

Agence française
de sécurité sanitaire
des produits de santé



Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

- Hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c})

Biochimie spécialisée

04BSP1

Décembre 2004

Edition : novembre 2006

Jean-Marc HATTCHOUEL (Afssaps)
Alain DAUNIZEAU (CH Dr Schaffner, Lens)
Jacques de GRAEVE (GH Rangueil-Larrey, Toulouse)
Philippe GILLERY (American Memorial Hospital, Reims)

Expédition : 01 décembre 2004
Clôture : 27 décembre 2004
Edition des comptes-rendus individuels : 31 mars 2005
Paramètre contrôlé : **H11 et H12 (sang total) – Hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c}).**

Nombre de laboratoires concernés* : 2294
Nombre de laboratoires participants** : 2218

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi
**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

L'opération 04BSP1 réalisée en décembre 2004 a porté sur le dosage de l'hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c}).

Près de 2200 laboratoires ont participé à cette opération pour laquelle deux échantillons (sang total) devaient être analysés.

Les échantillons destinés au contrôle ont été choisis de façon à correspondre aux seuils de décision médicale⁽¹⁾.

Pour effectuer le dosage de l'HbA_{1c}, 95% laboratoires ont utilisé, soit une technique immunologique, soit une technique chromatographique (CLHP ou CLBP), qui étaient pour la plupart d'entre elles, standardisées selon le système du National Glycohemoglobin Standardization Program^(2, 3).

L'ensemble des résultats apparaît tout à fait correct. Pour beaucoup de techniques, la dispersion inter-laboratoires est maîtrisée pour les deux niveaux d'HbA_{1c} contrôlés : les CV sont bas, inférieurs à 5% dans la grande majorité des cas. Les techniques certifiées NGSP affichent, dans l'ensemble, des performances bien meilleures que les techniques non certifiées.

En conclusion, la plupart des techniques donnent des résultats susceptibles de permettre un suivi correct des sujets diabétiques, mais certaines techniques devront faire l'objet d'une meilleure maîtrise (contrôles et étalonnages plus fréquents).

Dosage de l'hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c})

Echantillons H11 et H12 (sang total)

Définition des échantillons

Il s'agit d'échantillons de sang total d'origine humaine, sous forme lyophilisée, à deux niveaux de concentrations différents en HbA_{1c}. Les niveaux de concentrations ont été choisis de façon à correspondre aux seuils de décision médicale⁽¹⁾.

On admet généralement qu'un taux d'HbA_{1c} de 4 à 6% est normal et que le taux de 7% représente le seuil à ne pas dépasser afin d'éviter les complications. Les campagnes nationales d'informations des patients diabétiques et de leur entourage, intitulées « *sous le 7* », promulguent d'ailleurs la valeur de 7% comme objectif de valeur d'HbA_{1c} à ne pas dépasser⁽³⁾.

Les concentrations en HbA_{1c} dans les échantillons, testés par les experts avant l'envoi, étaient les suivantes (tableaux Ia et Ib).

Tableau Ia– Concentrations – Expert 1

Paramètre	Unité	H11	H12	Technique
HbA _{1c}	%	5,7	8,2	Immuno-turbidimétrie (Bayer, DCA 2000)
HbA _{1c}	%	5,4	7,7	HPLC (Menarini, HA-8160)

Tableau Ib– Concentrations – Expert 2

Paramètre	Unité	H11	H12	Technique
HbA _{1c}	%	5,2	7,7	HPLC (Menarini, HA-8160)

Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse statistique a comporté les étapes suivantes, appliquées à l'ensemble des résultats et à chaque groupe technique :

- élimination des valeurs aberrantes (ex : erreurs grossières) sur l'effectif brut.
 - calcul de la valeur cible (moyenne), c'est-à-dire moyenne obtenue après double troncature à deux écarts-types ; cette double troncature permet d'éliminer les valeurs extrêmes. La valeur cible obtenue est proche de la médiane.
 - l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) obtenus après cette double troncature sont considérés comme représentatifs de la dispersion des résultats.
 - le biais de chaque groupe technique est défini comme l'écart en % calculé par rapport à la moyenne toutes techniques. En l'absence de technique de référence, les valeurs moyennes « toutes techniques » sont utilisées comme valeurs cibles.
 - ces calculs sont réalisés si l'effectif du groupe est supérieur ou égal à 10.
 - dans les tableaux et graphiques, ne figurent que les techniques utilisées par au moins 10 laboratoires.
- pour apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire, il est apparu utile d'utiliser des limites acceptables. Ces limites, qui tiennent compte à la fois d'objectifs analytiques et d'exigences cliniques, ont été déterminées sur la base d'un travail de la Société française de biologie clinique (SFBC) publié dans les Annales de biologie clinique⁽⁴⁾. Le tableau II rassemble les limites acceptables utilisées pour les échantillons de cette opération :

Tableau II – Limites acceptables

Paramètre	H11	H12
HbA _{1c}	10%	10%

Résultats des participants

Lors de cette opération 2004, 2175 laboratoires ont réalisé le dosage de l'HbA_{1c}.

Les principales méthodes de dosage utilisées par les laboratoires sont répertoriées dans le tableau III. Les faits marquants sont :

- d'une part, l'utilisation par près de 95% des laboratoires, soit de méthodes immunologiques, soit de méthodes CLHP ou CLBP. Les autres méthodes (électrophorèse, minicolonnes d'échange ionique, affinité) sont mises en œuvre par moins de 5% des laboratoires.
- d'autre part, 98% des laboratoires ont utilisé une technique certifiée par les sociétés internationales de standardisation (NGSP en particulier). Dans ce tableau III, les techniques certifiées NGSP à l'époque du contrôle sont identifiées par (★).

A l'examen des résultats (tableau IV), et concernant les techniques certifiées NGSP :

- sur le niveau bas (H11), on peut noter que les moyennes de l'ensemble des techniques certifiées NGSP (à l'exception de Bio-Rad Micromat II) sont toutes situées dans une fourchette de +/- 0,4% de la valeur cible (soit 5,5% ± 0,4).
- sur le niveau moyen (H12), toutes les moyennes des techniques certifiées sont situées dans la fourchette de +/- 0,5% de la valeur cible (soit 7,8% ± 0,5).

Par ailleurs, l'examen du tableau IV montre très clairement que, pour beaucoup de techniques, la dispersion inter-laboratoires est maîtrisée pour les deux niveaux d'HbA_{1c} contrôlés ; les CV sont bas, inférieurs à 5% dans la grande majorité des cas. Il est à noter, cependant, que quelques systèmes conduisent à des résultats plus dispersés : Sebia Hydrasys, Progen NycoCard, Biocade-Biosystems HbA_{1c} et Bayer RA/opeRA.

On peut noter quelques problèmes de justesse avec les systèmes suivants : Bio-Rad Micromat II (biais positif de 14% sur le niveau bas et de 7% sur le niveau moyen), Biocade-Biosystems HbA_{1c} (biais négatif de 10% sur le niveau bas), Bayer RA/opeRA (biais positif de plus de 9% sur les 2 niveaux), Roche Integra (biais positif de 6% sur le niveau moyen).

Les résultats fournis par la majorité des techniques certifiées NGSP sont tout à fait corrects. Quelques remarques cependant sur certaines techniques :

- Bien que présentant un faible biais par rapport à la valeur cible « toutes techniques », les techniques Sebia Hydrasys et Progen NycoCard affichent néanmoins des CV inter-laboratoires élevés (CV > 9%).
- A l'inverse, la technique Bio-Rad Micromat II présente quant à elle, sur les deux niveaux, un biais important par rapport à la valeur cible « toutes techniques » avec une dispersion moindre (CV < 5%).

Concernant les techniques non certifiées NGSP (Biocade HbA_{1c}, Bayer RA/opeRA), elles montrent quelques problèmes de précision et de justesse.

Le biais (par rapport à la valeur cible « toutes techniques ») et la variabilité ($\pm 2ET$) de chaque technique sont représentés dans les figures 1 et 2. Sur ces dernières, les limites figurant de part et d'autre de la valeur cible « toutes techniques » délimitent la zone d'acceptabilité « toutes techniques », calculée en fonction des limites acceptables, soit pour H11 : 5,0 – 6,1% et pour H12 : 7,0 – 8,6%.

L'examen des résultats par rapport au seuil de 7% fait apparaître les points suivants :

- sur le niveau bas (H11), voisin de 5,5%, on peut constater que 99% des laboratoires ont rendu un résultat d'HbA_{1c} inférieur à 7%, ce qui est satisfaisant.
- sur le niveau moyen (H12), voisin de 7,8%, on peut remarquer, avec satisfaction, que 97% des laboratoires ont rendu un résultat d'HbA_{1c} supérieur ou égal à 7%.

Tableau III : HbA_{1c} (%) – Techniques utilisées par les laboratoires.

Techniques	Nb. labos	(%)
TOUTES TECHNIQUES	2175	100,0
ELECTROPHORESE	15	0,7
Beckman Coulter, Diatrac HbA1c Paragon	1	
Sebia, Hydragel 7/15 Hydrasys (✕)	10	
Sebia, Hydragel K20	4	
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (CLHP)	823	37,8
Bio-Rad, Diamat	1	
Bio-Rad, D-10 system (✕)	152	
Bio-Rad, Variant/Variant II (✕)	208	
Menarini, HA-8160 (✕)	110	
Menarini, HA-8121/HA-8140 (✕)	140	
Tosoh-Bioscience, A1c 2.2 Plus (✕)	135	
Tosoh-Bioscience, G7 Auto HPLC (✕)	75	
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE BASSE PRESSION (CLBP)	174	8,0
Bayer, Glycomat 745 (G15) (✕)	73	
Bayer, Glycomat DS5 (✕)	14	
Bio-Rad, DiaSTAT (✕)	86	
CHROMATOGRAPHIE D’AFFINITE	97	4,5
Bio-Rad, Micromat II (✕)	20	
Progen (Axis-Shield), NycoCard HbA1c (✕)	77	
CHROMATOGRAPHIE D’ECHANGES D’IONS (Minicolonnes)	11	0,5
Biocade (BioSystems), HbA1c	11	
TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES	1049	48,2
ABX, HbA1c WB (✕)	48	
Bayer, Advia 1650 (✕)	9	
Bayer, DCA 2000 (✕)	571	
Bayer, RA/opeRA system	16	
Beckman Coulter, Synchron system (✕)	27	
Biogene, HbA1c	2	
Dade Behring, Dimension (✕)	73	
Randox, HbA1c	7	
Roche, Cobas Integra (✕)	136	
Roche, Tina-quant II Hitachi/Modular P (✕)	144	
Thermo Electron, Konelab™ system (✕)	11	
NON PRECISEES	6	0,3

(✕) techniques certifiées NGSP à l’époque de l’opération.

Tableau IV : HbA_{1c} (%) – résultats

HbA _{1c} (%)			H11			H12		
Techniques, réactifs ou appareils	Nb lab.	%	Moyenne	CV	Biais	Moyenne	CV	Biais
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
TOUTES TECHNIQUES	2175		5,5	3,8		7,8	4,0	
ELECTROPHORESE	15	0,7	5,3	10,4	-4,7	7,7	9,8	-0,5
Sebia, Hydrasys	10	0,5	5,2	11,1	-5,3	7,5	9,6	-3,4
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE (CLHP)	823	37,8	5,4	2,6	-1,5	7,6	2,4	-1,6
Bio-Rad, D-10	152	7,0	5,4	2,6	-1,7	7,7	2,4	-1,1
Bio-Rad, Variant/Variant II	208	9,6	5,5	2,4	-1,5	7,6	2,7	-1,9
Menarini, HA-8160	110	5,1	5,4	1,9	-2,5	7,6	1,5	-1,8
Menarini, HA-8121/HA-8140	140	6,4	5,6	3,3	0,6	7,6	2,3	-2,1
Tosoh-Bioscience, A1c 2.2 Plus	135	6,2	5,5	3,3	-1,4	7,7	3,4	-0,7
Tosoh-Bioscience, G7 Auto HPLC	75	3,4	5,3	2,2	-3,3	7,6	2,2	-2,6
CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE BASSE PRESSION (CLBP)	174	8,0	5,5	2,8	-0,6	7,5	3,4	-2,7
Bayer, Glycomat 745 (G15)	73	3,4	5,5	3,3	0,1	7,6	3,5	-2,1
Bayer, Glycomat DS5	14	0,6	5,5	2,7	-1,2	7,8	5,2	0,0
Bio-Rad, DiaSTAT	86	4,0	5,5	2,5	-0,9	7,5	3,0	-3,4
CHROMATOGRAPHIE D’AFFINITE	97	4,5	5,9	9,1	7,0	8,0	10,1	3,1
Bio-Rad, Micromat II	20	0,9	6,3	4,6	13,9	8,3	4,6	7,2
Progen (Axis-Shield), NycoCard HbA _{1c}	77	3,5	5,8	9,7	5,1	7,9	10,8	2,0
CHROMATOGRAPHIE D’ECHANGES D’IONS (Minicolonnes)	11	0,5	5,0	12,8	-10,3	7,4	8,7	-4,5
Biocade (BioSystems), HbA _{1c}	11	0,5	5,0	12,8	-10,3	7,4	8,7	-4,5
TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES	1049	48,2	5,6	3,8	0,9	7,9	3,9	2,5
ABX, HbA _{1c} WB	48	2,2	5,6	4,8	0,7	8,0	4,7	3,3
Bayer, DCA 2000	571	26,3	5,6	2,6	0,4	8,0	2,5	3,0
Bayer, RA/opeRA system	16	0,7	6,0	8,4	9,0	8,7	7,2	11,6
Beckman Coulter, Synchron system	27	1,2	5,4	2,3	-2,3	7,4	4,9	-4,8
Dade Behring, Dimension	73	3,4	5,9	2,9	7,3	7,7	2,8	-0,3
Roche, Cobas Integra	136	6,3	5,8	3,5	5,0	8,2	3,1	6,1
Roche, Hitachi/Modular P	144	6,6	5,4	4,3	-2,4	7,3	3,9	-5,9
Thermo Electron, Konelab™ system	11	0,5	5,4	5,5	-3,1	7,4	5,1	-3,9

Figure 1 : CNQ HbA1c 2004 - niveau bas (H11)
(moyenne \pm 2ET)

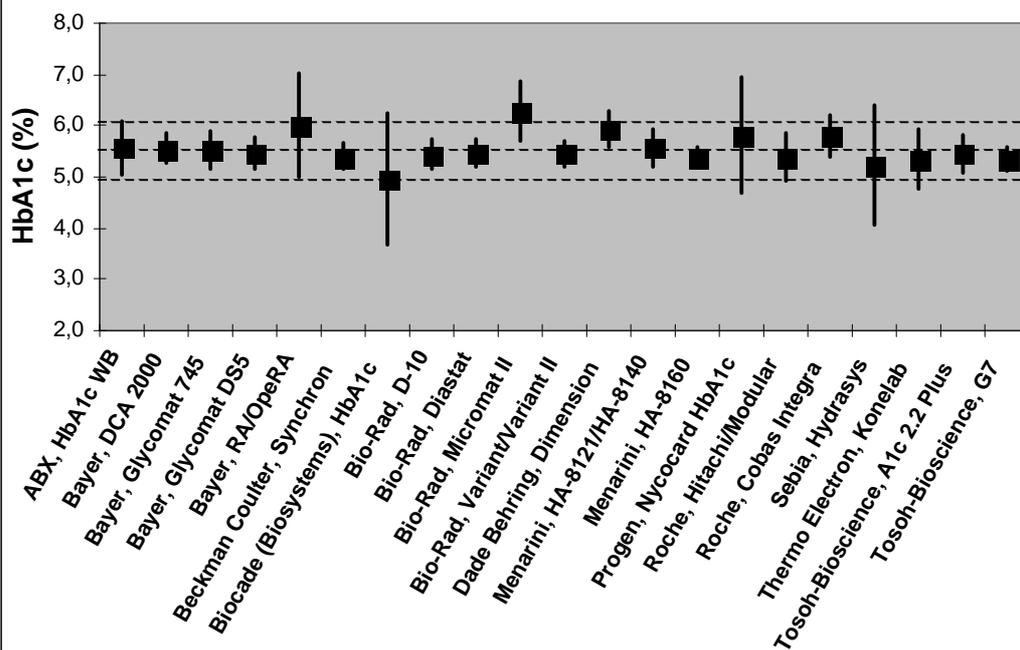
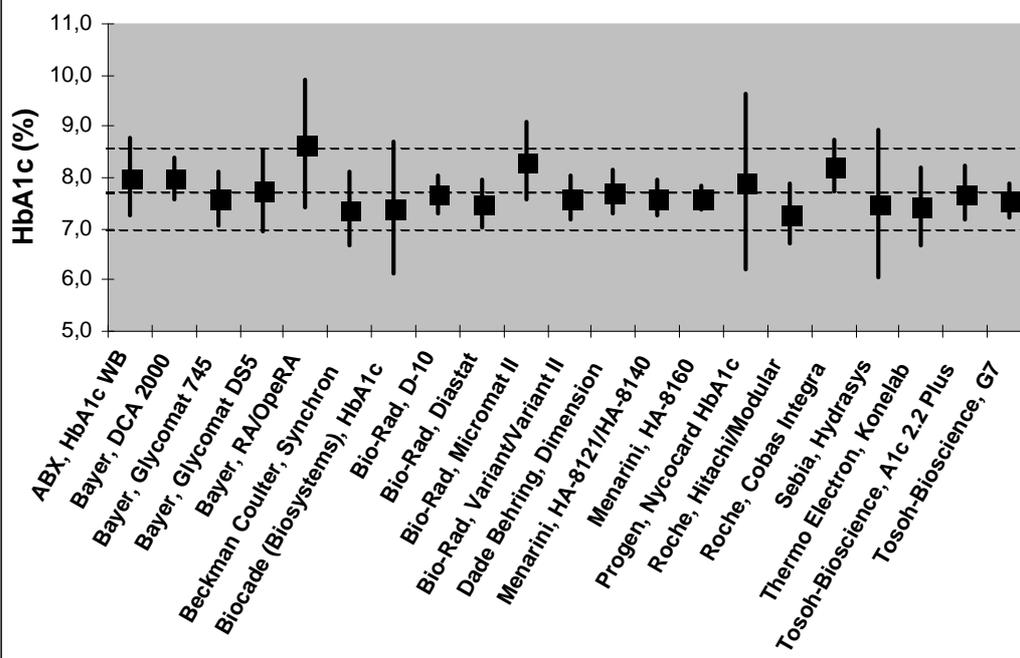


Figure 2 : CNQ HbA1c 2004 - niveau moyen (H12)
(moyenne \pm 2ET)



Conclusion

Les méthodes chromatographiques (CLHP / CLBP) et les méthodes immunologiques, largement utilisées par les laboratoires et, pour la majorité d'entre elles, standardisées, ont fortement contribué à l'amélioration des résultats qui sont, aujourd'hui, d'une fiabilité satisfaisante. L'objectif final d'améliorer la qualité des résultats des dosages de l'HbA_{1c} rendus au clinicien en vue de faciliter la prise en charge thérapeutique attendue, paraît atteint. Cependant l'utilisation de méthodes standardisées ne dispense pas les laboratoires du respect constant des règles préconisées par le GBEA (Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale), en particulier de l'instauration d'un contrôle de qualité interne et de la participation à des évaluations externes de la qualité.

Ces résultats nous confortent dans l'objectif :

1. de poursuivre le travail de standardisation des méthodes de dosage de l'HbA_{1c} et de leur utilisation par le plus grand nombre de laboratoires,
2. d'intensifier l'information à destination des professionnels de santé et des patients,
3. et enfin de continuer la politique de contrôle de la qualité de cette analyse.

Glossaire

CLHP : Chromatographie liquide haute performance.

CLBP : Chromatographie liquide basse pression.

NGSP : National Glycohemoglobin Standardization Program.

Références

- (1) Recommandations pour la pratique clinique. Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. Haute autorité de santé (HAS). Mars 2000.
- (2) National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) (<http://www.missouri.edu/~diabetes/ngsp>) où l'on peut trouver, entre autres, des informations sur la certification NGSP, ainsi que la liste des techniques certifiées par cet organisme.
- (3) Hattchouel JM, Chevenne F. Dosage de l'HbA_{1c} : bilan du contrôle national de qualité (1999-2004). *Bulletin du Contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale*, n°5, mars 2006.
- (4) Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, *et al.* Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques *Annales de Biologie Clinique* 1999 ; 57 : 685-695.