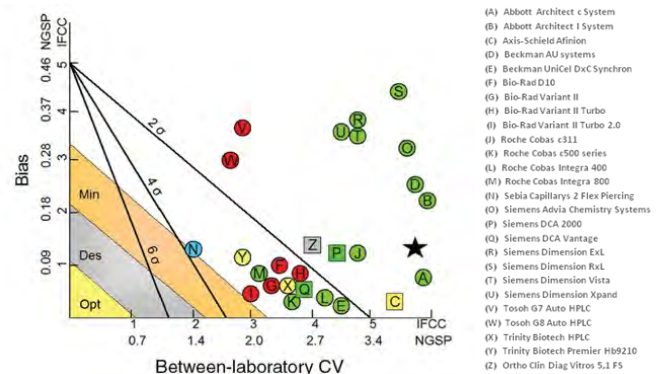


Fig.1 : Performance analytique de divers systèmes de dosage de l'HbA1c disponibles sur le marché selon [1]. La position de chaque méthode est définie par l'imprécision (CV) et le biais moyens déterminés lors d'une enquête inter-laboratoire réalisée aux USA en 2014 sur un échantillon avec une concentration de 48 mmol/mol (n=3277). Les méthodes situées sous la barre des 2 sigma sont considérées actuellement comme conformes pour le diagnostic du diabète. Les couleurs indiquent le principe de la méthode.

### Incertitudes de mesures et faux positifs

Il convient de rappeler l'importance d'utiliser un outil adéquat lorsqu'on mesure un marqueur à des fins diagnostiques, surtout pour une maladie avec une prévalence telle que le diabète. Si cette information est clairement connue pour la glycémie (il ne faut pas établir un diagnostic de diabète à partir d'un résultat obtenu sur un glucomètre), la pratique est par contre moins claire avec l'HbA1c. Plusieurs études ont montré l'effet de l'incertitude de mesure de l'HbA1c sur l'incidence des diabètes diagnostiqués [1,2]. Par exemple, si l'imprécision du test augmente de 2.7 à 3.7% (CV), on peut s'attendre à une incidence de diabète augmentée de 90% lors d'un dépistage. A l'inverse, certaines hémoglobinoopathies ne sont pas détectées par les instruments de proximité (POCT) qui peuvent donc fausser l'interprétation du résultat d'HbA1c.

Pour cette raison, le laboratoire de l'ICH a décidé récemment de compléter ses méthodes analytiques pour déterminer l'HbA1c. Outre les techniques immunologiques (K et L sur la fig.1), couramment utilisées dans le suivi thérapeutique du diabète, une méthode électrophorétique (N) a été introduite dans le cadre du diagnostic. Dans cette situation, la présence d'une éventuelle hémoglobinoopathie interférente est systématiquement exclue par électrophorèse capillaire. Cette première valeur d'HbA1 est ensuite confirmée sur un deuxième prélèvement analysé par immunodosage. En absence d'interférence, les deux méthodes sont parfaitement équivalentes et fournissent les mêmes résultats. En présence d'hémoglobinoopathie, le patient sera alors suivi avec la nouvelle méthode.

### Préanalytique et tarif

	Méthodes	Pos. OFAS	Points
HbA1c (suivi)	Immunologique (Tina-Q)	1363.00	17.8
HbA1c (diagnostic)	Electrophorèse capillaire	1363.00	17.8

### Références

- [1] Weykamp, et al. (2015), Clin Chem 61:752
- [2] Nielsen, et al. (2014), Clin Chem Lab Med 52:1069

### Personnes de contact

Dr Michel F. Rossier, PD  
Nicole Beloeil

michel.rossier@hopitalvs.ch  
nicole.beloeil@hopitalvs.ch