

Biochimie de la grossesse normale : Revue systématique

Biochemistry of normal pregnancy : Systematic review

Edy Bakemo Bombile¹, Benjamin Longo-Mbenza^{1,2,3}, Mireille Nganga¹, Etienne Mokondjimobe⁴, Olivier Pambou⁴, Zacharie Tsongo Kibendelwa⁵, Stanis Wembonyama Okitotsho⁶, Ruffin Apalata³, Roland Vangu Vangu^{1,2,3}, Christian Matondo Somo², Blaise Makoso Nimi³, Maxime Longo²

- 1 Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo
- 2 Lomo University Research, Kinshasa, RD Congo
- 3 Université Président Joseph Kasa-Vubu, Boma, RD Congo
- 4 Department of Internal Medicine, Walter Sisulu University, Mthatha, South Africa
- 5 Université de Kisangani, Kisangani, RD Congo
- 6 Université de Lubumbashi, Lubumbashi, RD Congo

Pour citer cet article : Bakemo EB, Longo-Mbenza B, Nganga M, Mokondjimobe E, Pambou O, Tsongo ZK, Wembonyama SO, Apalata R, Vangu Vangu R, Matondo CS, Makoso BN, Longo M. Biochimie de la grossesse normale : Revue systématique. Kivu Medical Journal 2025; 3(2), 1-13.

Article reçu : 27-11-2024

Accepté : 25-04-2025

Publié : 28-04-2025

Publisher's Note: KMJ stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright : © 2025. Edy Bakemo Bombile et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Correspondance : Benjamin Longo-Mbenza
Faculté des sciences de la santé, LOMO
University for Research,
République Démocratique du Congo
longombenza@gmail.com

Résumé

Introduction : Les valeurs de référence des biomarqueurs biochimiques des femmes enceintes les plus demandés en pratique médicale dans le suivi de la grossesse normale subissent des changements tout au long de la grossesse dont l'interprétation nécessite la connaissance de la physiologie. Les biomarqueurs tels que l'urée, la créatinine, l'acide urique, la GGT, le calcium, le phosphore, le magnésium et l'albumine ont vu leurs teneurs diminués au cours de la grossesse, contrairement aux paramètres du bilan lipidique et les phosphatases alcalines qui ont vu leurs concentrations augmentées. Par contre l'ALAT et l'ASAT sont restés stables. Ces valeurs de référence proviennent des populations saines déduites de la population totale pour constituer une population échantillon ou un échantillon. Cette population échantillon est définie clairement et avec précision, et est représentative de l'ensemble de la population

Ces variations découlent de plusieurs sources pouvant être catégorisées en deux sources principales à savoir : la variabilité analytique et la variabilité biologique

La connaissance des limites de référence, du seuil d'alerte et du seuil de décision des biomarqueurs établis dans la présente étude, permettront d'une manière claire à catégoriser les femmes enceintes à traiter de celles à ne pas traiter ou à établir les diagnostics différentiels de l'anomalie pathologique observée.

Mots-clés : Biochimie, Grossesse normale, Valeurs de références

Abstract

Introduction: The reference values for the biochemical biomarkers most commonly used in medical practice to monitor normal pregnancies undergo changes throughout pregnancy, the interpretation of which requires a knowledge of physiology. Biomarkers such as urea, creatinine, uric acid, GGT, calcium, phosphorus, magnesium and albumin have seen their levels decrease during pregnancy, while lipid balance parameters and alkaline phosphatase have seen their concentrations increase. However, ALT and ASAT remained stable. These reference values come from healthy populations deducted from the total population to form a sample population. This sample population is clearly and precisely defined, and is representative of the entire population

These variations stem from several sources that can be categorised into two main sources, namely: analytical variability and biological variability

Knowledge of the reference limits, alert threshold and decision threshold for the biomarkers established in this study will make it possible to clearly categorise pregnant women to be treated from those not to be treated, or to establish the differential diagnoses of the pathological anomaly observed.

Key words : Biochemistry, Normal pregnancy, Reference values

Introduction

Cette revue de littérature scientifique est publiée relativement à la théorie sur les valeurs de référence et les modifications physiologiques des paramètres biochimiques au cours de la grossesse normale. Il s'est voulu critique pour minimiser le biais d'informations et d'écarter les controverses de la littérature grise (livres, manuels) et des articles récemment publiés. Cette revue de la littérature est structurée autour des points suivants : théorie sur les valeurs de référence et modifications physiologiques des paramètres biochimiques au cours de la grossesse normale

Théorie sur les valeurs de Référence

Origine du concept « valeur de référence »

Le concept « valeur de référence » est né en 1968 sous l'impulsion d'un groupe de chercheurs scandinaves notamment Dybkaer et Grasbeck. A l'origine, il voulait remplacer la notion de « valeurs normales » qui était très connue en biologie clinique et à préciser la notion de normalité. Au même moment, de nombreux travaux étaient initiés par des chercheurs Nord-Américains sur les valeurs de référence [1]. Ces travaux du groupe scandinave mettaient en évidence l'importance de la variabilité biologique (intra- et interindividuelle, à court et à long terme) sur les résultats d'examens de biologie médicale et ont finalement permis de mettre de côté l'ancienne notion de « valeur normale » qui, à la compréhension générale en biologie, ne qualifie que la simple distribution statistique normale de gauss [2].

Dans cette logique, une valeur située en dehors de l'intervalle pourrait être considérée comme anormale ou pathologique, ce qui n'est pas toujours vrai car, la distribution des variables dans une société ne suit pas nécessairement cette distribution gaussienne et que dans la majorité des cas, elle est plus aléatoire qu'on ne le croit. Aussi, ce terme « normal » est ambivalent par le fait qu'il peut signifier en épidémiologie ce qui est fréquent, usuel, commun ou habituel [3]. Pour certains auteurs comme Zender, le mieux serait de substituer le terme valeur normale par valeur fréquente qui éloignerait le biologiste de ce dilemme de valeur normale ou pas et le mettrait à l'aise et l'éviterait d'être confronté à la question de savoir si une valeur est « normale » ou pas [4]. En épidémiologie, une valeur peut être fréquente, peu fréquente, usuelle, peu usuelle ou rare ; une situation qui mettra encore le biologiste devant une difficulté de savoir si cette valeur est fréquente, peu fréquente, usuelle, peu usuelle ou rare. C'est pourquoi, beaucoup d'auteurs comme les chercheurs scandinaves ont préféré le terme « valeur de référence » qui est un terme neutre et constitue ainsi un référentiel [5]. Cette expression « valeurs de référence » des auteurs scandinaves s'est enrichie par la suite par des travaux d'autres auteurs, précisément des auteurs français et américains qui ont permis en 1970, à la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) de créer une commission d'expert sur la théorie des valeurs de référence et de consacrer alors l'utilisation de ce terme

« valeurs de référence » en biologie médicale [6]. En effet, les valeurs de référence constituent un système de comparaison, car elles ne s'appliquent essentiellement qu'aux sujets sains sélectionnés au hasard selon des modalités et des critères bien définis. C'est pour cela qu'elles représentent le seul fondement de toute interprétation des résultats d'analyses en biologie médicale [7]. En médecine clinique, toutes les données recueillies doivent en principe être comparées aux données que sont les valeurs de référence [8].

Sources des valeurs de référence

De manière générale, les valeurs de référence proviennent des populations saines déduites de la population totale pour constituer une population échantillon ou un échantillon. Cette population échantillon est définie clairement et avec précision, et est représentative de l'ensemble de la population. De cet échantillon, on peut faire des partitions pour constituer des sous-groupes, afin de réduire au minimum possible les différences parmi les sujets [9]. La population échantillon peut être constituée à partir de différents sous-ensembles de population représentatifs de la population générale. Ces sous-ensembles de population sont : Population tout-venant. Souvent constituée d'un sous-ensemble bien représentatif de la population totale d'individus tout-venant, non triés, n'ayant pas modifié leurs conditions habituelles de vie. Il s'agit là des valeurs représentatives de la population générale.

Population hétérogène.

Dans ce sous-ensemble, les valeurs proviennent d'une population où, plusieurs critères n'ont fait l'objet d'aucun contrôle rigoureux pour être considérés comme des valeurs de référence. De ce fait, elles sont dites valeurs usuelles. C'est le cas des populations rassemblées pour raison d'aisance ou de commodité et/ou facilité, notamment les donneurs de sang. La description minutieuse de cette population ainsi que la gestion des facteurs importants de variations font que les valeurs générées sur une telle population deviennent de référence. Population en bonne santé. Il s'agit de la population idéale pour établir les valeurs de référence. Dans ce contexte, les valeurs sont mesurées sur des individus en bonne santé, et dont les facteurs de variations potentiels susceptibles de biaiser la distribution de référence sont suffisamment

maitrisés. Dans ces conditions, les valeurs ainsi mesurées vont constituer des outils d'interprétation en fonction des objectifs. Ces valeurs sont appelées « valeurs de référence » [10]. Pour obtenir cette population en bonne santé, les éléments anamnestiques ou cliniques et biologiques seront d'une grande aide [11]. La compréhension de certains concepts de base aux valeurs de référence tels que recommandé par la FICC sont des préalables à l'établissement des valeurs de référence. En plus, l'enchaînement de ces concepts définit une certaine logique qui rend aisée toute la notion de « valeurs de référence ». Les descriptions ainsi que l'enchaînement logique de ces concepts sont repris dans le tableau 1 et la figure 1.

Tableau I : Caractéristiques des concepts de base

Concept de base	de	Caractéristiques (définitions)
Individu de référence	de	Individu présumé sain, sélectionné à l'aide des critères bien définis
Population de référence	de	Ensemble d'individus susceptibles de servir de référence
Echantillon de référence	de	Nombre défini et adéquat d'individus, représentatif de la population de référence
Valeur de référence	de	Valeur de la propriété obtenue par l'observation ou mesurer sur un individu de référence
Distribution de référence	de	Représentation de la répartition des valeurs de référence sous forme d'histogramme des valeurs chez les individus constituant l'échantillon de référence
Intervalle de référence	de	Sont les valeurs extrêmes comprenant en général 95% des valeurs de référence
Limite de référence	de	Valeurs dérivées de la distribution de référence et utilisées à des fins descriptives
Valeur observée	de	Valeur obtenue chez un individu de référence pouvant être comparée aux valeurs de référence pour interprétation

Principales sources de variations des analyses au laboratoire

Les examens de laboratoires subissent des variations en relation avec l'état du patient et la méthode d'analyse. Ces variations découlent de plusieurs sources pouvant être catégorisées en deux sources principales à savoir : la variabilité analytique et la variabilité biologique [12]. Ces variations peuvent agir isolément ou se mêler, pour

expliquer la variation totale observée. On peut représenter ces variations sous forme d'un diagramme illustré dans la figure 2.

Variabilités intra-individuelle

La variabilité intra-individuelle est celle due à l'individu lui-même au cours du temps. Elle prend en compte les phénomènes de régulations tels que les rythmes biologiques de l'individu, (rythme circadien, la chronobiologie) ses conditions de vie (régime nutritionnel) et le vieillissement

Variabilité inter-individuelle

Ce sont des variations entre les sujets. Les sources de variabilité inter-individuelle sont nombreuses et permettent de déterminer des groupes de populations. Généralement dans une étude, on constitue toujours des groupes de populations pour pouvoir réduire ces multiples variations, car il est connu que ces variations incluent les différences génétiques et l'influence de l'environnement.

Tableau II : Principaux facteurs de variations biologiques

Variations biologiques contrôlables	Variations biologiques non contrôlables
Alimentation	Age
Hospitalisation	Groupe sanguin
Jeun	Sexe
Effort physique	Ménopause
Rythme circadien	Race
Posture	Taille ;
Position	Facteurs environnementaux.
Immobilisation	
Prise de médicaments	
Lactation	
Choc	
Prise d'alcool	
Tabac	
Traumatisme	
Repos	
Activité physique.	

De manière globale, les variations biologiques sont analysées sur un aspect pratique c'est à dire certaines sont contrôlables et d'autres ne le sont pas : les variations biologiques contrôlables sont des variations à court terme comme l'alimentation, l'hospitalisation, le jeun, l'effort physique, le rythme circadien, la posture, la position, l'immobilisation, la prise de médicaments, la lactation, le jeun, le choc, la prise d'alcool, de tabac, le

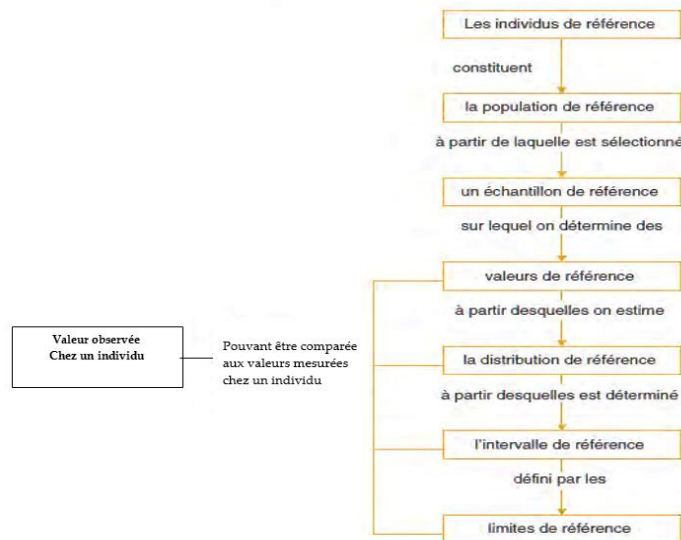


Figure 1. Logigramme de l'enchainement des étapes pour définir le concept de toute valeur de référence

Principales sources de variations des analyses au laboratoire

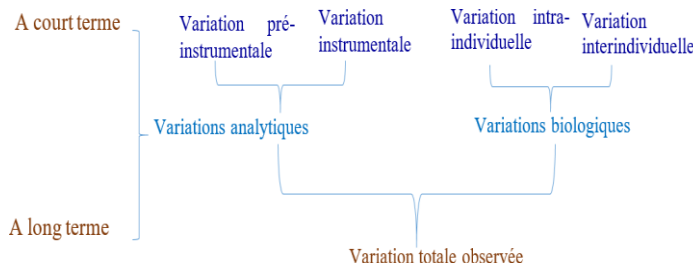


Figure 2. Diagramme de variation totale observée

Variabilités analytiques

Elles constituent l'ensemble des variations liées à la méthode utilisée et sont réparties en deux types de variations : la variation pré-instrumentale et la variation instrumentale. Les variations pré-instrumentales comprennent tout l'ensemble des sources de variations depuis la prise de l'échantillon (prélèvement) jusqu'à son acheminement au laboratoire pour analyse en passant par le transport, étiquetage, la centrifugation ; les variations instrumentales sont liées à la méthode de mesure elle-même.

Variabilité biologique

Ces variations sont liées à l'individu lui-même (variations intra-individuelles) ou à des variations entre les sujets, on parle alors de variations inter-individuelles.

traumatisme, le repos et l'activité ; les variations biologiques non contrôlables : sont des variations à long terme comme, l'âge, le groupe sanguin, le sexe, la ménopause, la race, la taille, les facteurs environnementaux. Tous ces facteurs sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Détermination de l'intervalle de référence

La détermination de l'intervalle de référence est une longue tâche, difficile et coûteuse, totalement encadrée par des recommandations internationales.

Elle part de la sélection des sujets considérés comme sains dont l'inclusion dans la population de référence doit répondre à 2 exigences : la randomisation et l'exclusion des cas pathologiques. La randomisation, est une sélection basée uniquement sur le hasard, pour éviter les biais dans l'étude, et assurer la représentativité. L'exclusion des cas pathologiques exige d'exclure de la population de référence, tous les cas reconnus pathologiques car ils introduiraient le biais dans l'étude. Outre la sélection des sujets sains pour constituer l'échantillon de référence, il importe de stratifier cet échantillon en sous-groupes homogènes en fonction des critères définis. Cette séparation en strates, selon des critères définis, a l'avantage de rendre l'information plus homogène et plus représentative.

En pratique, il est recommandé de procéder de la manière suivante : établir les caractéristiques métrologiques de la technique de mesure employée, celle-ci étant fonction de disponibilité ; déterminer l'ensemble des facteurs de variations pré-analytique et biologique susceptibles d'interférer ; établir des critères d'inclusion et d'exclusion précis pour la sélection des individus de référence, de sélectionner ces derniers à l'aide d'un questionnaire correspondant ; obtenir le consentement éclairé des individus de référence ; décider du nombre d'individus de référence nécessaires au traitement statistique des valeurs obtenues ; collecter les spécimens nécessaires et de les analyser pour obtenir les valeurs de référence ; analyser les valeurs de référence obtenues pour déterminer l'intervalle de référence.

Traitements mathématiques des valeurs de référence

Les valeurs mesurées d'un paramètre biologique n'ont d'intérêt que si elles sont comparées aux limites de référence [14]. C'est pour cela qu'il convient à priori

d'examiner la distribution des valeurs de référence et d'établir schématiquement, sous forme d'histogramme une courbe de distribution des différents paramètres qui font partie de l'étude. Il existe des méthodes fiables pour le traitement des VR. Elles incluent les calculs de la moyenne, des ET, du mode, de la médiane et des valeurs dites quartiles. De ce qui précède, il existe trois méthodes statistiques, à savoir les méthodes paramétriques, les méthodes non paramétriques et les méthodes robustes. Seules les deux premières priment.

Méthodes paramétriques.

Les méthodes paramétriques sont actuellement les plus couramment utilisées, surtout en face d'un échantillon de grande taille ; d'où le recours aux ordinateurs qui permettent d'obtenir une courbe gaussienne, calculant par la même occasion la moyenne, l'écart type et le coefficient de variation [15]. Malheureusement, elles sont parfois utilisées de manière inappropriée. Ainsi, leur utilisation doit toujours être précédée de tests pour déterminer si une distribution symétrique est à portée de main. Au cas contraire, deux alternatives se présentent : 10 la transformation des données et vérification de la nouvelle distribution testée pour la normalité symétrique (écarts d'asymétrie de Kurtosis ne devant être présent) ; 20 recours aux statistiques non paramétriques.

Méthodes non paramétriques

A côté des méthodes paramétriques, les méthodes non paramétriques simples et fiables, constituent la norme dans les recommandations internationales. Elles deviennent de plus en plus populaires car sont moins facilement invalidées par des hypothèses incorrectes, n'exigent rien des lois de probabilité [16] et sont souvent faciles à calculer même sans ordinateur. Cependant, elle requiert une sélection rigoureuse des individus de référence et un nombre d'individus suffisant (≥ 120). Leur robustesse statistique (pouvoir de prendre de bonnes décisions) est légèrement inférieure à celle des méthodes paramétriques. Ces méthodes consistent à classer les données, et expérimentalement à rechercher certaines valeurs attractives telles que le mode et la médiane [17].

Méthodes robustes

C'est une méthode qui a été introduite récemment par l'IFCC/CLSI, souvent utilisée lorsque le nombre de sujets

est limité. Elle n'exige pas que la distribution soit gaussienne. Sur le plan statistique, c'est une méthode proche de la Méthode paramétrique, sauf qu'elle mesure la position et la dispersion au lieu de la moyenne et de l'écart-type [18,19]. A côté de ces trois méthodes, il en existe d'autres décrites dans la littérature (méthodes paramétriques traditionnelles, technique de boot-strap). Malheureusement ces techniques nécessitent le concours de statisticiens expérimentés [20].

Choix et qualité d'une méthode d'analyse appliquée en biologie clinique. Le choix d'une méthode d'analyse est un exercice important qui doit tenir compte des facteurs tels que : les utilisateurs (auxiliaire médical, technicien de laboratoire, biologiste clinicien) et l'environnement et/ou contexte (centre de santé, hôpital général provincial, cliniques universitaires, laboratoire de biologie moléculaire). Ces facteurs, pris ensemble, garantissent la fiabilité des résultats. Ainsi, les analyses seront exécutées dans les conditions optimales susceptibles de réduire au minimum les erreurs couramment rencontrées au laboratoire. Certaines de ces erreurs sont inhérentes aux techniques d'analyse et sont minimisables (erreur aléatoire); d'autres par contre peuvent être évitées par l'utilisation des matériels adéquats et une attention particulière dans l'exécution de l'analyse et dans l'enregistrement des résultats. C'est notamment les erreurs systématique et grossière [21]. La méthode d'analyse possède des critères intrinsèques utilisés pour son appréciation. Ces critères au nombre de trois (critères de fiabilité, critères de praticabilité, critères d'efficacité), peuvent faire l'objet des évaluations par des indicateurs et/ou paramètres ou encore par des mesures statistiques de l'appréciation d'une méthode.

Critère de fiabilité.

La fiabilité en biologie médicale regroupe un ensemble de qualités définies, parfois mesurables à l'aide des méthodes statistiques. Elle est évaluée par la précision, l'exactitude, la sensibilité, la spécificité, la sélectivité et la détectabilité [22].

Précision et Exactitude

La précision est appréciée par des paramètres statistiques tels que la moyenne, la variance, l'écart type ou parfois l'écart type relatif. Cette précision ou fidélité s'exprime par la répétabilité et la reproduction selon qu'on travaille

respectivement sur un même échantillon, avec la même méthode et dans le même laboratoire et mêmes conditions de travail (toutes les autres conditions étant, on applique la même méthode, dans le même laboratoire, en conservant toutes les conditions : mêmes appareils, mêmes réactifs, mêmes séries d'analyses, mêmes opérateurs); ou selon que la méthode est réalisée dans diverses conditions. La reproductibilité peut être intra-laboratoire (soit dans la journée, soit jour après jour); elle peut aussi être inter-laboratoire. Lorsqu'elle implique plusieurs laboratoires en chimie clinique, le coefficient de variation (CV) doit être inférieur à 5% [17,23,24]. Les autres indicateurs d'évaluation de la fiabilité d'une méthode dont l'exactitude, la sensibilité, la spécificité, la sélectivité et la détectabilité répondent à des spécificités suivantes : L'exactitude ou la justesse d'une méthode traduit la qualité de la concordance (coïncidence) entre une valeur mesurée et la valeur vraie, considérée comme référence. Les résultats qui s'écartent de cette référence seront jugés \pm inexacts. Son évaluation en chimie clinique est difficile, étant donné que les causes d'inexactitude peuvent être nombreuses et complexes (conditions techniques, qualité des étalons). L'exactitude doit être inférieure à 10% pour les analyses courantes ou 20% pour les analyses enzymatiques

Sensibilité et Spécificité

Elle se définit comme le rapport de l'intensité du signal fourni par l'appareil de mesure à la quantité du paramètre appréciée à cette occasion. C'est aussi la pente de la fonction d'étalonnage, habituellement utilisée dans sa portion linéaire [25]. La spécificité traduit la relation intime (correspondance) du signal mesuré par rapport au seul paramètre recherché, à l'exclusion de tout autre constituant du mélange [26].

Détectabilité ou limite de détection

La détectabilité est le pouvoir d'une méthode à déceler le plus petit signal distinguable.

Praticabilité et Efficacité

La praticabilité regroupe les éléments qui concernent la commodité d'exécution, l'aptitude de réalisation de l'analyse impliquant aussi bien le laboratoire, l'équipement et que le biologiste.

L'efficacité est l'aptitude de la méthode à décéder les variations physiologiques ou pathologiques propres aux

conditions dans lesquelles a été réalisé l'examen, ou particulières à la maladie [27]. Il est évident pour qu'une méthode soit optimale, qu'il faille respecter scrupuleusement les conditions de prélèvement des différents échantillons, en éliminant les divers types d'erreurs aussi bien fortuites, aléatoires que systématiques. Bien entendu, en tenant compte des facteurs de variabilités biologiques individuels et analytiques [28].

Utilisation et présentation des valeurs de référence.

Les VR sont des guides indispensables pour l'interprétation des résultats des investigations des examens de laboratoire. Elles donnent des critères nécessaires qui permettent de dire si les résultats de laboratoire obtenus indiquent la présence ou l'absence d'un état pathologique. Pour ce faire, la valeur observée, c'est-à-dire la valeur trouvée chez le patient est comparée aux VR. Les intervalles de référence sont en principe présentés dans un document ou support (ordinateur) où sont repris les informations en rapport avec : l'identité du patient, la méthode d'analyse, les informations administratives (date, heure, la personne ayant analysé), les résultats du patient (valeur observée), les limites de référence. Cette présentation repose sur 2 groupes de méthodes pratiques [29] : la méthode dite classique ; les méthodes alternatives.

Méthode classique

C'est la méthode habituelle d'utilisation des valeurs de référence, qui consiste à établir l'intervalle de référence grâce à des limites de référence, qui sont des coupures effectuées dans la distribution continue des valeurs de référence [23]. De manière générale, on fixe les limites de référence de façon à obtenir 95% de la distribution et en écartant 5% des extrêmes, et ceci se fait de 2 manières : inclure les 95% au milieu centré sur la médiane, en écartant 2,5% à chaque extrémité ; ceci est important pour certains paramètres pour lesquels les valeurs extrêmes de deux côtés revêtent une signification clinique, tels que le glucose, les ions ; dégager les 5% d'un seul côté ou une seule extrémité. Cas des biomarqueurs dont un seul extrême présente une signification clinique nette, tels que les enzymes.

Méthode alternative et Contrôle de qualité (CQ) au laboratoire

Elle consiste à exprimer la valeur observée par la mesure de l'écart mathématique, qui est la différence entre la valeur de référence divisée par la déviation standard. On situerait la valeur observée ou valeur du patient dans la distribution de référence, en l'associant au percentile auquel il est lié dans la population appariée [24].

Le contrôle de qualité au laboratoire est une étape indispensable pour la fiabilité des résultats. Il permet de déceler les erreurs et d'y remédier [30,31]. En pratique, on utilise soit un contrôle commercial ou un contrôle maison (préparé au laboratoire). En 1950, Levey et Jennings ont suggéré l'utilisation d'une courbe dans les laboratoires cliniques. Cette suggestion était basée sur le fait que, dans des conditions optimales (stables), la distribution des résultats d'un même échantillon analysé plusieurs fois était gaussienne. La courbe de Levey-Jennings indique alors la moyenne et les 1, 2 et 3 ET de chaque côté de la moyenne. Une déviation à partir de cette distribution indique l'apparition d'une erreur analytique systématique [25]. Dans une distribution randomisée, approximativement 65% des valeurs répétées sont situées entre ± 1 ET et distribuées de chaque côté de la moyenne. En plus, dans un système bien organisé, 95% des valeurs doivent être situées entre ± 2 ET et 99% entre ± 3 ET. Si plus d'une valeur se situe en dehors de la limite de ± 3 ET pour 100 analyses, cela signifie qu'il y a des erreurs et qu'une investigation est nécessaire. La courbe de Levey-Jennings par le biais de l'observation du positionnement des valeurs journalières des contrôles permet de dire s'il y a un transfert (shift) ou une tendance (Figure 2a, 2b, 2c et 2d).

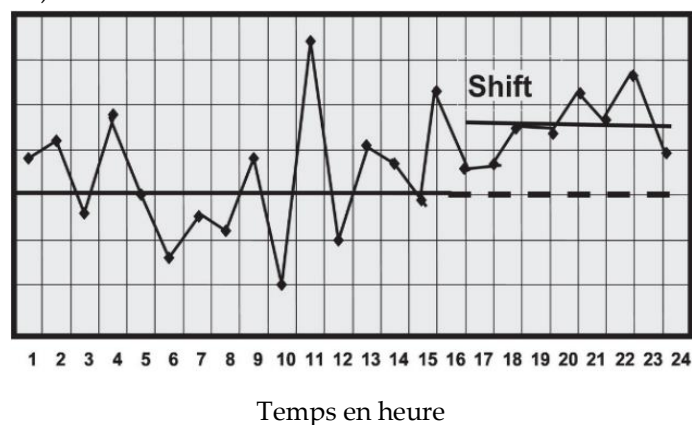


Figure 2 : La courbe de Levey-Jennings par le biais de l'observation du positionnement des valeurs journalières

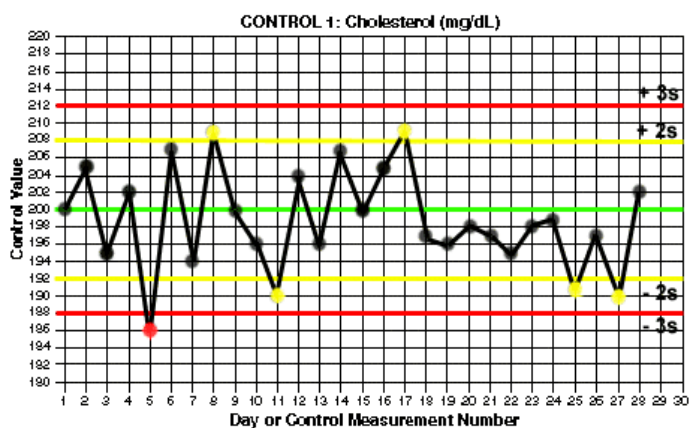


Figure 2b : La courbe de Levey-Jennings par le control du cholestérol par jour

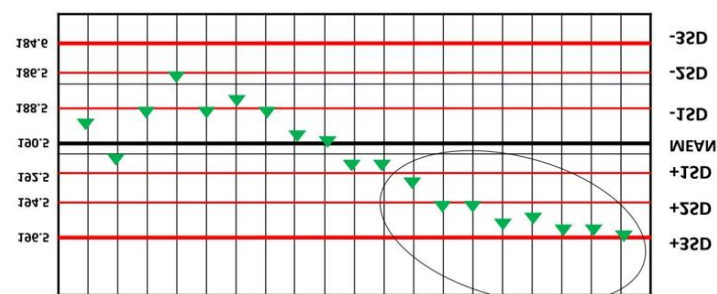


Figure 2c. Courbes de Levey-Jennings (shift) ou une tendance

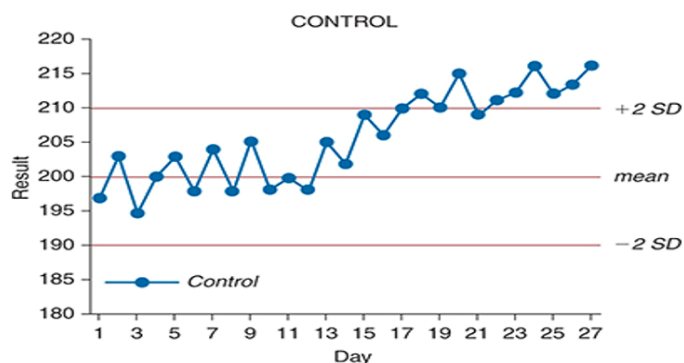


Figure 2d. Courbes de Levey-Jennings (shift) ou une tendance

Le CLIA recommande qu’au minimum deux niveaux (low et high) de contrôles soient analysés chaque jour.

En résumé, le CQ permet de : détecter et corriger les erreurs pouvant affecter les résultats des examens de laboratoire ; fournir des informations concernant la qualité d’un processus analytique, et également connaître l’incertitude affectant un résultat, exprimé par le coefficient de variation (CV). Son but n’est pas dans la précision du résultat mais, pour la sécurité de l’interprétation clinique. Bien qu’associé à d’autres mesures, il reste un des points clé de l’organisation et de l’assurance qualité au laboratoire et permet au biologiste

de s’assurer de la bonne réalisation des analyses. Réalisé en regroupement inter-laboratoire, il permet également une amélioration des techniques analytiques.

Intérêt des valeurs de référence

Intérêt diagnostic médical

Au cours du diagnostic médical, les valeurs de référence permettent d’apprécier les différentes situations cliniques ; de vérifier un état de santé chez un patient ; de dépister des affections cliniquement non décelables ; d’interpréter une variation biologique significative ; d’établir une limite de décision adaptée à chaque situation particulière du patient et d’apprécier la probabilité de survenue d’une maladie en comparant la valeur observée d’un paramètre biologique donné à celle d’un groupe de référence bien homogène, afin d’alerter le patient [32].

Intérêt de suivi thérapeutique et de pronostic

Il s’agit d’évaluer l’effet thérapeutique et/ou de surveiller un risque dû à la médication. En effet, pour dire qu’un sujet est atteint d’un syndrome, il faut comparer la valeur mesurée à celle d’un groupe de référence atteint du même syndrome, afin d’avoir une vision clarifiée du pronostic clinique. L’étude comparative de populations saines et malades pour une variable biologique donnée, permet de classer les examens suivant leur pouvoir discriminant [33].

Intérêt épidémiologique

L’établissement des valeurs de référence permet de mesurer la prévalence de certaines pathologies dans une population à un échelon régional, national et international. On peut ainsi étudier les différences ethniques du régime alimentaire, socio-culturel ou génétique et déterminer les conditions de transférabilité des valeurs de référence d’un laboratoire à un autre ou d’un pays à un autre. Ainsi, les valeurs de référence contribueront d’une part à définir les priorités pour les examens de santé et d’autre part, l’étude de ces valeurs dévoilera l’importance des déviations des paramètres biologiques sous l’effet des différents facteurs [34].

Modifications physiologiques des paramètres biochimiques au cours de la grossesse normale

La grossesse est une période pendant laquelle l’organisme de la femme enceinte subit de modifications physiques et

physiologiques intenses [35]. Plus elle évolue, plus ces modifications prennent de l'importance. Par ailleurs, ces changements physiologiques peuvent modifier le seuil de certains paramètres biochimiques (bilans rénal, lipidique, hépatique, phosphocalcique, phosphore et magnésium) [36]. Ces changements sont profonds et tributaires du système hormonal et permettent à la femme enceinte de s'adapter à ses nouveaux besoins et à ceux du fœtus. Toutes ces variations physiologiques sont expliquées essentiellement par un bouleversement transitoire de certains grands systèmes (circulatoire, respiratoire, digestif, rénal, endocrinien) et des principaux métabolismes biochimiques (hydrique, électrolytique, lipidique, glucidiques) qui participent à l'homéostasie de l'organisme maternel [37]. En effet, ces systèmes sont sous l'emprise de différents mécanismes de contrôle, notamment hormonaux générés par l'unité foeto placentaire dans le but d'induire la tolérance et la croissance de la grossesse.

Modification au niveau du système rénal

Au cours de la grossesse, il y a rétention d'au moins 7 litres d'eau entraînant une augmentation du flux plasmatique rénal de 50% à 85% pendant les 9 mois de la durée de la gestation [38]. Toutefois, on assiste à une diminution de ce flux plasmatique de 13% à 22% qui reste néanmoins supérieur à celui de la femme non gravidique. Dès la fin du premier mois de grossesse, le débit de filtration glomérulaire augmente de 25%. Cette augmentation atteint 50% vers les quatrième et cinquième mois et persiste jusqu'au huitième mois de grossesse, période à partir de laquelle un retour à la normale s'amorce progressivement pour revenir aux valeurs préconceptionnelles dans les trois mois suivant l'accouchement [39].

Cette augmentation du DFG (débit de filtration glomérulaire) et du flux plasmatique rénal (FPR) n'entraîne pas seulement la diminution précoce de l'urée et de la créatinine mais aussi celle de l'acide urique dans le sang [40]. Ces paramètres du système rénal baissent dans les proportions de 25 % pour la créatinine sérique et l'urée et parfois jusqu'à 30% pour l'acide urique [41]. Les changements dans le volume plasmatique et dans le DFG peuvent expliquer la diminution de ces taux, mais d'autres

mécanismes peuvent être évoqués, comme la diminution de la réabsorption tubulaire passive de l'urée [42].

Modification au niveau du système métabolique (bilan lipidique).

Pendant toute la grossesse, les besoins en cholestérol sont très élevés chez l'embryon et le fœtus. Pour survenir aux besoins du fœtus, le cholestérol est utilisé par le placenta pour la synthèse des hormones stéroïdiennes et des acides biliaires, deux éléments cruciaux pour la synthèse des membranes cellulaires fœtales [43].

Les mécanismes de transfert placento-maternel répondent aux besoins du fœtus en cholestérol à un stade précoce de grossesse [44].

Par conséquent, la faible concentration en cholestérol maternel affecte le développement neurologique foetal entraînant la naissance d'un enfant prématuré ou à faible poids [45]. Le cholestérol reste un élément essentiel pour le maintien de la fluidité des membranes cellulaires fœtales et également pour les AGL nécessaires à la synthèse des phospholipides [46] ; avec comme corollaire pendant la gestation, l'augmentation du métabolisme lipidique entraînant une augmentation du taux de cholestérol total. L'augmentation de TG circulants correspond à celle des apolipoprotéines de très basse densité (VLDL) qui les transportent et qui sont les précurseurs des lipoprotéines de basse densité (LDL) dont l'augmentation dans la circulation maternelle est nécessaire à la stéroïdogénèse placentaire [47]

Changement physiologique du système hépatique pendant la grossesse

Les enzymes hépatiques bien qu'intervenant dans le métabolisme du foie, ne connaissent que des variations fonctionnelles très minimes pendant la grossesse. Ces variations minimes représentent vraisemblablement une simple réponse à l'augmentation de la demande métabolique et à l'accroissement de l'activité cellulaire dû à la toxicité accrue de certains médicaments pendant la grossesse [48]. L'activité des transaminases reste habituellement dans les limites des valeurs normales établies en dehors de la grossesse. Une élévation de cette activité chez une femme enceinte doit donc être considéré comme pathologique [49].

La seule exception est la phosphatase alcaline sérique (PAL) qui est élevée [50].

Les phosphatases alcalines (PAL) sont des glycoprotéines membranaires de 170 KDa distribuées dans différents tissus mais surtout dans le foie. On les retrouve aussi dans les os, l'intestin, le rein et le placenta [51]. Pendant la grossesse, ces enzymes semblent être soumises à l'influence d'hormones placentaires.

Métabolisme de l'albumine

Plusieurs études confirment la diminution de l'albumine au niveau plasmatique au cours de la grossesse. Cette diminution de l'albuminémie est responsable en majeure partie de la baisse de la protidémie. L'hémodilution semble en être la principale explication [52]. L'albumine est le support majeur de la pression oncotique du plasma ; de plus, elle représente un transporteur non spécifique de nombreuses substances circulantes qui voient ainsi leur capacité de transport diminuer. Sa chute d'environ 1g/100 mL est responsable de la diminution de la pression oncotique qui passe de 28 mmHg en début de grossesse à 22 mmHg en fin de grossesse.

Modifications du métabolisme phosphocalcique et du magnésium pendant la grossesse

Le calcium et le phosphore ont des rôles variés dans l'organisme et ils interviennent de façon très importante dans presque tous les processus. Au cours de la grossesse, tous les deux participent au maintien du système squelettique chez la mère et à son développement chez le fœtus. En outre, le calcium intervient dans la perméabilité membranaire, la coagulation et l'excitabilité neuromusculaire. Le phosphore a un rôle essentiel dans de nombreuses réactions énergétiques, dans la formation de l'acide ribonucléique et des phospholipides, dans le cycle des hydrates de carbone et dans le système tampon de l'organisme [53]. Ces métabolites subissent des modifications plus ou moins importantes durant la grossesse pouvant être précoces comme pour le calcium dont le taux de chute dans le sérum maternel est de 10% dès le début de la grossesse. La chute du calcium au cours de la grossesse est due à la diminution des protéines sériques. L'abaissement des sérum- albumines d'environ 0,9 g/ 100 mL en moyenne durant la grossesse entraîne une chute de 0,6 mg/100 mL de calcium. Les courbes des taux de calcium et de l'albumine dans le sérum des femmes

enceintes établies en fonction de l'âge gestationnel, montrent clairement un parallélisme [54]. Le phosphore quant à lui, montre une diminution progressive de son taux jusqu'à 30 semaines puis une augmentation jusqu'au terme. Les valeurs moyennes sont respectivement de 3,02 ; 2,76 ; 2,62 et 2,99 mg/100mL, au premier, deuxième et troisième trimestre et à l'accouchement [55]. Le magnésium voit son taux chuter de 10 à 20 % au cours de la grossesse et passe de 0,85 mmol/L avant la grossesse à 0,7 mmol/L au cours de celle-ci. Les besoins sont à la fin de la gestation de 400 à 600 mg par jour. Lorsqu'ils ne sont pas satisfaits, ils peuvent engendrer certains syndromes douloureux et des crises de tétanie pendant la grossesse et l'accouchement. Enfin, le magnésium passe très rapidement la barrière placentaire et son taux est élevé lors de certains traitements comme l'administration de sulfate de magnésium [56, 57]. Ainsi, la présente étude a démontré que ses objectifs spécifiques ont été atteints pour interpréter les biomarqueurs étudiés selon la physiologie et la biochimie chez les femmes enceintes en milieu hospitalier. En outre, les résultats les plus importants ont été discutés en confirmant ou en infirmant certains résultats de la littérature [58].

Conclusion

La présente revue a établi les valeurs de référence des biomarqueurs biochimiques des femmes enceintes les plus demandés en pratique médicale dans le suivi de la grossesse normale, mais également dans l'évaluation des complications liées à la grossesse. Elle a démontré que les paramètres biochimiques subissent des changements tout au long de la grossesse dont l'interprétation nécessite la connaissance de la physiologie. Les biomarqueurs tels que l'urée, la créatinine, l'acide urique, la GGT, le calcium, le phosphore, le magnésium et l'albumine ont vu leurs teneurs diminués au cours de la grossesse, contrairement aux paramètres du bilan lipidique et les phosphatases alcalines qui ont vu leurs concentrations augmentées. Par contre l'ALAT et l'ASAT sont restés stables. La connaissance des limites de référence, du seuil d'alerte et du seuil de décision des biomarqueurs établis dans la présente étude, permettront d'une manière claire à catégoriser les femmes enceintes à traiter de celles à ne pas traiter ou à établir les diagnostics différentiels de l'anomalie pathologique observée.

Conflit d'intérêt : Aucun

Contribution des auteurs

BEB : Conception et design de l'étude, LB, NM, ME : Rédaction, vérification de la revue de la littérature, PO, TZK, WSO, AR, VVR, MCS, MNB : Lecture et corrections, syntaxe, LM : Références.

Références

1. Académies Nationales de Médecine, de Pharmacie et la Société Française de Biologie Clinique. Séance thématique : Quelles valeurs de référence en Biologie Médicale ? Conséquences pour le Médecin et le patient, 2018.
2. Geffré A. Nouvelles approches de la production d'intervalles de référence de populations (Thèse). Université de Toulouse, 2011.
3. Haddab S, Hamani, S. Etude sur les valeurs de référence biochimiques chez la femme adulte : glycémie, bilan hépatique et bilan lipidique .111pages. Thèse. Faculté de médecine – université Mouloud Mammeri. 2017 p 1.
4. Henny J. Etablissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. Annales de biologie clinique. Vandoeuvre-lès-Nancy ; 2011. p. 229-37.
5. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, Petersen PH. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2013 ;51(1), 47-64..
6. Rogowski J, Annaix V. Norme NF EN ISO 15189: Analyse comparative avec le GBEA et mise en place du nouveau référentiel. In *Annales de Biologie Clinique* ; 2010 ;68(3), 367-377.
7. Siest G, Schielle F, Henny J, Hercberg S, Dupin H, Papozol L. Valeurs de référence et valeurs usuelles des examens de laboratoire. Facteurs de variation biologique et établissement des valeurs de référence. In *Nutrition et santé publique. Approche épidémiologique et politiques de prévention*, 1985 : 4(2). 135-154).
8. Solberg HE. Establishment and use of reference values. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, 1999 :4, 425-48.
9. : Assumani AN, Gini JL, Nkodila A, Kanteng G, Wembonyama SO, Tambwe A, Mutoba G, Longanga S, Lise S, Kasamba EI, Kibulu J, Luboya ON. Evaluation de l'hémogramme du nouveau-né de Lubumbashi : étude transversal multicentrique (à propos de 430 cas). *Revue de l'Infirmier Congolais*. 2018 ; 2(2): 95-102.
10. Njikeutchi FN. Contribution à l'établissement des valeurs de référence de paramètres biologiques chez le burkinabé : Evaluation de cinq constituants biochimiques [Thèse]. Ouagadougou : Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo ; 2002-2003. Inédit
11. Decool V. Etablissement des intervalles de référence au laboratoire d'analyses médicales. Formation médicale continue. Tourcoing ; 15 Déc 2015. Inédit
12. Klein G, Junge W. Creation of the necessary analytical quality for generating and using reference intervals. *Clin Chem Lab Med* 2004 ; 42 : 851.
13. Metais P, Agneran J, Ferard J, Fruchart JC, Jardillier JC, Revol A, Siest G, Stahl A. *Biochimie clinique, I. Biochimie analytique SIMEP Ed*, 1979.
14. Sakandé J, Lengani A, Sawadogo M, Sawadogo S, Kabré E, Guissou I. Profil lipidique de l'insuffisance rénale chronique au service de néphrologie du CHU Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou-Burkina Faso. *Revue Tunisienne de Biologie Clinique*, 1(19).
15. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals. In : *A user's guide*. Washington, DC : AACC Press, 2005.
16. Rogowski J, Annaix V. Norme NF en ISO 15189: Analyse comparative avec le GBEA et mise en place du nouveau référentiel. In *Annales de Biologie Clinique* 2010, 68(3), 367-377).
17. CLSI Document C28-A3: 2008. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline, 28, 3rd ed. Wayne : PA, 2008.
18. Delatour V. Apport de la métrologie avancée à l'évaluation et à l'amélioration de la fiabilité des examens de biologie médicale. *Annales des Mines - Réalités industrielles*, 2017 ;1(1) ; 19-23.
19. Henny J. Etablissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. In *Annales de Biologie Clinique* 2011 ; 69(2) ;229-237.
20. Kallner A, Gustavsson E, Hending E. Can age and sex related reference intervals be derived for non-healthy and non-diseased individuals from results of

- measurements in primary healthcare? *Clin Chem Lab Med* 2000 ; 38 : 633-54.
21. Klee GG. Establishment of outcome-related analytic performance goals. *Clin Chem* 2010 ; 56 : 714-22.
 22. Bernard S. *Biochimie clinique: instruments et techniques de laboratoire: diagnostics médico-chirurgicaux*. Maloine ; 1989
 23. Bousnina F, Nassiri O, Saddari A, Elmobariki M, Rhoubi A, Benaissa E, Elouennass M. Evaluation des connaissances et pratiques du personnel du laboratoire central vis-à-vis des risques infectieux au niveau du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI d'Oujda. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 2021 ; 23(3).
 24. Bland JM et Altman D. Méthodes statistiques d'évaluation de la concordance entre deux méthodes de mesure clinique. *The Lancet* ; 1986 ; 327 (8476), 307-310.
 25. Ceriotti F, Henny J. "Are my laboratory results normal?" Considerations to be made concerning reference intervals and decision limits. *eJIFCC* 2008 ; 19, <http://www.ifcc.org/index.asp?l3>. Dalton RN. Serum creatinine and glomerular filtration rate: perception ad reality. *Clin Chem* 2010 ; 56 : 687-98.
 26. Milevoj Kopčinović, L, Juričić, G, Bokulić, A, Vukasović, I, Čelap, I, Čičak, H, et al.. Verification policies in Croatian medical biochemistry laboratories: a survey of the practice. *Biochem Med* 2022;32:020703.
 27. Feinberg M, Laurentie M, Guerin A, Huyez-Levrat M. Validation des méthodes d'analyse quantitative par le profil d'exactitude. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 2010, N° Spécial: Validation des méthodes. fffhal-04792231.
 28. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Annales de Biologie Clinique*. 1999;57(6):685-95.
 29. De Graeve J. Analyses de biologie médicale: spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann BIOIChn*, 1999 ; 57(685), 95.
 30. Hand, M, Crampton, A, Thomas, A, Kilpatrick, ES. A survey of clinical laboratory instrument verification in the UK and New Zealand. *Ann Clin Biochem* 2019;56:275–.
 31. Loh, TP, Horvath, AR, Wang, CB, Koch, D, Lippi, G, Mancini, N, et al.. Laboratory practices to mitigate biohazard risks during the COVID-19 outbreak: an IFCC global survey. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1433–40.
 32. Haddab S, Hamani S. Etude sur les valeurs de référence biochimiques chez la femme adulte : glycémie, bilan hépatique et bilan lipidique .111pages. Thèse. Faculté de médecine – université Mouloud Mammeri. 2017
 33. Libbey J. Réviser le concept de valeurs de référence, une nécessité : *Ann biol clin [En ligne]*. Juil-Août 2001 [consulté le 02/03/2017] ; 59(4).
 34. Coulibali JL. Contribution à l'établissement des valeurs de paramètres biologiques de référence chez le burkinabé adulte : Evaluation des paramètres témoins du profil lipidique [Thèse]. Ouagadougou : Centre Hospitalier National Yelgado Ouédraogo ; 2002-2003. Inédit
 35. Handelsman DJ, Wartofsky L. Requirement for mass spectrometry sex steroid assays in the *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3971–3.
 36. Monaghan PJ, Keevil BG, Stewart PM, Trainer PJ. Case for the wider adoption of mass spectrometry-based adrenal steroid testing, and beyond. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:4434–7.
 37. Greaves RF. The central role of external quality assurance in harmonisation and standardisation for laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:471–
 38. Fournié A, Laffitte A, Parant O, Ko-Kivok-Yun P. Modifications de l'organisme maternel au cours de la grossesse. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale (Elsevier, Paris), Gynécologie/ Obstétrique*, 5-008-A-10. 1999 ; Pg8.
 39. Sturgiss SN and al. Renal hemodynamic and tubular function in human pregnancy. *Baillieres in Clin Obstet Gynaecol* ; 1994 ; 8: 209-34.
 40. Beaufile E, Legardeur H. *Gynécologie et Obstétrique*. Ellipses marketing ; 2008 ; 168-175.

41. Karim Lallali. Paramètres biologiques et leurs variations physiologiques pendant la grossesse. 2012. Inédit
 42. Tailleux J. Prise en charge des troubles du sommeil chez la femme enceinte à l'issue d'une demande spontanée : intérêt du conseil officinal. Thèse de doctorat. Université d'Angers, France ; 2013.
 43. Maskaoui I. Modifications physiologiques de l'organisme maternel et variations des paramètres du bilan biochimique au cours de la grossesse normale. 2013
 44. Cianni.G.Di, Miccoli.R, Volpe.L, Lencioni.C, Del Prato.S, (2003). Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diadets, *Diabetes Metab. Res.Rev.*19 (4) (2003) 259-270.
 45. Edison RJ, Berg K, Remaley A et al., Adverse birth outcome among mothers with low serum cholesterol, *Pediatrics* ; 2007 1(120) 723-733.
 46. Cianni GD, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Del Prato S, Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diadets, *Diabetes Metab. Res.Rev* 2003 ; 19 (4) 259-270.
 47. Durack-Bown I. L'hyperlipidémie gestationnelle, *Sang Thrombose Vaisseaux* ; 1996 ; 8(10), 635-641.
 48. Mikolasevic I, Filipec-Kanizaj T, Jakopcic I, Majurec I, Brcic-Fischer A, Sobocan N, Hrstic I, Stimac T, Stimac D, Milic S. Liver Disease During Pregnancy: A Challenging Clinical Issue. *Med Sci Monit.* 2018 Jun 15;24:4080-4090. doi: 10.12659/MSM.907723. PMID: 29905165; PMCID: PMC6034557.
 49. Chazouillères O, Bacq Y. Foie et Grossesse (2004). *Gastroenterol Clin Biol* 2004; 28: D84-D91.
 50. Delluc C, Costedoat-Chalumeau N, Saadoun D, Vauthier-Brouzes D, Wechsler B, Piette JC. Elevation of alkaline phosphatase in a pregnant patient with antiphospholipid syndrome: HELLP syndrome or not?, *Rheumatology*, 2008 ; 47(4), 554–555.
 51. Tukey JW. *Exploratory data analysis*. Reading MA : Addison-Wesley, 1977 Dixon WJ. Processing data for outliers. *Biometrics* 1953 ; 9 : 74-89. 17.
 52. Harris E, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem* 1990 ; 36 : 265-70. 19. Lathi A. Partitioning biochemical reference data into subgroups: comparison of existing methods. *Clin Chem Lab Med* 2004 ; 42 : 725-33. 20.
 53. Klein JD. Adolescent pregnancy: current trends and issues. *Pediatrics*. 2005; 116(1):281–6.
 54. Vassault A, Hulin A, Chapuzet E, et al. Vérification/validation des performances des méthodes Document E. *Ann Biol Clin.* 2010 ; 68 : 247-94. 21. 85 Klein JD. Adolescent pregnancy: current trends and issues. *Pediatrics*. 2005; 116(1):281–6. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-0999>.
 55. Kassa GM, Arowojolu A, Odukojbe A, Yalew AW. Prevalence and determinants of adolescent pregnancy in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Health.* 2018;15(1):195. <https://doi.org/10.1186/s12978-018-0640-2>.
 56. Adam Morton, Hypomagnesaemia and pregnancy ; 2018.
 57. Woollard G, McWhinney B, Greaves RF, Punyalack W. Total pathway to method validation. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:e257–e61.
 58. Ahorlu CK, Pfeiffer C, Obrist B. Socio-cultural and economic factors influencing adolescents' resilience against the threat of teenage pregnancy : a cross-sectional survey in Accra, Ghana. *Reprod Health.* 2015;12:117
-