

SEED N°32 HEMATOLOGIE : Valeurs de référence -Que peut offrir Sysmex ?

Le but de ce bulletin est de donner un aperçu du rôle essentiel des valeurs de référence et pourquoi elles devront être établies au laboratoire avec comme référence la population locale

Mots Clés

Plages de référence, plages standard, plages normales, intervalle de référence, Sysmex

Qu'est-ce qu'une plage de référence et pourquoi ces plages sont-elles si importantes ?

Tout d'abord, un résultat isolé, considéré seul, n'est pas très significatif. Les conclusions ne peuvent être tirées que si ce résultat est comparé à d'autres valeurs. La comparaison avec les résultats précédents du même patient montre si la valeur est stagnante, en hausse ou en baisse. La comparaison avec les valeurs trouvées chez les personnes en bonne santé permet d'évaluer si la valeur est dans la gamme des personnes en bonne santé ou non. La comparaison avec les limites de décision permet d'évaluer si d'autres examens médicaux sont indiqués. La gamme de valeurs normales pour les personnes en bonne santé est appelée « valeurs de référence ».

Elle est aussi souvent appelée « valeurs normales ». Mais qu'est-ce qui est « normal » ? Les valeurs de laboratoire peuvent être influencées par un certain nombre de paramètres, dont l'âge, le sexe, les habitudes alimentaires ...etc. (plus à ce sujet ci-dessous). La population de référence consiste par définition en toute personne de référence. Dans certains cas particuliers, cela peut être uniquement un patient avec ses valeurs précédentes. De nombreux critères (âge, sexe, origine ethnique, etc.) peuvent être utilisés pour définir une population de référence. Quand on sait que la mesure les résultats diffèrent, par exemple, en fonction de l'âge ou

du sexe, il est nécessaire de définir des sous-groupes d'individus de référence en conséquence. Les groupes de patients souffrant d'une certaine maladie peuvent également servir de population de référence utile pour les patients atteints de la même maladie. De telles plages de référence spéciales sont utiles, par exemple, pour déterminer la rémission de la leucémie aiguë, après la greffe de moelle ou pendant la grossesse. Mais usuellement, les plages de référence les plus fréquemment utilisées proviennent d'une population en bonne santé. Cependant, ceci soulève le problème de savoir comment définir un individu « sain ». Il n'y a pas de critères clairs pour éliminer les personnes « malades » d'une population de référence.

Pré- requis pour déterminer les valeurs de référence

Les valeurs de référence s'effectuent souvent sur des groupes de référence considérés «sains» tels que les donneurs de sang, les jeunes médecins, les infirmières, ambulanciers et étudiants en médecine. Cependant, il a été montré que les résultats émanant d'une telle population de référence facilement accessible diffèrent significativement de ceux de la population générale et ne sont donc pas représentatifs. En bref, toutes ces sélections créeront différentes plages de référence, bien que ces différences soient parfois assez faibles [1-3]. Une description claire de la procédure de détermination de la population de référence est nécessaire pour que les plages de référence soient utiles :

1- Les mesures d'un patient doivent être comparées avec les valeurs de référence qui lui sont applicables. Les mêmes valeurs de référence ne peuvent pas être utilisées dans des situations différentes (par exemple, des études physiologiques chez les athlètes ou la surveillance de traitement d'une maladie dans des conditions définies), de sorte que la description doit inclure l'objectif des valeurs de référence.

2-De plus, les critères par lesquels les individus sont inclus ou exclus de la population de référence doit être expliqués. Si la population doit être divisée en sous-groupes (par exemple, selon l'âge, le sexe), ces caractéristiques doivent être connues pour chaque individu de référence.

3-Les individus de référence devront toujours être aussi comparables que possible avec les patients pour lesquels les valeurs de référence sont utilisées.

Les principaux facteurs connus pour influencer les valeurs de référence et qui doivent être pris en considération sont (Fig.1 & 2):

- sexe, âge, appartenance ethnique, statut social et professionnel, conditions environnementales
- statut nutritionnel
- circonstances de la collecte des échantillons

Les Facteurs pouvant conduire à différentes plages de référence en hématologie :

- Pré-analytique, âge de l'échantillon
 - Transport
 - Exposition à la chaleur
- Différentes habitudes alimentaires
 - Statut du fer
 - Déshydratation
 - Activités physiques différentes
- Différences marquées en altitude par rapport au niveau de la mer
- Exposition à certains produits chimiques au travail, pollution de l'environnement, tabagisme...
- Etc.

Fig. 1 Facteurs pouvant influencer les plages de référence hématologiques

Les Facteurs pouvant conduire à différentes plages de référence dans l'analyse d'urine :

- Pré-analytique, âge de l'échantillon
 - Transport
 - Conservateurs
 - Exposition à la lumière et à la chaleur
- Habitudes alimentaires différentes
- Activités physiques différentes
- Différences dans l'obtention de l'échantillon
 - Première et deuxième urine du matin
 - Urine médiane, urine de cathéter...
- Hygiène de la région génitale
- Exposition à certains produits chimiques au travail, pollution de l'environnement, tabagisme...
- Etc.

Fig. 2 Facteurs pouvant influencer les plages de référence dans l'analyse d'urine

Procédure de détermination des valeurs de référence

Après cette multitude de facteurs mentionnés plus haut, la question qui peut surgir est la façon avec laquelle les valeurs de référence applicables aux patients doivent être réalisées.

La méthode la plus simple pour le faire, et celle recommandée par la Fédération Internationale de Chimie Clinique et Médecine de laboratoire (IFCC) [2, 7], et qui consiste à réaliser les valeurs de référence par le laboratoire.

Pour ce faire, des groupes de référence appropriés (par exemple un groupe d'hommes et un groupe de femmes) sont choisis parmi une population de référence appropriée. Chaque groupe étudié devra inclure au moins

120 individus après exclusion de ceux qui ne répondent pas aux critères d'inclusion.

Afin d'exclure des échantillons d'individus qui ne conviennent pas pour le groupe de référence un questionnaire sera utile. Un exemple de questionnaire est proposé à la page 10 du référentiel CLSI / IFCC C28-A3 de l'Institut des normes cliniques et de laboratoire.

La plage de référence est ensuite définie comme l'intervalle dans lequel 95% des résultats des sujets sont inclus. Si un des paramètres montre à la fois des valeurs pathologiquement élevées ou diminuées, comme c'est le cas avec la plupart des paramètres hématologiques [4-6], les deux valeurs supérieurs et/ou inférieurs à 2,5% des valeurs de références sont éliminées et le reste des mesures est utilisée comme valeurs de référence. Si le résultat de la mesure est seulement pathologiquement élevé, comme c'est souvent le cas avec le nombre de cellules dans l'analyse d'urine, les valeurs supérieurs à 5% sont rejetés pour obtenir les plages de référence.

Il existe également une méthode de calcul basée sur seulement 80 individus mais celle-ci est plus complexe mathématiquement (voir Fig. 3). Si l'on considère différents sous-groupes, par exemple des hommes et des femmes, les valeurs obtenues peuvent être examinées pour voir s'il y a une différence statistiquement significative. Si ce n'est pas le cas, les valeurs peuvent être combinées dans une plage de référence commune.

Cependant, 80 et 120 individus sont souvent considérés comme charge de travail inacceptable, en particulier lorsque plusieurs sous-groupes sont considérés de sorte que 80 ou 120 individus sont nécessaires pour chaque sous- groupe. A cet effet, une méthode de validation des valeurs de référence déjà publiées peut-être envisagée.

La méthode décrite ci-dessus pour déterminer les valeurs de référence est connu comme 'méthode non paramétrique'. Les méthodes paramétriques sont également utilisées ; celles-ci déterminent les plages de référence à travers un calcul de la moyenne \pm écart-type double. Cependant, ces méthodes supposent que le paramètre étudié suit une distribution normale ou gaussienne, ce qui n'est pas le cas pour de nombreux paramètres. Dans quelques cas, la transformation log de la valeur, peut convertir un paramètre non- normalement distribué à une distribution normale. L'avantage théorique de ces méthodes est qu'elles utilisent moins d'échantillons. Cependant, le fait qu'elles soient non applicables à de nombreux paramètres et le besoin de vérifier la distribution gaussienne augmente considérablement l'effort mathématique.

Fig. 3 Méthodes paramétriques et non paramétriques pour calculer des plages de référence.

Vérification de la pertinence des valeurs de référence publiées

Puisque, pour les raisons mentionnées ci-dessus, l'usage simple de valeurs de référence publiées ne pourrait être permis directement et pourrait être même risqué pour les patients, Il est donc recommandé avant leur utilisation de procéder à leur vérification. Pour ce faire, l'IFCC propose la procédure suivante [7]:

20 échantillons de référence locaux sont prélevés et comparés avec les valeurs de référence publiées. Si pas plus de 2 des 20 échantillons sont en dehors de cette plage, les valeurs de références peuvent être ainsi utilisées à la suite de cette validation.

Si 3 à 4 échantillons sont en dehors de la gamme de référence, 20 autres nouveaux échantillons doivent être prélevés. Si pas plus de 2 de ces 20 échantillons sont à l'extérieur de la gamme, les valeurs de références peuvent ainsi être utilisées. Si dans la vérification initiale, 5 échantillons ou plus, ou plus de 2 d'un ensemble répété d'échantillons, sont en dehors de la gamme publiée, celle-ci ne peut être utilisée en tant que référence pour les patients locaux. L'alternative est alors une nouvelle enquête (voir ci-dessus) ou la validation d'une autre gamme de référence différente.

Les différentes significations des valeurs de référence et limites de décision

Si le résultat d'un patient est en dehors de la plage de référence, il ou elle ne correspond pas à la majorité de la population de référence, mais cela ne signifie pas nécessairement que des explorations médicales sont nécessaires :

D'une part, 5% de la population de référence ont des valeurs en dehors de la plage de référence et le patient pourrait simplement faire partie de ce pourcentage (gardez à l'esprit que 5% signifie «1 patient sur 20 »).

D'autre part, dans les formes bénignes de nombreuses maladies aucune intervention n'est nécessaire. Le résultat est comparé avec les limites de décision, appelées « valeurs seuils». Ceux-ci peuvent être établis, par exemple, par l'analyse de la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic).

Dans les maladies chroniques, les limites de décision peuvent également être établies, par exemple, selon les aspects thérapeutiques. La question est alors dans quelle plage la situation du patient est alors considérée comme stable et à quel moment un changement de thérapie est indiqué. En principe, les méthodes pour déterminer les intervalles de référence peuvent être appliquées de manière analogue, comme décrit ci-dessus, à un groupe de référence de patients stables.

Auteurs	Paramètre	Population
Hong <i>et al.</i> [8]	XE-2100	Han Chinese
Qiao <i>et al.</i> [9]	XE-2100	Han Chinese
Ambayya <i>et al.</i> [10]	XE-5000	Malaysian
Sehgal <i>et al.</i> [11]	XE-2100	Indian
El Graoui <i>et al.</i> [12]	XE-2100	Moroccan
Pekelharing <i>et al.</i> [13]	XE-5000	Dutch
Sysmex Corporation [14]	XN-Series	Japanese

Tab. 1 Valeurs de référence publiées provenant des analyseurs Sysmex

Valeurs de référence Sysmex

Même si Sysmex en tant que fabricant doit fournir des valeurs de référence comme guide pour ses instruments, celles-ci ne peuvent pas être appliquées aveuglément aux patients pour les raisons expliquées plus haut.

Actuellement, il existe des publications scientifiques sur les valeurs de référence pour les analyseurs Sysmex (voir Tab. 1). Ces études ont été réalisées principalement en utilisant des analyseurs d'hématologie X-Class et ont montré que les valeurs de référence changent selon les populations étudiées.

Les valeurs de référence publiées sur les anciens analyseurs Sysmex peuvent être utilisées sur des analyseurs nouvelle génération mais seulement après validation (décrit plus haut).

Puisqu'il existe des différences entre les valeurs de référence hématologiques de différentes populations, les informations données dans le tableau peuvent faciliter la sélection d'une gamme de référence appropriée comme départ point de validation.

Les valeurs de référence pour les analyseurs de la série XN ont été établis par Sysmex Corporation [14], mais les clients doivent être conscients que ceux-ci sont basés sur une population Japonaise.

A retenir

Les résultats obtenus à partir du même échantillon en utilisant deux différents systèmes analytiques (combinaison analyseur / réactif) peuvent être significativement différents.

Si un résultat obtenu pour un test est interprété par rapport à des valeurs de référence non appropriées, les décisions cliniques prises pour le patient pourraient être critiques. Comme pratique standard au laboratoire, il est recommandé de vérifier que les valeurs de référence données par le fabricant sont applicables à la méthode analytique (combinaison réactif/ analyseur) utilisée.

Sysmex en tant que fabricant doit fournir des valeurs de références comme guide pour ses instruments, celles-ci ne peuvent pas être appliquées aveuglément aux patients pour les raisons expliquées dans ce bulletin.

Références

- [1] Haeckel R, Wosniok W and Arzideh F. (2007): A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. *Clin Chem Lab Med* 45 : 1033–1042.
- [2] Henny J. (2009): The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations. *LaboratoriumsMedizin* 33 : 45–51.
- [3] Ceriotti F, Hinzmann R and Panteghini M. (2009): Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 46 : 8–17.
- [4] Wakeman L, Al-Ismaïl S, Benton A *et al.* (2007): Robust, routine haematology reference ranges for healthy adults. *Int J Lab Hematol* 29 : 279–283.
- [5] Heil W and Ehrhardt V. (2008): Reference ranges for adults and children. Pre-analytical considerations. Mannheim: Roche Diagnostics.
- [6] Bain BJ and England JM. (1975): Normal haematological values: sex difference in neutrophil count. *Br Med J.* 5953 : 306–309.
- [7] Solberg HE. (2004): The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med* 42 : 710–714.
- [8] Hong J, Min Z, Bai-Shen P, Jie Z, Ming-Ting P, Xian-Zhang H, Xiao-Ke H, Lan-Lan W, Xin Z, Wei G, Rui Q, Wen-Xiang C, Xin-Zhong W, Yue-Yun M, Hong S. (2014): Investigation on Reference Intervals and Regional Differences of Platelet Indices in Healthy Chinese Han Adults. *J Clin Lab Anal*; early online.

- [9] Qiao R, Yang S, Yao B, Wang H, Zhang J, Shang H. (2014): Complete blood count reference intervals and age- and sex-related trends of North China Han population. *Clin Chem Lab Med*; early online.
- [10] Ambayya A, Su AT, Osman NH, Nik-Samsudin NR, Khalid K, Chang KM, Sathar J, Rajasuriar JS, Yegappan S. (2014): Haematological Reference Intervals in a Multiethnic Population. *PLoS One* 18; 9(3) : e91968.
- [11] Sehgal KK, Tina D, Choksey U, Dalal RJ, Shanaz KJ. (2013): Reference range evaluation of complete blood count parameters with emphasis on newer research parameters on the complete blood count analyzer Sysmex XE-2100. *Indian J Pathol Microbiol* 56(2) : 120–4.
- [12] El Graoui O, Ellaabi S, Igala M, Elalloussi FZ, Nourchafi N, Mifdal H, Serhier Z, Othmani MB, Mikou KA, Oukkache B. (2014): Hematology reference intervals in Moroccan population. *Clin Lab* 60(3) : 407–11.
- [13] Pekelharing JM, Hauss O, de Jonge R, Lokhoff J, Sodikromo J, Spaans M, Brower R, de Lathouder S, Hinzmann R. (2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex Journal International* Vol. 20. No. 1.
- [14] Sysmex Corporation, Japan (2014): Reference ranges analysis document for XN series.