

Validation des valeurs usuelles proposées par un fournisseur sans accès à une population témoin : exemple de la sérum amyloïde A

Validation of the usual values provided by a supplier without access to a control population: example of serum amyloid A

Soraya Fellahi^{1,2}
Laetitia Béraud¹
Jacqueline Capeau²
Gilles Grateau^{3,4}
Véronique Hentgen^{4,5}
Sophie Geogin-Lavialle^{3,4}
Jean-Philippe Bastard^{1,2}

¹ UF biomarqueurs inflammatoires et métaboliques, Service de biochimie et hormonologie, Hôpital Tenon, AP-HP, Paris, France

² Sorbonne Université, Inserm UMRS_938, CDR-Saint-Antoine, DHU i2B, IHU ICAN, Paris, France

³ Sorbonne Université, Service de médecine interne, Hôpital Tenon, AP-HP, Paris, France

⁴ Centre national de référence des maladies auto-inflammatoires et des amyloses inflammatoires (CEREMAIA), Paris, France

⁵ Service de pédiatrie générale, CH de Versailles, France

Résumé. Lors du processus d'accréditation il peut être nécessaire de déterminer des valeurs usuelles propres au laboratoire. Ainsi, nous avons accrédité le dosage de sérum amyloïde A (SAA) sérique pour lequel le fournisseur donnait des valeurs usuelles. Cependant, nous ne disposons pas de population de référence pour les vérifier. *Matériels et méthodes.* Nous avons extrait du système de gestion de l'information du laboratoire les demandes couplées de SAA et protéine C réactive (CRP) de 2014 à 2018. Nous avons considéré que les sujets à CRP normale au seuil de 5 mg/L, puis 3 mg/L, étaient assimilables à la population générale. Pour ces seuils nous avons quantifié le nombre de sujets ayant une SAA $\leq 6,4$ mg/L (donnée fournisseur), puis ≤ 10 mg/L (seuil au-dessous duquel le risque de complication rénale est faible). Nous avons comparé les moyennes annuelles des couples SAA-CRP (2014-2018) par analyse de variance (Anova). *Résultats et discussion.* Pour les CRP < 5 mg/L, la SAA était $\leq 6,4$ mg/L et ≤ 10 mg/L dans 84,6 % et 92,8 % des cas respectivement. Pour les CRP < 3 mg/L ces valeurs étaient respectivement de 89,6 % et 95,6 %. Les mêmes seuils étaient retrouvés pour les enfants et les adultes. L'analyse Anova n'a pas montré de différence des valeurs moyennes par année pour la SAA ou la CRP chez les enfants, les adultes et dans la population totale. *Conclusion.* Nos valeurs de références, telles que déterminées, étaient comparables aux données fournisseur et de la littérature chez les enfants et les adultes. L'analyse de l'évolution de la moyenne d'un biomarqueur en fonction du temps représente un élément bioclinique pertinent supplémentaire.

Mots clés : sérum amyloïde A, protéine C réactive, valeurs usuelles

Abstract. As part of the laboratory accreditation process, it may be required to determine the laboratory's own reference values. Thus, we have accredited in our laboratory, the serum amyloid A (SAA) assay for which the supplier gave the usual values. However, we did not have a reference population to check them. *Materials and methods.* We extracted from our laboratory information management system, the values of all SAA and C-reactive protein (CRP) assays performed simultaneously from 2014 to 2018. We selected all SAA-CRP couples with a CRP < 5 mg/L and < 3 mg/L assuming that these subjects were comparable to the general population. For each of the selected CRP thresholds, we quantified the number of subjects with SAA ≤ 6.4 mg/L (provider's data), then SAA ≤ 10 mg/L (threshold below which the risk of kidney complications is low). We compared annual averages of SAA-CRP couples (2014-2018) by analysis of variance (ANOVA). *Results and discussion.* For subjects with CRP < 5 mg/L, we found SAA value ≤ 6.4 mg/L in 84.6% and ≤ 10 mg/L in 92.8%

Article reçu le 26 février 2019,
accepté le 22 mars 2019

Correspondance : J.-P. Bastard
<jean-philippe.bastard@tnn.aphp.fr>

of cases. These results were respectively 89.6% et 95.6% when considering CRP <3 mg/L. Similar thresholds were observed for adults and children. The ANOVA analysis did not show any difference per year from 2014 to 2018 for both SAA and CRP in children, adults and the total population. *Conclusion.* Our reference values were comparable to those given in the supplier's record and those issued from the literature both for children and adults. The analysis of the evolution of the biomarker average level as a function of time could be an additional relevant element.

Key words: serum amyloid A, C reactive protein, references values

La protéine sérum amyloïde A (SAA) est une protéine de la phase aiguë de l'inflammation dont l'évolution cinétique est comparable à celle de la protéine C réactive (CRP) mais ayant une amplitude d'augmentation qui peut être plus élevée que celle de la CRP [1]. Ainsi la concentration initiale de SAA peut être multipliée par 1 000 au cours de la phase aiguë inflammatoire. La SAA est le précurseur circulant des composants fibrillaires de l'amylose secondaire de type AA. Ses produits de dégradation, les fibrilles amyloïdes A (fibrilles AA) peuvent se déposer dans différents organes, et être à l'origine de complications graves des maladies inflammatoires chroniques [2]. La SAA est également un des constituants d'une apolipoprotéine de 12,5 kDa associée aux HDL, appelée HDL inflammatoire ou HDL3. Outre sa participation indirecte au métabolisme du cholestérol, la SAA est un chimioattractant des leucocytes. Elle induit également l'expression des métalloprotéases [3].

L'intérêt du dosage de la SAA sérique a été montré comme aide au diagnostic des infections virales. Ce dosage peut être également utilisé dans l'exploration de l'inflammation chronique ou résiduelle des maladies inflammatoires/auto-inflammatoires, puisqu'il permet d'identifier les patients à risque de développer une amylose secondaire telle celle présente dans la fièvre méditerranéenne familiale (FMF) [4, 5]. Ces études ont montré l'intérêt de ce dosage, avec un seuil à 10 mg/L en dessous duquel le risque de complications amyloïdes, en particulier rénales, est restreint [4, 5]. Dans l'amylose AA, un traitement reposant sur la normalisation des concentrations circulantes de SAA peut ainsi améliorer l'évolution et le pronostic de la maladie en prévenant l'apparition de l'amylose inflammatoire. En effet, il a été montré que les dépôts amyloïdes régressaient chez 60 % des patients ayant des valeurs de SAA médianes < 10 mg/L et qu'il était important, dans la prise en charge des patients, de tendre vers une normalisation des concentrations circulantes de SAA [4, 5].

Dans le cadre du processus d'accréditation des laboratoires nous avons accrédité le dosage de SAA sérique en portée B, en utilisant le kit de dosage N Latex SAA® de chez Siemens que nous avons adapté, avec un protocole modifié, sur un analyseur néphélémètre « IMAGE® » de chez

Beckman-Coulter. Pour cela nous avons été amenés à vérifier que les valeurs usuelles présentées par le fournisseur du kit étaient adaptées à notre utilisation locale en accord avec le point 5.5.2 sur les exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 1589. En effet, l'intervalle de référence donné par le fournisseur Siemens pour le kit de SAA N Latex SAA® a été obtenu dans une population présentant des concentrations sériques de CRP considérées comme normales (95^e percentile = 5,0 mg/L, n = 483) avec un 95^e percentile pour le N latex SAA à 6,4 mg/L. Toutefois il était précisé dans la fiche fournisseur que les valeurs pouvaient varier en fonction de la population étudiée et que le laboratoire devait déterminer ses propres intervalles de référence. Cependant, comme nous ne disposons pas de population « témoin », nous avons développé une autre stratégie pour essayer de répondre à la question posée en faisant l'analyse des valeurs de l'activité SAA réalisée de façon couplée à celle de la CRP au cours des 5 dernières années, données issues de notre système de gestion de l'information du laboratoire (SIL).

Matériel et méthodes

La demande de SAA dans la population de recrutement de notre laboratoire concerne des patients présentant une maladie ou une suspicion de maladie inflammatoire/auto-inflammatoire. Elle est issue de deux sites constitutifs du Centre national de référence de cette maladie ayant la plus grosse file active en France d'adultes et d'enfant atteints de FMF. Les adultes proviennent dans leur grande majorité du service de médecine interne de l'hôpital Tenon. Les enfants sont pour l'essentiel suivis au centre hospitalier de Versailles.

Dans notre pratique, le dosage de SAA est couplé à celui de CRP ce qui permet de comparer et d'interpréter ces deux paramètres de l'inflammation selon le contexte clinique bien qu'il existe certaines discordances entre les valeurs de CRP et SAA circulantes selon les patients [1, 6]. Sur le plan biologique, cela permet également de déclencher une véri-

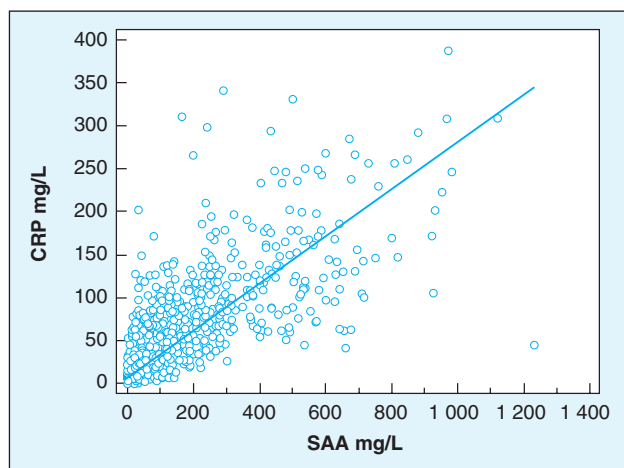


Figure 1. Corrélation entre les valeurs de SAA et CRP sérique chez les patients explorés de 2014 à 2018 ($r = 0,817$; $n = 4\,601$, $p < 0,0001$) dans l'UF biomarqueurs inflammatoires et métaboliques du service de biochimie et hormonologie de l'hôpital Tenon.

fication technique au moindre doute en cas de dissociation entre ces deux biomarqueurs.

Dans ce contexte, nous avons extrait les valeurs de toutes les demandes couplées SAA-CRP des cinq années précédentes (2014-2018) à partir de notre SIL afin de les analyser et de les comparer aux valeurs usuelles indiquées par le fournisseur Siemens.

Les dosages de CRP ont été réalisés sur l'analyseur Ci8200® (Abbott) avec un kit CRP VARIO® (Wilde range method, Abbott). Les dosages de SAA ont été réalisés sur l'analyseur IMAGE® (Beckman-Coulter) avec le kit SAA N Latex SAA® (Siemens).

Nous avons également comparé les moyennes annuelles des couples SAA-CRP des années 2014, 2015, 2016, 2017 et 2018 par analyse de variance (Anova).

Résultats et discussion

L'extraction des données de notre SIL pour les années 2014 à 2018 a retrouvé 4 601 couples SAA-CRP analysables avec une augmentation régulière des demandes chaque année. Les valeurs de CRP sont très fortement corrélées à celles de SAA dans la population totale : $r = 0,817$, $p < 0,0001$ (figure 1) confirmant le lien étroit entre ces deux biomarqueurs de l'inflammation. Ces résultats sont retrouvés quand on analyse séparément les données chez les adultes ($r = 0,822$; $n = 3\,389$, $p < 0,0001$) et les enfants ($r = 0,816$; $n = 1\,212$, $p < 0,0001$).

Nous avons ensuite analysé les valeurs de SAA correspondant aux valeurs de CRP considérées comme n'indiquant pas de syndrome inflammatoire systémique soit < 5 mg/L

et quantifié le nombre de sujets ayant une SAA sérique $\leq 6,4$ mg/L (donnée fournisseur). Nous retrouvons une valeur de SAA sérique $\leq 6,4$ mg/L dans 84,6 % des cas. Si nous considérons le seuil de SAA de 10 mg/L, au-delà duquel on peut observer des complications de l'amylose, la SAA était inférieure à ce seuil dans 92,8 % des cas.

Nous avons ensuite considéré le seuil de CRP de 3 mg/L, seuil de normalité dans une situation d'inflammation chronique : 89,6 % des valeurs de SAA étaient $\leq 6,4$ mg/L et 95,6 % < 10 mg/L.

Les seuils de CRP choisis permettent de faire l'hypothèse qu'ils correspondent à des sujets ayant une faible probabilité de processus inflammatoire actif au moment du prélèvement, c'est-à-dire à des sujets comparables à la population générale.

Nous avons également analysé ces données en fonction de l'âge en séparant adultes et enfants en prenant le seuil de 16 ans comme limite d'âge. Pour le seuil de CRP de 5 mg/L, 83,6 % des adultes et 86 % des enfants avaient une SAA $\leq 6,4$ mg/L. Pour le seuil de 3 mg/L, 88,7 % des adultes et 90,9 % des enfants avaient une SAA $\leq 6,4$ mg/L. Toutes ces valeurs étaient > 90 % pour le seuil de SAA de 10 mg/L (tableau 1).

Ces résultats, comparables quand on analyse les enfants et les adultes séparément, suggèrent que les valeurs usuelles données par le fournisseur sont compatibles avec nos résultats aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant.

De plus, ces résultats sont en accord avec ceux d'une étude ancienne dans laquelle les auteurs rapportaient chez 452 sujets en bonne santé âgés de 16 à 70 ans que 95 % de ces sujets avaient des valeurs de SAA < 8 mg/L et 85 % des concentrations < 5 mg/L [7].

Nous avons également analysé les résultats du couple SAA-CRP en fonction des années calendaires en comparant les moyennes de ces biomarqueurs pour les années 2014 à 2018 par analyse de variance. L'analyse Anova n'a pas montré de différence en moyenne par année ni pour la SAA et ni pour la CRP (tableau 2) dans la population totale. L'analyse séparée des adultes et des enfants trouve des résultats similaires (tableaux 3 et 4). Ceci indique que les valeurs obtenues dans notre population de recrutement restent stables au cours du temps. Ceci suggère également, de façon indirecte, que les méthodes de dosage que nous utilisons pour ces deux paramètres donnent des résultats comparables au cours du temps. L'utilisation de ce type d'analyse, à partir de données de dosages extraites du SIL pourrait être développée à l'avenir. Il permettrait, en complément des analyses classiques d'évaluation de la performance des méthodes et de l'analyse des tendances du contrôle de qualité, d'apporter des éléments concrets de pratique quotidienne sur la stabilité des méthodes de dosage utilisées par un laboratoire au cours du temps.

Tableau 1. Nombre (pourcentage) de SAA \leq au seuil fournisseur (6,4 mg/L) et clinique (10 mg/L) pour des CRP $<$ 5 mg/L et $<$ 3 mg/L. Données issues du SIL du service de biochimie et hormonologie de l'hôpital Tenon (Paris) pour les années 2014 à 2018.

	Population totale		Adultes		Enfants	
	CRP $<$ 5 mg/L n = 2 490	CRP $<$ 3 mg/L n = 2 077	CRP $<$ 5 mg/L n = 1 688	CRP $<$ 3 mg/L n = 1 378	CRP $<$ 5 mg/L n = 802	CRP $<$ 3 mg/L n = 716
SAA \leq 6,4 mg/L	2 106 (84,6 %)	1 862 (89,6 %)	1 412 (83,6 %)	1 223 (88,7 %)	690 (86,0 %)	651 (90,9 %)
SAA \leq 10 mg/L	2 310 (92,8 %)	1 986 (95,6 %)	1 583 (93,8 %)	1 327 (96,3 %)	740 (92,3 %)	682 (95,3 %)

SAA : protéine sérum amyloïde A ; CRP : protéine C réactive ; SIL : système de gestion de l'information du laboratoire.

Tableau 2. Comparaison des valeurs moyennes de SAA et de CRP des années 2014, 2015, 2016, 2017 et 2018 (population totale). Données issues du SIL du service de biochimie et hormonologie de l'hôpital Tenon (Paris) pour les années 2014 à 2018.

	2018 n = 1 241	2017 n = 990	2016 n = 946	2015 n = 785	2014 n = 639	Anova p
SAA (mg/L)	41,1 \pm 3,3	36,0 \pm 2,7	36,5 \pm 3,2	37,5 \pm 4,0	38,3 \pm 4,2	0,79
CRP (mg/L)	17,5 \pm 1,0	15,7 \pm 1,0	18,3 \pm 1,2	19,1 \pm 1,4	16,9 \pm 1,3	0,28

SAA : protéine sérum amyloïde A ; CRP : protéine C réactive ; SIL : système de gestion de l'information du laboratoire.

Tableau 3. Comparaison des valeurs moyennes de SAA et de CRP des années 2014, 2015, 2016, 2017 et 2018 dans la population adulte. Données issues du SIL du service de biochimie et hormonologie de l'hôpital Tenon (Paris) pour les années 2014 à 2018.

	2018 n = 918	2017 n = 717	2016 n = 681	2015 n = 602	2014 n = 471	Anova p
SAA (mg/L)	42,9 \pm 3,9	35,9 \pm 3,1	36,1 \pm 3,9	38,9 \pm 4,4	38,6 \pm 4,7	0,65
CRP (mg/L)	19,3 \pm 1,2	17,1 \pm 1,2	19,2 \pm 1,5	21,4 \pm 1,7	18,0 \pm 1,5	0,27

SAA : protéine sérum amyloïde A ; CRP : protéine C réactive ; SIL : système de gestion de l'information du laboratoire.

Tableau 4. Comparaison des valeurs moyennes de SAA et de CRP des années 2014, 2015, 2016, 2017 et 2018 dans la population des enfants. Données issues du SIL du service de biochimie et hormonologie de l'hôpital Tenon (Paris) pour les années 2014 à 2018.

	2018 n = 323	2017 n = 273	2016 n = 265	2015 n = 183	2014 n = 168	Anova p
SAA (mg/L)	36,0 \pm 5,9	36,4 \pm 5,5	37,6 \pm 5,6	33,0 \pm 9,0	37,6 \pm 8,6	0,99
CRP (mg/L)	12,1 \pm 1,6	11,9 \pm 1,6	15,9 \pm 2,1	11,6 \pm 2,1	14,1 \pm 2,6	0,45

SAA : protéine sérum amyloïde A ; CRP : protéine C réactive ; SIL : système de gestion de l'information du laboratoire.

Conclusion

Compte tenu des résultats obtenus et malgré le biais de la population étudiée, nos valeurs de références, telles que déterminées en utilisant des valeurs normales de CRP, sont comparables à celles présentées dans la fiche fournisseur et aux données de la littérature. Les résultats obtenus chez les enfants, avec le même biais de sélection de la population étudiée, montrent des résultats similaires. Ceci justifie l'utilisation de mêmes valeurs usuelles chez l'enfant et chez l'adulte pour le dosage de SAA sérique. Enfin, l'analyse de l'évolution de la moyenne d'un biomarqueur en fonction

du temps pour un type de recrutement donné, pourrait être un élément supplémentaire à prendre en compte dans le cadre du suivi de certains dosages spécifiques en biochimie clinique.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Yamada T. Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 : 381-8.

2. Papa R, Lachmann HJ. Secondary, AA, amyloidosis. *Rheum Dis Clin North Am* 2018 ; 44 : 585-603.
3. De Buck M, Gouwy M, Wang JM, Van Snick J, Opendakker G, Struyf S, *et al.* Structure and expression of different serum amyloid A (SAA) variants and their concentration-dependent functions during host insults. *Curr Med Chem* 2016 ; 23 : 1725-55.
4. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Pepys MB, Hawkins PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001 ; 358 : 24-9.
5. Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, Gallimore JR, Sabin CA, Gillmore JD, *et al.* Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 2361-71.
6. Stankovic Stojanovic K, Hentgen V, Fellahi S, Geogin-Lavialle S, Amselem S, Grateau G, *et al.* Concordance between CRP and SAA in familial Mediterranean fever during attack-free period: a study of 218 patients. *Clin Biochem* 2017 ; 50 : 206-9.
7. Yamada T, Miida T. Serum amyloid A remains at physiological concentrations in coronary atherosclerosis. *Clin Chem* 1997 ; 43 : 193.