

## DirectLab n° 16 mars 2016

Cher Docteur, Madame, Monsieur,

Il est d'usage, lorsque vous recevez un résultat d'analyse de votre laboratoire, à côté de la clinique qui reste primordiale, de le comparer à des **intervalles de référence** (terme préféré à celui de valeurs de références) et au **résultat précédent**. Leur **signification**, les notions importantes d'**incertitude de mesure** qui affecte tout résultat de laboratoire et de **différence critique** sont discutées dans ce numéro de DirectLab.

*La Rédaction*

### PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

La représentation des résultats de laboratoire est habituellement la suivante :

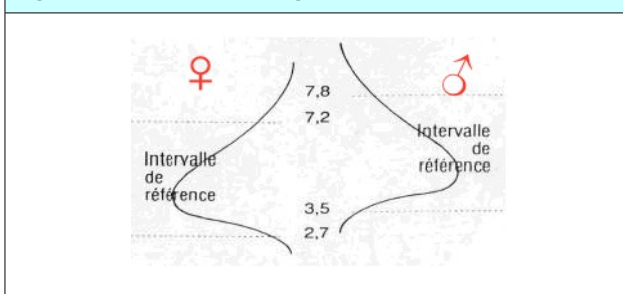
Constituant	Unités	Intervalles de références	Résultat	Résultat antérieur
ALAT	U/l	0 - 37	27	25

Il est dès lors légitime de se poser un certain nombre de questions : quelle est la signification des intervalles de référence, comment sont-ils déterminés, quelle est l'erreur affectant la valeur du résultat actuel, la différence entre le résultat actuel et le résultat antérieur est-elle significative ?

### INTERVALLES DE RÉFÉRENCE<sup>1</sup>

Longtemps, on a parlé de « **Valeurs normales** », car on supposait à tort que les résultats chez les patients suivaient une **distribution normale ou gaussienne**. Cette dénomination est quelque peu abusive, car la majorité des constituants présente des distributions asymétriques, comme le montre la **figure 1**.

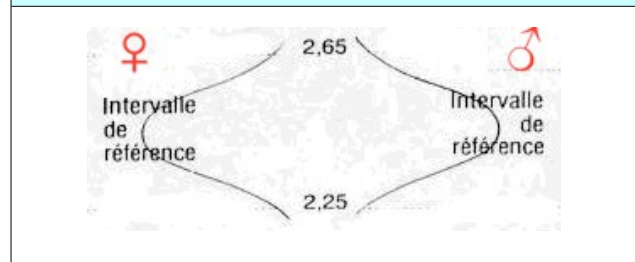
**Figure 1 Distribution non gaussienne de l'urée mmol/l**



Ces asymétries de distribution, différentes d'ailleurs pour les deux sexes (dans cet exemple l'intervalle de référence va de 2,7 à 7,2 mmol/l chez la femme, de 3,5 à 7,8 mmol/l chez l'homme), pouvant également varier selon les méthodes de dosage, ne permettent pas d'utiliser la moyenne  $\pm 2$  écart-type qui

déterminent l'intervalle de référence. Il faut alors recourir à d'autres méthodes statistiques que nous verrons ci-dessous. La **figure 2** illustre le cas contraire d'une distribution pratiquement gaussienne identique pour les deux sexes qui elle permet l'utilisation de la moyenne  $\pm 2$  écart-type pour l'intervalle de référence.

**Figure 2 Distribution gaussienne du calcium mmol/l**



### Détermination des intervalles de références

Comme le concept de **valeurs de référence** s'applique essentiellement aux **sujets sains**, l'on peut facilement concevoir qu'il est extrêmement difficile d'avoir un échantillon représentatif. Deux stratégies sont applicables :

La **sélection à postériori** qui nécessite plus de **1000 patients par sexe** au départ et dont l'échantillon sain est précisé par questionnaire. L'autre démarche est une **sélection à priori** en sélectionnant soigneusement les patients sur des **critère de stratification** (âge, sexe, rythmes circadiens, etc) et **d'exclusion** bien définis (pathologies, prise de médicaments, états physiologiques particuliers, etc.). A partir d'un échantillon initial qui peut comprendre plusieurs milliers de patients, l'échantillon final résultant est compris entre 50 et 100 patients.

L'on peut donc facilement comprendre que la détermination des intervalles de référence est de la compétences des très grands laboratoires universitaires et que les laboratoires comme le nôtre sont pratiquement obligés d'utiliser les données de la littérature ou les intervalles de référence donnés par les fournisseurs de réactifs ou d'automates.

### Intervalles de référence lors de distributions asymétriques

Comme on l'a vu ci-dessus, rares sont les distributions gaussiennes pour les analyses de laboratoires. Plusieurs stratégies sont alors applicables dans ces cas pour la détermination de la valeur centrale et des intervalles de référence.

# DirectLab n° 16 mars 2016

## Transformation des données

L'utilisation du logarithme, de la racine carrée et de l'inverse du nombre est souvent suffisante pour passer d'une distribution non gaussienne en gaussienne. Après transformation, l'intervalle de référence peut alors être calculé selon la moyenne  $\pm 2$  écart-type.

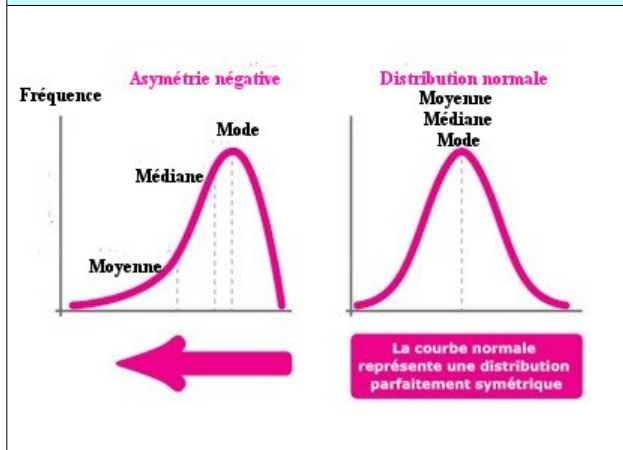
## Utilisation de méthodes non paramétriques

D'utilisation plus récente, les test statistiques non paramétriques s'affranchissent des valeurs extrêmes souvent responsables des distributions asymétriques mais nécessitent beaucoup de sujets.

## Statistique robuste

Comme le montre la **figure 3**, la moyenne n'est pas appropriée pour représenter la valeur centrale d'une distribution asymétrique .

**Figure 3 Relations entre la médiane et la moyenne**



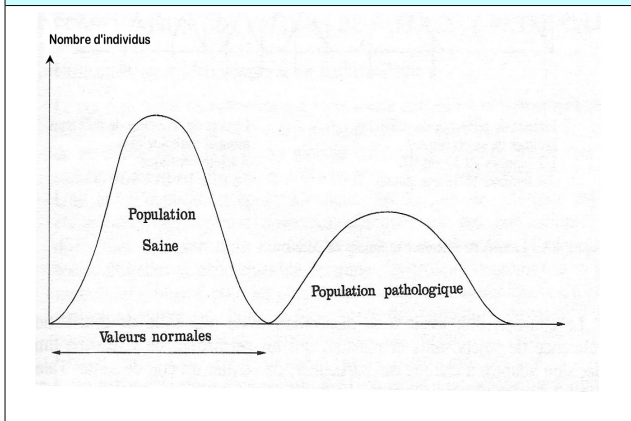
On lui préfère la **médiane**, qui partage géométriquement en deux parts égales la surface sous la courbe, et sur laquelle est basée la statistique robuste utilisée par le Centre suisse de contrôle de qualité (CSCQ) de Genève auquel certains d'entre vous envoient leurs résultats de contrôle de qualité externe.

## Intervalle de confiance

En plus de cette problématique de distributions, il faut savoir que les intervalles de référence ne comprennent en général que 95 % des valeurs et que des résultats de patients en dehors de ces limites peuvent être non significatifs. C'est dire qu'un résultat d'ALAT (pour reprendre notre exemple ci-dessus) de **38 U/l** n'est pas forcément pathologique.

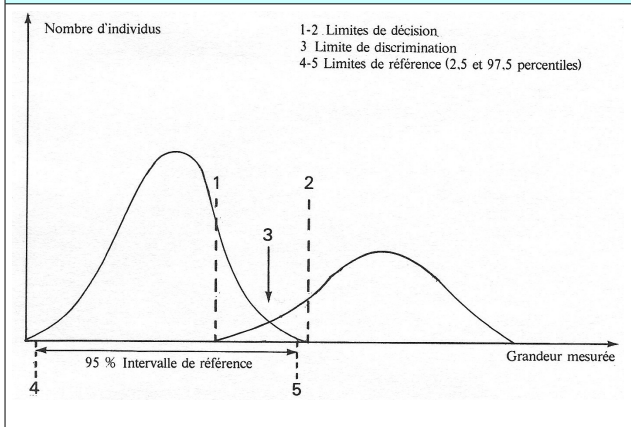
Revenons quelques années en arrière. Sur la majorité des documents mis à disposition des cliniciens, les valeurs dites « normales » donnaient deux limites qui servaient à discriminer les sujets malades des sujets sains (**figure 4**).

**Figure 4 Ancienne présentation des intervalles de référence**



Puis les notions de distributions statistiques sont intervenue, mais elles ne sont pas, même actuellement, encore clairement entrées dans l'esprit des utilisateurs. En réalité, il y a un recouvrement des distributions des sujets sains et celle des sujets malades (**figure 5**).

**Figure 5 Présentation statistique des intervalles de référence**



C'est bien évidemment dans la zone intermédiaire que l'interprétation est la plus difficile, puisque entre 1 et 2, une valeur peut tout aussi bien être dans l'intervalle de référence ou être pathologique. C'est là que doit intervenir en particulier l'esprit clinique du médecin.

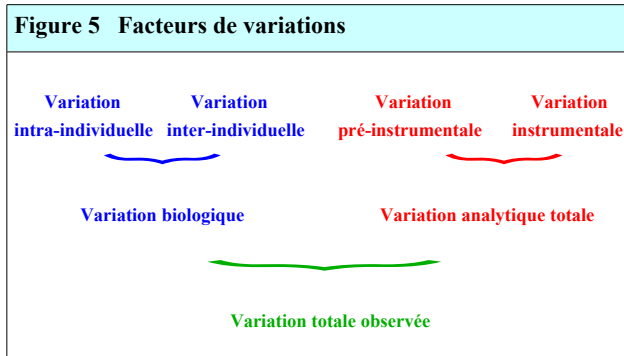
## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE LABORATOIRE

Un résultat de laboratoire n'est jamais une **valeur absolue vraie** mais est toujours entaché d'une **incertitude** qui doit être prise en compte pour son interprétation.

## Variabilité

Comme l'a bien décrit Siest et coll.<sup>1</sup> tout résultat de laboratoire est affecté d'une variabilité, soit d'ordre biologique, soit d'ordre

analytique. Ceci est illustré dans la **figure 5**.



La variabilité intra-individuelle concerne essentiellement la variabilité due à l'individu lui-même au cours du temps. La variabilité inter-individuelle est la variabilité que l'on observe sur une population plus ou moins homogène qu'il est souvent difficile de définir précisément. La variabilité pré-instrumentale est liée à la pré-analytique (anticoagulants, laps de temps avant la mesure, pose du garrot, etc.), tandis que la variation instrumentale dépend de la précision et de l'exactitude des méthodes analytiques.

**Variabilité biologique**

Les facteurs de variations biologiques sont nombreux et peuvent difficilement se classer. On a proposé de les séparer en variations génétiques ou acquise, en variations dues à l'environnement, en variations dues à des facteurs exogènes et endogènes. La **figure 6** liste les facteurs biologiques les plus importants. Le médecin devrait être particulièrement vigilant concernant les variations dues aux divers **rythmes circadiens** qui peuvent conditionner l'heure de la prise de sang.

**Figure 6 Facteurs de variation biologique**

Age	Fièvre	Nicotine
Agression	Froid	Obésité
Aliments	Grossesse	Poids
Apesanteur	Grossesse gémellaire	Position debout
Bruit	Groupe sanguin	Pression sanguine
Café ou caféine	Hypoxie	Race
Cécité	Immobilisation	Repas (prise de)
Chaleur	Jeun (état à)	Rythmes biologiques
Déficit en vitamine B6	Jeûne	Rythmes circadiens
Entraînement	Lactation	Rythmes saisonniers
Environnement	Médicaments	Sexe
Exercices musculaires	Ménopause	Tabac
Exposition à la lumière	Menstruation	Taille

**Incertitude analytique**

Rappelons que si, sur un sérum, on répète par exemple dix fois la mesure, on va pouvoir déterminer un certain nombre de

paramètres qui quantifient l'incertitude analytique :

- l'écart-type (ET) ou déviation standard (s, SD) qui mesure la dispersion des résultats autour de la moyenne<sup>2</sup>
- le coefficient de variation (CV) exprimé en % qui mesure aussi la dispersion (s) des résultats mais rapportée à la moyenne (X) :

$$CV (\%) = (s / X) \cdot 100$$

Idéalement, un résultat de laboratoire devrait se présenter sous cette forme simplifiée<sup>3</sup> pour tenir compte de la dispersion analytique:

$$ALAT \quad 27 \pm 0,7 \text{ U/L } (s = 0,7)$$

mais pour des raisons de clarté des rapports de laboratoire et de compréhension, l'on y a renoncé.

**VALEUR CRITIQUE<sup>4</sup>**

Un autre problème important se pose au médecin devant l'obtention de deux résultats consécutifs pour le suivi d'un patient. Est-ce que la différence observée est due uniquement à la variabilité analytique ou reflète-elle une variabilité liée au patient ?

**Définition**

Pour une probabilité à  $p < 0,05$ ,

$$D_{critique} = X_{haut} \cdot F$$

$X_{haut}$  : valeur la plus haute des deux mesures consécutives

F: facteur propre à un laboratoire donné calculé à partir du coefficient de variation (CV %) interne du laboratoire

**Interprétation**

Après calcul de la **différence absolue** entre les deux valeurs, l'interprétation est la suivante :

- si  $D \leq D_{critique}$  la variation observée peut être expliquée par la **variabilité analytique seule**
- si  $D \geq D_{critique}$  la variation observée ne peut pas être expliquée par la variabilité analytique seule et reflète au moins partiellement une variation liée au patient pour une probabilité  $p < 0,05$

## DirectLab n° 16 mars 2016

### Exemple

Soient 2 mesures consécutives du cholestérol total : 7,5 mmol/l, puis 6,9 mmol/l.

$$D_{\text{critique}} = X_{\text{haut}} \cdot F$$

$$D_{\text{critique}} = 7,5 \cdot 0,05 = 0,4 \text{ mmol/l}$$

(valeur F propre au laboratoire)

$$\text{Différence } D = 7,5 - 6,9 = 0,6 \text{ mmol/l}$$

**Interprétation :** la différence entre les 2 mesures  $D = 0,6$  étant plus grande que la différence critique 0,4, elle n'est pas liée à la variabilité analytique seule, mais reflète au moins partiellement une variation liée au patient pour une probabilité  $p < 0,05$ .

### CONCLUSION

Dans ce numéro un peu technique, nous avons voulu attirer votre attention sur le fait qu'un résultat de laboratoire n'est pas une valeur absolue qu'il faut prendre à la lettre, mais qu'il est entaché d'une incertitude liée à la variabilité analytique et à la variabilité biologique propre au patient. De plus, nous vous proposons un moyen simple de déterminer si la différence entre deux résultats consécutifs a une origine purement analytique ou si elle reflète une réelle variation biologique. A ce propos, nous tenons à disposition des médecins intéressés les valeurs F pour les principaux examens effectués dans notre laboratoire.

### Références bibliographiques

1. G. Siest, J. Henny, F. Schiele, : Interprétation des examens de laboratoire: valeurs de référence et variations biologiques. Karger, 1981 - 427 pages

2. Directive pour le contrôle de qualité interne Annexe au Concept d'assurance qualité dans le laboratoire médical (Concept QUALAB) Version 3.0 (15.08.2015)

3. Olivier Boulat, Charly Nusbaumer, Brigitte Walz Validation assistée: Apport de deux règles simples appliquées aux résultats des paramètres les plus fréquents de la chimie clinique générale et de l'urgence. Pipette, n° 3, juin 211

4. Olivier Boulat et coll. : Incertitude de mesure et différence critique des analyses les plus fréquentes au Laboratoire central de chimie clinique, CHUV, 2007

### NOUVELLE ANALYSE HE4

Notre laboratoire est heureux de vous annoncer la réalisation dès maintenant d'un biomarqueur récent pour la détection précoce du cancer ovarien, le HE4 (Human epididymis protein 4).

Jusqu'il y a peu de temps, le RMI<sup>1</sup> (Risk of Malignancy Index) était le seul index utilisable pour préciser le diagnostic d'un cancer ovarien chez les femmes présentant une masse pelvienne. Cet algorithme combine les images de l'ultrason, le niveau sérique du CA 125 et le status de la ménopause.

En 2010, R. Moore<sup>2</sup> et al ont proposé un nouvel algorithme, ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) basé sur les niveaux sériques du CA 125 et du HE4 et le status de la ménopause. On détermine tout d'abord un Index Prédicatif (PI) :

Préménopause :

$$PI = -12,0 + 2,38 \cdot \text{LN}(\text{HE4}) + 0,0626 \cdot \text{LN}(\text{CA125})$$

Postménopause :

$$PI = -8,09 + 1,04 \cdot \text{LN}(\text{HE4}) + 0,732 \cdot \text{LN}(\text{CA125})$$

et finalement l'algorithme ROMA :

$$\text{ROMA} = \exp(PI) / [1 + \exp(PI)]$$

Le tableau ci-dessous illustre la meilleure spécificité et sensibilité de ce nouvel algorithme sur le RMI :

TABLE 3  
Risk stratification of premenopausal and postmenopausal women with pelvic masses based upon Risk of Ovarian Malignancy Algorithm and Risk of Malignancy Index at a set specificity of 75%

Group	n	Sensitivity				Pretest P value	Positive predictive value		Negative predictive value		Overall agreement	
		Benign	Cancer	ROMA	RMI		ROMA	RMI	ROMA	RMI	ROMA	RMI
Benign vs EOC and LMP	312 (68%)	145 (32%)	89.0%	80.7%	.0113	62.3%	59.7%	93.6%	89.3%	79.4%	76.6%	
Benign vs stage I-IV EOC	312 (72%)	123 (28%)	94.3%	84.6%	.0029	59.8%	56.8%	97.1%	92.5%	80.5%	77.5%	
Benign vs stage I-III EOC	312 (90%)	34 (10%)	85.3%	64.7%	.0000	27.1%	21.8%	97.9%	95.1%	76.0%	73.7%	
Benign vs stage III-IV EOC	312 (78%)	86 (22%)	98.8%	93.0%	.0350	52.1%	50.3%	99.6%	97.5%	80.2%	78.6%	
Benign vs stages I-III and IIIc (omentum- and LN+)	312 (88%)	44 (12%)	88.6%	68.2%	.0037	33.3%	27.5%	97.9%	94.3%	76.7%	73.9%	

EOC, epithelial ovarian cancer; LMP, low malignant potential; RMI, Risk of Malignancy Index; ROMA, Risk of Ovarian Malignancy Algorithm.  
Moore. Comparison of a novel multiple marker assay to the RMI. Am J Obstet Gynecol 2010.

### Références bibliographiques

1. I. Jacobs et al : A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. Br J Obstet Gynaecol 1990 ; 97 : 922 – 9

2. R.G. Moore et al : Comparison of a novel multiple marker assay vs the Risk of Malignancy Index for the prediction of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass American Journal of Obstetrics & Gynecology 2010 ; 202 : 228.e1–228.e6

Alain Aellig, dr ès sciences

Biologiste FAMH