

Dosage de l'hémoglobine A1c sur l'analyseur Capillarys 2 Flex Piercing

M. Walha^a (Dr), A. Elleuch^a (Dr), M. Boudaya^b (Dr), K. Chaabouni^a (Pr), K. Jamoussi^b (Pr), F. Ayedi^a (Pr)
a/ Laboratoire de biochimie, CHU Habib Bourguiba, Sfax b/ Laboratoire de biochimie CHU Hedi Chaker, Sfax

Introduction: Le dosage de l'hémoglobine A1c (Hb A1c) est l'un des piliers du suivi et, depuis peu, du diagnostic du diabète sucré. Le dosage de l'hémoglobine A1c par électrophorèse capillaire est une technique relativement récente et dont les performances n'ont été que peu étudiées. Nous nous sommes proposés de tester certains aspects analytiques du dosage de l'hémoglobine A1c sur l'analyseur Capillarys 2 Flex Piercing de Sebia®.

Matériel et méthodes: Les échantillons testés étaient des prélèvements de sang total en tube EDTA parvenus à notre laboratoire de biochimie (CHU Habib Bourguiba, Sfax) pour le dosage de l'hémoglobine A1c. L'étude de la concordance a consisté en le passage de ces échantillons (au nombre de 45) sur l'automate Capillarys 2 Flex Piercing de Sebia® et sur COBAS 6000 de Roche® (technique immunologique) dans notre laboratoire, puis sur l'automate ADAMS™ A1c d'ARKRAY® (technique Chromatographie Liquide Haute Pression HPLC) dans le laboratoire de biochimie du CHU Hedi Chaker de Sfax. Pour l'étude de la répétabilité, nous avons passé deux échantillons (normal (N) et pathologique(P)). Pour la reproductibilité, nous avons utilisé deux échantillons de contrôle de qualité interne (niveaux haut et bas), chaque niveau a été passé 18 fois sur autant de séries. L'étude de la contamination a été incluse dans l'étude de la répétabilité (passage en alternance des tubes N et P). Pour l'étude de la linéarité, nous avons effectué une dilution en série en mélangeant 2 tubes (à HbA1c de 14,5% et de 5,6%). Nous avons obtenu des concentrations croissantes de LHbA1c après incubation d'un échantillon normal (à HbA1c de 4,9%) avec une solution glucosée de concentration 0,5 mol/L dans un bain-marie à 37°C pendant 2h, nous avons ensuite passé les tubes obtenus sur l'analyseur ADAMS™ A1c pour avoir une estimation du taux de la LHbA1c. Nous avons effectué une dilution sériée d'un échantillon de sang total (HbA1c= 5,6%) avec du plasma hyperbilirubinémique (bilirubine totale à 305 µmol/L). Pour l'analyse des données, nous avons appliqué un modèle de régression linéaire selon Passing et Bablok, et utilisé le diagramme des différences (représentation graphique de Bland et Altman). L'étude statistique a été faite sur SPSS20 et sur Excel 2013.

Résultats: Le coefficient de corrélation de la technique de Capillarys avec celle d'Arkray était de 0,996 et celui avec COBAS était de 0,997 (figure 1). Les graphiques de Bland et Altman (figure 2) ont montré un nuage de point grossièrement homogène, notamment pour les valeurs basses d'Hb A1c. Les résultats de l'étude de la répétabilité, de la reproductibilité, de la linéarité de la LHbA1c et de la linéarité (Coefficient de corrélation de 0,996) sont présentés dans les tableaux I et II et la figure 3, respectivement. L'hyperbilirubinémie n'a pas montré d'interférence significative avec le dosage et il n'existait pas de contamination inter-échantillons importante (résultats non montrés).

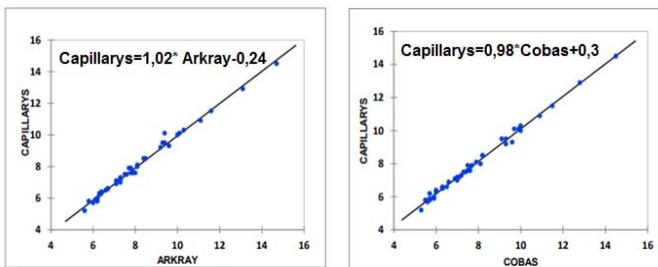


Figure 1: Droites de régression de Capillarys par Arkray (gauche) et par Cobas (droite)

Tableau I: Répétabilité et fidélité intermédiaire (Capillarys)

		Hémoglobine A1c			Limites acceptables du CV (guideslignes)
		Moyenne	écart-type	CV	
Répétabilité	E. normal	5,7%	0,08	1,57%	2%
	E. pathologique	11,1%	0,11	0,9%	
Reproductibilité	E. normal	5,5%	0,11	2,18%	4%
	E. pathologique	8,4%	0,13	1,58%	

E=Echantillon, CV=Coefficient de Variation

Tableau II: Étude de l'interférence de l'Hb A1c labile

Temps d'incubation (min)	0	30	50	80	100	120
Hb A1c labile* (%)	2,5	3,9	5,7	6,9	7,6	8,9
Hb A1c stable (%)	32	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8

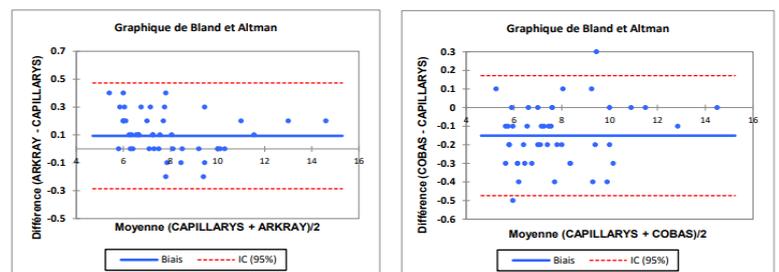


Figure 2: Diagrammes des différences selon Bland et Altman

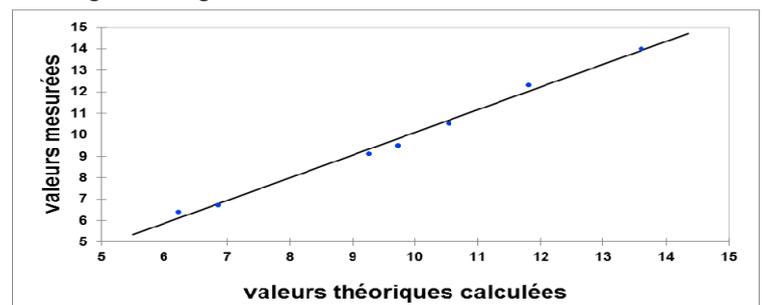


Figure 3: Droite de régression des valeurs mesurées par les valeurs théoriques attendues

Discussion: L'électrophorèse capillaire semble très bien corrélée avec les deux autres techniques. Les nuages de points montrent une homogénéité meilleure pour les basses valeurs par rapports aux valeurs élevées, ce même résultat a été trouvé dans l'étude de Jaisson (1). Les Coefficients de variation de répétabilité et de la reproductibilité sont bien dans les normes des guideslignes de l'AESD et de l'AFSSAPS (2,3). Quoique l'Hb A1c labile migre avec le pic de l'HbA0, la calibration faite selon la méthode de référence de l'IFCC (4), soustrait du calcul toute hémoglobine labile contenue dans le pic de l'HbA0, d'où l'absence d'interférence. Le Coefficient de corrélation entre valeurs théoriques et valeurs mesurées dans l'étude de la linéarité était proche de celui trouvé dans une étude française (0,999, (1)). En conclusion, l'analyseur Capillarys 2 Flex Piercing de Sebia a montré de bonnes performances analytiques, telles que décrites par le fournisseur, dans le dosage de l'hémoglobine A1c.

Références: 1. Jaisson S, Leroy N, Meurice J, Guillard E, Gillery P. First evaluation of Capillarys 2 Flex Piercing® (Sebia) a new analyzer for HbA1c assay by capillary electrophoresis. Clin Chem Lab Med. 2012;50(10):1769–1775.
2. Heinemann L, Freckmann G. Quality of HbA1c Measurement in the Practice. J Diabetes Sci Technol. 2015 Feb 17;9(3):687–95.
3. Rahbar S, Blumenfeld O, Ranney HM. Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus. Biochem Biophys Res Commun. 1969 Aug 22;36(5):838–43
4. Jeppsson J-O, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. Clin Chem Lab Med. 2002 Jan;40(1):78–89.