

CHAPITRE e53

Laboratoire clinique de soins modernes

Anthony A. Killeen

La médecine moderne est largement redevable au laboratoire clinique comme composant clef des soins de santé. On estime que, dans la pratique actuelle, au moins 60 à 70 p. 100 de toutes les décisions cliniques dépendent d'une façon ou d'une autre des résultats de laboratoire. Pour de nombreuses pathologies, le laboratoire clinique fournit une information diagnostique essentielle. Par exemple, l'analyse histologique apporte une information fondamentale pour le type histologique, la classification des tumeurs, leur degré d'extension aux tissus adjacents. L'examen microbiologique est nécessaire pour identifier un organisme infectieux et déterminer sa sensibilité aux antibiotiques. Pour beaucoup de maladies fréquentes, les groupes d'experts ont émis des recommandations standard pour le diagnostic, qui s'appuient sur des valeurs biologiques cliniques de référence ; par exemple, la glycémie ou l'hémoglobine A1C sont à la base du diagnostic du diabète, et les taux sériques de marqueurs cardiaques sont un élément clef pour le diagnostic de syndrome coronarien aigu.

Le nombre toujours croissant et l'éventail des examens de laboratoire offrent au clinicien un panel d'examens performants, mais l'oblige à sélectionner de façon appropriée les examens de laboratoire les plus judicieux et les plus rentables économiquement pour une prise en charge efficace.

RATIONNEL POUR EFFECTUER DES EXAMENS DE LABORATOIRE

■ DIAGNOSTIC D'UNE MALADIE

L'une des raisons les courantes du recours aux examens de laboratoire est d'appuyer, de confirmer ou de réfuter le diagnostic d'une maladie suspectée à partir d'autres arguments, tels que l'anamnèse du patient, l'examen clinique, les observations et les études d'imagerie. La question est celle des examens de laboratoire à mettre en œuvre pour appuyer, confirmer ou exclure une intuition clinique. Quel est l'ordre des tests le plus efficace ? Si le résultat du test est positif, cela confirme-t-il l'intuition clinique ou établit-il formellement le diagnostic ? S'il est négatif, cela infirme-t-il l'intuition clinique, et d'autres tests sont-ils nécessaires ? Quelles sont les causes connues de faux positifs et de faux négatifs, et peut-on les reconnaître ?

■ DÉPISTAGE D'UNE MALADIE

Une autre raison de mettre en œuvre des tests biologiques est le dépistage d'une maladie chez des individus asymptomatiques (voir Chapitre 4). Peut-être l'exemple le plus courant est-il celui des programmes de dépistage chez les nouveau-nés qui sont maintenant largement mis en œuvre dans les pays développés. Leur objectif est d'identifier les nouveau-nés atteints de pathologies curables pour lesquelles une intervention précoce, avant l'apparition des symptômes, est connue pour être bénéfique. Chez l'adulte, le dépistage du diabète, d'une néphropathie, d'un cancer de la prostate (par le dosage de l'antigène spécifique de prostate [PSA]) et d'un cancer colorectal (par le dépistage de sang occulte dans les selles) est un exemple de procédures de dépistage à large échelle par des examens biologiques qui s'appliquent à des individus apparemment en bonne santé selon le principe qu'un diagnostic et une intervention précoces chez ces patients amélioreraient le devenir des patients à long terme.

Différences entre les tests de dépistage et les tests de confirmation

Il est important de distinguer les tests biologiques cliniques qui peuvent être utilisés pour le dépistage et ceux qui apportent un résultat de confirmation. Les tests de dépistage sont généralement moins coûteux et plus largement disponibles que les tests de confirmation, qui nécessitent souvent un équipement plus spécialisé et un personnel expérimenté. De principe, les tests de dépistage doivent identifier tous les sujets qui ont la maladie recherchée, même si cela risque de désigner de façon erronée certains individus en bonne santé comme porteurs potentiels de la maladie. De façon plus formelle, la sensibilité d'un test de dépistage est maximale, ce qui entraîne inévitablement une réduction de sa spécificité. Le test de confirmation vise à distinguer correctement les individus atteints de la maladie de ceux qui en sont indemnes.

À titre d'exemple, pour le dépistage de l'hépatite C virale, une approche courante est d'abord de mesurer la présence d'anticorps anti-VHC dans le sérum du patient. Un résultat positif indique généralement soit une infection en cours, soit une infection antérieure que le système immunitaire du patient a résolue avec succès. Dans ce dernier cas, les anticorps anti-VHC peuvent persister et être détectables à vie. Cependant, un petit nombre de patients ont des résultats faussement positifs au test de dépistage du VHC. Pour surmonter ces incertitudes, un test de dépistage sérologique positif doit être suivi d'une identification de confirmation de l'ARN viral du VHC par des techniques moléculaires. Ce test de confirmation fournit la preuve de l'infection en cours ou identifie les patients qui ne sont pas infectés.

■ ÉVALUATION DU RISQUE POUR UNE FUTURE MALADIE

Une autre raison pour les examens de laboratoire clinique est l'évaluation du risque chez un patient donné de développer une maladie dans le futur. Un certain nombre de maladies sont définies par des facteurs de risque définis par des valeurs de laboratoire bien établies qui, si elles sont retrouvées, indiquent la nécessité d'une surveillance plus fréquente pour cette maladie. La nécessité d'évaluer les risques de développer une maladie est encore plus évidente lorsque sont disponibles des interventions susceptibles de diminuer le risque d'apparition de la maladie. Par exemple, l'hypercholestérolémie est un facteur de risque bien établi de coronaropathie, qui peut être modifié par des interventions pharmacologiques (voir Chapitre 241). De nombreuses mutations génétiques sont connues pour être associées à un risque accru de cancer, comme les mutations héréditaires des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, qui prédisposent aux cancers du sein et/ou de l'ovaire. Les individus porteurs de ces mutations doivent faire l'objet d'une surveillance plus vigilante des signes précoces de cancer, voire d'une chirurgie prophylactique dans l'objectif de prévenir le cancer (voir Chapitre 63). Les individus porteurs du facteur V Leiden ont un risque augmenté de développer une thrombose veineuse profonde et peuvent bénéficier d'une anticoagulation prophylactique avant une opération. Certaines chirurgies, comme la pose d'une prothèse de hanche, par exemple, s'accompagnent d'une immobilisation prolongée, qui constitue en soi un risque supplémentaire de thrombose veineuse profonde.

■ SURVEILLANCE D'UNE MALADIE ET D'UN TRAITEMENT

De nombreux examens biologiques apportent des informations utiles sur la progression de la maladie et sa réponse au traitement. Par exemple, on peut évoquer le rôle des mesures de la charge virale chez les patients infectés par le VIH-1 qui reçoivent des antirétroviraux. En accord avec les recommandations des Centers for Disease Control (CDC), une réponse antirétrovirale efficace est définie par la chute des taux plasmatiques de VIH-1 à 0,5 log₁₀ copies/ml, et un objectif clef du traitement est la réduction de la charge virale au-dessous du seuil de détection, qui est typiquement de 40 à 75 copies/ml. D'autres exemples d'utilisation des examens biologiques pour la surveillance d'une maladie sont le dosage des marqueurs tumoraux comme le PSA, notamment après l'ablation chirurgicale de la tumeur. Dans ce cas, le résultat attendu est que le traitement efficace

de la tumeur réduise le taux le marqueur tumoral. Une augmentation secondaire du taux du marqueur tumoral suggère une récurrence de la maladie. Enfin, le laboratoire clinique permet de surveiller directement les taux de certains agents thérapeutiques comme les médicaments. Cette surveillance est importante s'il existe un intervalle de concentration thérapeutique défini, au-delà duquel le médicament est toxique et en deçà duquel il est inefficace. La surveillance des taux du médicament facilite alors la détermination de la posologie optimale et évite la toxicité.

VALEURS CRITIQUES

Les examens de laboratoire sont souvent nécessaires pour établir une liste de « valeurs critiques ». Ces valeurs des résultats de laboratoire indiquent un risque immédiat de mise en danger de la santé ou de la vie du patient et doivent donc être communiquées de façon urgente au médecin du patient afin qu'il mette en œuvre les interventions médicales appropriées. Ces valeurs sont rapportées sans tenir compte de la raison pour laquelle le test a été effectué. Les valeurs elles-mêmes sont généralement établies par le directeur médical du laboratoire clinique en concertation avec l'équipe médicale. Une liste représentative des valeurs critiques est donnée dans le [tableau e53-I](#).

DEMANDES URGENTES

Les tests demandés en urgence sont traités prioritairement dans les procédures du laboratoire, signifiant que les échantillons des autres patients attendront pendant que l'échantillon urgent sera analysé. La mention urgente pour un test doit être réservée aux situations pour lesquelles des soins urgents dépendent du résultat ; cette estimation relève de la décision du médecin. Un test ne doit pas être déclaré urgent selon la convenance du patient ou du clinicien.

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DES EXAMENS DE LABORATOIRE

Les mesures couramment utilisées pour les examens de laboratoire sont la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative. Ces concepts sont expliqués au [chapitre 3](#). Dans les laboratoires cliniques, les termes de *sensibilité* et de *spécificité* sont appliqués alternativement pour les examens, et les usages différents de ces termes peuvent prêter à confusion. La sensibilité analytique peut référer à la concentration détectable la plus faible du produit analysé qui peut être mesurée avec une certitude définie ou comme le niveau de changement de l'intensité du signal selon les modifications de concentration du produit analysé. Par exemple, les nouvelles générations d'examen de laboratoire ont généralement une meilleure sensibilité que ceux de première génération, détectant donc des quantités plus faibles du produit analysé qui sont souvent significatives pour le diagnostic de la maladie. La spécificité analytique correspond à l'interférence possible, dans le test, d'autres substances avec le produit mesuré. Ce concept est fréquemment appliqué aux immuno-essais, dans lesquels la détection d'anticorps peut aussi être liée à d'autres composants qui ont une structure similaire ; par exemple, les immuno-essais pour les médicaments montrent une réaction croisée avec les métabolites des médicaments, et les immuno-essais pour les stéroïdes ont une réactivité croisée pour d'autres stéroïdes ayant une structure similaire. Certains tests chimiques sont donc non spécifiques. Par exemple, une méthode chimique courante utilisée pour doser la créatinine, la réaction de Jaffe, montre des interférences positives avec de nombreux autres composés incluant le glucose, certaines cétones et les céphalosporines. Des concentrations élevées de bilirubine, d'hémoglobine libre et la présence de turbidité dans les échantillons plasmatiques ou sériques peuvent aussi interférer avec certains tests. Les laboratoires cliniques doivent aussi être capables d'émettre des avis sur la présence ou l'ampleur de ces effets dans les tests qu'ils réalisent.

PRINCIPES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic biologique, comme tout diagnostic, est fondé sur les changements dus à la maladie par rapport à la normale.

1. La lésion ou nécrose tissulaire entraîne la libération de composants cellulaires dans la circulation, rendant détectables leurs taux sanguins. De nombreuses molécules cellulaires sont communes à

TABLEAU e53-I Exemples de valeurs de laboratoire critiques.

	Limite inférieure	Limite supérieure
CHIMIE		
Ammoniac	< 3 mg/dl	> 100 µmol/l
Calcium ionisé	< 6 mg/dl	> 7 mg/dl
Calcium total		> 14 mg/dl
Carboxyhémoglobine		> 10 p. 100
Créatine kinase totale		> 1 000 U/l
CO ₂ total	< 11 ml/l	> 45 mmol/l
Digoxine		> 2,5 µg/l
Glucose	< 40 mg/dl	> 500 mg/dl
Glucose du LCR	< 40 mg/dl	
Cétone		> 1,5 mmol/l
Lithium		> 2,0 mmol/l
Magnésium		> 7 mg/dl
Osmolalité	< 250 mmol/l	> 35 p. 100
Phosphore	< 1 mg/dl	> 340 mmol/l
pH	< 7,1	> 7,6
P _{CO₂}	< 20 mmHg	> 75 mmHg
P _{O₂} artérielle	< 40 mmHg	
P _{O₂} capillaire	< 30 mmHg	
Bicarbonates	< 11 ml/l	> 45 mol/l
Potassium	< 2,7 mmol/l	> 6 mmol/l
Salicylé		> 30 mg/l
Sodium	120 mmol/l	> 160 mmol/l
Troponines		> 0,120 µg/l
HÉMATOLOGIE		
INR		> 0,6
Temps de céphaline		> 105 s
Hémoglobine	< 7 g/dl	
Globules blancs	< 1 × 10 ⁹ /l	> 50 × 10 ⁹ /l
Plaquettes	< 50 × 10 ⁹ /l	> 1 000 × 10 ⁹ /l
MICROBIOLOGIE (tout résultat ci-dessous positif est critique)		
Culture ou frottis acide-rapide		
Culture sanguine		
Culture/coloration de Gram du LCR		
Antigène cryptococcique du LCR		
Frottis de paludisme		

CO₂ : dioxyde de carbone ; INR : *international normalized ratio* ; LCR : liquide céphalorachidien ; P_{CO₂} : pression partielle en dioxyde de carbone ; P_{O₂} : pression partielle en oxygène.

plusieurs types tissulaires et ne sont donc pas indicatives d'une lésion d'un tissu spécifique. D'autres composants sont sélectivement exprimés à des concentrations relativement élevées ou uniquement présents dans certains tissus. Leur présence dans le sang est alors un argument en faveur d'une lésion de ce tissu. Ce sont les raisons pour lesquelles sont mesurées les enzymes hépatiques pour l'évaluation des hépatopathies (voir Chapitre 302), les troponines cardiaques dans les syndromes coronariens aigus (voir Chapitre 245) et la myoglobuline dans les atteintes musculaires. L'ampleur de l'augmentation de ces taux sanguins est généralement corrélée à l'étendue de l'atteinte tissulaire, avec quelques exceptions toutefois ; par exemple, les enzymes hépatiques chutent au stade terminal de la maladie hépatique.

2. Une augmentation des taux sanguins de certains produits analysés indiquent un échec des processus normaux d'excrétion. La démonstration en est, par exemple, les augmentations de la bilirubine conjuguée qui accompagnent les obstructions biliaires, les augmentations de l'ammoniaque qui sont vues dans les hépatopathies avancées ou métaboliques et l'augmentation de la PCO₂ dans certaines pneumopathies.
3. L'augmentation de la concentration sanguine de marqueurs tumoraux peut résulter de l'expansion du volume total de ces tissus. Ce principe fonde, par exemple, le dosage des taux de nombreux marqueurs tumoraux comme le PSA (cancer de la prostate), le CA-125 (cancer de l'ovaire), le CEA (cancer du côlon) et le CA-19-9 (cancer du pancréas). En pratique, l'utilité de ces marqueurs varie selon leur degré de production par la tumeur et la taille de la tumeur. Les cancers de l'intestin grêle, par exemple, peuvent ne pas entraîner une augmentation significative des taux de CEA, alors que de petites tumeurs de la prostate provoquent généralement une augmentation détectable des concentrations de PSA.
4. Les processus pathologiques se manifestent souvent par des profils caractéristiques de changements simultanés des taux de plusieurs substances. Ces profils de changement peuvent être compris en considérant la physiopathologie sous-jacente. Par exemple, l'hémolyse intravasculaire aiguë est caractérisée par la chute des taux d'hémoglobine et d'haptoglobine et par l'augmentation de la bilirubine non conjuguée. Dans les endocrinopathies, il existe souvent des modifications de concentration de plusieurs hormones en raison de la perturbation des boucles de rétrocontrôle. L'hyperthyroïdie primitive, par exemple, est caractérisée par une augmentation de la thyroxine (T₄) et par la suppression de la TSH (*thyroid-stimulating hormone*). Dans l'acidocétose diabétique due à un défaut d'insuline, il existe une élévation concomitante de la glycémie, des cétones et, fréquemment, du potassium. En réponse à l'acidose métabolique, les taux de bicarbonates sont typiquement réduits.
5. Des modifications génétiques sont sous-jacentes à de nombreuses maladies, qu'elles soient héréditaires ou acquises. À l'époque de la médecine moléculaire, la contribution des facteurs héréditaires à de nombreuses maladies fréquentes est de plus en plus reconnue. Souvent, l'épidémiologie des pathologies fréquentes, comme l'hypertension, est caractérisée par une minorité de familles porteuses de mutations dans des gènes connus, alors que, dans la population générale, les bases génétiques du même phénotype pathologique ne sont pas claires. La recherche de facteurs génétiques susceptibles de contribuer à de nombreuses maladies courantes reste un sujet de grand intérêt. Actuellement, on ne sait pas si toutes les tumeurs ont des anomalies génétiques. Malgré une prédisposition héréditaire dans certaines familles, la plupart des anomalies génétiques sont acquises. L'identification d'anomalies génétiques dans les cancers offre de nouveaux outils pour le diagnostic biologique et la classification des tumeurs, qui sont en voie de surpasser l'histopathologie traditionnelle, et fournit des portes d'entrée vers les processus cellulaires qui peuvent être ciblés par le traitement.
6. Les résultats de laboratoire doivent toujours être interprétés en fonction de l'histoire du patient, de l'examen clinique et de toute autre information pertinente (par exemple, les examens d'imagerie) ; le praticien doit prendre garde à ne pas traiter les examens de laboratoire plus que le patient.
7. Les examens de laboratoires recommandés changent avec le temps. À mesure de leur apparition, les nouveaux marqueurs de maladies remplacent les plus anciens, par exemple le dosage de la créatine kinase (CK) sérique fut introduit dans les années 1980

pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde. L'utilisation de l'iso-enzyme CK-MB cardiaque-spécifique fut ensuite largement répandue dans la pratique clinique. Aujourd'hui, les troponines cardiaques ont remplacé le dosage de la CK (ou de la CK-MB) dans les recommandations. La mesure des 17-cétostéroïdes urinaires (dérivés des androgènes) et des 17-hydroxycorticostéroïdes (dérivés des glucostéroïdes) a été supplantée par l'immuno-essai des hormones stéroïdes spécifiques. Actuellement, beaucoup d'hormones stéroïdes sont dosées par spectrométrie de masse, qui offre souvent une meilleure spécificité analytique que les immuno-essais. Lors de l'introduction de nouveaux tests, il est important qu'ils soient évalués de façon critique avant d'être adoptés en pratique clinique. Au minimum doivent être pris en considération la validation clinique, la stabilité des échantillons, la sensibilité et la spécificité diagnostiques, les valeurs prédictives positive et négative, l'exactitude et la précision analytiques ainsi que les coûts.

INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Pour interpréter les résultats de laboratoire, la comparaison est habituellement faite par rapport à un intervalle de référence (parfois appelé intervalle normal), qui définit la valeur observée chez les individus en bonne santé ou considérée comme souhaitable pour être en bonne santé. Plusieurs méthodes courantes sont utilisées pour décrire les intervalles de référence dans les laboratoires cliniques.

1. Pour beaucoup de résultats de laboratoire quantitatifs, l'intervalle des valeurs observées dans une population saine suit approximativement une distribution gaussienne. Les facteurs contribuant à cet intervalle incluent les variations intra- et interindividuelles dans la concentration de la substance analysée et l'imprécision analytique. Quand il existe une distribution approximativement gaussienne des valeurs dans une population, l'intervalle de référence est communément défini comme les 95 p. 100 centraux de l'intervalle de distribution des valeurs. En utilisant cette méthode, 2,5 p. 100 de la population ont un taux inférieur aux valeurs de référence et 2,5 p. 100 ont un taux supérieur aux valeurs de référence. Le fait que 5 p. 100 des individus en bonne santé aient des résultats aux tests en dehors des valeurs de référence a des implications importantes lorsque les tests sont multipliés. Si N tests indépendants sont effectués sur un échantillon, la probabilité qu'au moins un test soit en dehors de l'intervalle de référence est $(1 - 0,95^N)$. Plus le nombre de tests est élevé, même chez un individu en bonne santé, plus le risque de trouver un résultat anormal est élevé (Figure e53-1). Si vingt tests indépendants sont effectués chez

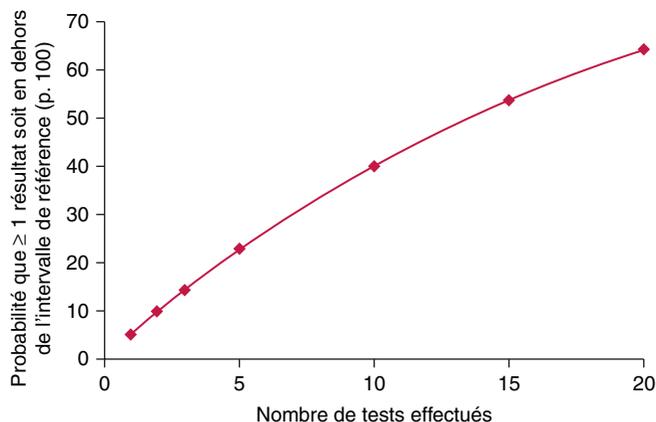


Figure e53-1 La probabilité qu'au moins un résultat de laboratoire soit anormal chez un individu en bonne santé augmente en fonction du nombre de tests effectués. L'intervalle de référence correspond aux 95 p. 100 centraux des valeurs mesurées dans la population bien portante.

TABLEAU e53-II Recommandations du National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III pour le cholestérol.

LDL-Cholestérol	mg/dl
Optimal	< 100
Presque optimal ou sous-optimal	100-129
Limite supérieure	130-159
Élevé	160-189
Très élevé	≥ 190
Cholestérol total	mg/dl
Souhaitable	< 200
Limite supérieure	200-239
Élevé	≥ 240
HDL-Cholestérol	mg/dl
Bas	< 40
Élevé	≥ 60

un individu sain, la probabilité d'obtenir au moins un résultat est d'environ deux tiers.

Dans certaines situations, des valeurs proches de l'intervalle normal sont considérées comme anormales. Par exemple, les recommandations de l'American Heart Association préconisent de considérer comme une preuve d'infarctus du myocarde des taux de troponines cardiaques sériques supérieurs au 99^e percentile des valeurs observées chez les individus sains.

2. Une approche alternative pour utiliser les moyennes populationnelles et les déviations standard est de définir un intervalle de

valeurs jugé compatible avec la santé selon un consensus d'experts. Ces intervalles sont souvent considérés comme des *limites de décision*. Ce sont, par exemple, le cholestérol total, HDL et LDL (Tableau e53-II). De tels intervalles peuvent considérablement varier par rapport à ceux établis à partir des moyennes de la population \pm 2 déviations standard comme base des intervalles de référence. Par exemple, le taux « souhaitable » de cholestérol total selon le National Cholesterol Education Program est inférieur à 200 mg/dl. Cette valeur est actuellement très proche du taux moyen des adultes américains ; en fait, environ la moitié des adultes américains ont un taux de cholestérol total supérieur au taux « souhaitable ». Si 95 p. 100 des taux de cholestérol dans la population sont pris comme référence, la limite supérieure de la normale serait de 240 mg/dl, bien au-delà de ce qui est considéré comme souhaitable.

Les valeurs de référence peuvent varier selon l'âge, le sexe, l'origine ethnique et l'état physiologique (par exemple, grossesse, adaptation à la haute altitude). Certains exemples sont donnés dans les annexes. L'existence d'intervalles de référence différents rend délicate l'interprétation des résultats. En particulier, les intervalles de référence standard de la créatinine ne sont pas toujours faciles à appliquer en pratique en clinique. Les taux de créatininémie varient avec l'âge, le sexe et l'origine ethnique, rendant difficile l'utilisation en clinique des valeurs de référence simples pour évaluer la fonction rénale d'un patient en particulier. Une diminution importante du débit de filtration glomérulaire (DFG) est associée à une augmentation lente de la créatininémie dans l'intervalle normal des valeurs fournies par beaucoup de laboratoires (Figure e53-2). Une femme blanche de 65 ans avec une créatininémie de 1,00 mg/dl, qui est bien dans l'intervalle normal typique, a un DFG de seulement 57 ml/min/1,73 m², alors que la même valeur chez un homme afro-américain de 20 ans est compatible avec une fonction rénale normale. Pour une meilleure estimation du DFG, qui est largement considéré comme l'indice le plus utile pour toute la fonction rénale, il faut donc recourir aux équations qui intègrent la créatininémie à d'autres paramètres. La plus utilisée de ces équations est celle à 4 paramètres, la MDRD (*modification of diet in renal disease*), qui tient compte de la créatininémie, de l'âge, du sexe et de l'origine ethnique (afro-américaine ou non afro-américaine). Les pratiques biologiques recommandées sont de rapporter le DFG estimé (eDFG) avec toutes les mesures de la créatininémie chez

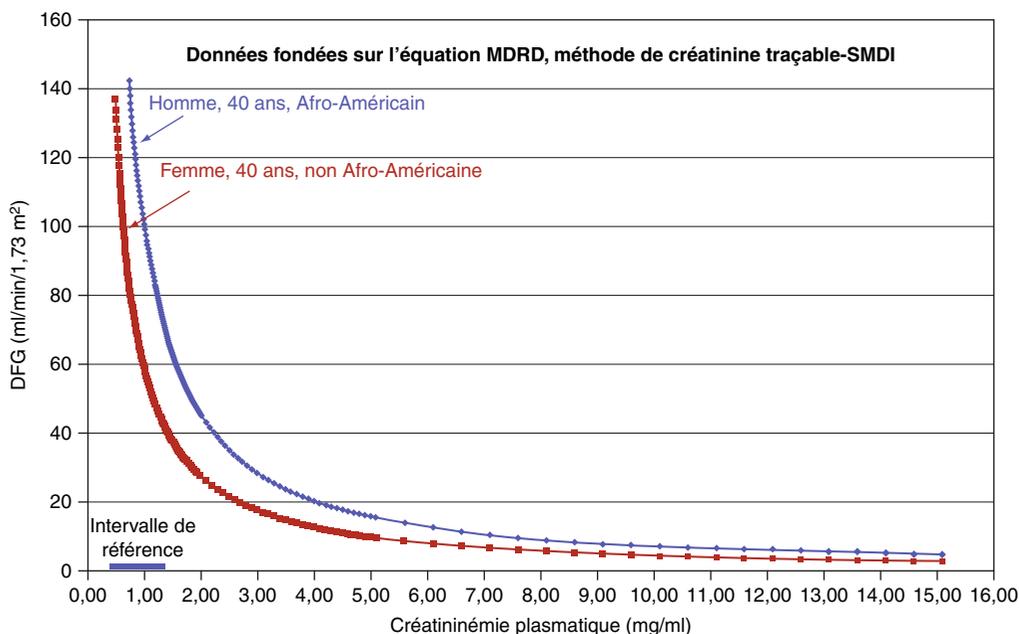


Figure e53-2 Relation entre la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire (DFG) estimé en utilisant l'équation MDRD (*modification of diet in renal disease*) à 4 paramètres. SMDI : spectrométrie de masse à dilution isotopique.

l'adulte. Cette information est plus pertinente que les seules valeurs de référence de créatininémie.

SOURCES D'ERREUR DANS LES EXAMENS DE LABORATOIRE

Des erreurs peuvent survenir à toutes les étapes du processus d'examen, depuis le recueil de l'échantillon jusqu'à l'interprétation des résultats. Une erreur à n'importe quel stade peut avoir des conséquences sur la santé du patient. Dans les laboratoires cliniques, il est habituel de diviser le processus d'examen en trois phases : pré-analytique, analytique et post-analytique. Des exemples de chaque type d'erreurs sont donnés dans le [tableau 53-III](#). L'erreur la plus fréquente dans le processus d'examen est le mauvais étiquetage des échantillons, l'échantillon d'un patient étant placé dans le container avec le nom ou les identifiants d'un autre patient. Les erreurs d'étiquetage des échantillons peuvent avoir des conséquences sérieuses pour un patient. Par exemple, un échantillon mal étiqueté peut résulter en un typage erroné du groupe sanguin d'un patient, avec secondairement une transfusion non compatible, potentiellement délétère. Un échantillon biopsique mal étiqueté peut entraîner un diagnostic erroné et un traitement inadapté ou, alternativement, rendre impossible le diagnostic et la mise en route d'un traitement.

Outre les erreurs, de nombreux facteurs pré-analytiques peuvent influencer les résultats de laboratoire. La position (couchée ou

debout), l'exercice, le régime, les aliments récemment consommés et la prise de médicaments ou de drogues, dont le tabac, l'alcool, la caféine et les compléments à base de plantes, peuvent influencer nombre d'analyses. Après un prélèvement sanguin, la concentration de certaines substances analysées continue à changer durant le stockage et le transport. Les taux de glucose chutent suite au métabolisme des globules rouges. Les taux d'ammoniacque augmentent en raison de la dégradation des protéines. La perméabilité accrue et la rupture des membranes des globules rouges tendent à augmenter les taux de potassium et d'hémoglobine libre plasmatiques. La contamination bactérienne peut entraîner une surcroissance des échantillons. Pour minimiser les altérations des échantillons, ceux-ci doivent être traités et transportés au laboratoire le plus rapidement possible après leur recueil. La liste des variables pré-analytiques et leurs effets sont extensifs, et le lecteur est renvoyé au travail de Young (*voir Lectures complémentaires*).

EXAMENS SUR LE LIEU DE SOIN

La grande majorité des examens sont faits dans des laboratoires cliniques dédiés, mais, depuis plusieurs décennies, certains peuvent être faits sur le lieu de soin. Cela est rendu possible par le développement des équipements d'analyse portables, incluant les instruments monofonctionnels comme les glucomètres et les moniteurs de la saturation d'oxygène, et les instruments multifonctionnels qui peuvent effectuer une large gamme d'analyses, en particulier en chimie et en hématologie, mais aussi dans certains domaines de la microbiologie. L'utilisation de ces appareils est favorisée par la possibilité d'obtenir rapidement les résultats. Dans certains situations, comme les zones rurales et les pays en développement, les laboratoires cliniques ne sont pas faciles d'accès, et ces équipements peuvent être la seule option pour pratiquer les examens. Cependant, le coût d'un examen sur le lieu de soin, à la fois en termes de réactifs et matériels et de personnels, est souvent plus élevé que celui effectué dans un laboratoire. Il faut aussi considérer la formation adéquate du personnel pour faire les examens sur le lieu de soin, la qualité des résultats et leur intégration dans le dossier médical.

EXAMENS À DOMICILE PAR LES PATIENTS

Une grande partie des tests faits sur le lieu de soin le sont par les patients à leur domicile, ce qui est un élément important du traitement des patients diabétiques avec le contrôle de la glycémie. Des tests de grossesse en vente libre sont disponibles depuis plusieurs décennies. Plus récemment, des kits sont disponibles pour doser l'INR (*international normalized ratio*) ou le temps de prothrombine chez les patients sous anticoagulants oraux. Des kits sont également disponibles pour surveiller le cholestérol, détecter le sang occulte dans les selles ou mesurer l'hémoglobine. C'est un domaine où l'information est souvent pauvre concernant la qualité de performance du test, l'exactitude des résultats et l'interprétation correcte.

CONSIDÉRATIONS PARTICULIÈRES AUX TESTS GÉNÉTIQUES

Les principes de la génétique médicale en pratique clinique sont discutés dans les [chapitres 61 à 63](#). Nous nous concentrerons ici sur les aspects relatifs aux examens de laboratoire pour les maladies génétiques.

La distinction entre tests génétiques pour maladies héréditaires ou acquises implique le type de tissu qui doit être obtenu pour être analysé. Pour les pathologies héréditaires, toutes les cellules nucléées sont porteuses de la mutation transmise, et les globules blancs ou les cellules buccales (obtenues par grattage de l'intérieur de la joue) sont ainsi des sources convenables d'ADN pour les tests génétiques. Pour les tests prénatals chez le fœtus, les villosités chorioniques et les amniocytes sont fréquemment utilisés. Pour l'étude des troubles génétiques acquis, comme les tumeurs, c'est le tissu d'intérêt susceptible de contenir la mutation suspectée qui doit être recueilli pour disposer d'un matériel génétique à tester. Il est souvent utile de comparer l'ADN tumoral à l'ADN normal du patient pour identifier

TABLEAU e53-III Exemples d'erreurs pré-analytiques, analytiques et post-analytiques lors des procédures des tests de laboratoire.

Sources pré-analytiques d'erreur

Sélection du test

- Test inapproprié pour les besoins cliniques
- Manque d'utilité clinique en regard des résultats possibles
- Demande de test oubliée ou non communiquée

Recueil de l'échantillon

- Temps de recueil incorrect
- Patient non préparé pour le recueil (par exemple, pas à jeun)
- Type d'échantillon incorrect (par exemple, mauvais anticoagulant, mauvais fixatif tissulaire)
- Quantité d'échantillon insuffisante
- Contamination de l'échantillon par des liquides IV, des drogues ou des bactéries
- Échantillon mal ou non étiqueté

Informations cliniques importantes non fournies

Délais de transport au laboratoire entraînant des altérations de constituants de l'échantillon

Sources analytiques d'erreur

- Conditions de stockage incorrectes pour l'analyse
- Mauvaise identification au laboratoire
- Mauvais test effectué
- Interférences des tests
- Échec du test (par exemple, test non contrôlé)

Sources post-analytiques d'erreur

- Retard dans la communication des résultats du test
- Résultats non communiqués à la personne concernée
- Résultat incorrect communiqué
- Mauvaise interprétation du résultat

la mutation acquise, par exemple pour étudier l'instabilité microsatellite dans le cancer colorectal (voir Chapitre 83).

■ CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ AUX TESTS GÉNÉTIQUES

Même si l'on suppose que tous les tests génétiques effectués par les laboratoires cliniques le sont avec le consentement du patient ou, pour les mineurs, des parents, les règles juridiques exigent l'obtention d'un consentement formel écrit pour les tests génétiques. Ces obligations varient selon les législations, et le clinicien doit s'informer des obligations locales. Dans certaines juridictions existent des dispositions concernant le stockage et l'utilisation des informations génétiques et la durée de conservation des échantillons génétiques.

Pour certaines maladies génétiques à début tardif, comme la maladie de Huntington (voir Chapitre 372), les tests génétiques permettent de prédire si le patient développera la maladie dans le futur. Le degré de certitude obtenu des tests est supérieur à celui résultant de l'identification des facteurs de risque typiques, comme l'hyperlipidémie pour l'infarctus du myocarde. Avant de décider de faire un test génétique prédictif, le patient doit pouvoir envisager toutes les implications d'un résultat positif ou négatif, en l'aidant par n'importe quel support ou conseil, ainsi que les implications pour les autres membres de sa famille. Ainsi le conseil génétique a-t-il une place importante (voir Chapitre 63). Cette expertise comprend la capacité à expliquer les pathologies génétiques en des termes compréhensibles pour le patient et sa famille, la coordination des services de soutien et l'évaluation des risques génétiques pour les membres de la famille porteurs des troubles génétiques.

Pour étudier les pathologies génétiques, les laboratoires cliniques doivent mettre en œuvre différentes techniques analytiques adaptées à la maladie examinée. Certaines pathologies, comme la drépanocytose, sont dues à des mutations ponctuelles. Les tests ne comportent alors que la recherche d'une ou de quelques mutations dans un seul gène. D'autres pathologies (par exemple, l'hyperphénylalaninémie) peuvent résulter de plusieurs mutations dans un seul gène, d'autres encore (comme le cancer du sein héréditaire) de plusieurs mutations dans plusieurs gènes. Le nombre de gènes et de mutations possibles sous-jacents au phénotype clinique affecte les coûts et le temps nécessaire à la pratique du test génétique, mais aussi la possibilité de trouver la mutation causant la maladie.

Si un phénotype de maladie peut être dû à plusieurs mutations, un résultat biologique négatif doit être interprété avec prudence. Par exemple, il est fréquent de rechercher chez les femmes enceintes en bonne santé (et leur partenaire) des mutations du gène *CFTR*, qui est muté chez les individus atteints de mucoviscidose. Le but de ce dépistage est d'identifier les femmes porteuses d'une mutation de *CFTR* et qui ont donc un risque accru d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose. La mucoviscidose étant une maladie autosomique récessive, un fœtus a une chance sur quatre d'être affecté si ses deux parents sont porteurs de mutations *CFTR* pathologiques. Le test de dépistage couramment utilisé pour identifier les mutations chez les porteurs détecte 80 à 85 p. 100 des mutations *CFTR* connues pour provoquer la maladie chez les sujets blancs et jusqu'à 97 p. 100 des mutations responsables chez les juifs Ashkénazes. Un résultat négatif n'élimine donc pas complètement la possibilité que la femme (ou son partenaire) soit porteuse d'une mutation. Le risque d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose malgré un résultat négatif a significativement diminué en prenant en compte l'origine ethnique et les différentes mutations. Le laboratoire clinique doit en tenir compte pour calculer le nouveau risque d'être porteur si le résultat est négatif.

LIMITES DES TESTS GÉNÉTIQUES MOLÉCULAIRES

Les tests génétiques ont des limites qui sont spécifiques à ce domaine. Les résultats peuvent être non conclusifs. Par exemple, la recherche des mutations d'un gène suspecté d'être à l'origine d'une

maladie peut échouer en ne révélant aucune mutation connue pour causer une maladie. Une mutation peut être découverte, dont la signification clinique est inconnue. Dans ce cas, toute modification dans la séquence des acides aminés de la protéine peut suggérer un effet biologique, par exemple la substitution d'un acide aminé chargé par un autre d'une charge opposée ou par un acide aminé neutre, ou la substitution d'un acide aminé par un autre d'une taille différente ou la substitution par un acide aminé conservé dans plusieurs espèces. Savoir si la mutation est également présente dans la population en bonne santé apporte aussi une information. Malgré toutes ces considérations, il n'est pas rare que la signification biologique d'une mutation identifiée reste incertaine et que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour en comprendre la signification.

Il faut aussi comprendre les limites des méthodes biologiques utilisées pour détecter les mutations. Le séquençage à large échelle de l'ADN demeure aujourd'hui irréalisable pour analyser beaucoup de gènes, pour des raisons à la fois techniques et économiques, bien que l'analyse séquentielle extensive soit devenue un standard de soins pour quelques gènes, par exemple *BRCA1* et *BRCA2* pour l'évaluation du risque de cancer du sein et de l'ovaire chez les individus avec des antécédents familiaux. Les techniques de séquençage s'améliorent et devenant moins onéreuses, on peut espérer qu'elles soient plus fréquemment utilisées à la fois pour identifier des mutations chez les patients avec une maladie génétique et pour dépister les individus en bonne santé à risque de maladie génétique.

Un autre aspect particulier des tests génétique est celui de l'information génétique qui peut être utilisée de façon discriminatoire par les employeurs et les compagnies d'assurance. Aux États-Unis, le Genetic Information Nondiscrimination Act (GINA) de 2008 interdit aux employeurs d'utiliser des informations génétiques pour sélectionner les candidats à l'emploi et aux compagnies d'assurance pour accorder des contrats ou en calculer le montant. Le GINA ne concerne pas les assurances d'invalidité, les assurances santé ou les assurances vie.

Bien que l'attention du public se soit essentiellement portée sur les tests ADN, il faut souligner que d'autres investigations de biologie clinique, dont on ne songe pas habituellement qu'elles puissent être génétiques, peuvent fournir des informations génétiques importantes sur la personne testée. Par exemple, l'électrophorèse des protéines sériques peut révéler un déficit en α_1 -antitrypsine. Le dosage de l'hémoglobine A1C, couramment utilisé pour surveiller le diabète, peut, selon la technique biologique utilisée, révéler une hémoglobine variante comme HbS (drépanocytose). Le dosage des taux de cholestérol et de triglycérides peut mettre en évidence de nombreuses pathologies héréditaires. Tous ces éléments constituent différents types d'informations génétiques.

RÉGLEMENTATION DES LABORATOIRES CLINIQUES

Aux États-Unis, tout test biologique effectué à des fins cliniques (et non de recherche) est régi par le Clinical Laboratory Improvement Amendments Act (CLIA) fédéral de 1988. Les appareillages utilisés par les patients à leur domicile pour effectuer leurs propres tests ne sont pas soumis au CLIA. Les statuts et les réglementations, administrés par les Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS), s'appliquent à tous les laboratoires, qu'ils soient dans le cabinet d'un médecin, dans un grand hôpital ou un laboratoire de référence, et tous les laboratoires doivent avoir un certificat CLIA valide, qui est différent selon le niveau de complexité des tests pratiqués. Le niveau de complexité des tests est décidé par la Food and Drug Administration. Le niveau le plus faible correspond à la catégorie « abandon ». Par ordre de complexité croissante, on trouve les catégories « provider-performed microscopy » (PPM), « complexité modérée » et « haute complexité ». Le certificat CLIA de laboratoire clinique doit refléter le test de niveau de complexité le plus élevé que le laboratoire peut effectuer. La catégorie PPM est utilisée pour des tests comme les préparations au KOH (hydroxyde de potassium) pour les échantillons cutanés examinés pour rechercher des champignons, les épreuves de l'arborisation cervicale et les tests de mobilité spermatique. Elle ne doit pas être appliquée à l'histopatho-

logie qui appartient à la catégorie de haute complexité. Notons que, même si un laboratoire pratique uniquement un test appartenant à la catégorie « abandon », il dispose néanmoins d'un certificat CLIA. Les laboratoires certifiés pour des tests non abandonnés doivent participer à l'amélioration des tests et sont régulièrement contrôlés pour vérifier leur performance.

LECTURES COMPLÉMENTAIRES

BURTIS CA et al. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 4th ed. St. Louis, Elsevier Saunders, 2006.

GILJOHANN DA, MIRKIN CA. Drivers of biodiagnostic development. *Nature*, 2009, 462 : 461.

HUDSON KL et al. Keeping pace with the times. The genetic information nondiscrimination act of 2008. *N Engl J Med*, 2008, 358 : 2661.

MCPHERSON RA, PINCUS MR. Henry's clinical diagnosis and Management by laboratory methods, 21st ed. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006.

THYGESEN K et al. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*, 2007, 116 : 2634.

YOUNG DS. Effects of preanalytical variables on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, AACC Press, 2007.