

Michèle FONFREDE¹

Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable ?

RÉSUMÉ

Les discordances observées entre un résultat de dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) et d'autres paramètres de l'équilibre glycémique ne sont pas rares. En dehors d'une problématique exclusivement analytique et/ou liée à un remaniement de la standardisation pouvant conduire à un résultat ininterprétable pour un clinicien, il existe des raisons purement physiopathologiques de mauvaise interprétation associées, ou non, à l'hémoglobine et à des causes génétiques. Cet article présente les principales causes d'erreur pouvant être associées à un résultat discordant d'HbA1c

MOTS-CLÉS

HbA1c, diabète, hémoglobinopathie

Is a HbA1c result always interpretable ?

SUMMARY

Differences between a HbA1c result and other measures of glycemic status are common. Some of them can be explained with the new standardisation program, others by erythrocytes lifespan, haemoglobin variants or genetic factors. This article presents the main sources of errors that can be associated with a conflicting HbA1c result.

KEYWORDS

HbA1c, diabetes mellitus, hemoglobinopathy

I - Introduction

Au cours des 25 dernières années, l'HbA1c, marqueur de référence de l'équilibre glycémique pour le suivi des patients diabétiques a fait l'objet de réflexions clinico-biologiques portant sur sa prescription, sur la qualité des méthodes de dosages et sur leur standardisation. L'intérêt majeur de ce marqueur est de permettre le suivi de l'équilibre glycémique et de quantifier le risque de complications. Grâce à des études épidémiologiques à grande échelle, la relation entre équilibre glycémique objectivé par l'HbA1c et complications dégénératives liées entre autres à l'hyperglycémie chronique a pu être démontrée. Cette démonstration a permis de fixer des valeurs thérapeutiques décisionnelles et de calculer le risque de survenue des complications en fonction de l'augmentation ou de la diminution du résultat par rapport au dosage précédent.

L'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES), dans son rapport con-

cernant le suivi des diabétiques de type 2, et une récente une campagne médiatique promulguent la valeur de 7% comme seuil à atteindre ou à ne pas dépasser.

La bonne prise en charge du patient diabétique nécessite donc, de façon primordiale, que le biologiste interprète correctement le résultat voire qu'il critique et/ou qu'il argumente, selon le schéma présenté sur la Figure 1, les valeurs déterminées.

Partant de résultats présentant des discordances, cet article vise à présenter un point – non exhaustif – sur ce que représente exactement l'HbA1c et les réserves que l'on peut émettre devant un résultat considéré comme « douteux » par le clinicien

II - Population étudiée

Les situations face auxquelles un clinicien trouve incohérent le résultat d'HbA1c comparé à l'équilibre glycémique supposé du patient ne sont pas

¹Laboratoire de Biochimie - GH Pitié Salpêtrière - 47, Boulevard de l'Hôpital - 75013 Paris - Tél. : 01 42 16 20 41 - Fax : 01 42 16 20 33
E-Mail : michele.fonfrede@psl.aphp.fr

Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable

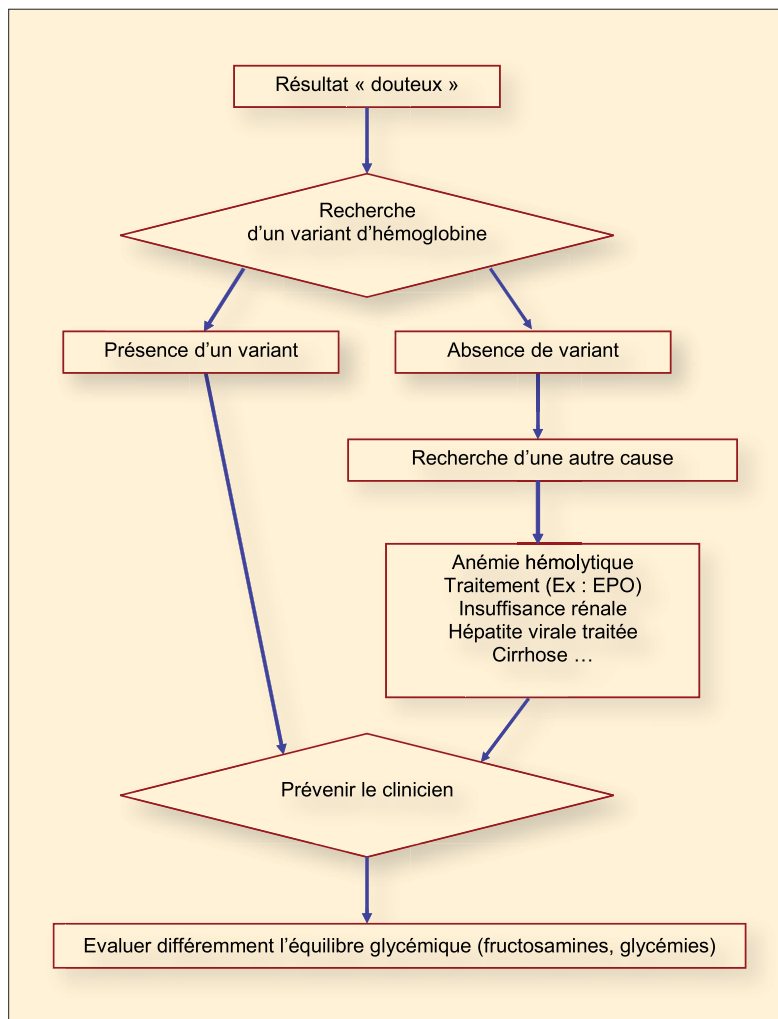


Figure 1
Proposition de
marche à suivre
face à des résultats
incohérents avec la
clinique.

rare. Parmi celles rencontrées au laboratoire, 3 sont particulièrement classiques pour être proposées à la réflexion.

1) Un laboratoire détermine des résultats d'HbA1c de 9,9% et 10,4% pour une patiente diabétique de type 1. Dans les 24 heures suivant le premier prélèvement un second dosage est réalisé dans un autre laboratoire, les résultats donnés sont respectivement de 7,7% et 8,3%, soit une différence constante de 2 « points » entre les 2 laboratoires.

2) Un patient diabétique de type 2 présente des glycémies supérieures à 10 mmol/L mais des résultats d'HbA1c compris de façon constante entre 4,5% et 4,8%.

3) Les résultats d'HbA1c d'un patient diabétique de type 2 sont déterminés par deux laboratoires différents à des valeurs respectives de 10,1% et 9,8%, pour l'un, et 7,2% et 6,9%, pour l'autre.

A partir de ces exemples présentant des discordances, soit entre 2 laboratoires répondant chacun aux critères de standardisation et de contrôle de qualité, soit entre glycémie et HbA1c, nous allons présenter quelques-unes des raisons pouvant expliquer ces désaccords.

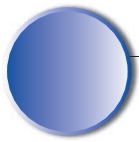
III - Signification clinique de l'HbA1c

Résultat d'une glycation irréversible non enzymatique sur l'une ou l'autre des valines N-terminales de la chaîne β de l'hémoglobine, l'HbA1c s'exprime en pourcentage de l'hémoglobine totale chez les sujets homozygotes pour l'hémoglobine A. Le résultat est donc la résultante de plusieurs facteurs, les uns purement hématologiques (synthèse normale de l'hémoglobine A et durée de vie du globule rouge), les autres liés à la glycémie donc au passage du glucose à travers la membrane érythrocytaire et aux périodes plus ou moins prolongées d'hyperglycémie. Il est communément admis que le résultat constitue un reflet de l'équilibre glycémique des deux mois précédant le dosage.

Même après 25 ans d'utilisation courante, l'HbA1c peut faire l'objet de certaines incertitudes dans l'esprit des biologistes et des cliniciens. La première incertitude est liée au nom à utiliser : le terme hémoglobine A1 a été d'abord utilisé du fait de sa migration électrophorétique, puis celui d'hémoglobine glycosylée en raison de son lien avec les glucides. Différents termes présentant des niveaux de complexité variés ont été proposés. Il apparaît que des termes comme glyco-hémoglobine et/ou hémoglobine glyquée sont à privilégier car faisant référence au phénomène de glycation non enzymatique. HbA1c est un terme sans équivoque, la proposition de le simplifier en A1C présente une certaine ambivalence. En effet, la suppression du terme hémoglobine peut-être considérée comme un avantage (ce n'est pas une maladie du sang), toutefois, vue sous un autre angle, la disparition de ce terme peut contribuer à faire oublier que le résultat est dû à la bonne santé du globule rouge et de l'hémoglobine (1). Enfin, il s'ajoute à cette difficulté la notion de cinétique de synthèse/dégradation des différents « acteurs » : la synthèse de l'HbA est constante, la synthèse de l'HbA1c est liée aux variations de la glycémie et la cinétique de disparition exponentielle est identique pour les deux. Ceci explique que dans quelques cas l'interprétation du résultat n'est plus le reflet classique des moyennes glycémiques des 2 mois précédant le dosage et rend compte d'un phénomène plus complexe.

IV - Les incertitudes analytiques

Les communications récentes concernant un remaniement lié à la standardisation et ayant pour conséquence l'application de nouvelles valeurs usuelles doivent être analysées de façon très objective (2). Les travaux de standardisation effectués au cours des dix dernières années laissent supposer que la variabilité inter-technique a quasiment disparue. Les opérations de standardisation menées en particulier à l'instigation de



la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) ont permis la sélection de techniques fiables et standardisées. Les sociétés scientifiques (la SFBC, l'Association de Langue Française pour l'Etude du Diabète et des Maladies (ALFEDIAM), la Société Française d'Endocrinologie (SFE)) et les organismes officiels (AFSSAPS, ANAES) retiennent comme critère incontournable l'utilisation de techniques standardisées dans les laboratoires de biologie.

Les seuils définis grâce aux études prospectives « Diabetes Control and Complications Trial » (DCCT) et « United Kingdom Prospective Diabetes Study » (UKPDS) (3, 4), l'ont été avec le seul système de standardisation de l'HbA1c utilisable sur la période de réalisation de ces travaux (5). Ils ont fait l'objet d'une large communication dans la communauté médicale et auprès des patients. La méthode utilisée pour ces études cliniques, basée sur une séparation chromatographique de l'HbA1c, n'est pas exempte d'interférences analytiques. C'est pourquoi un groupe de travail de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) a développé et validé une méthode de référence spécifique de l'HbA1c, destinée à servir de point d'ancrage à toutes les techniques (6), mais dont l'inconvénient majeur est de fournir des valeurs d'HbA1c de 1 à 2% plus basses que celles de la standardisation NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program). Depuis janvier 2004, un groupe de consensus international regroupant les sociétés scientifiques concernées par le diabète a décidé que tous les fabricants devaient utiliser le standard IFCC pour la calibration de leurs réactifs, une relation - appelée « master equation » - entre les deux systèmes ayant été établie (7). Un passage brutal à un nouveau système de valeurs n'est pas envisageable sans précautions d'autant plus que différentes études (8, 9) ont montré qu'un changement brutal des valeurs de référence et donc des valeurs des patients entraînait une dégradation de l'équilibre glycémique et faisait perdre tout l'avantage de la prise en compte de ce paramètre.

Il est toutefois important de noter que la « master equation » ne s'applique pas indifféremment aux calibrants et aux résultats. Une étude récente (10) montre que la relation appliquée aux résultats de patients peut conduire à des erreurs de classification (bien équilibré, moyennement équilibré, mal équilibré) et qu'il est prématuré de passer d'un système à un autre sans précautions. Un groupe de travail réunissant différentes sociétés scientifiques (European Association for the Study of Diabetes (EASD), International Diabetes Federation (IDF), American Diabetes Association (ADA)) a démarré en 2005 afin de définir la relation entre glycémies et HbA1c standardisée IFCC.

En dehors de ces considérations récentes, il ne faut pas oublier le fait que les premières méthodes de dosage ne faisaient pas forcément la différence entre les fractions mineures (11) d'hémoglobine modifiée pouvant interférer sur le dosage - fraction d'hémoglobine labile directement corrélée à

la glycémie du moment du prélèvement, hémoglobine carbamylée (12, 13, 14) liée à la présence d'une urémie chronique, fractions formées en cas de surcharge en acide acétylsalicylique ou éthanol. Quoique rares certaines de ces interférences peuvent encore exister et il appartient au biologiste de s'assurer de leur absence.

V - Les données physiologiques

Comme pour tout paramètre biologique il existe pour l'HbA1c des variations intra et interindividuelles. Elles ont été montrées chez le sujet non diabétique (15) mais sont difficilement directement extrapolables à une population de diabétiques. De plus, il a été observé des variations saisonnières (16) et des variations selon l'âge (17).

Chez les diabétiques de type 1 ce sont à la fois les résultats du DCCT (18) et ceux de Saudek et coll. (19) qui ont permis de montrer qu'il existe une variabilité intra et interindividuelle. Dans la première étude il a été montré que pour un même sujet diabétique de type 1, sans qu'il y ait modification de l'équilibre glycémique (glycémies constantes), les variations d'HbA1c observées peuvent aller de 6 à 9,7%. La même constatation a été faite sur le plan des variations interindividuelles : pour un même équilibre glycémique de 10 mmol/L (apprécié par les moyennes glycémiques de 28 derniers jours avant le dosage), il a été observé que les résultats d'HbA1c chez des sujets différents peuvent être de 6,2% ou 10,8%. Inversement, si on compare les glycémies moyennes des 28 derniers jours des sujets ayant une HbA1c à 7% on constate qu'elles peuvent varier entre 8 mmol/L et 11 mmol/L.

Des modèles mathématiques ont permis d'expliquer certaines de ces discordances (20) mais des critères d'ordre purement physiopathologique (1, 21, 22) peuvent également expliquer ces variations.

Comme nous l'avons déjà évoqué, la synthèse de l'hémoglobine A se fait selon une cinétique constante alors que la formation de l'hémoglobine glyquée est soumise aux variations de la glycémie (à jeun, post-prandiale). L'hypothèse que l'HbA1c reflète les moyennes glycémiques des 3 derniers mois précédant le dosage est alors remise en question. C'est essentiellement la glycémie des 30 derniers jours qui compte dans le résultat puisqu'elle représente la moitié de la valeur d'HbA1c mesurée à un temps donné, alors que les glycémies des 2 à 3 mois précédant ne sont responsables que de 10% de la variation observée.

Deuxième hypothèse avancée pour expliquer les variations interindividuelles : le pouvoir de glycation. Quelques études (23, 24) montrent que chaque individu semble être génétiquement déterminé quant à son pouvoir de glycation. Il y aurait ainsi, d'une part, les bons « glycaters » (selon l'expression anglo-saxonne) qui pourraient donc avoir un pourcentage d'HbA1c plus élevé que ne

Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable

le laissent supposer les glycémies et, d'autre part, les mauvais « glycatours » qui, au contraire aurait une valeur d'HbA1c plus faible que ne le laissent supposer les glycémies. Enfin, un phénomène de déglycation intraérythrocytaire (25) a été récemment décrit. Cette réaction quoique mineure au niveau des hématies est également génétiquement déterminée expliquant en partie les différences observées entre des individus apparemment comparables sur le seul critère des glycémies.

VI - Les variations liées à l'hémoglobine

La valeur sémiologique de l'HbA1c est conditionnée, sur le plan de l'hémoglobine, par une durée de vie normale des globules rouges (120 jours) et une synthèse normale de l'hémoglobine (97 à 99% d'HbA). Si l'un de ces paramètres est modifié, l'équilibre entre réactions de synthèse / dégradation et réactions de glycation non enzymatique est perturbé. L'interprétation du dosage d'HbA1c devient au minimum délicate et au maximum impossible (26).

Lorsque la durée de vie des hématies est inférieure à 120 jours, l'équilibre entre synthèse / dégradation et réactions de glycation non enzymatique est modifié. En effet, les modifications liées à la glycation non enzymatique se produisent sur l'hémoglobine dès les stades érythropoïétiques, et continuent tout au long de sa présence dans le courant circulatoire (27). Toute modification de la durée de vie des hématies, toute situation d'hémolyse (auto-immune, mécanique, toxique, médicamenteuse), toute transfusion récente entraîne alors une perturbation de ce renouvellement

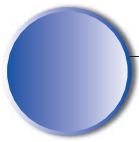
équilibré. Ceci est plus fréquemment rencontré dans le cas de cirrhoses avancées qui provoquent l'augmentation de la séquestration splénique des globules rouges ainsi qu'une hémolyse importante (28) et d'hépatites virales où cette situation est souvent majorée par le traitement antiviral par Ribavirine®. Dans cette dernière situation, non exceptionnelle, les résultats d'HbA1c sont alors sous estimés du fait de l'anémie régénérative provoquée par le traitement.

Enfin, le problème posé par la présence d'une hémoglobine anormale devient de plus en plus important tant pour les biologistes – quelle technique choisir ? - que pour les cliniciens – comment interpréter le résultat par rapport aux cibles recommandées ? De nombreux cas rapportés dans la littérature (29, 30, 31, 32, 33, 34, 35) montrent que, en présence d'un variant d'hémoglobine et en fonction de la technique utilisée, les résultats peuvent être faussement bas ou faussement hauts et au total difficilement interprétables. De plus, rien ne permet aujourd'hui de dire qu'un principe de dosage est supérieur à un autre pour mesurer l'HbA1c chez les sujets porteurs d'une hémoglobine anormale. En revanche, l'importance de signaler sa présence est reconnue de façon internationale. En effet, Bisse et coll. (36) ont montré que dans certains cas chez le sujet hétérozygote, une mutation sur la chaîne bêta ralentit la cinétique de glycation de la chaîne non mutée. La présence d'un variant pouvant induire une erreur d'interprétation avec pour conséquence une décision thérapeutique inadéquate est donc des plus importantes. Plus de 800 variants d'hémoglobine ont été décrits, la prévalence d'hémoglobinopathies décrite dans une population de diabétique est de 0,6 % mais peut être plus importante selon le recrutement des patients allant jusqu'à provoquer un doute chez les prescripteurs (37) pour qui « le nombre de variants d'hémoglobine est peut-

Tableau I

Différence de résultat d'HbA1c en fonction de la technique utilisée pour les Hb anormales. Les chiffres donnés pour les méthodes CLHP et immunoturbidimétriques représentent les extrêmes rencontrés avec un même principe méthodologique. ND : non déterminé par cette technique.

Nature de l'Hb anormale	HbA1c déterminée par CLHP échange d'ions	HbA1c déterminée par immunoturbidimétrie	HbA1c déterminée par chromatographie d'affinité	HbA1c déterminée par la méthode de référence (spectrométrie de masse)	fructosamines	Référence
HbS	2,9 – 6,1%	5,7 – 7,8%	6,1%	ND	233 µmol/L	(20)
HbD	3,2 – 8,4%	ND	ND	ND	256 µmo/L	(16)
HbD Punjab	10,8%	ND	ND	7,2%	ND	(19)
HbO Padova	5,8 – 8,9%	9,2 – 10,1%	8,4%	ND	455 µmol/L	(20)
Hb Görwihl	2,1%	4,4%	9,7%	ND	310 µmol/L	(14)
Hb Wayne	15,2%	ND	ND	6,1%	ND	(19)
Hb Graz	48,3%	4,9 -5,7%	6,7%	ND	303 µmol/L	(20)



être un problème plus important que prévu ».

La prise en charge thérapeutique des ces patients peut alors être difficile car les normes fixées grâce aux études du DCCT et de l'UKPDS l'ont été dans une population de patients homozygotes AA. Pour expliciter ces difficultés, le Tableau I (voir page précédente) présente un résumé de quelques discordances observées dans la littérature. Compte tenu de l'importance du résultat d'HbA1c pour un ajustement thérapeutique, il est important que les biologistes connaissent les caractéristiques de la méthode qu'ils utilisent afin de signaler la présence éventuelle d'une hémoglobinopathie. Il a même été décrit des erreurs de résultats obtenus avec des méthodes immunochimiques (38).

Quant à l'attitude à adopter devant la présence d'une hémoglobine anormale chez un patient diabétique plusieurs solutions sont possibles : utiliser un autre principe mais l'incertitude persistera sur la valeur à prendre en compte pour l'ajustement thérapeutique, utiliser un autre marqueur rétrospectif comme les fructosamines mais l'incertitude portera alors sur le seuil décisionnel (39, 40, 41) car il n'y a pas de consensus sur la relation HbA1c - fructosamines, utiliser l'HbA1c obtenue lors de la première détermination et suivre le patient avec la même technique afin qu'il soit son propre « témoin » (42).

VII - Conclusion

En guise de conclusion, je donnerai une « réponse » aux 3 cas cliniques introduits précédemment (voir II – Population étudiée). Le premier correspond à une patiente avec insuffisance rénale. La présence l'hémoglobine carbamylée a conduit à une surestimation du dosage de l'HbA1c par chromatographie liquide haute performance (CLHP) ; les résultats les plus élevés étaient erronés. Dans le deuxième cas décrit, le patient est porteur d'une hépatite C chronique traitée par Ribavirine® entraînant une hémolyse chronique avec anémie régénérative. Enfin, le troisième et dernier cas correspond à un patient hétérozygote pour l'HbAC pour qui les résultats les plus élevés (10,1% et 9,8%), mesurés par une technique immunoturbidimétrique, étaient erronés.

Le diabète est une maladie chronique et le dosage de l'HbA1c est un élément majeur de sa prise en charge afin d'ajuster un traitement qui limitera les complications. Si les diabétologues sont en général bien informés des problèmes liés à l'interprétation du dosage, les autres cliniciens amenés à suivre un diabétique, tel le néphrologue ou le cardiologue, ne sont pas toujours familiarisés avec les subtilités du dosage. Il convient donc aux biologistes de connaître les limites de la méthode utilisée afin d'avoir un regard critique sur le résultat (figure 1, voir page 49) et d'apporter une aide à l'interprétation.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) JEFFCOATE SL, diabetes control and complications: the role of glycated haemoglobin, 25 years on, *Diabetic Medicine*, 2004, 21, 657-665.
- (2) HOLT RIG, GALLENT I, time to move beyond glycosylated haemoglobin (editorial), *Diabetic Medicine*, 2004, 21, 655-656.
- (3) DCCT Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New Engl. J. Med.*, 1993, 329, 977-986.
- (4) UKPDS Group: Intensive blood-glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *The Lancet*, 1998, 352, 837-853.
- (5) LITTLE RR, ROHLFING CL, WIEDMEYER H, *et al.* for the NGSP Steering Committee: The National Glycohemoglobin Standardisation Program: A five-year progress report. *Clin. Chem.*, 2001, 47 (11), 1985-1991.
- (6) JEPSSON JA, KOBOLD U, BARR J, *et al.* Approved IFCC reference method for measurement of HbA1c in Human Blood. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002, 40, 78-89.
- (7) MIEDEMA K. Towards worldwide standardisation of HbA1c determination, *Diabetologia*, 2004, 47, 1143 - 1148
- (8) HOME P, MBANYA JC, HORTON E, Standardisation of glycated haemoglobin is a scientific advance, but could worsen overall blood glucose control, *BMJ*, 2004, 329, 1196-1197.
- (9) MANLEY S., JOHN WG, MARSHALL S., Introduction of IFCC reference method for calibration of HbA1c : implication for clinical use, *Diabetic Medicine*, 2004, 21, 673.
- (10) GURDEEP SD, MUKESH MA, BASSAM B., HbA1c: a comparison of NGSP with IFCC transformed values, *Clin. Chim. Acta*, 2005, 358, 81– 86.
- (11) WEYKAMP CW, PENDERS TJ, SIEBELDER CWM, *et al.* Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and enzyme immunoassay, *Clin. Chem.*, 1993, 39, 138-142.
- (12) LEE KF, SZETO YT, BENZIE IF, Glycohaemoglobin measurement: methodological differences in relation to interference by urea, *Acta Diabetol.*, 2002, 39, 35-39.
- (13) HERRUER MH, VAN KOOTEN EAW, SLUITER HE, *et al.* Influence of uremia on the determination of blood glycohaemoglobin by HPLC, electrophoresis and affinity chromatography in diabetic and non diabetic patients, *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1994, 32, 361-364.
- (14) CHEVENNE D., FONFREDE M., DUCROCO R., TRIVIN F. Uremia and HbA1c measured by HPLC. *Diabetes Care*, 1998, 21, 463-464.
- (15) SIMON D, SENAN C, BALKAU B, *et al.* Reproducibility of HbA1c in a healthy adult population – the Telecom study, *Diabetes Care*, 1999, 22, 1361-1363.
- (16) GARDE AH, HANSEN AM, SKOVGAARD LT, *et al.* Seasonal and biological variation of blood concentrations of total cholesterol, dehydroepiandrosterone sulphate, haemoglobin A1c, IgA, Prolactin, and free testosterone in healthy women, *Clin. Chem.*, 2000, 46, 551-559.
- (17) VALLEE-POLNEAU S, LASSERRE V, FONFREDE M *et al.* A different approach to analyzing age related - HbA1c values in non-diabetic subjects. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2004, 42, 423-428.
- (18) ROHLFING CL, WIEDMEYER HM, LITTLE RR, *et al.* Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c, *Diabetes Care*, 2002, 25, 275-278.

Un résultat d'hémoglobine A1c est-il toujours interprétable

- (19) SAUDEK CD, KALYANI RR, DERR RL, assessment of glycaemia in diabetes mellitus: haemoglobin A1c, *J. Assoc. Physicians India*, 2005, 53, 299-305.
- (20) OLLERTON RL, LUZIO SD, OWENS DR, contribution of fasting and postprandial plasma glucose to HbA1c, *Diabetic Medicine*, 2005, 22, 954-955.
- (21) GLORIA-BOTTINI F, ANTONACCI E, BOTTINI N, *et al.* RH blood group and diabetic disorders: is there an effect on glycosylated hemoglobin level? *Hum. Biol.*, 2000, 72, 287-294.
- (22) HUDSON PR, CHILD DF, JONES H, *et al.* Differences in rates of glycation (glycation index) may significantly affect individual HbA1c results in type 1 diabetes. *Ann. Clin. Biochem.*, 1999, 36, 451-459.
- (23) HEMPE JM, GOMEZ R, McCARTER RJ Jr, *et al.* High and low glycation phenotypes in types 1 diabetes: a challenge for interpretation of glycemic control, *J. Diabetes Complications*, 2002, 16, 313-320.
- (24) SNIEDER H, SAWTELL PA, ROSS L, *et al.* HbA1c levels are genetically determined even in type 1 diabetes. Evidence from healthy and diabetic twins. *Diabetes*, 2001, 50, 2858-2863.
- (25) DELPIERRE G, VERTOMMEN D, COMMUNI D, *et al.* Identification of fructosamine residues deglycated by fructosamine-3-kinase in human haemoglobin. *J. Biol. Chem.*, 2004, 26, 27613-27620.
- (26) CAMARGO JL, GROSS JL, conditions associated with very low values of glycohaemoglobin measured by an HPLC method, *J. Clin. Pathol.*, 2004, 57, 346-349.
- (27) COHEN RM, FRANCO RS, JOINER CH, is poor glycemic control associated with reduced red blood cell lifespan, *Diabetes Care*, 2004, 27, 1013-1014.
- (28) LAHOUSEN T, HEGENBARTH K, LIPP RW, *et al.* Determination of glycated haemoglobin in patients with advanced liver disease, *World J. Gastroenterol.*, 2004, 10, 2284-2286.
- (29) FRANK EL; MOULTON L, LITTLE RR, *et al.* effects of haemoglobin C S traits on seven glycohemoglobin methods, *Clin Chem.*, 2000, 46, 864-867.
- (30) SCHNEIDL WJ, LIPP RW, TRINKER M, *et al.* Hemoglobin D [b 121(GH4) Glu→Gln] causing falsely low and high HbA1c values in HPLC, *Clin. Chem.*, 1998, 44, 1999-2000.
- (31) SCHNEIDL WJ, KRAUSE R, HALWACHS – BAUMANN G, *et al.* Evaluation of HbA1c determination methods in patients with hemoglobinopathies, *Diabetes Care*, 2000, 23, 339-344.
- (32) FRIESS U, BECK A, KOHNE E, *et al.* Novel haemoglobin variant [b66(E10) Lys→Asn] , with decreased oxygen affinity, causes falsely low haemoglobin A1c values by HPLC, *Clin Chem.*, 2003, 49, 1412-1415.
- (33) GUNTON JE, McELDUFF A, Heterozygous haemoglobin Hamadan affects HbA1c assay, *Diabetes Care*, 1999, 22, 177.
- (34) SCHNEIDL WJ, TRINKER M, LIPP RW, HbA1c determination in patients with hemoglobinopathies, *Diabetes Care*, 1999, 22, 368-369.
- (35) ROBERTS WL, CHIASERA JM, WARD-COOK KM, glycohemoglobin results in samples with haemoglobin C or S trait: a comparison of four test systems, *Clin. Chem.*, 1999, 45, 906-909.
- (36) BISSE E, SCHAUBER C, ZORN N, *et al.* Haemoglobin Görwihl[α2β25(A)pro ala], an electrophoretically silent variant with impaired glycation, *Clin. Chem.*, 2003, 49, 137-143.
- (37) REYNOLDS TM, TWOMEY PJ, HARVEY, *et al.* The number of unexpected HbA1c variants may be a greater problem in routine practice than in generally realized, *Diabetic Medicine*, 2004, 21, 1041-1044.
- (38) BRY L., CHEN PC, SACKS DB, effects of haemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin, *Clin. Chem.*, 2001, 47, 153-163.
- (39) COHEN RM, CHENIER TC, HOLMES YR, *et al.* discordance between HbA1c and fructosamine, *Diabetes Care*, 2003, 26, 163-167.
- (40) CHALEW SA, McCARTERR J, THOMAS J, *et al.* A comparison of the glycosylation gap and haemoglobin glycation index in patients with diabetes, *Journal of diabetes and its complications*, 2005, 19, 218-222.
- (41) NARBONNE H, RENACCO E, PRADEL V, *et al.* Can fructosamine be a surrogate for HbA1c in evaluating the achievement of therapeutic goals in diabetes? *Diabetes Metab.*, 2001, 27, 598-603.
- (42) GILLERY P, HUE G, BORDAS-FONFREDE M, *et al.* Dosage de l'hémoglobine A1c et hémoglobinopathies. Problèmes posés et conduite à tenir. *Ann. Biol. Clin.*, 2000, 58, 425-430.