

VALEURS DE RÉFÉRENCE DES LIPIDES SÉRIQUES CHEZ DE JEUNES HOMMES CAMEROUNAIS.

Ibrahim Taga¹, Lysette Kouemeni² et Jeanne Ngogang Yonkeu³.

¹Unité de biochimie et nutrition clinique
Département de biochimie
Université de Douala, Cameroun. Professeur
invité, Biochemistry, Microbiology and
Immunology Department,
University of Ottawa, Ontario, K1H 8M5.

²Unité de parasitologie
Institut de recherche médicale
et d'étude des plantes médicinales
Yaoundé, Cameroun.

³Département des sciences physiologiques,
Faculté de médecine et des sciences biomédicales,
Université de Yaoundé I, Cameroun.

RÉSUMÉ

Le dosage des lipides sériques a été effectué chez 120 camerounais bien portants de sexe masculin âgés de 20 à 30 ans. Le cholestérol total, le cholestérol HDL (HDL-C) et les triglycérides ont été dosés par des méthodes enzymatiques et le cholestérol LDL (LDL-C) a été obtenu par calcul. L'analyse statistique a permis d'établir les intervalles de référence en utilisant les percentiles 2,5 et 97,5. Le cholestérol total variait entre 2,38 et 5,61 mmol/L, le HDL-C entre 0,78 et 2,38 mmol/L, le LDL-C entre 1,89 et 4,53 mmol/L et les triglycérides entre 0,50 et 2,12 mmol/L. Ces valeurs diffèrent de celles établies sur des populations américaines, africaines et surtout européennes qui servent actuellement de référence dans les laboratoires camerounais. Des différences génétiques, environnementales et de mode de vie entre la population du Cameroun et les autres populations pourraient expliquer cette variabilité des valeurs de référence de même que des différences entre les méthodes et techniques utilisées.

ABSTRACT

Measurements of serum lipid were carried out on 120 healthy male Cameroonians aged 20 to 30 years old. Total cholesterol, HDL-cholesterol (HDL-C) and triglycerides were measured by enzymatic assays and LDL-cholesterol (LDL-C) was calculated. The statistical analysis of the data based on percentiles 2,5 and 97,5 gave the following results : total cholesterol 2,38-5,61 mmol/L, HDL-C 0,78-2,38 mmol/L, LDL-C 1,89-4,53 mmol/L and triglycerides 0,50-2,12 mmol/L. These values differ from those found on Americans, other Africans and especially Europeans that are frequently considered as references in our laboratories. Genetic, environmental and lifestyle differences could explain this variability in reference values. Heterogeneity of methods used could also be contributing.

INTRODUCTION

Les dyslipidémies sont de plus en plus fréquentes dans la population camerounaise. La consommation d'aliments hyper gras, tels que le koki, le mitoumba, le héro ou l'okok préparés à partir de matières grasses et constituant les aliments de base dans plusieurs régions du Cameroun, pourrait en être l'une des causes. En effet les habitudes alimentaires, fonction du milieu de vie, sont le plus souvent à l'origine de ces pathologies (1-4). La prévention et le traitement de ces anomalies lipidiques

devraient être des priorités de santé publique afin d'en réduire les conséquences. Le suivi des patients au cours de leur traitement et l'appréciation de leur état pathologique nécessitent le dosage des différents paramètres lipidiques sériques (cholestérol total, HDL-C, LDL-C et triglycérides). L'interprétation des résultats d'analyse obtenus nécessite des valeurs de référence fiables ou des valeurs consensus appropriées (5-7). Lors de l'interprétation des résultats, de nombreux cliniciens ne sont pas conscients que les valeurs de référence utilisées doivent provenir de la même population que celle d'où sont issus leurs patients (6). De plus les différentes techniques d'analyse et les méthodes statistiques vont également influencer ces valeurs de référence. Ceci se vérifie dans la littérature où la variabilité des intervalles de référence suscite une attention particulière. Pour le cholestérol total, on passe de 2,76-4,16 mmol/L chez les sénégalais (8) à 3,10-5,55 mmol/L chez les français (9) ou 3,20-6,59 mmol/L chez les pakistanais (10). De même des études effectuées sur des individus de race noire et blanche de différents pays montrent qu'il existerait des différences relatives aux taux de lipides sériques dépendant de la race et/ou du pays (11,12).

Nous conviendrons par conséquent que les valeurs de référence des lipides sériques chez les camerounais ne sont pas nécessairement similaires à celles des caucasiens européens qui servent cependant de repères à de nombreux cliniciens. Ces variations peuvent provenir de différences génétiques et environnementales existant entre les différentes populations mais également de variations d'ordre matériel et technique entre les méthodes de dosage. Afin de mettre à la disposition des cliniciens camerounais un outil de travail fiable, nous avons déterminé les valeurs de référence des lipides sériques dans notre population.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Population d'étude

Deux cent vingt-six (226) sujets de sexe masculin âgés de 20 à 30 ans ont été sélectionnés selon les critères de la Société française de biologie clinique (13,14). Suite à l'obtention du consentement des sujets, des examens parasitaires, hématologiques et biochimiques ont été réalisés sur les selles, le sang et les urines et des mesures anthropométriques et de physiologie cardiaque ont également été réalisées. Les sujets retenus répondaient aux facteurs d'inclusion suivants :

- Absence de parasites dans les selles
- Absence d'hémoparasites (*Plasmodium Falciparum*, microfilaires)
- Taux d'éosinophiles < 4%
- Taux de plaquettes sanguines < 450 x 10⁹/L
- Taux d'hémoglobine >120 g/L
- Vitesse de sédimentation <10 mm/h
- Culot urinaire vierge
- Absence d'albumine, de sucre, de corps cétoniques et de pigments biliaires dans les urines

Ces sujets devaient en outre présenter un électrocardiogramme normal, être non fumeurs, ne pas consommer ou consommer peu d'alcool et enfin présenter un index de masse corporelle inférieur à 30 (BMI < 30).

Sur les 226 sujets recrutés, 120 sujets ont rencontré les critères d'inclusion.

Prélèvements et analyses

Les prélèvements ont été effectués après un jeûne d'au moins 12 heures.

Analyses hématologiques : le sang fut prélevé dans des tubes contenant de l'EDTA comme anticoagulant. La numération formule sanguine (NFS) a été effectuée sur des analyseurs de la compagnie Beckman Coulter. La formule leucocytaire et la vitesse de sédimentation ont été effectuées selon les méthodes décrites par Charrin et al. (15).

Analyses parasitaires : les recherches d'hémoparasites ont été faites dans le frottis sanguin et la goutte épaisse. Le sang pour ces analyses a été obtenu par ponction au bout du doigt. L'analyse des selles a été effectuée par la méthode de Kato.

Urines : les spécimens urinaires ont été prélevés à mi-jet selon la technique usuelle. La recherche de l'albumine, du sucre, des corps cétoniques, des sels et pigments biliaires et de l'hémoglobine a été réalisée à l'aide des bandelettes réactives Multitest (Roche Diagnostics). Une partie aliquote de cette urine a été centrifugée et le culot obtenu a été monté entre lame et lamelle pour la recherche de cylindres, cristaux, leucocytes, érythrocytes, cellules épithéliales et levures.

Sang : le sang veineux a été prélevé dans des tubes sans anticoagulant. Le sérum frais obtenu a été utilisé pour les dosages enzymatiques du cholestérol total (16), du HDL-C (17) et des triglycérides (18) et le calcul du LDL-C (19).

Tableau 1

Récapitulatif des méthodes de dosage et statistiques utilisées.

Lipides	Méthode de dosage	Mode de distribution	Méthode statistique
Cholestérol Total	Enzymatique manuelle	non gaussienne	non paramétrique
HDL-C	Acide phosphotungstique, enzymatique manuelle	gaussienne	paramétrique
LDL-C	Équation de Friedewall	non gaussienne	non paramétrique
Triglycérides	Enzymatique manuelle	non gaussienne	non paramétrique

Le dosage du cholestérol total a été effectué manuellement à l'aide des réactifs de Biomérieux (Charbonnières-Les-Bains, France). La méthode enzymatique (cholestérol estérase, cholestérol oxydase et peroxydase) aboutit à la formation d'une imino-quinone dont la densité optique est mesurée à 500 nm. Ce dosage s'effectue en tampon phosphate 0,1 M pH 6,9. Le mélange réactionnel est constitué de 10 µL du sérum ou de l'étalon auxquels on ajoute 1 mL de réactif de coloration composé du tampon et du mélange enzymatique. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 5 min et la lecture se fait au spectrophotomètre contre le blanc constitué du réactif de coloration.

Le dosage du HDL-C s'est fait par précipitation du cholestérol sérique contenu dans les chylomicrons, les VLDL et les LDL à l'aide de l'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium (17). Le HDL-C est dosé dans le surnageant à l'aide du même réactif servant au dosage du cholestérol total. Le mélange réactionnel est constitué de 50 µL de surnageant ou de l'étalon auxquels on ajoute 1 mL de réactif de coloration composé du tampon et du mélange enzymatique. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 5 min.

Le LDL-cholestérol est obtenu par calcul à l'aide de la formule de Friedewald (19).

Les triglycérides ont été dosés manuellement à l'aide des réactifs de Randox (CoAntrim, United Kingdom) par une méthode enzymatique (lipoprotéine lipase, glycérol kinase, glycérol-3-phosphate oxydase, peroxydase) qui aboutit à la formation d'une imino-quinone dont la densité optique est mesurée à 500 nm. Ce dosage s'effectue en tampon Tris 10 mM pH 8,6. Le mélange réactionnel est constitué de 10 µL du sérum ou de l'étalon auxquels on ajoute 1 mL de réactif de coloration composé du tampon et du mélange enzymatique. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 5 min et la lecture se fait au spectrophotomètre contre le blanc constitué du réactif de coloration.

Toutes les mesures de densité optique ont été effectuées sur un spectrophotomètre Spectronic 1001 (Bausch and Lomb, Milton Roy Company).

Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été ordonnés et un tableau des classes a été constitué. À partir de ce dernier, on a établi un histogramme qui a révélé l'allure générale de la distribution. Cette information est quantifiée par la mesure des coefficients d'asymétrie et d'aplatissement. Ces deux coefficients nous fournissent des informations sur le type de distribution selon

Tableau 2

Comparaison des valeurs de référence des lipides sériques dans différentes populations.

Lipides	Nos valeurs de référence (mmol/L) Hommes : 20-30 ans	Références littéraires (mmol/L)	Âge (années)	Méthodes d'analyse	Méthodes statistiques	Auteurs
Cholestérol Total	2,38 - 5,61	2,76 - 4,16 Sénégal 3,10 - 5,55 France 3,28 - 5,27 Ghana 4,21 - 8,27 Finlande 3,39 - 5,40 Finlande 3,20 - 6,59 Pakistan 3,15 - 7,42 France 3,98 Afr Sud	10-80 0-30 S>20 S>20 S>20 0-80 20-40 15-64	Chimique Enzymatique Enzymatique Enzymatique Enzymatique Enzymatique Chimique Enzymatique	M± s ND M± s Perc 5-95 Perc 5-95 Perc 2,5-97,5 Perc 2,5-97,5 ND	Touré et al. (8) Biomérieux Nyarko et al. (20) Marniemi et al. (21) Maatela et al. (22) Khan et al. (10) Batt et al. (24) Oelofse et al. (26)
HDL-C	0,78 - 2,38	1,06 - 1,50 France 0,57 - 1,81 Sénégal 0,75 - 1,55 Inde 0,93 - 1,81 Ghana 1,35 Afr Sud	0-30 10-80 20-73 S>20 15-64	Enzymatique Chimique Enzymatique Enzymatique Enzymatique	ND M± s M± s M± s ND	Biomérieux Touré et al. (8) Gupta et al. (23) Nyarko et al. (20) Oelofse et al. (26)
LDL-C	1,89 - 4,53	1,52 - 3,47 Inde 2,88 - 5,01 France 2,03 Afr Sud	20-73 0-30 15-64	Calcul Calcul Enzymatique	M± s ND ND	Gupta et al. (23) Biomérieux Oelofse et al. (26)
Triglycérides	0,50 - 2,12	1,71 - 2,29 R-Uni 0,50 - 2,80 Finlande 1,03 - 2,23 Inde 0,61 - 2,30 Pakistan	S>20 S>20 20-73 0-80	Enzymatique Enzymatique Enzymatique Enzymatique	ND Perc 5-95 M± s Perc 2,5-97,5	Randox Marniemi et al. (21) Gupta et al. (23) Khan et al. (10)

ND : non défini; Perc : percentile; M ± s : moyenne ± 2 écarts-types; S>20 : sujets adultes

qu'ils sont inférieurs, égaux ou supérieurs à zéro. Dans le cas présent, sauf pour le HDL-C (distribution gaussienne), les distributions de toutes ces fractions lipidiques étaient asymétriques (non gaussienne). Nous avons utilisé la méthode non paramétrique qui consiste à fixer les limites de référence aux percentiles 0,025 et 0,975 (cholestérol total et triglycérides) ou la méthode paramétrique basée sur la moyenne ± 2 écarts-types (HDL-C) (14). Le test de Student nous a permis d'établir la signification statistique des différences entre nos moyennes et celles de la littérature. Ainsi la différence est considérée significative si $p < 0,01$.

RÉSULTATS

Des 226 sujets recrutés au départ, 120 ont été retenus selon les critères d'inclusion préalablement définis. On note l'absence de parasites intestinaux ou sanguins. La numération formule sanguine et la vitesse de sédimentation normales indiquent l'absence de foyer infectieux ou inflammatoire. D'autre part, l'analyse des urines ne montre pas d'affection rénale et d'après les réponses au questionnaire, tous les sujets sont non fumeurs et abstinentes ou presque d'alcool.

L'analyse statistique a permis de déterminer le mode de distribution des différentes valeurs (Tableau 1).

La comparaison entre nos résultats et ceux obtenus dans différentes populations est présentée dans le Tableau 2.

La précision des méthodes de dosage affectant les intervalles de référence (25), nous présentons au Tableau 3 les coefficients de variation de nos dosages obtenus avec le sérum-contrôle Randox Multisera N*135SN/2.

Pour le cholestérol total, les valeurs de référence établies à partir de nos 120 sujets variaient de 2,38 à 5,61 mmol/L alors que sur la fiche technique de la méthode les valeurs variaient de 3,10 et 5,55 mmol/L (Tableau 2). Nos valeurs diffèrent de celles établies chez d'autres peuples mais la signification de cette différence est difficile à établir puisque les groupes d'âge et les méthodes statistiques diffèrent.

Les valeurs de HDL-C et de LDL-C variaient chez nos sujets de 0,78 à 2,38 mmol/L et de 1,89 à 4,53 mmol/L respectivement. La fiche technique indique cependant des valeurs de référence égales à 1,06 à 1,50 mmol/L et 2,88 à 5,01 mmol/L respectivement. On note une différence significative avec celles des valeurs trouvées chez des indiens et des ghanéens mais pour des tranches d'âge différentes de la nôtre.

Nos valeurs de triglycérides se situaient entre 0,50 et 2,12 mmol/L comparativement à 1,71 à 2,29 mmol/L sur la fiche technique.

Tableau 3

Précision intra et intersérielle des dosages des lipides sériques (sérum-contrôle Randox Multiserum Lot 135SN/2).

Dosage	Moyenne (CV %) (mmol/L)	
	Intrasérielle (n = 15)	Intersérielle (n = 15) (3jours)
Cholestérol total	4,42 (2,1 %)	4,22 (3,6 %)
HDL-C	2,13 (2,6 %)	1,91 (7,7 %)
Triglycérides	0,87 (3,7 %)	0,80 (5,9 %)

DISCUSSION

Ce travail nous a permis d'établir des valeurs de référence pour les lipides sériques dans une population de jeunes hommes camerounais en santé. Ces valeurs serviront désormais d'outil de travail pour une interprétation plus juste des résultats par nos cliniciens. Les valeurs consensus qui servent de plus en plus à l'interprétation des résultats de dosage des lipides sériques doivent également tenir compte des valeurs de référence des constituants lipidiques dans la population locale ainsi que de la fiabilité des méthodes de dosage disponibles.

Il ressort que la plupart des constituants biologiques ne sont pas des constantes (27) puisqu'ils évoluent au cours de la vie en fonction de plusieurs facteurs tels que l'environnement, la génétique, l'âge, le sexe et l'état physiologique (13,24,25,28-32). Les différences observées entre nos valeurs et celles publiées dans la littérature seraient dues, certes aux facteurs environnementaux et génétiques (11,33,34), mais aussi à l'hétérogénéité des méthodes utilisées lors de l'établissement des ces valeurs de référence. C'est ainsi que les différences observées peuvent provenir de la variabilité dans les tranches d'âge, le matériel, les techniques d'analyse et les méthodes statistiques utilisées lors des différentes études (35,36). Tandis que certains utilisent les quantiles 0,025 - 0,975, d'autres utilisent 0,050 - 0,950 ou la moyenne plus ou moins deux écarts-types. Ceci pose vraiment le problème de standardisation des règles et des méthodes à respecter pour l'établissement des valeurs de référence. De plus pour un paramètre biologique donné, des méthodes basées sur le même principe analytique mais utilisant des réactifs provenant de fabricants différents peuvent donner dans les mêmes conditions analytiques des résultats significativement différents (37).

Puisque les méthodes proposées dans la littérature pour déterminer les valeurs de référence se sont multipliées à tel point que bien des biologistes ne savent plus très bien ce qui doit être fait (38), nous convenons avec Dati et al. (39) que des directives internationales devraient être adoptées portant sur les procédures de mesure, la documentation et l'établissement de méthodes optimisées et normalisées de référence. Dans le cas contraire, l'établissement des valeurs de référence devrait tenir compte des possibilités matérielles de chaque pays et dans ce cas, il sera difficile de comparer les valeurs provenant de différentes origines pour un paramètre biologique donné. De plus dans certains cas, malgré la standardisation des procédures, il peut exister tout de même des différences (40).

Le but premier de ce travail était d'attirer l'attention des cliniciens sur le fait que l'interprétation d'un résultat d'analyse chez un individu devrait être basée sur des valeurs de référence établies dans les mêmes conditions expérimentales et sur une population semblable du point de vue de la race et du mode de vie. Ces valeurs devraient être établies idéalement dans chaque pays, chaque région ou encore dans chaque laboratoire. Il semble donc urgent que la compétence et la performance de la biologie clinique des pays développés ainsi que son aspect multidisciplinaire soient diffusés en partenariat aux autres biologistes en particulier ceux des pays plus pauvres (41).

RÉFÉRENCES

1. Akeson PK, Axelsson IE, Raiha NC, Warm A, Minoli I, Moro G. Fat intake and metabolism in Swedish and Italian infants. *Acta Paediatr* 2000;89:28-33.
2. Bergstrom E, Hernell O, Persson LA, Vessby B. Serum lipid values in adolescents are related to family history, infant feeding, and physical growth. *Atherosclerosis* 1995;117:1-13.
3. Njelekela MA, Negishi H, Nara Y, Sato T, Tomohiro M, Kuga S et al. Obesity and lipid profiles in middle aged men and women in Tanzania. *East Afr Med J* 2002; 79:58-64.
4. Connelly PW, Petrasovits A, Stachenko S, MacLean DR, Little JA, Chockalingam A. Prevalence of high plasma triglyceride combined with low HDL-C levels and its association with smoking, hypertension, obesity, diabetes, sedentariness and LDL-C levels in the Canadian population. *Canadian Heart Health Surveys Research Group. Can J Cardiol* 1999;15:428-33.
5. Espondaburu OR, Hunt VAF. Reference intervals for atherogenic risk indexes in normolipemic patients. *Acta Bioquímica Clínica Latino America* 2003;37:157-63.
6. Siest G, Bretauière JP, Buret J, Dorche J, Gueguen R, Heusghem C et al. Société Française de Biologie Clinique. Commission « Valeurs de référence ». Le concept de valeurs de référence en biologie clinique. Document A, stade 3. *Ann Biol Clin (Paris)* 1977; 35:269-70.

7. Siest G, Galteau MM, Henny J. Valeurs de référence des examens de laboratoire: un apport épidémiologique utile et important des centres d'examens de santé. *Bull Acad Natl Med* 1995;179:235-48.
8. Touré M, Seck I, Cisse F. Valeurs de référence du cholestérol et des HDL chez le sénégalais sain. *Dakar Med* 1984;29:117-25.
9. Biomérieux M. *Biochimie Clinique Hémostase-l'étoile*, 69752, Charbonnières-les-Bains, France. ed.1986.
10. Khan FA, Dilawar M, Khan DA. Reference values of common blood chemistry analytes in healthy population of Rawalpindi-Islamabad area. *J Pak Med Assoc* 1997;47:156-9.
11. Koukkou E, Watts GF, Mazurkiewicz J, Lowy C. Ethnic differences in lipid and lipoprotein metabolism in pregnant women of African and Caucasian origin. *J Clin Pathol* 1994;47:1105-7.
12. Dwyer T, Iwane H, Dean K, Odagiri Y, Shimomitsu T, Blizzard L et al. Differences in HDL cholesterol concentrations in Japanese, American, and Australian children. *Circulation* 1997;96:2830-6.
13. Sachs C, Aellig A, Albert A, Blin G, Buret J, Daubrosse E et al. Société Française de Biologie Clinique. Commission « Valeurs de référence ». Production de valeurs de référence de sujets sains (document G, stade 3). *Ann Biol Clin (Paris)*1981;39:235-44.
14. Albert A, Gueguen R, Sachs C. Traitement des valeurs de référence et détermination de l'intervalle de référence. Document H, stage 3, version 1. *Ann Biol Clin (Paris)* 1983;41:63-79.
15. Charrin, Vanneste M. BTS d'analyses biologiques, 1ere année, Hématologie, CNEO, 1980:15-86.
16. Allain CC, Poon LS, Chan CGS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974;20:470-5
17. Fruchard JC. Détermination du cholestérol HDL. *Rev Fr Labo* 1987;103:7-17.
18. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982;28:2077-80.
19. Friedewald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
20. Nyarko NK, Adubofour KO, Ofei F, Pobee JO, Owusu SK. Serum lipids and lipoprotein in adult Ghanaians. *J Intern Med* 1994;236:251-3.
21. Marniemi J, Maatela J, Jarvisalo J, Reunanen A, Maki J, Tikkanen MJ. Health-based reference values of the Mini-Finland Health Survey: 3. Triglycerides in total serum and in different lipoprotein fractions. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54:43-50.
22. Maatela J, Marniemi J, Reunanen A, Maki J, Tikkanen MJ. Health-based reference values of the Mini-Finland Health Survey: 2. Cholesterol in total serum and in different lipoprotein fraction. *Scand J Clin Lab Invest* 1994;54:33-42.
23. Gupta R, Gupta HP, Kumar N, Joshi AK, Gupta VP. Lipoprotein lipids and the prevalence of hyperlipidaemia in rural India. *J Cardiovasc Risk* 1994;1:179-84.
24. Batt AM, Siest G, Loppinet V, Guérin P, Guerguen R, Floc'h AY. Médicaments et valeurs de référence en biologie. I. Contraceptifs oraux. *Ann Biol Clin (Paris)* 1974;32:245-56.
25. Siest G. Les valeurs de référence en Biologie. Utilisation et intérêt particulier en médecine préventive. *Path Biol (Paris)* 1975;23:63-70.
26. Oelofse A, Jooste PL, Steyn K, Badenhorst CJ, Lombard C, Bourne L et al. The lipid and lipoprotein profile of the urban black South Africa population of the Cape Peninsula - the BRISK study. *S Afr Med J* 1996;86:162-6.
27. Schiele F, Siest G, Henny J, Gueguen R. Les centres d'examens de santé comme système de référence en biologie. *Santé Publique* 1991;3:151-5.
28. Nilsson SE, Evrin PE, Tryding N, Berg S, McClearn G, Johansson B. Biochemical values in persons older than 82 years of age : report from a population-based study of twins. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:1-13.
29. Henny J, Houot O, Steinmetz J, Schiele F. Recueil de l'information. Contrôle de la qualité, description de la population étudiée. *Path Biol (Paris)* 1975;23:43-55.
30. Sachs C, Aellig A, Albert A, Blin G, Buret J, Daubrosse E et al. Société Française de Biologie Clinique, Section de physiopathologie, Commission « Valeurs de référence ». Utilisation des valeurs de référence (document J, stage 3, version 1). *Ann Biol Clin (Paris)* 1982;40:697-708.
31. Aellig A, Albert A, Blin G, Buret J, Daubrosse E, Drosdowsky M et al. Société française de biologie clinique. Section de physiopathologie. Commission "valeurs de référence". Utilisation des valeurs de référence. (Document J, stade 3, version 1). *Ann Biol Clin (Paris)* 1982;40:697-708.
32. Bretonnière JP, Buret J, Guéguen R, Petitclerc C, Sachs C, Siest G et al. Société Française de Biologie Clinique. Commission « Valeurs de référence ». Langage et principes statistiques pour les valeurs de référence (document B, stade 3). *Ann Biol Clin (Paris)* 1979; 37:119-24.
33. Nakanishi N, Nakamura K, Ichikawa S, Suzuki K, Tatara K. Relationship between lifestyle and serum lipid and

lipoprotein levels in middle-aged Japanese men. *Eur J Epidemiol* 1999;15:341-8.

34. Sprecher DL, Morrison JA, Simbartl LA, Schreiber GB, Sabry ZI, Biro FM et al. Lipoprotein and apolipoprotein differences in black and white girls. The National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997;151:84-90.
35. Bretaudière JP, Buret J, Gueguen R, Petitclerc C, Sachs C, Siest G et al. Société Française de Biologie Clinique. Commission « Valeurs de référence ». Influence des facteurs analytiques sur les valeurs de référence (document C, stade 3). *Ann. Biol. Clin* 1979;37:125-6.
36. Bretaudière JP, Buret J, Favre R, Gueguen R, Petitclerc C, Sachs C, et al. Société Française de Biologie Clinique. Commission « Valeurs de référence ». Variations biologiques des examens de laboratoire (document D, stade 3). *Ann Biol Clin (Paris)* 1979;37:229-39.
37. Ellen SS, Friedrich WS. Standardization by reference methods: a German viewpoint. *Clin Chim Acta* 1988;173:9-18.
38. Henny J, Petitclerc C, Fuentes-Arderiu X, Petersen PH, Queraltó JM, Schiele F et al. Réviser le concept de valeurs de référence : une nécessité. *Ann Biol Clin (Paris)* 2001;59:383-92.
39. Dati F, Brand B. Standardization activities for harmonization of test results. *Clin Chim Acta* 2000;297:239-49.
40. Finck KM, Doetkott C, Miller DR. Clinical impact of inter-laboratory variation in international normalized ratio determinations. *Am J Health Syst Pharm* 2001;58:684-8.
41. Siest G. Représentativité de la SFBC. *Ann Biol Clin (Paris)* 2000;58:10.