

### VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA GLYCEMIE EN TUBE SEC

AKPOVI Casimir D.\*, SEGBO A.G. Julien, ANAGO A.A. Eugénie, MEDEHOUEYOU T.C. Marc, LOKO Frédéric



Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée (LARBA), École Polytechnique d'Abomey-Calavi (ÉPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin

\*Adresse de correspondance: Akpovi Casimir D., Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée (LARBA), École Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou, Bénin.  
Tel: 00 (229) 96 01 28 43; E-mail: [casiom@yahoo.fr](mailto:casiom@yahoo.fr)

#### RÉSUMÉ

**Contexte:** Le fluorure de sodium (NaF) est un anti-glycolytique utilisé pour le dosage du glucose sanguin notamment lorsqu'il existe un délai pré-analytique. Cependant, il est incompatible avec plusieurs autres tests de laboratoire. L'objectif de cette étude est de déterminer le délai pré-analytique maximal pour une glycémie sérique valable en comparaison avec le résultat sur plasma fluoré. **Méthode:** La glycémie est mesurée dans le sérum et dans le plasma fluoré chez 210 sujets normaux et 155 diabétiques. La variation de la glycémie et de la glycolyse dans le sérum a été déterminée en fonction du temps. **Résultats:** Douze heures après le prélèvement chez les sujets normaux ( $p < 0,001$ ) et 8h après chez les diabétiques ( $p < 0,05$ ), la glycémie a baissé significativement dans le sérum par rapport au plasma. Cependant, il existe une bonne corrélation entre la glycémie sérique et la glycémie plasmatique 6h après le prélèvement ( $r = 0,994$ ;  $p < 0,001$ ) chez les sujets contrôles et chez les diabétiques. **Conclusion:** Nos résultats suggèrent que la glycémie sérique réalisée au-delà de 6h après le prélèvement n'est pas analytiquement valable.

**Mots clés:** Glycémie, sérum, plasma, fluorure de sodium, valeur analytique

#### ABSTRACT

**Background:** Sodium fluoride (NaF) is an antiglycolytic agent used for blood glucose dosage, in particular when there is a delay between sampling and assay. However, NaF is incompatible with several other laboratory tests. The objective of this study was to determine the maximum pre-analytical delay for valid serum glucose result in comparison with fluorinated plasma. **Methods:** We measured glucose levels in serum and in plasma in 210 normal subjects and 155 diabetics. The variation in blood glucose and glycolysis in serum was determined. **Results:** Twelve hours after sampling in normal subjects ( $p < 0.001$ ) and 8h after in diabetics ( $p < 0.05$ ), blood glucose levels decreased significantly in serum compared to plasma. There was a good correlation ( $r=0.994$ ,  $p < 0.001$ ) between serum glucose and plasma results 6h after sampling. **Conclusion:** Our results suggest that serum glucose assayed 6h after sampling is not analytically valid.

**Keywords:** Blood glucose, serum, plasma, sodium fluoride, analytical value.

#### INTRODUCTION

Le test de glucose sanguin est l'un des examens médicaux les plus demandés dans les centres médicaux et hospitaliers. Selon l'organisation mondiale de la santé [1] et l'association américaine du diabète [2], la glycémie ne devrait pas être déterminée dans le sérum afin d'éviter la glycolyse *in vitro*. Les lignes directrices préconisent l'utilisation du fluorure de sodium (NaF) comme anti-glycolytique s'il devrait avoir un délai pré-analytique supérieur à 60 min [3].

Dans les laboratoires d'analyses biomédicales au Bénin, le dosage du glucose sanguin se fait dans du plasma fluoré ou dans du sérum. Cependant, le NaF utilisé est incompatible avec certaines analyses de laboratoire comme le dosage des ions

$\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  et l'activité enzymatique de l'uréase [4]. L'utilisation répandue du sérum pour la détermination de la glycémie montre qu'il existe des contraintes de prélèvement qui limitent le respect strict des recommandations internationales. L'objectif de cette étude est de déterminer le délai pré-analytique maximal au-delà duquel la glycémie déterminée dans le sérum ne peut être analytiquement acceptable.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

##### Cadre de l'étude.

L'étude a été réalisée entre mai et septembre 2012 à l'hôpital Saint-Jean à Cotonou, capitale économique du Bénin. C'est une étude de type prospectif et descriptif.

### Échantillonnage et prélèvement.

**Participants.** L'étude a porté sur un total de 365 participants dont 210 sans diagnostic connu de diabète et 155 diabétiques chez lesquels la glycémie était supérieure à la normale. Ce sont des femmes et des hommes âgés de 18 à 65 ans reçus à l'hôpital pour des analyses de laboratoire. Un formulaire de consentement éclairé a été signé par chaque participant au début de l'étude. Il n'y a eu aucun critère d'exclusion et tous les participants ayant donné leur consentement ont pris part à l'étude.

**Tests de glycolyse.** Du sang a été prélevé chez 10 individus diabétiques et 10 non diabétiques, choisis au hasard parmi les participants à l'étude, en état de jeûne d'au moins 8h dans des tubes secs sans anti-glycolytique et des tubes contenant du NaF. Deux mL de sang total ont été recueillis dans 7 tubes secs différents et 5 mL dans 2 tubes fluorés. Les prélèvements sur tube fluoré ont été répartis, après suspension, dans 7 différents tubes à raison de 2 mL par tube. Les prélèvements ainsi répartis ont été laissés sur la paillasse à la température du laboratoire (~ 25 °C). Le sérum et le

plasma recueillis après centrifugation (1500 g pendant 10 min) à 30 min (temps initial : 0h) puis 2h, 4h, 6h, 8h, 12h et 24h après le temps initial ont servi au dosage du glucose sanguin.

**Glycémie 6h après prélèvement.** Des prélèvements ont été effectués dans des tubes sans anti-glycolytique et tubes contenant du NaF chez les 365 participants à l'étude. Le taux de glucose est ensuite dosé dans le sérum et le plasma obtenus après centrifugation 6h après le prélèvement.

### Test de glycémie

Le taux de glucose a été déterminé par la méthode enzymatique de la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder à la peroxydase [5].

### Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels Excel® de Microsoft et SigmaPlot Statistical Analysis Software 2010. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type et les variations sont jugées significatives à partir de  $p < 0,05$  en utilisant le *Student's t-test*.

## ANALYSE DES RÉSULTATS

### Variation de la glycémie en tube sec en fonction du temps

Nous avons mesuré la glycémie à intervalles de temps de 2h pendant 24h sur prélèvement fait sur tube contenant du fluorure de sodium (NaF) et sur tube sec sans anti-glycolyse. Les résultats obtenus dans le sérum ont été comparés aux résultats du plasma fluoré considéré comme prélèvement de référence.

La glycémie ne change pas significativement dans le plasma fluoré pendant les 24 h qu'ont duré les dosages (fig. 1A et 1B). Dans le sérum et chez les

participants non diabétiques, la glycémie ne change pas significativement pendant les 8 premières heures après le prélèvement. Cependant, elle baisse significativement 12h ( $p < 0,001$ ) puis 24h ( $p < 0,005$ ) après le prélèvement (fig. 1A). Chez les diabétiques, la glycémie baisse significativement ( $p < 0,05$ ) dès la 8<sup>e</sup> heure, puis à 12h ( $p < 0,001$ ) et 24h ( $p < 0,001$ ) après le prélèvement (fig.1B). Nous avons ensuite déterminé la variation de la glycolyse dans le sérum en calculant le pourcentage de la baisse de la glycémie dans le sérum par rapport au plasma en fonction du temps.

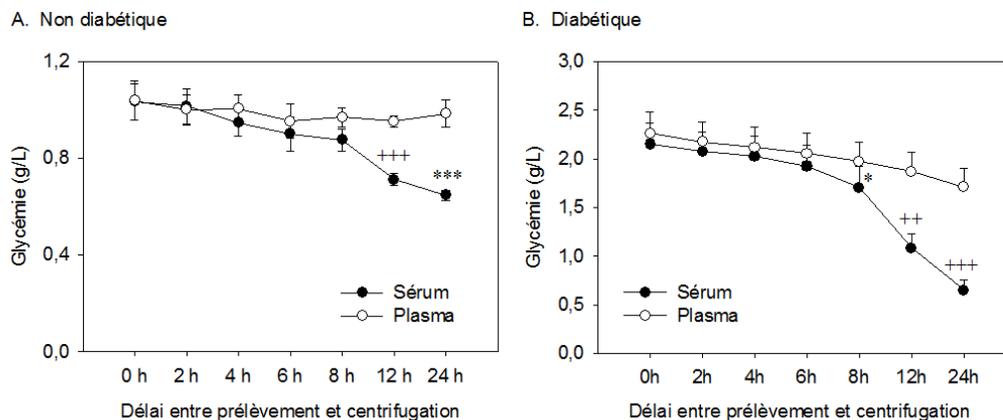


Figure 1: Variation de la glycémie en tube sec et en tube fluoré en fonction du temps.

Le test de variation de la glycémie en fonction du temps a été réalisé sur les prélèvements de 10 individus non diabétiques et 10 diabétiques choisis au hasard parmi les participants à l'étude.

La glycémie a été déterminée dans le sérum et dans le plasma aussitôt après coagulation dans le tube sec puis à 2h, 4h, 6h, 8h, 12h et 24h après cet instant initial. (non diabétiques 12h : sérum vs plasma, +++p<0,001; 24h : sérum vs plasma, \*\*\*p<0,005; diabétiques 8h : sérum vs plasma, \*p<0,05; 12h : sérum vs plasma, ++p<0,001; 24h : sérum vs plasma, +++p<0,001)

Le taux de glycolyse ne varie pas significativement durant les 6 premières heures après prélèvement (Tableau).

Dès 8h cependant, le taux de glycolyse augmente significativement de 9,87% (p<0,01) chez les participants non diabétiques et de 10,22% (p<0,02) chez les diabétiques. A 12h puis à 24h après le prélèvement, le taux de glycolyse augmente d'avantage pour atteindre 53,17% et 73,16% respectivement en condition de normo-glycémie et d'hyperglycémie.

**Tableau : Variation de la glycolyse dans le sérum en fonction du temps**

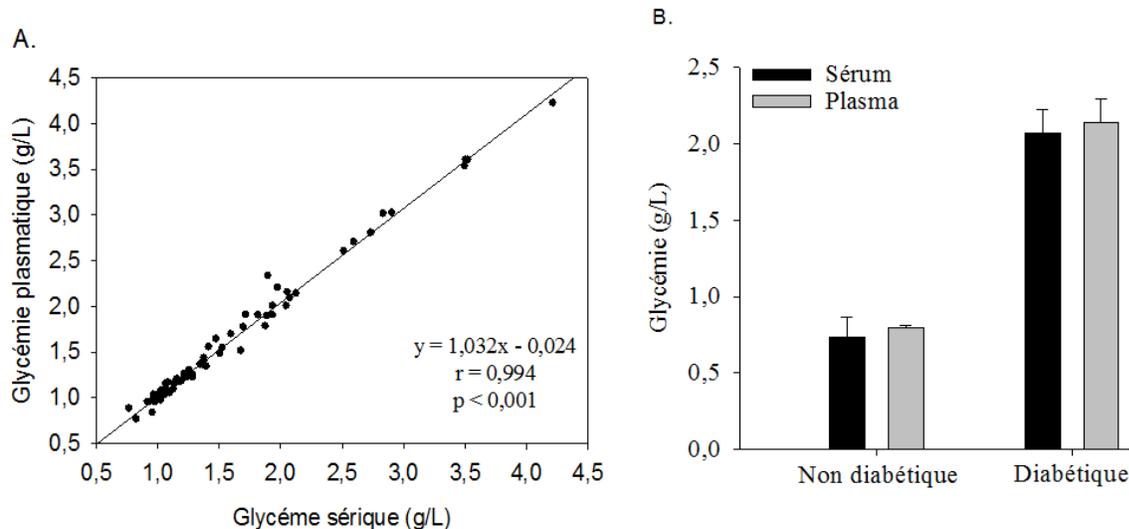
Temps	Non diabétique		Diabétique	
	Moy ± Err Stard. (%)	p	Moy ± Err Stard. (%)	p
0 h	1,85 ± 0,78	-	3,02 ± 1,88	-
2 h	1,62 ± 0,73	0,680	3,48 ± 1,84	0,861
4 h	5,82 ± 1,32	0,167	4,93 ± 1,71	0,462
6 h	6,83 ± 2,25	0,170	5,69 ± 1,87	0,328
8 h	9,87 ± 1,42	0,012	10,22 ± 1,96	0,016
12 h	25,23 ± 2,02	0,000	53,17 ± 3,50	0,000
24 h	33,34 ± 4,85	0,000	73,16 ± 2,52	0,000

(p: probabilité associée à la comparaison de la variation de la glycémie entre 2 instants successifs)

#### **Corrélation entre glycémie en tube sec et glycémie en tube fluoré**

L'analyse de la régression linéaire simple a montré une bonne corrélation (corrélation de Pearson) entre les valeurs de glycémie déterminées dans le sérum et dans le plasma 6h après le prélèvement chez l'ensemble des participants à l'étude (r = 0,994; p <0,001) (Fig. 2A).

Nous n'avons pas déterminé de différence significative entre les taux de glucose mesuré dans le sérum et dans le plasma fluoré (Fig. 2B).



**Figure 2: Corrélation entre glycémie mesurée dans le sérum et dans le plasma fluoré**

La glycémie sérique a été fortement corrélée à la glycémie dans le plasma chez l'ensemble de 365 participants diabétiques et non diabétiques ( $r=0,994$ ;  $p < 0,001$ ) (Fig. A).

La valeur moyenne de la glycémie mesurée à 6h après le prélèvement dans le sérum est statistiquement identique à celle dans le plasma (Fig. B).

## DISCUSSION

En dehors d'un contexte d'urgence, le transport du prélèvement vers le laboratoire, les examens pré-analytiques puis l'attente avant le passage à l'analyse des prélèvements nécessitent souvent un délai de plusieurs heures. Pour le test de glycémie, cette attente est possible grâce à l'utilisation d'un anti-glycolytique, le NaF par exemple [6].

Dans cette étude, nous avons comparé la glycémie sérique avec la glycémie déterminée dans du plasma contenant du NaF. L'objectif est de déterminer le délai maximal d'attente pour le test de glycémie dans le sérum. Nous avons montré que la glycémie ne variait pas significativement dans les prélèvements faits sur le NaF pendant 24h comme déjà rapporté ailleurs [7]. La glycémie mesurée dans le sérum n'est pas différente de la glycémie dans le plasma fluoré pendant les 6h premières heures après le prélèvement. Une diminution non significative de la glycémie de 5,69% chez les participants non diabétiques et 6,83% chez les diabétiques a été observée au bout de 6h après le prélèvement. Huit heures après le prélèvement, la glycémie baisse significativement de 10,0% (94 mg/l soit

0,52 mmol/l) dans le sérum comparée au plasma. La baisse de la glycémie dans le sérum a été plus prononcée après 12h (53,17%) puis après 24h (73,16%).

Ces résultats suggèrent que la glycémie déterminée dans le sérum au-delà de 6h n'est pas analytiquement valable. Pour vérifier cela, nous avons déterminé la corrélation entre les résultats de la glycémie sérique avec la glycémie plasmatique 6h après le prélèvement. Les résultats ont montré qu'il existe une forte corrélation entre les valeurs de la glycémie des deux types de prélèvement ( $r=0,994$ ;  $p < 0,001$ ). Aussi, les moyennes de la glycémie sérique et plasmatique chez l'ensemble des participants sont statistiquement identiques 6h après le prélèvement.

## CONCLUSION

Nous avons déterminé que la glycémie mesurée dans le sérum est équivalente à la glycémie dans le plasma fluoré entre l'heure du prélèvement et 6h après. Au-delà de 6h après le prélèvement, le taux de glycolyse est suffisamment élevé pour significativement baisser la glycémie sérique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapradaeng A. Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and

Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. World Health Organization. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 44:21-26.

2. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2007. *Diabetes Care* 2007; 30 Suppl 1:S4-S41.
3. Stahl M, Jorgensen LG, Hyltoft Petersen P, Brandslund I, de Fine Olivarius N, Borch-Johnsen K. Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. 1. Impact of the new WHO and ADA recommendations on diagnosis of diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61:169-179.
4. Kumar S, Kayastha AM. Inhibition studies of soybean (*Glycine max*) urease with heavy metals, sodium salts of mineral acids, boric acid, and boronic acids. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2010; 25:646-652.
5. Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst* 1972; 97:142-145.
6. Marbach EP, McLean M, Scharn M, Jones T. Sodium iodoacetate as an antiglycolytic agent in blood samples. *Clin Chem* 1975; 21:1810-1812.
7. Mikesh LM, Bruns DE. Stabilization of glucose in blood specimens: mechanism of delay in fluoride inhibition of glycolysis. *Clin Chem* 2008; 54:930-932.