

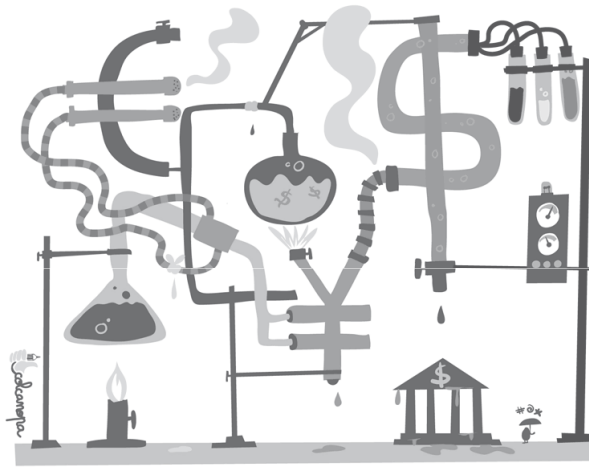


# **Les valeurs de référence du Laboratoire Comment les établir? Les facteurs impactant?**

**Caroline Le Goff  
Service de Chimie Clinique  
Université de Liège, Chu Sart-Tilman.**

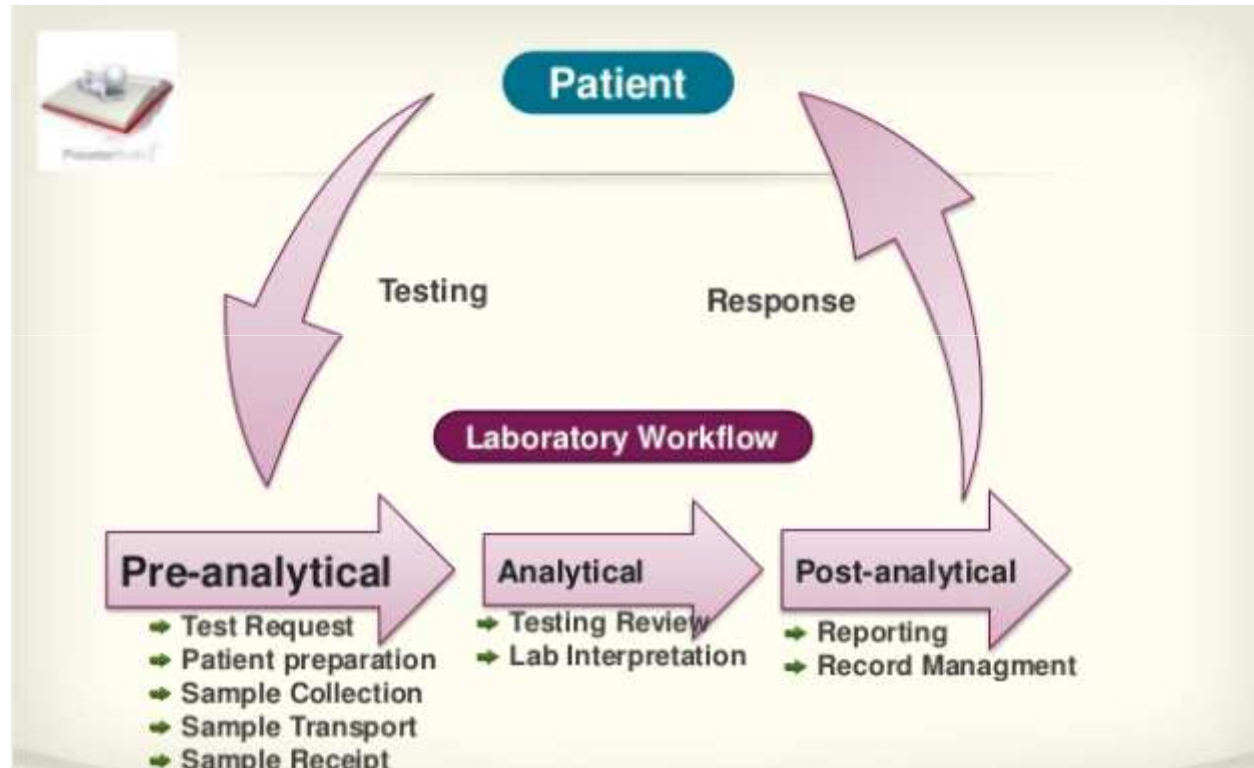


# Le laboratoire...

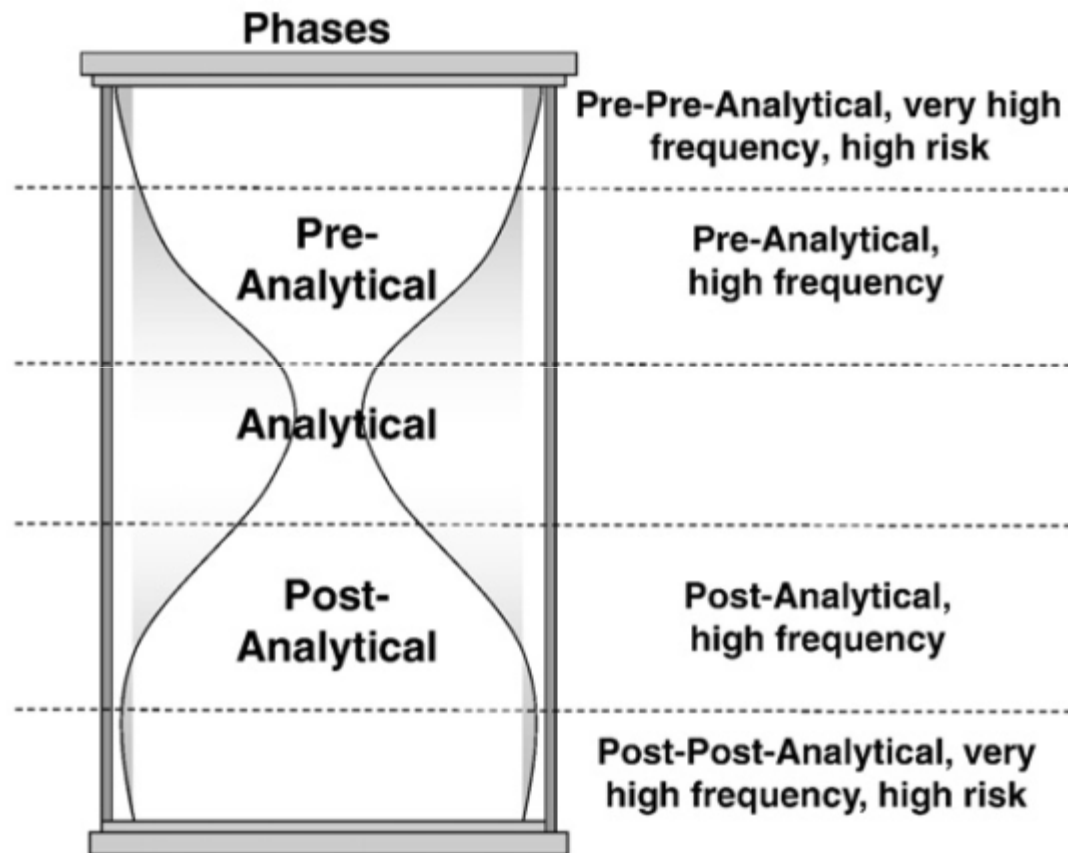


**BIOCHIMIE SANGUINE**

PROTEINE C-REACTIVE (CRP) <small>(Immunoréactante latex - Cobas Roche)</small>	18,0 mg/l
CLAIRANCE DE LA CREATININE <small>+ Poêle</small>	
CREATININE <small>(Jaffé, Lapsolol, créatinique - Cobas Roche)</small>	12,0 mg/l 106,2 $\mu$ mol/l
CLAIRANCE estimée selon COCKROFT	63,6 ml/mn
D. F. G. selon MDRD <small>(valeur augmentée de 21% dans le cas d'un patient d'origine afro-américaine)</small>	63,1 ml/mn
<b>Classification de la maladie rénale chronique en 5 stades selon les recommandations int</b> - stade 1 : atteinte rénale avec DFG normal ou augmenté ( DFG $\geq$ ou = 90 ) - stade 2 : atteinte rénale avec légère diminution du DFG ( 60 < DFG < 89 ) - stade 3 : insuffisance rénale chronique modérée ( 30 < DFG < 59 ) - stade 4 : insuffisance rénale chronique sévère ( 15 < DFG < 29 ) - stade 5 : insuffisance rénale chronique terminale ( DFG < 15 )	
TRANSAMINASE TGO (ASAT) <small>(IFCC, sans phosphate de pyridoxal - Cobas Roche)</small>	11 U/l
TRANSAMINASE TGP (ALP)	



# Les erreurs au laboratoire...



# Les 3 phases

**L'objectif d'une analyse de biologie médicale est de mesurer in-vitro (dans un tube ou un flacon), la réalité in-vivo (dans le corps) du patient.**

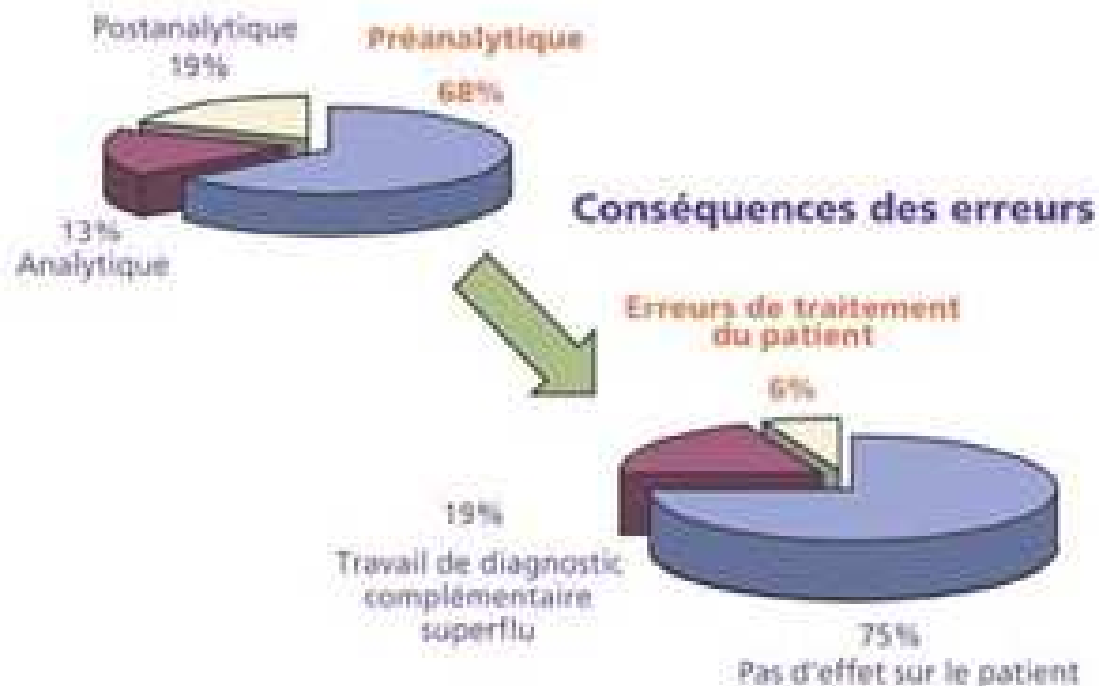
*L'analyse de l'échantillon de sang d'un patient comporte trois étapes distinctes, à savoir :*

- La phase préanalytique: cette phase couvre de nombreuses étapes : de la préparation du patient (demande du test) jusqu'à l'analyse où de nombreux facteurs de variation peuvent se produire.
- La phase analytique proprement dite: c'est-à-dire le moment où l'échantillon est analysé, par un instrument ou par une technique manuelle.
- La phase postanalytique: quand le résultat du test est validé puis rendu au clinicien qui a demandé ce test ainsi que le traitement final de l'échantillon et la conservation de l'échantillons.

# Le pré-analytique

## Les erreurs au laboratoire...

### Erreurs introduites au laboratoire



Source : Plebani et al

# Définition d'une erreur de Laboratoire:

« Toute erreur depuis la prescription des analyses jusqu'au rapport des résultats, la mauvaise interprétation de ceux-ci et la réaction inappropriée devant eux. »

*ISO/WD TS 22367*

*Laboratoires médicaux -- Réduction d'erreurs par surveillance de risque et amélioration en continu.*



# Les variations pré-analytiques

## Les erreurs: où???

- Feuille de demande
- Prélèvement
- Transport
- Réception au laboratoire
- Processus analytique
- Stockage

Transport of the  
samples

Tourniquet time

Qualification of the  
phlebotomist

Size of the needle

Stability of the analyte

Choice of the  
sampling tube

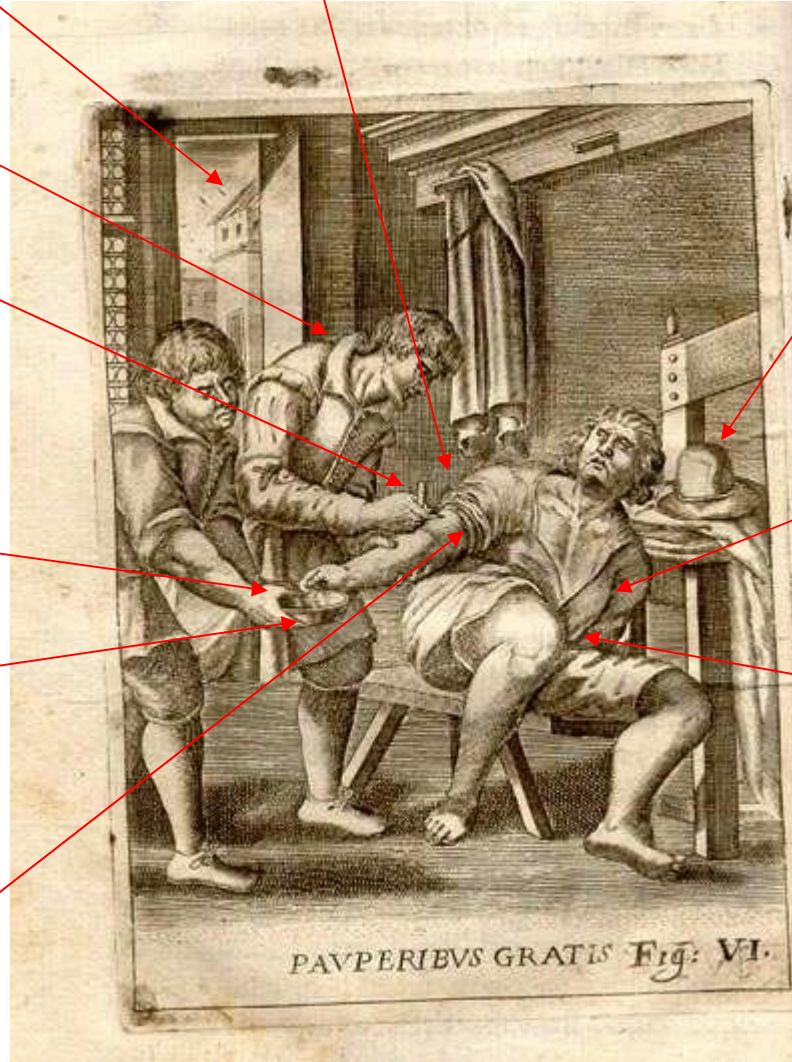
Choice of the vein

Patient ID

Patient's  
position

Fasting status

Indications???



# Demande d'analyse

- Erreurs d'ID de patients
- Identification prescripteur manquante
- Erreur sur l'unité d'hospitalisation
- Demande incompréhensible

# Prélèvement

- Garrot
- Jeûne
- Position du patient
- Rythme circadien
- Stress
- Cycle menstruel
- Grossesse
- Médicament
- Exercices physiques
- Erreur sur pic/vallée
- Erreurs de bracelets

## Mais encore...

### Facteurs physiologiques

- Sexe
- Age
- Poids
- Sport
- Lieu habitation (montagne, plaine...)
- Alimentation
- Etat nerveux
- Conditions de vie
- Habitude de vie (alcool, tabac, caféine..)

# Transport

- Délais
- $T^\circ$
- Lumière
- Pneumatique
- Verticale!!

# Réception au laboratoire

- Rejet de l'échantillon
- Echantillon non reçu
- Erreur d'étiquetage
- Mauvais tube
- Echantillon abîmé lors du transport
- Echantillon coagulé (hémato)
- Echantillon hémolysé
- Accident au labo
- Volume insuffisant
- Erreur identification
- Centrifugation
- T°
- Erreur encodage



# La variation analytique

# La variation analytique

- Elle est inhérente à toute détermination analytique.
- L'incertitude de mesure est fonction de la précision de la méthode utilisée.
- Elle est généralement exprimée par le coefficient de variation (CV%).

# La variation biologique

## La variation biologique

- Fluctuations naturelles et physiologiques des constituants biologiques autour d'un point homéostatique qui est spécifique à chaque individu.
- 2 composantes importantes: la variation intra-individuelle et inter-individuelle.

# Que peut-on faire avec les données de la variation biologique?

➡ Déterminer « the Reference Change Value »



## Reference Change Value (or Least Significant Change)

- Différence entre deux résultats consécutifs qui représentent un changement biologiquement significatif pour la santé du patient.
- La formule est  **$RCV = 1.96 \times \sqrt{2} \times \sqrt{(CV_a^2 + CV_i^2)}$**   
 **$\approx 3 \times CV_i$**

Analyte	Value	CV <sub>a</sub> (%)	CV <sub>i</sub> (%)	LSC (%)	No. of Specimens to Estimate True Value in an Individual		
					Within 10%	Within 20%	Within 30%
Albumin (g/L)	39.8 ± 3.1	1.3	2.8	9	1	1	1
Total calcium	2.19 ± 0.17	1.4	2.14	7	1	1	1
Phosphate (mmol/L)	1.36 ± 0.35	2.6	11.35	32	5	2	1
Total ALP (UI/L)	89 ± 38	0.9	5.5	16	2	1	1
Bone ALP (μg/L)	19.0 ± 11.8	4.9	6.8	23	3	1	1
2nd-gen PTH (pg/mL)	357 [184-461]	2.3	13.8	39	8	2	1
3rd-gen PTH (pg/mL)	157 [81-234]	4.5	14.9	43	10	3	1
Intact P1NP (ng/mL)	124 ± 83	4.7	10.5	32	5	2	1
TRAP-5B (U/L)	5.34 ± 1.93	2.6	8.3	24	3	1	1
FGF-23 (U/L)	1.678 [770-2.896]	3.5	17.2	48	11	3	1

*Note:* N = 17 stable patients treated with maintenance hemodialysis. Concentrations given as mean ± SD or median [IQR].

Abbreviations and definitions: ALP, alkaline phosphatase; CV<sub>a</sub>, analytical coefficient of variation; CV<sub>i</sub>, intraindividual coefficient of variation; FGF-23, fibroblast growth factor 23; gen, generation; LSC, least significant change (at 95% probability); P1NP, N-terminal propeptide of type 1 procollagen; PTH, parathyroid hormone; TRAP-5B, tartrate-resistant acid phosphatase type 5B.

## Exemple

- A HD patient presents a PTH at 180 pg/mL (6xUL) and a bAP at 19 µg/mL
- 8 weeks later, PTH raised to 240 pg/mL (8xUL) and bAP at 22 µg/L
- Are these changes significant?
  
- PTH:  $180 + \approx 40\% = 252$  pg/mL
- bAP:  $19 + 23\% = 23.4$  µg/L

***These changes are not significant.***



# Le post-analytique

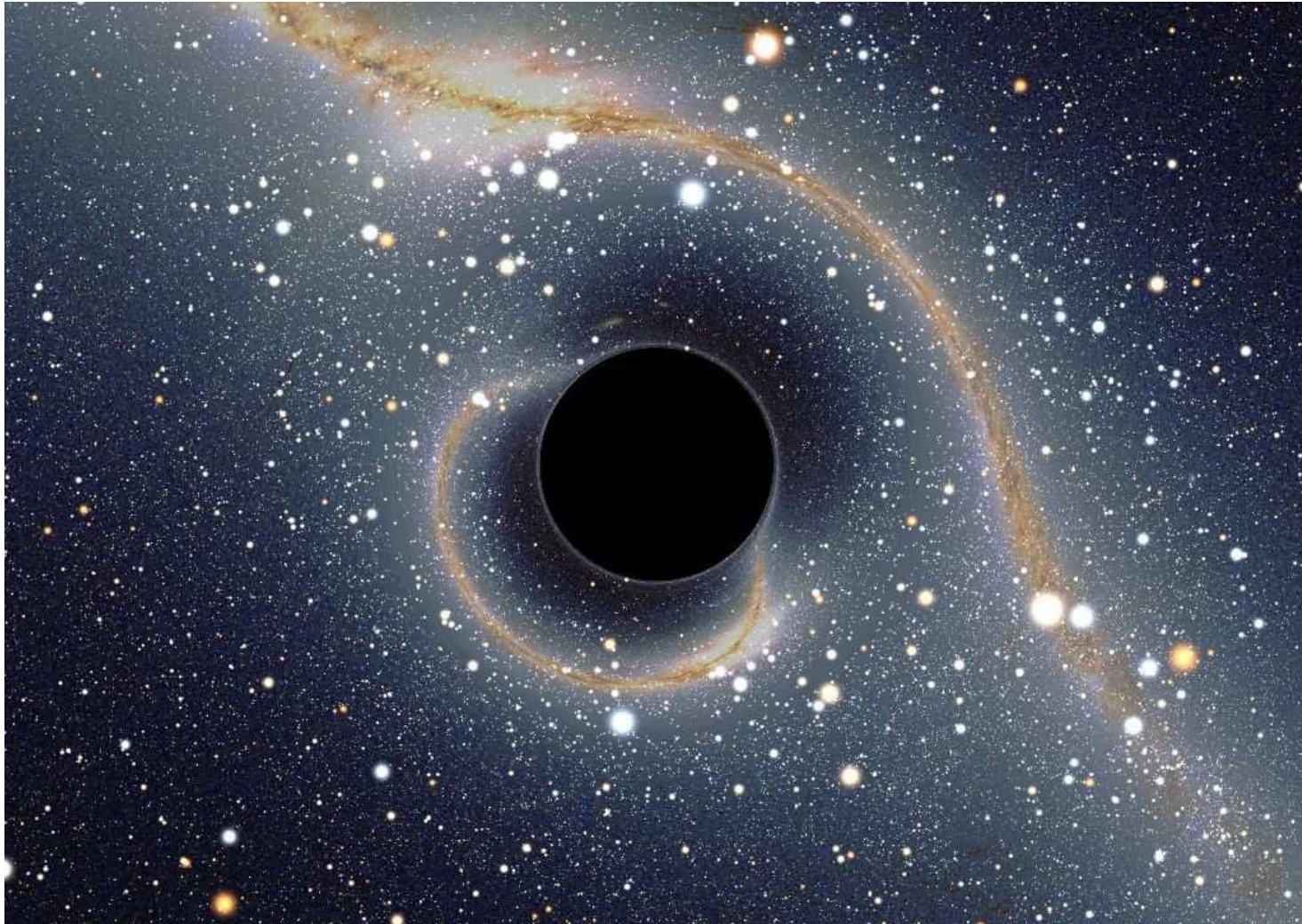
## Post-analytique

- Erreur de transcription au moment de préparer le compte-rendu
- Compte-rendu illisible, parce que le rapport a été abîmé par exemple
- Envoi du rapport à la mauvaise adresse qui conduit en général à la perte du rapport
- Pas d'envoi du rapport

# Les valeurs de référence

# Les valeurs de référence

Descriptif	+/-	Valeur	Unité	Normes	Val	Date/Heure intro.
<b>FER ET VITAMINES</b>						
Fer	-	<b>4.0</b>	µmol/L	11.0 - 24.0	✓	11/03/2016 14:33 (C)
<b>ORIENTATION GENERALE</b>						
Sodium		136	mmol/L	135 - 145	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Potassium		4.33	mmol/L	3.50 - 5.10	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Chlorures		99	mmol/L	98 - 108	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Calcium		2.34	mmol/L	2.15 - 2.60	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Bicarbonates	-	<b>20.5</b>	mmol/L	23.0 - 33.0	✓	11/03/2016 14:35 (C)
Trou anionique calculé	+	<b>20</b>	m éq/L	10 - 20	✓	11/03/2016 14:35 (C)
Phosphates		1.21	mmol/L	0.95 - 1.75	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Glucose	+	<b>102</b>	mg/dL	60 - 100	✓	11/03/2016 14:33 (C)
G02_com					✓	11/03/2016 14:33 (C)
<p>Consensus :</p> <p>Glycémie à jeûn : 60 à 100 mg/dL</p> <p>100 - 126 mg/dL : diminution de la tolérance au glucose</p> <p>&gt; 126 mg/dL (observé sur 2 prélèvements distincts) : diabète</p>						
Urée		13	mg/dL	10 - 35	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Créatinine		0.26	mg/dL	0.18 - 0.33	✓	11/03/2016 14:33 (C)
GFR invalide		voir ci-dessous			✓	11/03/2016 14:33 (C)
<p>Estimation de la GFR : calcul non valide pour cette tranche de la population.</p>						
Acide urique	-	<b>2.0</b>	mg/dL	3.5 - 7.2	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Protéines totales		70	g/L	64 - 74	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Albumine		39	g/L	38 - 49	✓	11/03/2016 14:33 (C)
Magnésium		0.96	mmol/L	0.75 - 1.00	✓	11/03/2016 14:33 (C)
CRP	+	<b>23.8</b>	mg/L	0.0 - 6.0	✓	11/03/2016 14:33 (C)
<b>EXPLORATION HEPATIQUE</b>						
Bilirubine totale	-	<b>&lt;0.15</b>	mg/dL	0.23 - 1.10	✓	11/03/2016 14:35 (C)
Bilirubine conjuguée		<0.09	mg/dL	<b>&lt;0.39</b>	✓	11/03/2016 14:33 (C)
GGT		8	U/L	5 - 50	✓	11/03/2016 14:33 (C)



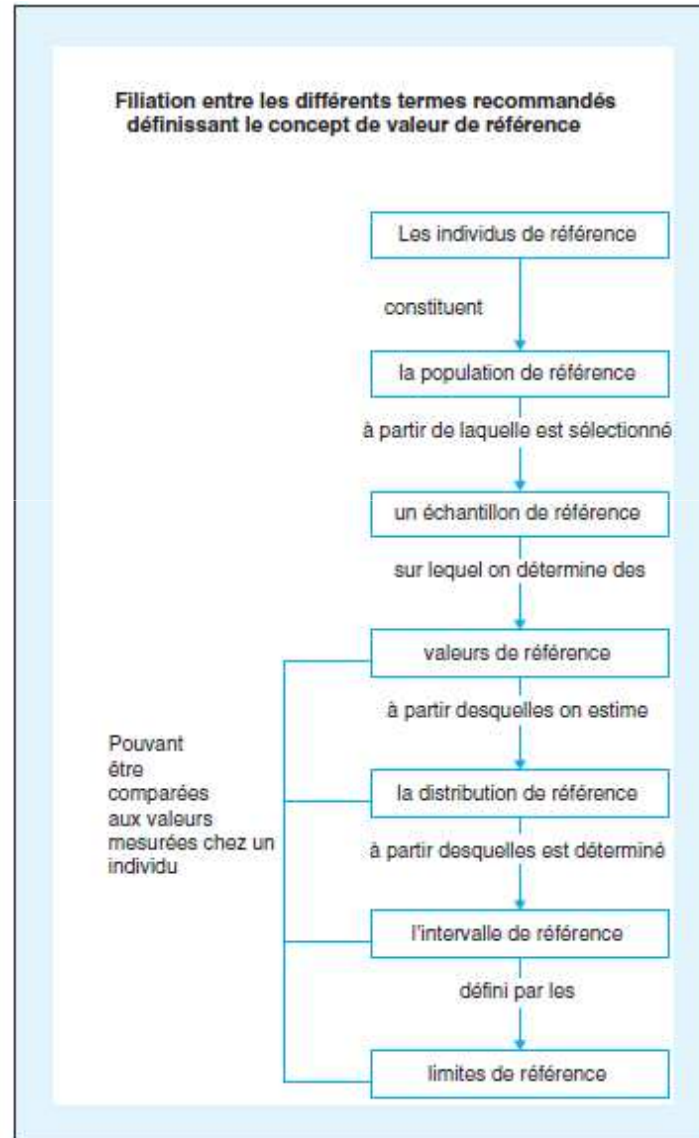
# Introduction

- Aide à l'interprétation: une préoccupation des biologistes médicaux
  - Le concept a vu le jour en 1970 par un groupe scandinave puis développé au niveau national puis international (année 80).
  - Documents d'organismes publics ou de normalisations ont institutionnalisé ces recommandations.
  - GBEA et la norme ISO 15189 et la directive 98/79/CE
- Un nouveau groupe de travail

- Un intervalle de référence: intervalle spécifié de la distribution des valeurs obtenues à partir de populations de sujets sains
- Généralement défini par un intervalle correspond à 95% de la population, centré sur la médiane.

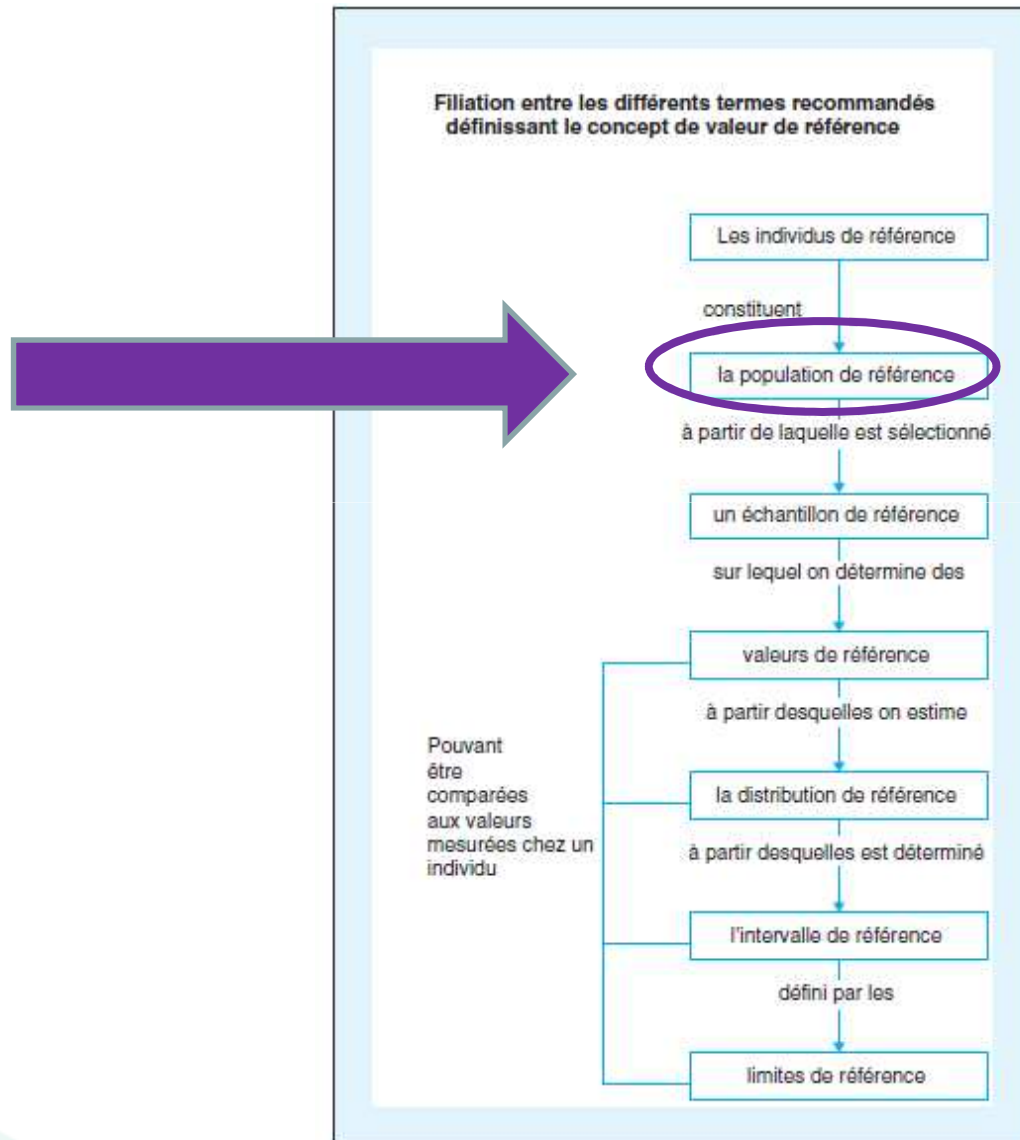


# Concepts de valeurs de référence



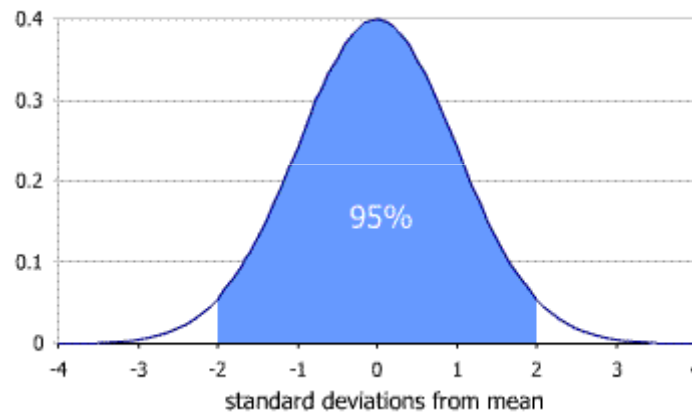


# Concepts de valeurs de référence



# La population générale

# Etablissement d'un intervalle de référence



120 Individus en bonne santé  
-2SD à +2SD  
95% de la population

# C'est quoi une population « en bonne santé » ?



# C'est quoi une population « en bonne santé » ?



# C'est quoi une population « en bonne santé » ?



# C'est quoi une population « en bonne santé » ?



# C'est quoi une population « en bonne santé » ?





# C'est quoi une population « en bonne santé » ?

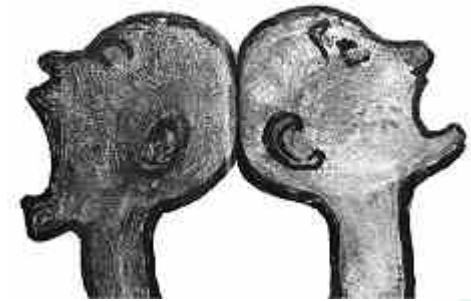


# La population pédiatrique

# C'est quoi une population « en bonne santé » ?



## La règle



### ISO 15189 Guideline

« *Le Laboratoire doit **vérifier** les valeurs de référence fournies par le Fabricant* »

### Inserts de kits

« *Les Laboratoires doivent **établir** eux-mêmes leurs propres valeurs de référence* »

# Protocole de détermination des valeurs de référence

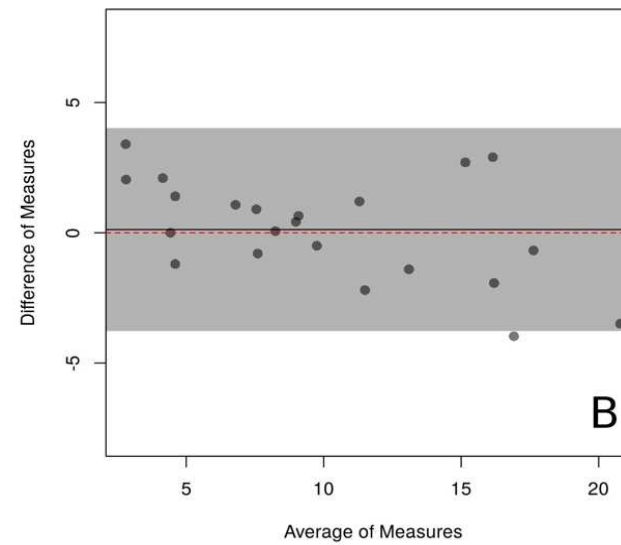
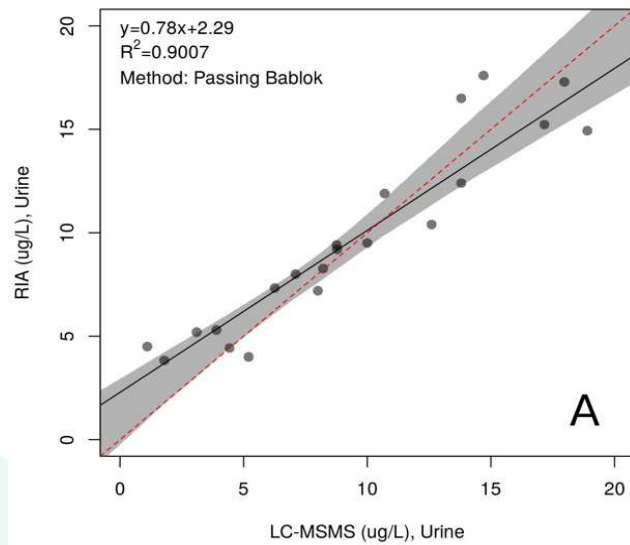
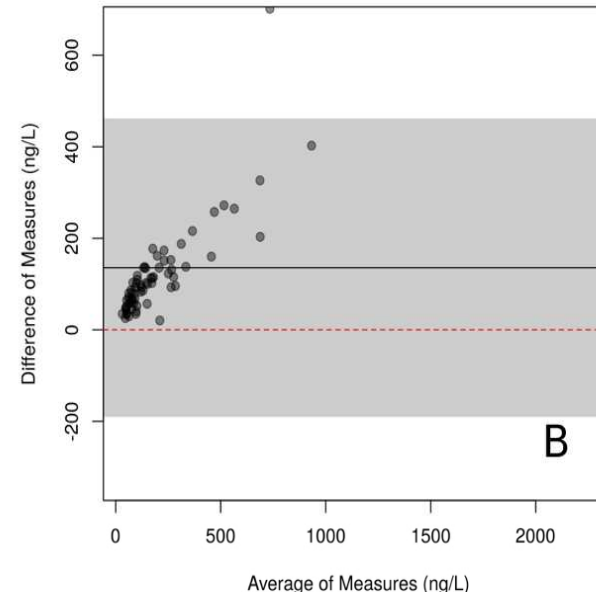
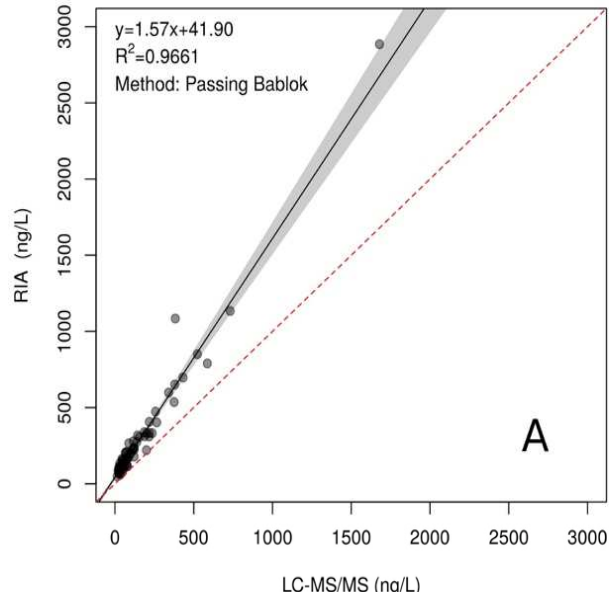
- établir la liste des facteurs de variations biologiques et analytiques (à partir des données de la littérature) ;
- déterminer les critères d'exclusion et de partition sur la base d'un questionnaire adapté ;
- rédiger un formulaire de consentement écrit et le faire signer par les individus sélectionnés ;
- classer les individus de référence potentiels sur la base des données du questionnaire ou d'autres modes d'évaluation de l'état de santé ;
- exclure les individus de l'échantillon de référence en fonction de critères prédéterminés ;
- définir le nombre adéquat d'individus de référence ;
- préparer les individus sélectionnés pour la collecte de l'échantillon en adéquation avec les procédures habituellement utilisées pour les patients au laboratoire ;
- recueillir et traiter les échantillons ;
- collecter les valeurs de référence : analyser les spécimens suivant des méthodes bien définies et décrites ;
- contrôler les valeurs de référence. Établir un histogramme pour évaluer la distribution des données ;
- identifier de possible erreurs et/ou des valeurs aberrantes (*outliers*) ;
- analyser les valeurs de référence : sélectionner une méthode statistique puis calculer les limites de référence et l'intervalle de référence ;
- documenter l'ensemble des étapes et des procédures suivies.

# Les facteurs d'exclusion

- En pratique, les facteurs d'exclusion les plus communs sont :
  - la présence d'une pathologie aiguë ou chronique,
  - la prise de médicaments à long terme,
  - une surcharge pondérale
  - la consommation de tabac et/ou d'alcool.

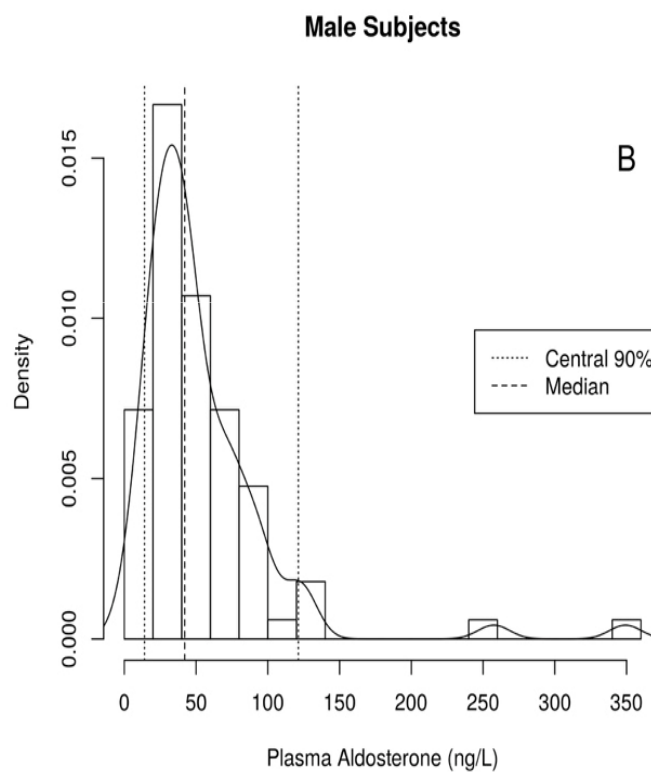
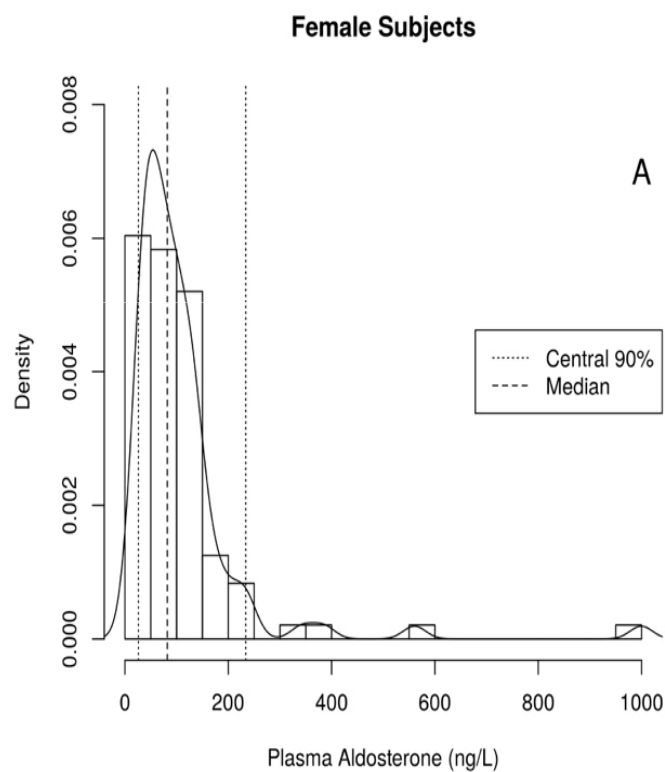
# Etablissement ou vérification

Pourquoi et quand????





# Aldostérone



# Valeurs de référence

## Aldostérone

### Sérum/plasma

- Selon la Mayo Clinic:
  - -30 days: 170-1540 ng/L
  - 31 days-11 months: 65-860 ng/L
  - 1-10 years:
    - < or =400 ng/L (supine)
    - < or =1240 ng/L (upright)
  - > or =11 years: < or =210 ng/L (a.m. peripheral vein specimen)
- Selon le CHU de Liège :  
(n=173)
  - Femme: <225 ng/L
  - Homme: <110 ng/L

### Urinaire

- Selon la Mayo clinic:
  - 0-30 days: 0.7-11.0 mcg/24 hours\*
  - 31 days-11 months: 0.7-22.0 mcg/24 hours\*
  - > or =1 year: 2.0-20.0 mcg/24 hours
- Selon le CHU de Liège
  - <23 µg/24h (n=36)

# Valeurs de référence Aldostérone

## Sérum/plasma

## Urinaire

### 8. VALEURS DE REFERENCE

Dans une population normale avec un apport sodique de 100-150 mEq/24 heures, on a obtenu les intervalles ci-après. Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit établir ses propres intervalles des valeurs de référence.

Sujets normaux	PLASMA, pg/mL	URINES, µg/ 24 heures
Position sur le dos	7,5 - 150	2,8 - 30,0
Position debout	35 - 300	

- > or =11 years: < or =210 ng/L  
(a.m. peripheral vein specimen)

hours

- Selon le CHU de Liège :

(n=173)

- Femme: <225 ng/L
- Homme: <110 ng/L

- Selon le CHU de Liège
- <23 µg/24h (n=36)

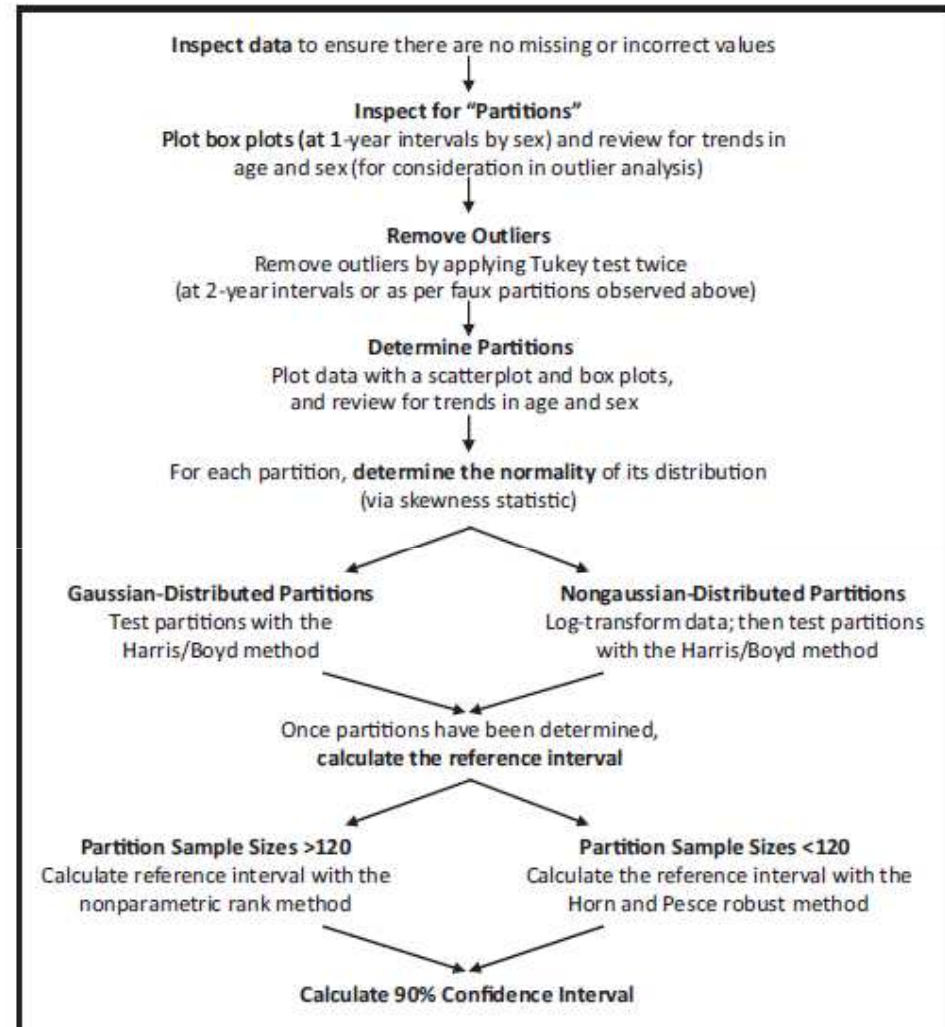
# Caliper initiative

- Samples from 1072 male and 1116 female participants (newborn to 18 years)
- 40 biomarkers

**Table 2. Ethnic distribution of study population (1–18 years of age).<sup>a</sup>**

Ethnic group	Male, n (%)	Female, n (%)
Aboriginal	3 (0.5)	2 (0.3)
Arab	19 (3.5)	16 (2.7)
Black	26 (4.8)	21 (3.5)
Chinese	45 (8.2)	55 (9.2)
Filipino	6 (1.1)	5 (0.8)
Korean	5 (0.9)	2 (0.3)
Latin American	6 (1.1)	8 (1.3)
South Asian	56 (10.2)	74 (12.4)
Southeast Asian	9 (1.6)	8 (1.3)
Caucasian	350 (64.0)	382 (64.2)
Mixed race	22 (4.0)	22 (3.7)

<sup>a</sup> Ethnic groups were based on designations and definitions used by Statistics Canada; numbers represent participants 1–18 years of age. The ethnic composition of the study participants was based on the 2009 Canadian census data for the province of Ontario.



**Fig. 1. CALIPER study data-analysis algorithm based on CLSI guidelines document C28-A3.**

# LA PAL

					F	M	F	M	F	M
PAL stat 2014-2015	0-14 jours	15 jours - 1 ans	1 - <10 ans	10 - <13 ans	13 - <15 ans	13 - <15 ans	15 - < 17ans	15 - < 17ans	< 18 ans	< 18 ans
moyenne	175.353	289.2431138	215.536432	234.038333	125.188462	248.064211	77.4628571	145.254795	70.8194444	108.060185
écart-type	66.9652638	156.9978411	63.7582273	74.9260815	62.037485	84.7401911	26.4660819	61.1498973	23.1752633	45.7480605
Percentile 2,5	91.62	129.46	117.5	93.175	57.15	97.22	42.455	67.2625	38.3375	64.915
percentile 97,5	348.135	662.47	364.7	394.335	268.375	404.545	140.795	302.8375	122.0375	274.6075
n	100	167	796	300	156	95	315	146	216	108
categorie actuelle	< 9 ans	< 9 ans	< 9 ans	< 15 ans	< 15 ans	< 15 ans	adultes	adultes	adultes	adultes
interval actuel	78 - 430	78 - 430	78 - 430	78 - 425	78 - 425	78 - 425	34 - 117	40 - 124	34 - 117	40 - 124
Rang borne inférieure	0	0	0	0.8	18.5	0	0	0	1.3	31.6
Rang borne supérieure	99.4	89.3	99	98.7	99.8	98.9	93.3	45.8	96.3	79.4
<b>Catégorie Estey et al. Cobas 6000</b>	0- 14 jours	15 jours - 1 ans	1 - <10 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	15 - < 17ans	15 - < 17ans	17 - < 19ans	17 - < 19ans
Interval Estey et al.	83 - 248	122 - 469	142 - 335	129 - 417	57 - 254	116 - 468	50 - 117	82 - 331	45 - 87	55 - 149
Rang Borne inférieure	0	2.1	7.5	7.3	2.2	4	9.3	7.4	7.7	1.9
Rang borne supérieure	92	92	96	98.2	96.1	100	93.3	99.3	82.5	91.2
<b>Catégorie Higgins et al. Modular P</b>	0- 14 jours	15 jours - 1 ans	1 - <10 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	15 - < 17ans	15 - < 17ans	17 - < 19ans	17 - < 19ans
Interval Higgins et al.	89 - 260	130 - 490	150-350	136 - 435	62 - 267	123 - 489	55 - 124	88 - 346	50 - 93	60 - 158
Rang borne inférieure	1.8	2.5	10.3	8.4	3.7	4.6	15.8	11.2	13.2	4
Rang borne supérieure	92.3	94	96.8	99.1	97.4	100	94.6	99.4	87.1	93
Medcalc	0- 14 jours	15 jours - 1 ans	1 - <10 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	10 - <13 ans	15 - < 17ans	15 - < 17ans	17 - < 19ans	17 - < 19ans
Normalty test (Kolmogorov-Smirinov)	rejected	rejected	rejected	Accepted	rejected	rejected	rejected	rejected	rejected	rejected
Non-Parametric interval with potential outliers	88 - 361	118 - 734	117 - 366	* 87 - 381	56 - 302	85 - 418	42 - 142	63 - 308	38 - 126	54 - 278
Non-Parametric interval without potential outliers (Tukey)	87 - 267	116 - 500	117 - 322	* 94 - 366	56 - 220		42 - 113	62 - 245	38 - 108	54 - 157



## Valeurs de référence de PAL fournies par différentes sociétés

### EXPECTED VALUES

Serum (Adults)	:	80-290 U/L at 37°C
(Children)	:	245-770 U/L at 37°C

It is recommended that each laboratory establish its own normal range representing its patient population\*.

### EXPECTED VALUES

#### Reference Range

#### Serum/Plasma<sup>12</sup>

	Range (U/L)
<b>Male</b>	
1 to 12 years	< 500
12 to 15 years	< 750
> 20 years	40 to 150
<b>Female</b>	
1 to 12 years	< 500
> 15 years	40 to 150

It is recommended that each laboratory determine its own **reference range** based upon its particular locale and population characteristics.

### Valeurs de référence

(mesure à 37 °C)

#### Adultes<sup>12</sup>

Hommes (n = 221)	40-129 U/L	(0.67-2.15 µkat/L)
Femmes (n = 229)	35-104 U/L	(0.58-1.74 µkat/L)

#### Valeurs consensuelles<sup>13</sup>

Hommes	40-130 U/L	(0.67-2.17 µkat/L)
Femmes	35-105 U/L	(0.58-1.75 µkat/L)

#### Enfants<sup>a)</sup>

1 jour	< 250 U/L	(< 4.17 µkat/L)
de 2 à 5 jours	< 231 U/L	(< 3.84 µkat/L)
de 6 jours à 6 mois	< 449 U/L	(< 7.49 µkat/L)
de 7 mois à 1 an	< 462 U/L	(< 7.69 µkat/L)
de 1 à 3 ans	< 281 U/L	(< 4.67 µkat/L)
de 4 à 6 ans	< 269 U/L	(< 4.48 µkat/L)
de 7 à 12 ans	< 300 U/L	(< 5.00 µkat/L)
de 13 à 17 ans (f)	< 187 U/L	(< 3.11 µkat/L)
de 13 à 17 ans (m)	< 390 U/L	(< 6.51 µkat/L)

a) Valeurs calculées à partir des domaines de référence publiés pour la méthode ALP opt. DGKC (Société Allemande de Chimie Clinique)<sup>14</sup>, en utilisant le facteur 0,417 issu d'une comparaison de méthodes.

Les intervalles de référence pour la population pédiatrique n'ont pas été évalués par Roche.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

# Les « cut-offs »

# Cut-offs prédictifs d'outcomes

- Exemple: Cholestérol
  - « sans risque cardiovasculaire »: <190 mg/dL
  - « avec risque cardiovasculaire »: <175 mg/dL

## *Recommandations OMS*

*Pas du tout les valeurs obtenues dans la population générale*

*Cholestérol plus élevé est plutôt parfois un facteur de bon pronostic (nutrition)*

- Idem HbA1c



## Cut-off « statistique »

- Exemple: hs-troponine
- Encore pire car correspond au p99 d'une population « en bonne santé »
- Purement statistique, pas médical
- Ne tient pas compte de la diminution du DFG (idem NT-Pro BNP)

**Merci pour votre attention.**