

# APPROCHE GLOBALE ET PERSONNALISÉE DES BIOMARQUEURS

E. CAVALIER (1)

**RÉSUMÉ :** Le dosage de biomarqueurs est l'un des moyens de diagnostic les plus couramment utilisés. Pour interpréter les résultats, on se réfère très souvent aux valeurs de référence, qui sont établies à l'échelle d'une population «en bonne santé», sans savoir exactement ce que cache ce vocable. Pour un suivi plus personnalisé des résultats d'un patient, il faut doser les biomarqueurs de façon répétée et faire appel aux notions de différence critique et d'index d'individualité. Cependant, la médecine personnalisée, c'est également l'obtention, en dehors du laboratoire, de résultats par le patient lui-même (self-monitoring), via de petits dispositifs analytiques, mais aussi l'apparition de nouvelles applications «santé» sur des téléphones intelligents qui permettent maintenant d'enregistrer toute une série de paramètres vitaux. Enfin, la quintessence de la médecine personnalisée est la connaissance de tous les biomarqueurs d'un individu, tels que ses séquences ADN et ARN, son protéome, son métabolome, son microbiome, son transcriptome, son exposome, ses auto-anticorps et son épigénome.

**MOTS-CLÉS :** *Biomarqueurs - Différence critique - Valeurs de référence - Index d'individualité - Self-monitoring - Self-testing*

## GENERAL AND PERSONALIZED APPROACH OF BIOMARKERS

**SUMMARY :** Biomarker determination is very frequently requested to make a diagnosis. The results that are obtained are generally compared with those observed in a «general healthy» population, without exactly knowing how this population has been selected. Thus, for a more personalized follow-up of the patient, multiple samples are needed and the reference change values as well as individuality index notions are important to correctly interpret the results. Personalized medicine also encompasses the results obtained by the patient him/herself by means of small analytical devices (self-monitoring), but also with smartphones that can now continuously monitor physical activity or, more generally, health parameters via some applications and devices. Finally, the future of personalized medicine will be the knowledge, for each subject, of all personal biomarkers like DNA and RNA sequences, his/her proteome, metabolome, microbiome, transcriptome, exposome, auto-antibodies and epigenome.

**KEYWORDS :** *Biomarkers - Least significant change - Reference values - Individuality index - Self-monitoring - Self-testing*

## INTRODUCTION

Lorsque l'on parle de «biomarqueurs», on pense souvent à des molécules dosées dans un fluide biologique. Mais cela va bien au-delà : la pression artérielle, l'électrocardiogramme ou encore les échographies peuvent également être considérés comme des biomarqueurs. En effet, la définition du biomarqueur ne se limite pas aux analyses de laboratoire, mais à «une indication objective d'un état médical observé en dehors du patient et qui peut être mesuré de façon précise et reproductible» (1). L'Organisation Mondiale de la Santé définit aussi le biomarqueur comme étant «toute substance, structure ou processus qui peut être mesuré dans le corps ou dans ses produits et qui peut influencer ou prédire l'incidence ou l'évolution d'une maladie» (2).

Le dosage de biomarqueurs au laboratoire de biologie clinique est, cependant, l'un des moyens de diagnostic les plus couramment utilisés. Ainsi, à titre d'exemple, au cours de l'année 2014, le service de Chimie clinique du

CHU de Liège a réalisé 5.828.723 dosages de plusieurs centaines de biomarqueurs différents sur divers milieux biologiques. Pour interpréter les résultats de la plupart de ces dosages, à côté de la plausibilité clinique, on compare, tout d'abord, le résultat obtenu avec les valeurs de référence du paramètre, publiées sur les comptes-rendus d'analyse. Ensuite, on compare les résultats du patient par rapport à lui-même, si l'on a toutefois la chance de disposer de données antérieures. L'interprétation d'un biomarqueur se fera donc via une approche tant globale que personnalisée du résultat. Cependant, les bases sur lesquelles reposent ces interprétations sont souvent relativement peu connues. En effet, pour interpréter correctement des résultats de chimie clinique, il faut tenir compte de trois variables importantes, à savoir la variabilité analytique du dosage (coefficient de variation analytique, CVa), la variabilité intra-individuelle (coefficient de variation intra-individuelle, CVi) et la variabilité inter-individuelle (coefficient de variation inter-individuelle, CVg). Le CVa est obtenu en dosant le même échantillon plusieurs jours de suite et reflète la performance analytique du dosage. Ce CVa dépend, principalement, de la nature du biomarqueur, de sa méthode de dosage, de sa concentration et peut varier assez fortement selon le biomarqueur étudié.

(1) Chargé de cours, Université de Liège; Chef de Service, Service de Chimie clinique, CHU de Liège.

Par exemple, le CVa de la plupart des dosages d'enzymes, d'ions ou de substrats sera généralement  $< 2\%$ . Il sera  $< 5-6\%$  pour les hormones dosées en routine sur les automates, mais il pourra monter jusqu'à 10 ou 15 % pour des analyses inhabituelles dosées en ELISA pour la recherche. Le CVi et le CVg font partie de ce que l'on appelle la variation biologique. Le CVi correspond à la variabilité biologique naturelle d'un paramètre chez un individu, alors que le CVg correspond à la variabilité de ce paramètre au sein d'une population d'individus (3). Ces valeurs de CVi et CVg sont obtenues en dosant le paramètre dans des conditions opératoires excessivement strictes : population en bonne santé, ou stable dans la maladie, plusieurs dosages répétés sur plusieurs jours et/ou plusieurs fois dans la même journée, dosages en double ou en triple pour diminuer le CVa, diète contrôlée, mêmes analyseurs, lots de réactifs, préleveurs, techniciens etc. (4). Les valeurs de CVi et de CVg se trouvent facilement et gratuitement pour plus de 200 biomarqueurs sur le site internet de Westgard à cette adresse : <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

Dans la première partie de cet article, nous tenterons d'expliquer comment utiliser à bon escient les outils que sont les valeurs de référence, l'index d'individualité (II) et la différence critique («Least Significant Change» ou LSC) pour bien interpréter le résultat d'un biomarqueur. Dans la seconde partie, nous aborderons l'évolution potentielle des biomarqueurs pour une médecine plus «personnalisée».

## LES VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les valeurs de référence sont obtenues en sélectionnant une population de 120 sujets «en bonne santé» par classe d'âge ou de sexe et en dosant le biomarqueur au sein de cette population. Les percentiles 2,5 et 97,5 de la distribution des résultats obtenus correspondront ainsi aux bornes inférieures et supérieures publiées sur les protocoles de biologie clinique. En principe, 5 % des sujets «en bonne santé» seront donc statistiquement en dehors des valeurs de référence publiées par le laboratoire. Il est, malheureusement, très souvent impossible pour un laboratoire d'établir lui-même ses propres valeurs de référence et, dans l'immense majorité des cas, il publiera, sur ses protocoles, les valeurs fournies par le

fabricant des réactifs. En pratique, les résultats des biomarqueurs sont comparés par rapport à des valeurs de référence indicatives, fournies de façon peu transparente par les fabricants de kits de dosage et qui sont, au mieux, vérifiées par le laboratoire sur un faible nombre d'individus.

Un des exemples les plus frappants pour illustrer ce problème est celui du dosage de la parathormone (PTH). Le kit qui est le plus souvent utilisé en Belgique (et dans le monde) est la trousse de PTH «intacte» de la firme Roche. Les valeurs de référence proposées sont de 15-65 pg/ml et sont présentes sur la plupart des protocoles rendus par les laboratoires qui utilisent la trousse. Cependant, bien peu savent que Roche n'a jamais établi ses propres valeurs de référence. La firme, au début des années 2000, a simplement repris celles que Nichols Diagnostics avait établies sur son kit de dosage par radio-isotope appelé «Allegro». Ces valeurs ont été obtenues, en 1987, à partir de mesures effectuées chez 72 donneurs sanguins de la région de Boston (5). Tous les résultats de PTH produits par le kit Roche sont donc comparés à ces 72 inconnus. Ceux-ci devaient certainement souffrir d'un déficit en vitamine D car les «vraies» valeurs de référence, obtenues chez des sujets caucasiens, sains, non insuffisants rénaux et présentant des taux de 25(OH)-vitamine D supérieurs à 30 ng/ml, sont de 14-50 pg/ml. Ainsi, la valeur de référence limite supérieure (65 pg/ml) est 30 % plus élevée par rapport à ce qu'elle est réellement (c'est-à-dire 50 pg/ml) (6).

Ainsi, un même paramètre pourra avoir des valeurs de référence différentes en fonction du laboratoire, du kit utilisé et de la manière dont les valeurs de référence ont été établies.

## INDEX D'INDIVIDUALITÉ

La notion d'index d'individualité n'est pas récente, mais est assez méconnue. Cette notion fait appel aux valeurs du CVi et du CVg des biomarqueurs. Ainsi, lorsque le CVi d'un paramètre est élevé par rapport au CVg, la distribution potentielle des valeurs d'un seul individu couvrira une grande partie de la dispersion des valeurs de référence obtenues au sein de la population. Par contre, lorsque le CVi est petit par rapport au CVg, alors la dispersion potentielle des valeurs d'un individu ne couvrira qu'une faible partie des valeurs de référence. L'index d'individualité, défini (de

façon simplifiée) comme étant le rapport CVi/CVg (7) permet de distinguer les situations où les valeurs de référence sont pertinentes pour classer le patient (index >1,4), de celles où il vaut mieux se baser sur plusieurs répétitions du dosage chez le même patient pour se faire une opinion de sa «vraie» valeur (index < 0,6). C'est dans ces cas d'analyses de faible index qu'il faudra stratifier la population pour obtenir des valeurs de référence séparées (en fonction de l'âge, du sexe ou de l'origine ethnique, par exemple) (8). En pratique clinique, lorsqu'un seul prélèvement est obtenu chez un individu, l'index d'individualité n'aura pas d'influence sur le pourcentage de faux positifs et de vrais positifs, quelle que soit la limite supérieure choisie. Par contre, si un prélèvement «de confirmation» est réalisé, cet index prendra toute son importance : pour les analyses avec un faible index (ce qui est le cas pour la plupart des analyses réalisées au laboratoire de chimie clinique), le nouveau résultat sera très proche du premier et cela ne fournira que peu d'information. Par contre, pour les analyses avec index élevé, répéter le dosage diminuera le nombre de faux positifs. A titre d'exemple, les CVi et CVg du calcium et de la créatinine sont de 2,1 et 2,5 % et de 6 et 15%, respectivement. A partir de ces données, on peut donc calculer que l'index d'individualité du Ca sera de 0,84 et celui de la créatinine de 0,40. Comme on peut s'y attendre, il faudra stratifier les valeurs de référence de la créatinine en fonction de l'âge et du sexe, alors que pour le calcium, vu la haute variabilité intra-individuelle par rapport à la variabilité intragroupe, les valeurs de référence seront les mêmes, quels que soient l'âge ou le sexe. Par contre, toute chose restant égale, si on effectue un nouveau prélèvement pour «confirmer» la valeur de créatinine, il y a de fortes chances que la valeur reste élevée, tandis qu'une calcémie élevée pourra revenir dans les valeurs normales, par le simple fait d'un index d'individualité relativement élevé.

#### DIFFÉRENCE CRITIQUE

Le suivi d'un résultat chez le même patient représente déjà une approche beaucoup plus personnalisée par rapport à une approche se basant uniquement sur des valeurs de référence. En effet, on ne compare plus le patient par rapport à une population, mais par rapport à lui-même. La question est parfois de savoir à partir de quel moment on peut décider que la valeur

observée est significativement différente de la précédente. Il existe une notion fondamentale en biologie clinique appelée «différence critique» ou «Least Significant Change» (LSC). Cet indice permet justement de répondre à cette question. La LSC se calcule à l'aide du CVa, du CVi et d'un coefficient statistique qui tient compte d'un changement significatif à un seuil de 95 %. Pour simplifier, la LSC correspond à trois fois le CVi. Ainsi, par exemple, pour qu'il y ait une augmentation cliniquement significative de la créatinine, dont le CVi est de 6 %, il faut un incrément au minimum de 18 % entre deux dosages pour pouvoir affirmer que l'augmentation est bien réelle. Bien évidemment, cela ne vaut que si le patient est suivi dans le même laboratoire et que celui-ci maîtrise, non seulement la reproductibilité, mais aussi le biais de ses analyses.

#### ANALYSES RÉALISÉES EN «POINT OF CARE» ET EN «SELF-TESTING»

Vue du laboratoire, la biologie personnalisée est également celle où le patient (ou un auxiliaire de soins) obtient, par lui-même, les résultats, sans passer par le laboratoire. Ces analyses réalisées au lit du patient («Point Of Care Testing», POCT) ou par le patient lui-même à son domicile («self-testing») ont pris beaucoup d'ampleur cette dernière décennie. Au CHU de Liège, en 2014, 793.438 analyses ont été réalisées en POCT (soit environ 14 % du total des analyses de chimie clinique). Les analyses les plus connues sont certainement les tests de grossesse et la mesure de la glycémie capillaire, mais il n'y a plus de limite à l'utilisation de ce type de tests. On retrouve ainsi des POCT ou des mesures en «self-testing» pour la mesure des marqueurs de souffrance myocardique, du bilan lipidique, de l'hémoglobine glyquée (HbA<sub>1c</sub>), du lactate, de la créatinine, des marqueurs tumoraux, des hormones (tests d'ovulation, parathormone per-opératoire), et cette liste est loin d'être exhaustive. Lorsqu'ils sont utilisés à l'hôpital, ces tests délocalisés sont légalement sous la responsabilité du laboratoire, selon l'Arrêté Royal du 03/08/2012. Cet arrêté stipule, en effet, que c'est le Directeur du Laboratoire de l'hôpital qui assure la surveillance et est responsable des tests décentralisés; ceux-ci tombent alors sous la coupe de l'Arrêté Royal du 3/12/99 qui définit l'agrément des laboratoires. En clair, les tests au lit du patient doivent subir

des contrôles de qualité tous les jours, le personnel infirmier ou médical qui les utilise doit bénéficier d'une formation qu'il est nécessaire de tracer, ainsi que des formations continues sur l'utilisation de ces tests. Les résultats sont validés par le laboratoire et enregistrés dans le dossier médical du patient. Même si leur performance analytique est inférieure à celle du laboratoire, les résultats produits sont toujours sous contrôle. Il n'en va, par contre, pas du tout de même avec les tests que les patients effectuent à domicile et pour lesquels il n'y a jamais de contrôle.

Un autre problème majeur de ces dosages est l'intervalle de temps entre le résultat obtenu et l'action médicale qui en découle. Un temps court peut être considéré, potentiellement, comme un avantage (c'est ce qui est, en général, recherché avec les POCT), mais il peut également comporter des inconvénients. En effet, lorsque l'on envoie une «biologie» au laboratoire, les résultats passent par deux étapes de validation : la confirmation analytique effectuée par le technicien du laboratoire (qui assure que les résultats ont été produits selon les règles de qualité en vigueur et que les contrôles de qualité étaient bons) et la validation médicale effectuée par le spécialiste en médecine de laboratoire (qui s'assure, entre autres, que le résultat est plausible par rapport à la situation clinique du patient). Par contre, dans le cas d'un POCT ou d'un «self-testing», la personne qui réalise le dosage va directement agir en fonction du résultat obtenu, sans passer par les filtres cités ci-dessus et, potentiellement, effectuer des actions inappropriées sur base de résultats erronés.

#### **BIOMARQUEURS ET MÉDECINE PERSONNALISÉE**

Les utilisateurs d'iPhone ont vu apparaître, dans une des dernières mises à jour (non sollicitées) de l'iOS, un répertoire «Données santé». Ce répertoire comprend différentes applications qui peuvent enregistrer des données personnelles, comme le nombre de pas effectués, le nombre d'escaliers grimpés, des données de nutrition, mais aussi des résultats biologiques, comme la glycémie, la saturation en O<sub>2</sub> et le taux d'alcoolémie lorsque l'on connecte son téléphone à un petit dispositif permettant l'analyse d'une goutte de sang. De même, la pression artérielle, peut être enregistrée sur son iPhone lorsqu'il est connecté à un tensiomètre,

ainsi que le rythme cardiaque, la température corporelle, la fréquence respiratoire etc. Toutes ces données peuvent bien sûr être envoyées sous format digital à son médecin ou, pourquoi pas, à un ordinateur analysant le suivi du patient. Nous ne sommes pas dans la science-fiction. Un expert dans l'utilisation des nouvelles technologies de diagnostic au service de la médecine est le Professeur Eric Topol (9). Ce cardiologue renommé est le chantre de l'utilisation des applications mobiles et des senseurs connectés à un téléphone intelligent. Ces téléphones intelligents, qui remplaceront, à terme, les «simples» portables, pourraient devenir, demain, les meilleurs assistants médicaux du patient et le cœur du suivi personnalisé de sa santé. Il faut toutefois noter que la FDA ne s'est déclarée compétente que pour la régulation des tests critiques comme la mesure de la glycémie ou de la pression artérielle. Toutes ces données personnelles enregistrées peuvent faire l'objet de piratage, ce qui pose le problème de la confidentialité des données médicales personnalisées. Cela dit, cette évolution technologique est en marche et rien ne l'arrêtera.

Enfin, la quintessence de la médecine personnalisée est la connaissance de tous les biomarqueurs d'un individu, tels que ses séquences ADN et ARN, son protéome, son métabolome, son microbiome, son transcriptome, son exposome, ses auto-anticorps et son épigénome (10). Toutes ces informations peuvent être répertoriées, tout comme «Google Maps» l'a fait de la géographie de la terre, via une approche multicouche de données (11). Le premier humain à être ainsi totalement analysé s'appelle Michael Snyder, Professeur de Génétique et Directeur du Centre de Génomique et de médecine personnalisée de l'Université de Stanford (12). Le suivi régulier de tous ces paramètres n'est, bien sûr, pas (encore) possible car un point de mesure représente 6,7 terabytes. Mais avec la miniaturisation et la diminution des prix de stockage de données, on peut, peut-être, rêver de disposer de ces données sur son smartphone et de se suivre en temps réel... Mais là encore, il faudra prosaïquement faire appel aux données qui ont été évoquées au début de cet article, à savoir le positionnement de l'individu par rapport à ses pairs et la connaissance de l'interprétation d'une variation entre ces données, sans parler de la maîtrise analytique de ces différentes technologies...

## BIBLIOGRAPHIE

1. Strimbu K, Tavel JA.— What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*, 2010, **5**, 463-466.
2. WHO International Programme on Chemical Safety.— Biomarkers in risk assessment: validity and validation. 2001.
3. Fraser CG, Harris EK.— Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 1989, **27**, 409-437.
4. Perich C, Minchinela J, Ricos C, et al.— Biological variation database: structure and criteria used for generation and update. *Clin Chem Lab Med*, 2015, **53**, 299-305.
5. Nussbaum SR, Zahradnik RJ, Lavigne JR, et al.— Highly sensitive two-site immunoradiometric assay of parathyrin, and its clinical utility in evaluating patients with hypercalcemia. *Clin Chem*, 1987, **33**, 1364-1367.
6. Cavalier E, Delanaye P, Vranken L, et al.— Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, **27**, 1950-1956.
7. Harris EK.— Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clin Chem*, 1974, **20**, 1535-1542.
8. Harris EK, Boyd JC.— On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem*, 1990, **36**, 265-270.
9. Topol EJ, Steinhubl SR, Torkamani A.— Digital medical tools and sensors. *JAMA*, 2015, **313**, 353-354.
10. Scheen AJ.— «Omics» et «big data», avancées majeures vers une nouvelle médecine personnalisée du futur ?, *Rev Med Liège*, 2015, **70**, 262-268.
11. Topol EJ.— Individualized medicine from prewomb to tomb. *Cell*, 2014, **157**, 241-253.
12. Chen R, Mias GI, Li-Pook-Than J, et al.— Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes. *Cell*, 2012, **148**, 1293-1307.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au  
Pr E. Cavalier, Chimie clinique, CHU Sart Tilman,  
4000 Liège 1.  
Email : etienne.cavalier@chu.ulg.ac.be