

Hémoglobine glyquée : le temps de la standardisation est venu

Annales de Biologie Clinique. Volume 56, Numéro 3, 249-51, Mai-Juin 1998, Editoriaux

■ Résumé

Auteur(s) : P. Gillery, M. Bordas-Fonfrède, J.-P. Chapelle, G. Hue, C. Périer, .

Résumé : Le dosage de l'hémoglobine glyquée est utilisé en pratique quotidienne pour le suivi à long terme de l'équilibre glycémique chez les patients atteints de diabète sucré [1, 2]. De nombreuses techniques ont été décrites depuis une vingtaine d'années, fondées sur différents principes, et dosant différentes formes glyquées de l'hémoglobine. Cela explique que, bien que ce test très informatif soit utilisé au quotidien par les diabétologues, il existe encore une grande disparité des résultats d'un laboratoire à l'autre, rendant leur comparaison impossible.

■ Illustrations

ARTICLE

Le dosage de l'hémoglobine glyquée est utilisé en pratique quotidienne pour le suivi à long terme de l'équilibre glycémique chez les patients atteints de diabète sucré [1, 2]. De nombreuses techniques ont été décrites depuis une vingtaine d'années, fondées sur différents principes, et dosant différentes formes glyquées de l'hémoglobine. Cela explique que, bien que ce test très informatif soit utilisé au quotidien par les diabétologues, il existe encore une grande disparité des résultats d'un laboratoire à l'autre, rendant leur comparaison impossible.

Il est donc nécessaire, afin d'optimiser l'utilisation de ce paramètre, de standardiser les techniques de mesure d'une façon efficace. Les tentatives de standardisation se sont heurtées pendant longtemps à la difficulté de définir les constituants à évaluer et les méthodes de référence. De même, on a pendant longtemps refusé d'admettre que des techniques évaluant des formes différentes d'hémoglobine glyquée puissent être peu ou prou corrélées [3]. La situation a cependant évolué, et la Société française de biologie clinique a constitué un groupe de travail chargé de coordonner la standardisation des techniques de mesure, en relation avec les groupes internationaux correspondants [4].

Le premier problème posé est celui de la nature chimique du constituant à doser. Différentes revues ont déjà insisté sur l'hétérogénéité des formes glyquées d'hémoglobine [2, 3, 5]. Il est maintenant acquis que le seul constituant à prendre en compte est l'hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c}), dans laquelle un résidu de glucose est fixé de façon covalente à l'extrémité N-terminale des chaînes beta de la globine. Il faut cependant remarquer que cette définition, à l'origine chromatographique, ne permet pas d'individualiser une seule structure. L'HbA_{1c} peut être glyquée sur une seule ou sur les deux extrémités N-terminales des chaînes beta. Elle peut également être glyquée, à différents degrés, sur d'autres sites de la molécule comme les extrémités N-terminales des chaînes alpha ou sur les groupements epsilon-aminés des deux chaînes de globine (*figure*).

Le deuxième problème à prendre en compte est celui de la méthode et des matériaux de référence. La communauté scientifique reste divisée sur cette

question. Deux groupes sont impliqués dans les travaux internationaux de standardisation. Ils devraient à terme arriver à une solution commune, mais leurs efforts actuels sont encore orientés de façon légèrement différente.

Le premier groupe est le groupe américain du NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program), dirigé par David Goldstein, de l'Université de Columbia (Missouri). Ce groupe utilise comme système de référence une chromatographie liquide haute performance (CLHP), évaluant donc toutes les formes d'HbA_{1c}, mais prenant aussi en compte éventuellement d'autres composés, comme l'hémoglobine carbamylée, qui interfère avec la plupart des techniques CLHP. Il dispose d'un réseau de laboratoires de référence, primaires et secondaires, mettant en œuvre cette technique et proposant un système d'étalonnage et de certification des méthodes utilisant des échantillons de sang humain congelé à l'exclusion de tout autre matériel. Ce groupe s'appuie sur les travaux menés depuis plusieurs années par le DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) qui ont permis de définir un intervalle de référence pour l'HbA_{1c} (de 4 à 6 % de l'hémoglobine totale), ainsi que des seuils de décision pour la conduite du traitement des patients diabétiques, notamment en matière de prévention des complications dégénératives [6].

Le deuxième groupe a été créé il y a environ cinq ans par l'IFCC (International Federation of Clinical Chemistry), et regroupe des biologistes de tous pays, y compris des membres du groupe NGSP. Ce groupe de travail, dirigé par Kor Miedema, de l'hôpital de Zwolle, aux Pays-Bas, a adopté une définition plus restrictive de l'HbA_{1c}, en considérant comme structure de référence l'hexapeptide N-terminal glyqué des chaînes beta de la globine [7]. Il a par ailleurs proposé une méthode de référence capable d'évaluer ce peptide, associant une CLHP en phase inverse et une détection par spectrométrie de masse-électrospray ou électrophorèse capillaire, après digestion enzymatique de l'hémoglobine [8]. Cette mesure plus spécifique d'une forme d'HbA_{1c} chimiquement définie est sans doute plus satisfaisante sur le plan scientifique, mais introduit un certain nombre de modifications par rapport aux notions antérieures. Il n'est pas évident que les résultats obtenus depuis 20 ans par le DCCT puissent être directement transposables aux résultats obtenus par cette technique. Les premiers résultats, même s'ils ne sont pas encore exactement chiffrés, indiquent que les valeurs d'HbA_{1c} obtenues par la méthode de référence proposée par l'IFCC sont plus basses [8]. On ne dispose pas encore, à l'heure actuelle, d'études de type prospectif permettant d'établir des valeurs de référence et de proposer des seuils de décision comme dans la première approche. Ce groupe, dont le réseau est en cours de constitution, propose d'étalonner les différentes techniques par rapport à la méthode de référence en utilisant du matériel lyophilisé. Certains critiquent l'utilisation de ce type d'échantillons dont le traitement peut provoquer des modifications structurales prises en compte de façon variable par les différentes techniques.

Dans cette période transitoire, le groupe de travail de la SFBC a décidé d'émettre des recommandations afin d'initier dès maintenant le processus de standardisation en France, tout en tenant compte des incertitudes qui

existent encore au niveau international. Ces recommandations sont les suivantes :

1) Tous les résultats d'hémoglobine glyquée doivent être rendus sous forme d'HbA_{1c}, exprimée en pourcentage de l'hémoglobine totale, à l'exclusion de tout autre mode d'expression.

2) Les méthodes utilisées doivent soit doser directement l'HbA_{1c}, soit pouvoir être corrélées à une méthode de référence dosant l'HbA_{1c} afin de corriger les valeurs brutes.

3) Les techniques utilisées par les laboratoires doivent être reliées à une méthode de référence recommandée par les sociétés scientifiques déjà citées : NGSP/DCCT ou IFCC. Il appartient aux biologistes de s'informer auprès des fournisseurs des conditions d'étalonnage de leurs méthodes, et d'exiger de ceux-ci un document de certification qui leur aura été fourni soit par le NGSP/DCCT, soit par l'IFCC.

Il n'existe pas de méthode de référence disponible sur le marché mais uniquement des méthodes ayant fait la preuve de leur traçabilité aux méthodes de référence proposées. Bien entendu, le choix de l'une ou l'autre certification entraîne, à l'heure actuelle, une différence entre les valeurs de référence, et celles-ci doivent être précisées sans ambiguïté lors du rendu de résultat. Il est par ailleurs possible, pour tout laboratoire qui utiliserait une technique propre, de la faire certifier directement par ces mêmes groupes scientifiques, selon les procédures recommandées par ceux-ci. Le recours à tout autre organisme de certification ou laboratoire, même se prétendant « de référence », est déconseillé, ou pour le moins prématuré dans la situation actuelle.

Le corollaire en est, pour les fabricants, de s'assurer de l'étalonnage de leurs méthodes par rapport à l'un ou l'autre des deux groupes, et de fournir aux biologistes tous documents relatifs à la standardisation des techniques qu'ils proposent. Il est évident que l'étalonnage des méthodes par les fabricants auprès des groupes de référence ne dispense pas chaque biologiste des bonnes pratiques habituelles de laboratoire. Si la méthode comporte un étalonnage systématique des séries, celui-ci ne doit jamais être omis.

Ces recommandations devraient permettre d'abandonner rapidement les méthodes non standardisables, et d'homogénéiser les résultats obtenus. Dans un second temps, il conviendra d'insister sur la qualité intrinsèque de chaque méthode, non seulement en matière de justesse, mais aussi de précision, paramètre capital en matière de dosage d'hémoglobine glyquée, afin de recommander l'utilisation des techniques les plus performantes [9, 10]. Ces dispositions permettront également d'attendre les mesures internationales définitives de standardisation, sans changer les habitudes actuelles et de s'y conformer au mieux le moment venu.

Enfin, il est bien évident que ces opérations de standardisation ne peuvent se concevoir sans concertation avec les cliniciens qui prennent en charge les patients diabétiques. Des actions communes avec les sociétés correspondantes seront prochainement proposées à l'initiative de la Société française de

biologie clinique.

REFERENCES

1. Goldstein DE, Little RR. Monitoring glycemia in diabetes. Short term assessment. *Curr Therap Diab* 1997 ; 26 : 475-86.
2. Bernard M, Bordas-Fonfrède M, Grimaldi A, *et al.* Intérêts respectifs des dosages d'hémoglobine glyquée et de fructosamines dans la surveillance du diabète sucré. *Ann Biol Clin* 1995 ; 53 : 321-7.
3. Gillery P, Guillemin C, Delpech M. Hémoglobine glyquée : méthodes de dosage et problèmes de standardisation. *Ann Biol Clin* 1994 ; 52 : 157-63.
4. Eckfeldt JH, Bruns DE. Another step toward standardization of methods for measuring hemoglobin A_{1c}. *Clin Chem* 1997 ; 43 : 1811-3.
5. Gillery P, Delpech M, Garcia I, Vague P, Dezier JF, Périer C. Évaluation des méthodes de dosage de l'hémoglobine glyquée : méthode et paramètre de référence. *Ann Biol Clin* 1995 ; 53 : 395-8.
6. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. 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* 1993 ; 329 : 977-86.
7. Hoelzel W, Miedema K. Development of a reference system for the international standardization of HbA_{1c}/glycohemoglobin determinations. *JIFCC* 1996 ; 9 : 62-7.
8. Kobold U, Jeppson JO, Dülffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A_{1c} based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997 ; 43 : 1944-51.
9. Lytken-Larsen M, Blaabjerg O, Hyltoft-Petersen P, Hansen H, Horden M. Analytical goal setting prior to selection of a method for glycated haemoglobin. *Scand J Clin Lab Invest* 1990 ; 50 : 715-21.
10. Gillery P, Labbé D, Dumont G, Vassault A. Glycohemoglobin assays evaluated in a large-scale quality-control survey. *Clin Chem* 1995 ; 41 : 1644-8.