

# BIOLOGIE CLINIQUE

## Critères de sélection pour l'établissement des valeurs de référence en zone tropicale.

Application aux protéines spécifiques CRP, HPT, TRF chez l'enfant gabonais.

E. Ngou-Milama (1), J. Djeki (1), S. Akpona (2), D. Duffillot (1), T. Lebreton Devonne (3) & H. Mouray (3) (4)

(1) Laboratoire de biochimie, Faculté de médecine, BP4009 Libreville, Gabon.

(2) Laboratoire de biochimie, Faculté de médecine, Cotonou, Bénin.

(3) Laboratoire de biochimie, Faculté de médecine, 2bis, boulevard Tonnelé, 37000 Tours, France.

(4) Manuscrit n°1648. « Biologie clinique ». Accepté le 23 septembre 1996.

**Summary:** Selection criteria about to perform reference values in tropical areas :application to specific proteins CRP, HPT, TRF to Gabonese children.

**Key-words:** Specific proteins - Reference values - Children - Gabon.

About 220 children (110 boys and 110 girls) aged 18 months to 10 years, 65,9 % have been selected from anamnesis, clinical, and biological criteria to produce reference values on specific proteins dependent inflammatory, anemia and hemolysis (C-reactive protein = CRP ; Transferrin = TRF and Haptoglobin : HPT). Specimens have been analysed by Nephelometric immuno-chemical method. For the two groups, A<sub>1</sub> [18months - 5years] and A<sub>2</sub> [5-10years], the reference values of the whole study population are reported: CRP (A<sub>1</sub> 3,35 ± 3 mg/l ; A<sub>2</sub> 2,40 ± 2,30 g/l, with a significant difference at Student Fisher « t » test p < 0,03) ; TRF (A<sub>1</sub> 4,05 ± 1,5 g/l ; A<sub>2</sub> 4,50 ± 1,4g/l ; NS, p > 0,05) HPT (A<sub>1</sub> 2,55 ± 2,0 g/l ; A<sub>2</sub> 1,20 ± 1,10 g/l ; S, p < 10<sup>-5</sup>). Furthermore, for TRF, HPT we must consider the sex in the results meaning because of significant difference into boys and girls.

**Résumé :**

**Mots-clés :** Protéines spécifiques - Valeurs de référence - Enfant - Gabon.

Sur 220 enfants (110 garçons et 110 filles) gabonais âgés de 18 mois à 10 ans, 65,9 % ont été sélectionnés selon des critères anamnétiques, cliniques et biologiques pour l'établissement des valeurs de référence des protéines à réponse directe sur l'inflammation, l'hémolyse et l'anémie ; C-reactive protein = CRP, haptoglobine = HPT, transferrine = TRF). Les spécimens ont été analysés par immuno chimie néphélométrique. Pour les 2 tranches d'âge A<sub>1</sub> [18 mois - 5 ans] et A<sub>2</sub> [5-10 ans], les valeurs de référence de la population totale (garçons et filles) sont : CRP (A<sub>1</sub> 3,35 ± 3 mg/l ; A<sub>2</sub> 2,40 ± 2,30mg/l ; différence significative au test « t » de Student Fisher p < 0,03) TRF (A<sub>1</sub> 4,05 ± 1,5 g/l ; A<sub>2</sub> 4,5 ± 1,4 g/l ; NS p > 0,05) HPT (A<sub>1</sub> 2,55 ± 2,0 g/l ; A<sub>2</sub> 1,20 ± 1,10 g/l ; S p < 10<sup>-5</sup>). De plus, pour la TRF et l'HPT, il y a lieu de tenir compte du sexe pour l'interprétation des résultats car, à l'intérieur des tranches d'âge choisies, il existe des différences significatives en fonction du sexe.

## Introduction

Le Gabon, pays d'Afrique centrale, est couvert à 85 % par la grande forêt équatoriale. Le climat y est chaud et humide (4 saisons, dont une grande et une petite saisons sèches, une grande et une petite saisons des pluies)(4). A ces conditions climatiques particulières, s'ajoute la grande hétérogénéité ethnique (40 ethnies peuplent le Gabon), expliquant elle-même une diversité dans les habitudes alimentaires. Si on ajoute la notion de variabilité biologique intraindividuelle, interindividuelle, intraraciale et interraciale, on comprend pourquoi l'utilisation des valeurs de référence d'une population donnée chez un autre groupe fait courir le risque de diagnostics biochimiques par excès ou par défaut. On comprend aussi pourquoi la première tâche de tout biochimiste est d'élaborer les valeurs de référence de sa population de travail,

la valeur de référence étant « la valeur d'une propriété obtenue par l'observation ou la mesure sur un individu supposé sain et sélectionné à l'aide de critères bien définis ; c'est-à-dire, se trouvant dans un état de santé décrit avec clarté et précision » (10).

Au Gabon, en dehors d'une étude menée dans l'est du pays sur les valeurs moyennes des protéines spécifiques de l'adulte (2), les études sur les valeurs de référence n'ont jusque là jamais été menées de façon systématique. Celle-ci est axée sur les critères de sélection des sujets pour l'établissement des valeurs de référence, avec une application aux protéines spécifiques (CRP, HPT, TRF) chez l'enfant gabonais de 18 mois à 10 ans. Le choix s'est porté sur ces 3 protéines en raison de leur implication dans la phase aiguë de l'inflammation (CRP, HPT), ainsi que dans les syndromes d'hémolyse et d'anémie (HPT, TRF). Ces affections sont le lot quotidien du pédiatre en zone tropicale.

Abréviations :

CRP : C-reactive protein  
CRPG= moyenne CRP garçons  
CRPF= moyenne CRP filles  
CRPGF= moyenne CRP population totale  
TRF : Transferrine (TRFG; TRFF; TRFGF)  
HPT : Haptoglobine (HPTG; HPTF ; HPTGF)

ASAT/GOT : Aspartate aminotransférase/  
glutamate oxalo acétate transaminase.  
ALAT/GPT : Alanine aminotransférase/  
glutamate pyruvate transaminase  
NFS : Numération formule sanguine  
VSH : Vitesse de sédimentation des hématies

Apo A<sub>1</sub> : Apolipoprotéine A1  
Apo B : Apolipoprotéine B  
A<sub>1</sub> [18 mois - 5ans] : Tranche d'âge de  
18mois à 5 ans exclus  
A<sub>2</sub> [5-10 ans] : Tranche d'âge de 5 à 10 ans inclus  
PIT : Poids idéal théorique

La tranche d'âge choisie présente un statut particulier :  
 - de 18 mois à 4 voire 5 ans, le statut immunologique se met en place,  
 - de 5 à 10 ans, il se stabilise plus ou moins, avant de subir plus tard des modifications liées à la puberté.

L'haptoglobine est une alpha-2-glycoprotéine synthétisée par le foie. Son intérêt clinique repose sur son augmentation au cours de la réaction inflammatoire et sa baisse au cours de l'hémolyse, car elle fixe l'hémoglobine lors du catabolisme des globules rouges.

La CRP est une glycoprotéine synthétisée par le foie. Elle existe sous forme libre, ou fixée aux gamma globulines. L'intérêt du dosage de cette protéine repose sur son augmentation marquée, précoce mais fugace au cours de l'inflammation surtout d'origine infectieuse.

La transferrine est une  $\beta$ -globuline synthétisée par le foie. Son intérêt clinique réside dans sa diminution au cours de l'inflammation et dans son augmentation au cours des carences en fer, car c'est la protéine vectrice du fer.

## Patients et méthodes

L'étude a porté sur 7 mois (du 10 janvier 1993 au 6 juillet 1993). Elle a été réalisée sur 220 enfants du service de pédiatrie externe du centre hospitalier de Libreville (sujets qui venaient pour la pesée et pour la vaccination), et de l'école publique de Kingué.

### Méthodes de sélection des patients

Nous avons opté pour la sélection des sujets *a priori*, en nous conformant à des critères anamnestiques, cliniques et biologiques.

Les critères cliniques sont élaborés à partir d'un examen sommaire qui se termine par la prise du poids, de la taille, du périmètre brachial, de la tension artérielle (TA) et de la température (tab. I). Pour les critères biologiques, nous avons pratiqué un bilan biologique, comportant une numération formule sanguine (NFS), une vitesse de sédimentation des hématies (VSH) (tab. I).

### Prélèvements et traitements du spécimen de sang pour les valeurs de référence

Pour obtenir le sérum, nous avons effectué un prélèvement sanguin au pli du coude avec un temps de garrot très court chez des sujets à jeûn. Le sang a été recueilli dans deux tubes ; un

Tableau I.

#### Causes d'élimination à partir de l'anamnèse et de l'examen clinico-biologique.

- problèmes de développement psychomoteur	
- problèmes de santé de l'enfant	
- poids à la naissance inférieur à 2500g ou supérieur à 4500g	
- accouchement prématuré (grossesse de 6 mois et demi)	
- hospitalisation pour prématurité ou pour problème néonatal grave	
- malformation cardiaque opérée	
- antécédents pathologiques familiaux pouvant constituer un risque	
- hyperthermie ( $T > 37^{\circ}\text{C}$ )	
- anomalies staturales détectées à partir de la courbe de SIMPE et PEDRO	
- obésité lorsque : $\frac{\text{poids mesure}}{\text{PIT}} \times 100 > 120$	
- maigreur lorsque : $\frac{\text{poids mesure}}{\text{PIT}} \times 100 < 80$	
NFS	- hyperleucocytose (leucocytes $> 11000$ ) - anémie hypochrome normocytaire ( $\text{HB} < 11\text{g}$ avec $\text{CCMH} < 32\%$ )
VSH	- $\text{VS} > 20\text{ mm}$ à la première heure
éosinophilie	$> 10$

tube EDTA pour la numération formule sanguine et la détermination de l'éosinophilie et un tube sec pour le sérum. Le sérum a été séparé du caillot par centrifugation à 4 000 tours/mn sur une centrifugeuse de type Jouan 2000 S pendant 15 minutes. Il a ensuite été recueilli, aliquoté puis conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à son utilisation.

### Méthodes de dosage des protéines

Les paramètres biochimiques ont été évalués dans les deux laboratoires suivants : Laboratoire de biochimie de la Faculté de médecine et des sciences de la santé de Libreville (Gabon) et Laboratoire de biochimie de la Faculté des sciences de la santé de Cotonou (Bénin). Les différentes protéines ont été dosées avec des réactifs commerciaux en utilisant un immunonéphélémètre Beckman.

### Méthode statistique

Le test de Student Fischer a été utilisé pour la comparaison des moyennes.

## Résultats

Les critères d'exclusion retenus sont anamnestiques, cliniques et biologiques (tableau II). Ainsi 75/220 sujets (34,1 %) ont été éliminés, 145/220 ont été retenus (65,9 %). Le pourcentage élevé de sujets non retenus est lié en partie à l'hostilité de l'écosystème tropical (endémicité parasitaire, endémicité infectieuse etc.).

Cette population est stratifiée en fonction de l'âge et du sexe. Ainsi, les sujets ont été classés en deux groupes selon l'âge et le sexe :  
 - le premier groupe: 110 enfants âgés de 18mois à 5ans dont 55 garçons et 55 filles, dont 18 et 23 éliminés, respectivement.  
 - le deuxième groupe : 110 enfants âgés de 5 à 10 ans dont 55 garçons et 55 filles, dont 15 et 19 éliminés, respectivement. (tableau III).

Tableau II.

#### Récapitulatif des résultats de la sélection des sujets prélevés.

	nb	%
total des sujets prélevés	220	100
sujets éliminés à partir de l'examen clinique	31	14,1
sujets éliminés à p. de l'examen para-clinique	44	20
total des sujets éliminés	75	34,1
sujets sélectionnés	145	65,9

Tableau III.

#### Stratification des sujets sélectionnés.

	masculin		féminin	
	nb	%	nb	%
A1 = 18 mois à 5 ans exclus	37	25,5	32	22,1
A2 = 5 ans à 10 ans inclus	40	27,6	36	24,8
<b>totaux</b>	<b>77</b>	<b>53,1</b>	<b>68</b>	<b>46,9</b>

### Résultats sur les valeurs de référence

Les valeurs moyennes des protéines spécifiques, calculées selon la formule  $X = \frac{i}{n} (10)$  sont présentées en fonction de différentes stratifications de la population d'étude.

En raison des considérations exposées en introduction (mise en place du statut immunologique dans les faibles tranches d'âge, stabilisation jusqu'à la prépuberté), deux tranches d'âge ont été prises en considération pour exprimer les valeurs de référence de notre population d'étude (18mois - 5 ans) =  $A_1$  et (5 ans - 10 ans) =  $A_2$ .

Une analyse des résultats (tableaux IV et V) fait ressortir les observations suivantes :

- CRP: il y a lieu de considérer la tranche d'âge pour l'interprétation des résultats car  $\text{CRP } A_1 = 3,35 \pm 3 > \text{CRP } A_2 = 2,40 \pm 2,30\text{ mg/l}$  (différence significative  $p < 0,03$ ). Le sexe

Tableau IV.

Valeurs de référence des protéines spécifiques. Stratification en fonction de l'âge et du sexe.

protéines spécifiques	population de référence [18 mois - 5 ans]		population de référence [5 ans - 10 ans]		différence		évaluation statistique	
	A1		A2		A1	A2	A1	A2
	G	F	G	F	GF	GF	GF	GF
CRP	3,5 ± 2,55	3,15 ± 3,48	2,27 ± 1,55	2,51 ± 2,4	0,35	-0,24	S	NS
mg/l							p < 0,05	p > 0,05
TRF	3,7 ± 0,93	4,38 ± 1,59	5,7 ± 1,08	3,30 ± 1,40	-0,68	2,4	S	S
g/l							p < 0,04	p < 10 <sup>-9</sup>
HPT	3,30 ± 2,09	1,88 ± 1,53	1,6 ± 1,48	0,80 ± 1,08	1,4	0,8	S	S
g/l							p < 0,01	p < 0,01

G = garçon ; F = fille ; GF = population totale

Tableau V.

Valeurs de référence des protéines spécifiques. Stratification en fonction de la tranche d'âge.

protéines spécifiques	population de référence [18 mois - 5 ans]	population de référence [5 ans - 10 ans]	différence	évaluation statistique
	A1	A2	A1 - A2	
CRP	3,35 ± 3	2,40 ± 2,30	0,9	S
mg/l				p < 0,03
TRF	4,05 ± 1,5	4,5 ± 1,4	-0,4	S
g/l				p > 0,05
HPT	2,55 ± 2	1,20 ± 1,10	1,3	S
g/l				p < 10 <sup>-5</sup>

n'influe pas sur les concentrations de la CRP, quelle que soit la tranche d'âge ;

- Transferrine : l'influence du sexe est notable sur les concentrations de la transferrine. Dans la tranche d'âge A<sub>1</sub> TRF<sub>G</sub> = 3,7 ± 0,93 < TRF<sub>F</sub> = 4,38 ± 1,6 g/l (différence significative p < 0,04) ainsi que dans A<sub>2</sub> TRF<sub>G</sub> = 5,7 ± 1,1 > TRF<sub>F</sub> = 3,30 ± 1,4 g/l (différence significative p < 10<sup>-9</sup>) ;

- Haptoglobine : l'âge et le sexe sont à prendre en compte dans l'interprétation des valeurs de l'haptoglobine : HPT A<sub>1</sub> G > HPT A<sub>1</sub> F > HPT A<sub>2</sub> G > HPT A<sub>2</sub> F (tableau IV).

## Discussion

### Intérêt des valeurs de référence pour chaque population

RICHTERICH (10) indique que la première tâche de tout biochimiste est de déterminer les valeurs de référence de sa population de travail. Différentes études réalisées en France (9, 11, 12) et en Côte d'Ivoire (3) renforcent ce concept. Cet intérêt se double, en Afrique, du fait de l'endémicité parasitaire et infectieuse.

### Critères de sélection

La plupart des études sur les valeurs de référence (9-12) retiennent, dans les critères de sélection selon le mode *a priori* (inductif), l'anamnèse, l'examen clinique, la biologie. La biologie a pris une part importante dans l'inclusion ou l'exclusion des sujets. SIEST *et al.* (13), dans une récente étude sur la standardisation des valeurs de référence des Apo A<sub>1</sub>/B, prennent en compte les valeurs des transaminases (ASAT/GOT, ALAT/GPT), urée, créatinine, etc. Dans notre série, où l'environnement tropical joue un rôle important sur la précocité de la stimulation antigénique, les critères biologiques (NFS, VSH, éosinophilie) sont encore plus déterminants. Aussi, le pourcentage des sujets exclus de l'étude (34,1 %) est le témoin d'une bonne sélection. Il est équivalent pour les 2 sexes et pour les 2 tranches d'âge de population.

### Valeurs de référence des protéines plasmatiques

Il existe une grande hétérogénéité dans le comportement des protéines plasmatiques concernant les dosages pondéraux et les phénomènes de maturation en fonction de l'âge. Une étude

abidjanaise (5) indique les valeurs de référence de deux populations (enfants et adultes). La CRP atteint les valeurs de l'adulte entre 5 et 15 ans (4,3 mg/l). Pour l'haptoglobine, les concentrations sont d'emblée plus élevées dans les faibles tranches d'âge (0,72 g/l à 5-15 ans ; 0,6 g/l à l'âge adulte), tandis que les valeurs de la TRF augmentent avec l'âge (2,92 g/l à 5-15 ans ; 3,82 à l'âge adulte).

En France (1) la concentration de l'haptoglobine, basse à la naissance, s'élève régulièrement et atteint rapidement la concentration adulte (0,6 g/l à 10 mois, 1,2 g/l chez les adultes). Toujours en France, dans une étude multicentrique, PLOMTEUX *et al.* (7) rapportent les valeurs de référence de la TRF en fonction de l'âge 2,16-4,24 m = 3,2 g/l à 10 mois ; 2,03-4,11 m = 3,07 g/l à 24 mois et enfin 1,99-3,87 m = 2,98 g/l à 48 mois. Ces valeurs baissent en fonction de l'âge.

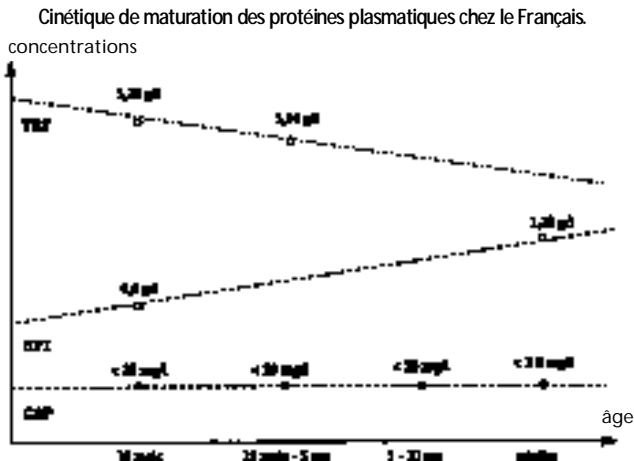
Dans une étude menée dans l'est du Gabon chez les adultes (2), les valeurs moyennes suivantes ont été indiquées : HPT 0,81 ± 0,68 g/l, TRF 3,40 ± 0,22 g/l. Dans notre série et dans la population gabonaise en général, l'HPT et la TRF atteignent pratiquement les valeurs de l'adulte dès la tranche d'âge (5 ans - 10 ans) ; 1,90 < TRF g/l < 4,70 dans la tranche A<sub>2</sub> de notre étude ; 2,56 < TRF g/l < 4,24 dans la population adulte du Gabon (2) ; 0,10 < HPT g/l < 2,30 dans la tranche d'âge A<sub>2</sub> de notre étude ; 0,13 < HPT g/l < 1,49 dans la population adulte du Gabon (2) tandis que celles de la CRP, d'emblée élevée dans les faibles tranches d'âge (3,35 ± 3 mg entre 18 mois et 5 ans), baissent dans les tranches d'âge élevées (2,4 ± 2,30 mg/l entre 5 et 10 ans). Nous n'avons pas les valeurs de l'adulte.

Les différences entre garçons et filles seraient dues à l'expression d'un mode de vie plus rangé chez les filles, donc moins exposé et plus sain, alors que les garçons sont naturellement plus agités, plus exposés aux microtraumatismes et aux microinfections à bas bruit, donc aux occasions de stimulation immunologique.

### Maturation des protéines plasmatiques

Concernant la cinétique de synthèse des protéines plasmatiques, ROUSSELET *et al.* (8) évoquent la notion de stimulation antigénique progressive pour récuser celle d'immaturité immunitaire puisque, d'après MONERET (6), STHIEM (14), le

Figure 1.



foetus acquiert déjà la capacité du système immunitaire dès la 13<sup>e</sup> semaine. L'expression de la maturité des protéines est polymorphe. En milieu tempéré (fig. 1), le taux des protéines de l'inflammation est bas à la naissance, suggérant la faible prévalence d'occasions de stimulation antigénique (milieu intra-utérin stérile, mère moins exposée aux infections pendant la grossesse, monde extérieur moins pollué à la naissance). On note une dissociation entre protéines de l'inflammation et TRF, et une évolution synchrone entre cette dernière et l'HPT (la TRF baisse pendant que l'HPT augmente). En milieu tropical (fig. 2 et 3), le taux des protéines de l'inflammation (CRP, HPT) est d'emblée élevé dans les faibles tranches d'âge, suggérant une précocité dans la stimulation immunitaire et une tolérance dans les tranches d'âge élevées (phénomène de sti-

Figure 2.

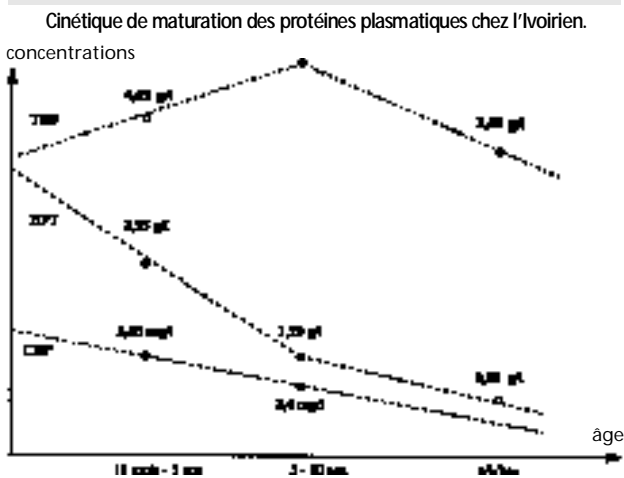
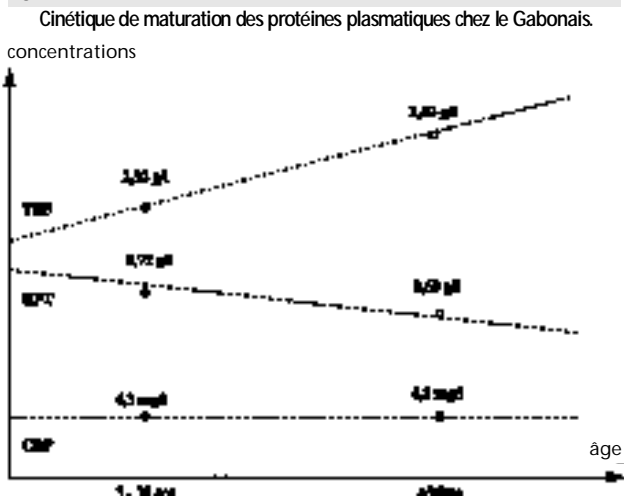


Figure 3.



mulation antigénique chronique). En effet, la CRP baisse et se stabilise respectivement au Gabon et en Côte d'Ivoire. Là aussi, on note chez l'Ivoirien une dissociation entre protéines de l'inflammation et TRF et une évolution synchrone entre la TRF et l'HPT.

En Côte d'Ivoire, elle est inverse de façon univoque par rapport à celle de PLOMTEUX (7) (l'HPT baisse pendant que la TRF augmente), tandis qu'au Gabon elle est biphasique. Jusqu'à 5-10 ans, le comportement est le même qu'à Abidjan et après 5-10 ans, il est identique au profil de PLOMTEUX. Il convient toutefois de noter que les études française et gabonaise utilisent le même appareil (néphélomètre Beckman) et l'étude abidjanaise l'immunodiffusion radiale.

## Conclusion

Souvent, le profil biologique d'un individu est un profil d'adaptation biologique. Il dépend d'un système multifactoriel (milieu, climat, génétique...). Les valeurs de référence, après les précautions classiques (anamnèse, clinique, biologie, etc.), doivent s'attacher à ne pas créer de biais en s'adaptant au milieu, car la notion d'homme « sain » en milieu tropical est relative. Il faut donc éviter en même temps les excès et la souplesse dans la sélection.

Dans cette étude pour l'établissement des valeurs de référence des protéines plasmatiques CRP, HPT, TRF d'où 34,10 % des sujets ont été éliminés, nous insistons sur l'intérêt d'établir les valeurs de référence pour chaque population spécifique, habitant dans un écosystème spécifique, en raison du polymorphisme d'expression des synthèses des protéines (en pondéral et cinétique de maturation) et sur la stratification de la population en milieu tropical car les synthèses des protéines, très élevées dans la tranche d'âge (18mois - 5ans) se stabilisent dans les tranches supérieures prépubertaires.

Ce travail a été effectué avec l'aide de la Mission de Coopération Française (Libreville et Projet Campus).

## Références bibliographiques

1. ENGLER R, BIENVENU J & CHOPIN N - Recommandations de la commission des protéines sur le choix et l'intérêt respectif du dosage des protéines de la réaction inflammatoire, *ISB*, 1982, n° 3.
2. GAUMETON J - Profil protéique d'une population gabonaise. *Thèse de pharmacie*, Université de Paris sud. Série U24, Paris, 1978.
3. KHISSY B F, DIOMANDE M, ABANDJINAN K. A, COMOE L, LONSDORFER A & YAPO A E - Principes de l'élaboration d'un questionnaire en vue de la production des valeurs de référence biochimiques de l'ivoirien, sa présentation et son codage. *Rev. Méd. Côte d'Ivoire*, 1983, **64**.
4. Ministère de l'éducation nationale. Géographie et cartographie du Gabon, *Atlas illustré*, EDICEF, Paris, 1983.
5. MONNET D, DIALLO I, SANGARE A & YAPO A E - Intérêt clinique du dosage de la protéine C-réactive, de l' -1-glycoprotéine acide et de la transferrine au cours de la drépanocytose homozygote. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1993, **86**, 282-285.
6. MONERET-VAUTRIN D A & DOLLANDER A - Développement des systèmes et fonctions immunologiques chez le foetus et le nouveau-né. *Rev. fr. Allergol.*, 1976, **16**, 197-206.
7. PLOMTEUX G, CHARLIER C, ALBERT A, FARNIER M, PRESSAC M *et al.* - Valeurs de référence de la transferrine sérique chez le nouveau-né, l'enfant et l'adulte. *Ann. Biol. Clin.*, 1987, **45**, 622-629.
8. ROUSSELET F *et al.* - Valeurs de référence des IgG, IgA et IgM sériques chez les enfants de la naissance à 15 ans. *Ann. Biol. Clin.*, 1979, **37**, 127-134.
9. SACHS C, GELLIG A, ALBERT A, BLINT A, BURET J *et al.* - Production des valeurs de référence de sujets sains. Commission « valeurs de référence », document G. *Ann. Biol. Clin.*, 1981, **39**, 235-244.
10. RICHTERICH R - *Chimie clinique*, Doin, Paris, 1967.
11. SIEST G, HENNY J & SCHIELLE F - *Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de référence biologiques*, Karger, Paris, 1981.
12. SIEST G & MUNANT L - Lignes directrices pour le développement et la mise en place du concept de valeurs de référence. *Organisation Mondiale de la Santé (OMS)*, 1982, 1-37.
13. STEINMETZ J, TARALLO P, FOURNIER B, ELASES, HENNY J & SIEST G - Valeurs de référence des Apo A<sub>1</sub> et B avec une méthode établonnée sur les standards IFCC, option Bio 119, ISB n° 24-1, 1994.
14. STHIEM E R & FUDENBERG H H - Serum levels of immune globulins in health and disease; a survey. *Pediatrics*, 1966, **37**, 715.