

Dosage de l'hémoglobine A1C et hémoglobinopathies : problèmes posés et conduite à tenir

Annales de Biologie Clinique. Volume 58, Numéro 4, 425-9, Juillet - Août 2000, Revues générales

Résumé : La valeur sémiologique de l'hémoglobine A1c (HbA1c) en tant que marqueur rétrospectif cumulatif de l'équilibre glycémique chez le patient diabétique est prise en défaut en cas d'hémoglobinopathie. La présence d'une hémoglobine anormale engendre des problèmes méthodologiques en raison des interférences provoquées dans la plupart des dosages, mais surtout perturbe le processus normal de glycation de l'HbA en HbA1c, et provoque souvent un certain degré d'hémolyse, très variable et impossible à quantifier. Cet article passe en revue les problèmes méthodologiques et sémiologiques relatifs à la présence de formes anormales de l'hémoglobine et propose une conduite à tenir standardisée en cas d'hémoglobinopathie.

Mots-clés : HbA1c – Hémoglobinopathies – Dosages – Interférences – Diabète sucré.

ARTICLE

La valeur sémiologique de l'hémoglobine A_{1c} (HbA_{1c}) comme marqueur rétrospectif et cumulatif de l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques est conditionnée, sur le plan de l'hémoglobine, par deux facteurs physiologiques : une durée de vie normale des hématies (120 jours) et une synthèse normale de l'hémoglobine (97 à 99 % d'HbA, alpha2beta2).

Si l'un de ces deux paramètres est modifié, l'interprétation du dosage d'HbA_{1c} devient au minimum délicate et au maximum impossible. C'est le cas au cours des hémoglobinopathies, dans lesquelles les anomalies structurales de l'hémoglobine peuvent s'accompagner d'une certaine instabilité, responsable d'un degré variable d'hémolyse, et où le dosage de l'HbA_{1c} est perturbé par la présence du variant d'hémoglobine et de ses formes glyquées, tant sur le plan analytique que sémiologique. La fréquence de rencontre de ces situations n'est pas négligeable en France, quoique assez variable en fonction de facteurs géographiques et de répartition ethnique des populations. Les problèmes posés sont assez souvent évoqués ou reconnus avec les hémoglobinopathies les plus fréquentes (S et C), mais beaucoup d'autres mutations non rares peuvent créer certaines difficultés, comme les formes D, les J, les O-ARAB et les HOPE, pour ne citer que les plus fréquentes. Le problème n'est pas nouveau [1], mais aucun consensus minimal sur la question n'a jamais été trouvé. Le but de cet article est de mettre en avant les difficultés rencontrées lors du dosage d'HbA_{1c} chez le patient diabétique porteur d'une hémoglobinopathie, et de proposer une conduite à tenir en pareil cas. Ces considérations s'appliquent avant tout aux sujets hétérozygotes, mais la surveillance de patients porteurs d'une mutation homozygote ou d'une double mutation peut être extrapolée à partir de celles-ci. De même, la conduite à tenir proposée peut être étendue aux troubles affectant la régulation de la synthèse de l'hémoglobine (persistance de l'HbF, thalassémies).

En effet, ces différentes situations peuvent générer deux sortes de problèmes : physiopathologiques (hémolyse et/ou stimulation anormale de la production, modifications de la glycation et formation éventuelle de produits glyqués différents) et techniques (interférences diverses, ou prouvées méconnues).

Problèmes physiopathologiques liés à une hémoglobinopathie

Le premier, et probablement le principal problème, même s'il n'est pas le plus apparent, est lié à l'hémolyse qui accompagne les différentes hémoglobinopathies.

L'hémoglobine subit, comme toutes les protéines de l'organisme, les modifications liées à la glycation non enzymatique, dès les stades érythropoïétiques, puis tout au long de sa présence dans le courant circulatoire [2]. Le processus étant cumulatif, le taux d'HbA_{1c} des hématies les plus âgées est plus élevé que celui des plus jeunes [3], et la mesure effectuée sur un échantillon de sang total tient compte du renouvellement équilibré des globules rouges et de l'hémoglobine. Il s'agit en fait d'une valeur résultante de l'équilibre entre réactions de synthèse/dégradation de l'hémoglobine et réactions de glycation non enzymatique. Des modèles mathématiques ont été proposés pour décrire ce métabolisme [2, 4, 5].

La conséquence pratique est que toute modification de la durée de vie des hématies, toute situation d'hémolyse, entraînent une perturbation de ce renouvellement équilibré, et que la destruction prématurée des érythrocytes les plus âgés, contenant les formes d'hémoglobine les plus intensément glyquées, diminue les valeurs d'HbA_{1c} trouvées [6]. Il en est plus généralement de même pour toute hémorragie ou spoliation sanguine importante, entraînant un rajeunissement global de la population érythrocytaire en quelques jours, ainsi que pour tout traitement stimulant la synthèse d'hémoglobine. Une situation comparable est également observée en cas d'antécédents transfusionnels proches, liés ou non à une hémoglobinopathie. De plus, on peut noter que l'ensemble de ces phénomènes peut s'accompagner d'une élévation transitoire de l'HbF, voire de l'HbA₂ de façon très limitée, mais on peut admettre que les perturbations apportées au dosage sont presque toujours négligeables, du moins tant que les élévations restent modestes (< 5 %).

La présence d'une hémoglobinopathie ne constitue donc qu'un cas particulier mais démonstratif de ce cadre général, et impose les mêmes précautions d'interprétation. Principalement, l'hémolyse qui peut en résulter, dont le degré est difficile à évaluer et parfois variable selon les phases de la maladie, est de nature à fausser le résultat d'HbA_{1c}.

Le second problème est d'ordre métabolique. Si la glycation de l'HbA en HbA_{1c} a été étudiée de façon approfondie [2, 4, 5, 7], la glycation des variants l'a beaucoup moins été, sauf pour les cas les plus fréquents [8, 9], et il n'existe pas de preuve expérimentale formelle permettant d'affirmer que la cinétique de glycation de tous les variants soit identique à celle de l'HbA. Les conclusions établies à propos de l'HbA_{1c} ne sont probablement pas transposables aux formes glyquées des variants, et on sait peu de choses d'une possible compétition entre les différentes formes d'Hb pour la glycation [10].

À la limite, on peut atteindre des situations paradoxales lorsque l'extrémité N-terminale de l'hémoglobine est touchée. Ainsi, l'Hb Raleigh, dans laquelle la valine N-terminale de la chaîne beta de la globine est substituée par une alanine acétylée, ne peut-elle plus être glyquée à ce niveau. Pourtant cette modification confère à la molécule la même charge que celle de l'HbA_{1c}, et donc le même comportement physico-chimique [11-13]. Une mutation de la valine N-terminale des chaînes beta caractérise également l'hémoglobine Niigata [14]. Dans de tels cas, toutes les méthodes de dosage de l'HbA_{1c}, ou même de l'hémoglobine glyquée dans son ensemble, peuvent être prises en défaut, puisque le site majeur de glycation est inaccessible ou modifié.

Problèmes techniques liés à une hémoglobinopathie

Les problèmes techniques sont les plus fréquemment évoqués [14-18], surtout si l'on dispose d'une méthode capable de mettre en évidence la présence d'une hémoglobine anormale (chromatographie d'échange ionique et électrophorèse). Cependant, certains variants peuvent passer inaperçus en raison de leur faible différence de propriétés physico-chimiques ou immunologiques par rapport à l'HbA. Les techniques utilisant l'affinité (en colonnes ou automatisées) et les techniques immunologiques (sous réserve que l'épitope reconnu par l'anticorps ne soit pas situé dans la zone de mutation) ne semblent pas affectées sur le plan analytique [18, 19], mais, dans tous ces cas, la mesure effectuée ne correspond pas à l'HbA_{1c} *stricto sensu*. Les méthodes d'affinité dosent l'ensemble des formes glyquées de l'hémoglobine, et les méthodes immunologiques évaluent la glycation des extrémités N-terminales de chaînes de globine, dont certaines peuvent différer de la chaîne beta normale.

Dans tous les cas, on risque d'ignorer que l'on est en présence d'un variant, ce qui ne permet pas d'évoquer les problèmes physiopathologiques envisagés plus haut, et conduirait à une interprétation erronée du résultat rendu.

Conduite à tenir

En pratique, le problème est d'abord de détecter la présence de l'hémoglobine anormale, ensuite d'interpréter ou non les résultats.

Détection de l'hémoglobine anormale

Les méthodes de chromatographie d'échange ionique utilisant la chromatographie liquide haute performance (CLHP), voire la chromatographie liquide basse pression (CLBP), permettent de détecter les variants les plus courants. HbS et HbC sont le plus souvent identifiées par les analyseurs présents sur le marché, alors que les autres variants sont généralement élués sous forme d'un pic surnuméraire séparé mais non identifié, dont la présence doit toujours être prise en compte, car elle doit conduire à poursuivre l'identification jusqu'au stade définitif, ainsi qu'à vérifier le bien-fondé du calcul automatique [20]. Il existe cependant des exceptions, dans lesquelles le variant coélué avec l'HbA₀ ou l'HbA_{1c}. S'il coélué avec l'HbA_{1c}, les valeurs sont tellement incompatibles avec les possibilités physiopathologiques (par exemple plus de 40 % d'HbA_{1c}) que le diagnostic est immédiatement évoqué [13, 17, 21]. Cette situation extrême est rarement rencontrée, et l'anomalie peut être plus difficile à détecter si le variant est élué avec l'HbA₀. C'est le cas de l'HbD, assez fréquemment rencontrée, dont l'élué est assez voisine de celle de l'HbA. Elle peut passer inaperçue si les valeurs d'HbA_{1c} sont vraisemblables. Le taux rendu est cependant très notablement abaissé. Quant aux formes glyquées du variant, elles peuvent migrer à tout endroit du chromatogramme, en amont, avec ou en aval de l'HbA_{1c}, suivant leur charge. Elles peuvent également être totalement masquées par l'HbA₀, dont elles majorent la valeur. Certes, les valeurs obtenues sont souvent assez proches de celles qui seraient trouvées en présence d'HbA_{1c} seule, et ce d'autant plus que la proportion de variant par rapport à l'Hb totale est plus faible. Elles sont cependant inexactes et peuvent conduire à une mauvaise appréciation de l'équilibre glycémique, dont la surveillance doit être très rigoureuse.

Les méthodes électrophorétiques donnent des renseignements comparables, avec plus ou moins d'efficacité selon leur capacité de résolution. En revanche, les techniques de chromatographie d'échange ionique en minicolonnes ne permettent généralement pas cette

détection, à moins que l'élution ne soit vraiment anormale et que l'opérateur ne la surveille effectivement *de visu*. Ces méthodes devraient cependant être de moins en moins employées [22, 23].

Les autres techniques ne permettent pas de mettre en évidence directement la présence du variant.

Les méthodes immunologiques ne sont sensibles à la présence du variant que si l'épitope concerné est reconnu. Le plus souvent, l'anticorps reconnaît un site n'impliquant pas la mutation, et les valeurs obtenues sont proches de celles qui seraient trouvées en présence de véritable HbA_{1c}. Cependant, comme on l'a déjà mentionné, la valeur obtenue en cas d'hémoglobinopathie n'est pas une valeur d'HbA_{1c}, puisque la structure de la globine, et en particulier celle des chaînes beta, est modifiée, et renvoie aux réserves évoquées plus haut en termes physiopathologiques.

Les méthodes par affinité, qui dosent toutes les formes d'Hb glyquée, ne sont pas affectées méthodologiquement par la présence d'un variant. Toutes les fonctions amines modifiées par glycation sont reconnues. Mais, là encore, les calculs habituellement utilisés pour corriger la valeur trouvée et l'extrapoler en valeur d'HbA_{1c}, valables si la structure de l'hémoglobine est normale, sont ici plus douteux.

Lorsque la présence du variant n'est pas évidente ou impossible à détecter en raison de la technique, l'attention du biologiste doit être attirée par toute anomalie de forme et/ou de temps d'élution des pics en CLHP ou CLBP, et évidemment par un taux d'HbA_{1c} peu vraisemblable (trop bas ou, le plus souvent, trop élevé). De même, des résultats incompatibles obtenus avec plusieurs méthodes (CLHP et dosage immunologique, par exemple), peuvent également révéler l'anomalie. Sur le plan hématologique, l'attention peut être attirée par une simple numération globulaire assortie du calcul des paramètres érythrocytaires, et, en cas de suspicion de l'existence d'un variant, la recherche peut être complétée par l'appréciation plus quantitative de l'âge moyen de la population érythrocytaire (réticulocytes, HFR), et par une étude de l'hémoglobine en isoélectrofocalisation et/ou électrophorèse en agarose à pH acide. L'attention du clinicien est parallèlement alertée par une éventuelle discordance entre le résultat d'HbA_{1c} et les autres éléments du bilan de surveillance diabétique, comme l'autocontrôle glycémique [24]. Ces situations imposent d'évoquer le diagnostic d'une anomalie quantitative et/ou qualitative de l'hémoglobine et de mettre en route sa caractérisation.

Interprétation du résultat

Lorsque l'hémoglobinopathie est prouvée, il convient de prendre la décision convenable concernant la surveillance glycémique du patient considéré par l'HbA_{1c}. On se trouve en effet placé devant un des cas où la durée de vie des globules rouges peut être modifiée, de façon impossible à quantifier, car variable selon les affections, les patients et les stades de la maladie. L'hémolyse peut cependant être mise en évidence ou étayée par des dosages d'haptoglobine ou de paramètres hématologiques (hématocrite, numération des globules rouges et surtout des réticulocytes, volume globulaire moyen). Il est possible de considérer que, si l'hémolyse est chronique et constante, et si le patient est suivi avec la même méthode de dosage d'HbA_{1c}, les résultats peuvent être comparés d'une fois sur l'autre, le patient étant son propre témoin [16]. On peut aussi envisager, à l'extrême limite, de se servir comme référence d'un ou de plusieurs membres de la même famille porteurs de la même affection,

sous réserve qu'il(s) ne soi(en)t pas diabétique(s). Il convient d'insister sur le caractère impératif de conserver la même technique : un même échantillon peut fournir des résultats trop élevés avec une technique CLHP donnée, et trop bas avec une autre [14, 25]. C'est dire le côté aléatoire de cette détermination. On accepte alors l'idée que le chiffre fourni ne reflète plus la période habituellement explorée mais une période spécifique à chaque patient. On pose également comme préalable que la présence du variant ne modifie pas la cinétique de glycation de l'HbA₀, et que sa propre glycation est comparable [26]. Les chiffres habituellement considérés comme valeurs seuils ne peuvent plus être retenus.

Cette conduite, qui suscite la plus grande réserve, s'applique à toutes les méthodes de dosage, pourvu qu'elles répondent par ailleurs aux critères de qualités requis et qu'elles soient standardisées [22, 23, 27].

Dans le cas où la méthode permet de mettre en évidence le variant et sa forme glyquée, parallèlement à l'HbA et à l'HbA_{1c} s'il s'agit d'une forme hétérozygote, il est tentant d'effectuer une règle de trois afin de rapporter l'HbA_{1c} à l'HbA₀ sans tenir compte du variant. Il s'agit d'une manœuvre aléatoire qui présuppose que la séparation de tous les pics est aussi performante que dans le cas d'un échantillon de composition normale (ce qui est loin d'être évident). Ce type d'opération paraît très risqué et mérite d'être considéré avec une absolue réserve. Un travail méritoire de la littérature a établi des valeurs de référence des hémoglobines glyquées en cas d'HbS et HbC [28]. Cependant, non seulement son intérêt diminue avec le temps puisque de nouvelles techniques non testées dans cette étude apparaissent alors que d'autres sont abandonnées, mais encore les auteurs concluent que l'interprétation des résultats obtenus est déconseillée, en raison des nombreux facteurs interférant dans le renouvellement des hématies.

Solutions de remplacement

Une solution alternative peut être de doser les fructosamines plasmatiques, dont les variations sont totalement indépendantes de la présence d'une hémoglobine anormale [29]. Il est évident que le renseignement obtenu est différent, puisque les fructosamines intègrent une période plus courte d'équilibre glycémique (2 à 3 semaines au lieu de 4 à 6 semaines). Par ailleurs, on ne dispose pas, à l'heure actuelle, d'étude de taille comparable à celles menées pour l'HbA_{1c}, permettant d'établir des seuils diagnostiques ou d'intervention. Cependant, quelques récentes publications ont montré que de telles valeurs pourraient être définies [30, 31], d'autant mieux que les biologistes peuvent disposer de techniques standardisées et que des valeurs de référence ont été établies il y a plusieurs années par le groupe de travail correspondant de la SFBC [32, 33]. Le manque de familiarisation avec ce test peut cependant parfois rendre l'interprétation délicate, et une bonne collaboration clinico-biologique apparaît nécessaire. Le dosage des fructosamines ne doit, en tout état de cause, qu'être entrepris dans de bonnes conditions et dans des situations spécifiques. Le prélèvement peut éventuellement être transmis à un autre laboratoire pour cette détermination. Le dosage peut être réalisé sur le même tube que celui qui a été utilisé pour le dosage de l'HbA_{1c}, ce qui évite un nouveau prélèvement.

La présence d'une hémoglobinopathie engendre donc des modifications physiopathologiques et des problèmes techniques rendant très difficile, et souvent pratiquement impossible l'interprétation correcte des dosages d'HbA_{1c}. Le biologiste et le clinicien doivent être attentifs à la détection de ces pathologies, et préférer, le cas échéant, l'évaluation de l'équilibre

glycémique par la mesure des fructosamines. Les valeurs seuils thérapeutiques habituellement retenues pour l'HbA_{1c} sont de toute façon inutilisables dans ce cas.

CONCLUSION

Remerciements. Les auteurs remercient vivement F. Galacteros (Centre de la drépanocytose et des thalassémies, hôpital Henri-Mondor, Créteil) pour sa relecture attentive et ses suggestions lors de la préparation de ce manuscrit.

Article reçu le 29 janvier 2000, accepté le 15 mars 2000.

REFERENCES

1. Pileire B, Moutet JP, Bangou J, Ragoucy-Sengler CM. Marqueurs de la glycation des protéines dans le dépistage du diabète : applications aux populations à forte prévalence d'hémoglobinopathies. *Ann Biol Clin* 1988 ; 46 : 719-21.
2. Higgins PJ, Bunn HF. Kinetic analysis of the nonenzymatic glycosylation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1981 ; 256 : 5204-8.
3. Gillery P, Maquart FX, Corcy JM, Randoux A, Borel JP. A glucose transfer from membrane glyconjugates to haemoglobin in isolated red blood cells : another biosynthetic way for glycosylated haemoglobins. *Eur J Clin Invest* 1984 ; 14 : 317-22.
4. Zielke R, Henrichs HR. Use of the HbA_{1c} determinations as long-term parameter in diabetes control. *Clin Lab* 1993 ; 39 : 988-90.
5. Rech ME. Observations on the decay of glycated hemoglobin HbA_{1c} in diabetic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996 ; 104 : 102-5.
6. Rigal D, Monestier M, Baboin-Jaubert M, *et al.* Appréciation de la durée de vie des globules rouges par le dosage de l'hémoglobine glycosylée : intérêt clinique. *Presse Med* 1985 ; 14 : 521-3.
7. Nacharaju P, Acharya AS. Amadori rearrangement potential of hemoglobin at its glycation sites is dependent on the three-dimensional structure of protein. *Biochemistry* 1992 ; 31 : 12673-9.
8. Aleyassine H. Glycosylation of hemoglobin S and hemoglobin C. *Clin Chem* 1980 ; 26 : 526-7.
9. Goujon R, Thivolet C. Glycation of hemoglobin C in the heterozygous state in diabetic patients. *Diabetes Care* 1994 ; 17 : 247.
10. Bissé E, Zorn N, Eigel A, *et al.* Hemoglobin Rambam (beta69 [E13] Gly => Asp), a pitfall in the assessment of diabetic control : characterization by electrospray mass spectrometry and HPLC. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 2172-7.
11. Frantzen F. Chromatographic and electrophoretic methods for modified hemoglobins. *J Chromatogr B* 1997 ; 699 : 269-86.

- 12.** Moo-Penn WF, Bechtel KC, Schmidt RM, *et al.* Hemoglobin Raleigh (beta1 valine => acetylalanine) : structural and functional characterization. *Biochemistry* 1977 ; 16 : 4872-9.
- 13.** Chen D, Crimmins DL, Hsu FF, Lindberg FP, Scott MG. Hemoglobin Raleigh as the cause of a falsely increased hemoglobin A_{1c} in an automated ion-exchange HPLC. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1296-301.
- 14.** Watanabe T, Kato K, Yamada D, *et al.* A nondiabetic case of hemoglobin variant (Hb Niigata) with inappropriately high and low HbA_{1c} titers detected by different methods. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1562-4.
- 15.** Weykamp CW, Penders TJ, Muskiet FAJ, van der Slik W. Influence of hemoglobin variants and derivatives on glycohemoglobin determinations, as investigated by 102 laboratories using 16 methods. *Clin Chem* 1993 ; 39 : 1717-23.
- 16.** Wong SC, Aw TC. HbE_{1c} as an indicator for the presence of HbAE phenotype in diabetic patients. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 660-2.
- 17.** Alsoutary K, Richards FW, Fairbanks VF, McCormick DJ, Osterman J. Spuriously elevated hemoglobin A_{1c} in a diabetic patient with two rare hemoglobin variants (hemoglobin Raleigh and hemoglobin Russ). *The Endocrinologist* 1998 ; 8 : 101-4.
- 18.** Roberts WL, McCraw M, Cook CB. Effects of sickle cell trait and hemoglobin C trait on determination of HbA_{1c} by an immunoassay method. *Diabetes Care* 1998 ; 21 : 983-6.
- 19.** Eaton SE, Fielden P, Haisman P. Glycated haemoglobin (HbA_{1c}) measurements in subjects with haemoglobin variants, using the DCA 2000. *Ann Clin Biochem* 1997 ; 34 : 205-7.
- 20.** Lemée V, Hue G, Lahary A, Lavoine A. Détection fortuite d'anomalies de l'hémoglobine lors du dosage de l'hémoglobine glyquée par une technique de chromatographie liquide haute pression. *Ann Biol Clin* 1999 ; 57 : 713-6.
- 21.** Elder GE, Lappin TRJ, Horne AB, *et al.* Hemoglobin Dominion/Burton-upon-Trent, beta143(H21) His => Tyr, codon 143 CAC => TAC a variant with altered oxygen affinity that compromises measurement of glycated hemoglobin in diabetes mellitus : structure, function and DNA sequence. *Mayo Clin Proc* 1998 ; 73 : 321-8.
- 22.** Gillery P, Labbé D, Dumont G, Vassault A. Glycohemoglobin assays evaluated in a large-scale quality control survey. *Clin Chem* 1995 ; 41 : 1644-8.
- 23.** Gillery P, Dumont G, Vassault A. Evaluation of glycohemoglobin assays in France by national quality control surveys. *Diabetes Care* 1998 ; 21 : 265-70.
- 24.** Wajcman H, Promé D, Préhu C, *et al.* Hb Les Andelys [alpha83(F4) Leu => Pro] : a new moderately unstable variant. *Hemoglobin* 1998 ; 22 : 129-40.
- 25.** Schnedl WJ, Lipp RW, Trinker M, Hopmeier P. Hemoglobin D [beta121(GH4) Glu => Gln] causing falsely low and high HbA_{1c} values in HPLC. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1999-2000.

26. Roberts WL, Chiasera JM, Ward-Cook K. Glycohemoglobin results in samples with hemoglobin C or S trait : a comparison of four test systems. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 906-9.
27. Gillery P, Bordas-Fonfrède M, Chapelle JP, Hue G, Périer C. Hémoglobine glyquée : le temps de la standardisation est venu. *Ann Biol Clin* 1998 ; 56 : 249-51.
28. Weykamp CW, Martina WV, van der Dijs FPL, *et al.* Hemoglobins S and C : reference values for glycohemoglobin in heterozygous, double-heterozygous and homozygous subjects, as established by 13 methods. *Clin Chim Acta* 1994 ; 231 : 161-71.
29. Martina WV, Martijn EG, van der Molen M, Schermer JG, Muskiet FAJ. beta-N-terminal glycohemoglobins in subjects with common hemoglobinopathies : relation with fructosamine and mean erythrocyte age. *Clin Chem* 1993 ; 39 : 2259-65.
30. Ko GTC, Chan JCN, Yeung VTF, *et al.* Combined use of a fasting plasma glucose concentration and HbA_{1c} or fructosamine predicts the likelihood of having diabetes in high-risk subjects. *Diabetes Care* 1998 ; 21 : 1221-5.
31. Hom FG, Ettinger B, Lin MJ. Comparison of serum fructosamine vs glycohemoglobin as measures of glycemic control in a large diabetic population. *Acta Diabetol* 1998 ; 35 : 48-51.
32. Gillery P, Périer C, Stahl A, Delattre J. Recommandations pour le dosage des protéines glyquées par la méthode dite des fructosamines. *Ann Biol Clin* 1992 ; 50 : 603-5.
33. Gillery P, Delattre J, Plaquet R, Stahl A. Standardisation du dosage des fructosamines. *Diabète Métab* 1993 ; 19 : 321-4.