



Recommandations Techniques détaillées pour la réalisation du FibroTest et du FibroMax

Guide pour les biologistes et les laboratoires

Version 2.3

Dernière Modification : 2018-03-12

Historique du document

Auteur	Date	Version	Modifications
MM	2018-03-12	2.3	Ajout automate Optilite & réactifs (A2M, Hapto), mise à jour des fournisseurs (contacts)
FD, MM	2018-01-31	2.2	Ajout automate Vitros 4600 (équivalence)
FD, MM, FIB	2017-06-13	2.1	Corrections automates Beckman AU, réactif ApoA1 (OSR6142)
FD, MM	2016-04-26	2.0	Corrections et mise en page
FD, MM	2016-01-13	1.19	Mise à jour automates Fusion, Vitros, AU, Dimension, Remarque A, mise en page
FD, MM, FIB	2011-03-03	1.18	Mise à jour automate Cobas 6000 et 8000 de Roche, mise à jour des fournisseurs (noms), mise à jour de l'étape pré-analytique, références, précautions d'emploi
FD	2010-05-06	1.17	Corrections DakoCytomation
FD	2009-10-21	1.16	Corrections et mise en page
FD	2009-06-09	1.15	Corrections et mise en page
OD	2009-05-25	1.14	Nouvelle présentation
FD	2008-10-15	1.13	Corrections et mise en page
FD	2008-07-09	1.12	Mise à jour automate Advia 1650
FD	2008-05-22	1.11	Corrections et mise en page
FD	2007-11-21	1.10	Corrections et mise en page
FD	2007-05-30	1.9	Mise à jour automates Siemens T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération
FD	2007-05-11	1.8	Nouvelle présentation et mise en page
FD	2007-04-26	1.7	Mise à jour automate Abbott Architect
DM	2007-04-19	1.6	Dosages paramètres FibroMax + mise à jour automate Konelab

FD	2006-06-02	1.5	Mise à jour automate Olympus AU400, 640 et 2700
FD	2006-05-22	1.4	Mise à jour automate Olympus AU600
FD	2006-01-27	1.3	Réactif Diagam pour automate Modular
MM	2005-12-20	1.2	Mise à jour précautions d'emploi

Table des matières

Historique du document	2
Table des matières	4
Introduction	5
FibroTest et ActiTest	5
FibroMax	6
Conditions d'utilisation	6
A - Etape pré-analytique	8
Prélèvements sanguins	8
Interférences	9
B - Méthodes analytiques et automates utilisés pour les dosages FibroTest et FibroMax ...	9
Méthodes	9
Fournisseurs et automates	10
Automates et méthodes analytiques évaluées pour transférabilité des résultats du FibroTest et du FibroMax	11
Dosages des protéines	11
<i>a) Méthodes immunonéphélométriques</i>	11
<i>b) Méthodes immunoturbidimétriques</i>	12
Mesure des activités de la GGT, ALAT et ASAT	15
Dosage de la bilirubine totale	17
Table 1: Automates et dosages du FibroTest/FibroMax	19
Table 2: Méthodes d'analyse préconisées pour les dosages complémentaires du FibroMax: ASAT, cholestérol total, triglycérides, glycémie à jeun	25
C – Références	30
D – Précautions d'emploi	34
E – Contact	36

Introduction

FibroTest et ActiTest

FibroTest et ActiTest permettent d'évaluer respectivement l'étendue de la fibrose et l'importance de l'activité nécrotico-inflammatoire du foie. Ils sont une alternative non invasive à la biopsie hépatique chez les patients atteints des maladies chroniques du foie les plus fréquentes. (1-3)

Le FibroTest et l'ActiTest sont calculés à partir des résultats des dosages de six paramètres biochimiques (alpha2-macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine, GGT, ALAT) ajustés à l'âge et au sexe du patient. Les algorithmes de calcul, établis et validés au cours de diverses études cliniques, sont brevetés.

FibroTest et ActiTest sont des diagnostics non invasifs utilisés comme outils biologiques partout dans le monde et de la qualité des dosages dépend la transférabilité des résultats des tests entre les laboratoires (4-5). En effet, en l'absence d'une standardisation analytique efficace, les résultats restent dépendants du système analytique utilisé pour assurer l'homogénéité des résultats entre laboratoires. L'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) a décrit des méthodes de référence pour le dosage de certains paramètres. Les méthodes adaptées aux divers automates doivent être en accord avec ces méthodes de référence afin de respecter les règles de standardisation internationales et répondre aux directives européennes.

Ces recommandations sont également applicables aux tests HCV GenoFibroTest (combinaison du FibroTest, du génotype IL28B, de la charge virale VHC et du génotype VHC) ainsi qu'à l'Elasto-FibroTest (combinaison du FibroTest avec les mesures élastométriques).

FibroMax

Le FibroMax (6) regroupe 5 tests différents : FibroTest, ActiTest, SteatoTest, NashTest et AshTest. Pour les trois derniers tests cités le cholestérol, les triglycérides, la glycémie à jeun et l'ASAT sont ajoutés aux paramètres biochimiques du FibroTest-ActiTest.

- FibroTest pour les patients atteints d'hépatites virales chroniques C et B, maladie alcoolique du foie et stéatohépatite métabolique (surpoids, diabète, hyperlipidémie).
- SteatoTest pour les patients atteints d'hépatites virales chroniques C et B, maladie alcoolique du foie et stéatohépatite métabolique (surpoids, diabète, hyperlipidémie).
- ActiTest pour les patients atteints d'hépatites virales chroniques C et B.
- NashTest pour les patients atteints de stéatose métabolique (surpoids, diabète, hyperlipidémie).
- AshTest pour les patients atteints de stéatose inflammatoire alcoolique (hépatite alcoolique aiguë).

Conditions d'utilisation

Les biologistes des laboratoires d'analyses médicales souhaitant calculer des FibroTests et/ou des FibroMax à partir des résultats biologiques dont ils disposent, sont tenus de prendre connaissance des conditions à respecter pour la réalisation des différentes analyses : précautions liées aux **prélèvements, méthodes d'analyses, calibrations et contrôles, critères de qualité et dosages**. (Les CV de reproductibilité doivent être inférieurs à 5% pour tous les paramètres).

Il est fortement recommandé que les contrôles de qualité interne soient associés à ceux de qualité externe (contrôle d'exactitude) conformément aux contrôles des laboratoires accrédités. Ces contrôles sont obligatoires en France.

Une liste d'automates ayant fait l'objet d'études de transférabilité des résultats est présentée dans ces recommandations.

Les différentes analyses biologiques

Le FibroTest associe 5 paramètres biochimiques :

- Alpha2-macroglobuline (g/l)
- Haptoglobine (g/l)
- Apolipoprotéine A1 (g/l)
- GGT (gamma glutamyl transpeptidase) (UI/l)
- Bilirubine totale (micromoles/l)

L'ActiTest associe les mêmes paramètres plus l'alanine aminotransférase (ALAT en UI/l).

Si l'ActiTest n'est pas prescrit, la valeur par défaut à saisir pour l'ALAT est 1.

Les résultats des dosages sont ajustés en fonction de l'âge et du sexe du patient pour le calcul du FibroTest et de l'ActiTest. (1-3),(6)

Le FibroMax associe les paramètres du FibroTest et de l'ActiTest plus 4 paramètres supplémentaires :

- ASAT (aspartate aminotransferase) (UI/l)
- Glycémie à jeun (mmol/l)
- Cholestérol total (mmol/l)
- Triglycérides (mmol/l)

Les résultats des dosages sont ajustés en fonction de l'âge, du sexe, du poids (en kg) et de la taille (en mètre) pour le calcul du FibroMax. (6)

Pour chaque paramètre, les unités indiquées entre parenthèse doivent être respectées pour le calcul du FibroTest et du FibroMax.

A - Etape pré-analytique

Prélèvements sanguins

- Les analyses sont réalisées sur sérum ou plasma.
- Pour le FibroTest-ActiTest, le sang est recueilli chez un patient de préférence à jeun sur un tube sec ou avec héparinate de lithium. (7)
- Pour le FibroMax, le sang est recueilli chez un patient **obligatoirement à jeun** depuis 12h, sur un tube sec ou avec héparinate de lithium ; un prélèvement supplémentaire sur inhibiteur glycolytique (fluorure de sodium ou oxalate de potassium) est nécessaire pour le dosage de la glycémie à jeun.
- En cas de demande isolée de SteatoTest ou NashTest le prélèvement sanguin est identique à celui du FibroMax et doit respecter ces conditions.
- L'échantillon sanguin est centrifugé dans les 2 heures suivant le prélèvement.
- Les conditions de centrifugation (vitesse et durée) doivent être conformes aux recommandations du fournisseur des tubes de prélèvements.
- Pour les dosages du FibroMax, un volume de plasma ou sérum de 500 microlitres est nécessaire. Pour le dosage de la glycémie à jeun 200 microlitres suffisent.
- Les dosages des différents paramètres biochimiques se font de préférence sur sérum/plasma **frais** ou décanté et conservé 72 heures au maximum à +2°C / +8°C, à l'abri de la lumière (protection de la bilirubine). (8)
- Le dosage des protéines spécifiques (alpha2-macroglobuline, haptoglobine, et apolipoprotéine A1) peut être réalisé sur le sérum conservé à +2°C /+8°C pendant 5 jours. (8) - (9)
 - *Dans le cas où les paramètres ne peuvent être dosés dans le délai requis, le sérum doit être **congelé d'emblée à -80°C**. (8)*
 - *Les prélèvements congelés ne doivent pas être décongelés plus d'une fois.*
 - *Après décongélation à la température du laboratoire, les sérums doivent être centrifugés 10 minutes à 1500g.*

Interférences

La lipémie et l'hémolyse interfèrent sur les dosages.

Il est toujours possible de diluer les sérums déjà centrifugés et légèrement lipémiques selon les conditions des méthodes standardisées.

Tout sérum lactescent et/ou hémolysé doit être rejeté.

B - Méthodes analytiques et automates utilisés pour les dosages FibroTest et FibroMax

La transférabilité des résultats du FibroTest et du FibroMax entre les différents systèmes analytiques (automates – méthodes et réactifs) a été vérifiée sur les automates et dans les conditions ci-dessous listées.

Elles garantissent la qualité des résultats du FibroTest et FibroMax.

Méthodes

En résumé

- Les mesures des activités enzymatiques doivent être effectuées selon la méthode de référence, à 37°C, en utilisant du **phosphate de pyridoxal** pour ALAT et ASAT (méthode IFCC) (19) (20).
- Pour l'activité enzymatique GGT, si la méthode IFCC n'est pas utilisée sur l'automate (par exemple méthode Szasz utilisée sur automate Roche Diagnostics) alors les mesures devront être calibrées à l'aide du CFAS (Calibrator for Automated Systems). La valeur IFCC de la GGT devra être indiquée et non celle de la méthode Szasz. **La calibration** à l'aide du CFAS des activités enzymatiques est fortement recommandée afin de sécuriser la transférabilité des résultats entre le système analytique de référence utilisé pour la validation des FibroTest/FibroMax et les autres systèmes analytiques (21).

Les mesures enzymatiques de la GGT, de l'ALAT et de l'ASAT sont exprimées en Unités Internationales par litre (UI/l).

- Bilirubine totale ($\mu\text{mol/l}$) : méthode de dosage par diazoreaction selon la méthode de Doumas ou calibrée par la méthode de référence Standard Reference Material (SRM).
- Cholestérol, triglycérides (mmol/l) : méthode analytique standardisée par rapport à la méthode de référence ou selon matériau de référence.
- Glycémie à jeun (mmol/l) : méthode de référence à l'hexokinase qui limite les interférences avec la bilirubine. Les résultats doivent être standardisés par rapport à la méthode de référence.
- Alpha2-macroglobuline, haptoglobine (g/l) : méthode néphélométrique ou turbidimétrique, standardisés par rapport à la méthode de référence ERM-DA470k/référence IFCC.
- Apolipoprotéine A1 (g/l) : méthode néphélométrique ou turbidimétrique, standardisée par rapport à la méthode de référence WHO-IFCC SP1-01.

Fournisseurs et automates

De nombreux fournisseurs se sont regroupés.

Les fabricants d'automates soulignés ci-après ont fait l'objet d'une étude de transférabilité des résultats du FibroTest/FibroMax. Les autres marques citées proviennent du même fournisseur et appartiennent à la même gamme d'automates. Les fournisseurs ont confirmé que ces derniers utilisaient les mêmes réactifs et fonctionnaient avec les mêmes standards et méthodes analytiques.

BECKMAN COULTER:

LX, DXC

Image néphélomètre

et AU, anciennement Olympus

(AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700, AU5800)

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS:

BN2, BNProspec, néphélomètre, anciennement Dade Behring

RxL, ArX, XPand, VISTA, anciennement Dade Behring

et ADVIA 1650, anciennement Bayer Diagnostics

ABBOTT

ARCHITECT c8000

ROCHE DIAGNOSTICS

HITACHI 917, INTEGRA 400,
MODULAR P, COBAS 6000 et 8000

THERMO FISCHER SCIENTIFIC

KONELAB 20, 20XT, 30, 60 prime
également connus sous T20, T20XT, T30, T60 et T60 nouvelle Génération

ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS

VITROS 4600, VITROS 5600, VITROS 5.1 (FUSION)

THE BINDING SITE GROUP LTD

OPTILITE – OPTIMISED PROTEIN SYSTEM

Automates et méthodes analytiques évaluées pour transférabilité des résultats du FibroTest et du FibroMax

Dosages des protéines

Les méthodes de dosage de l'alpha2-macroglobuline et de l'haptoglobine sont standardisées par rapport au matériau de référence ERM-DA470k (anciennement **CRM 470**), certifié par le Bureau communautaire de référence à Bruxelles (CR) et sélectionné par l'**IFCC** (International Federation of Clinical Chemistry).

Le dosage de l'apolipoprotéine A1 est standardisé par rapport à la préparation de référence **WHO- IFCC SP1-01** (World Health Organization – International Federation of Clinical Chemistry SP1-01). (13-15).

a) Méthodes immunonéphélométriques

Dosages de l'alpha2 macroglobuline, de l'haptoglobine et de l'apolipoprotéine A1

- **Automates BN2 et BNProspec** (Siemens Healthcare Diagnostics). Réactifs commercialisés par Siemens.
- **Automate Image** (Société Beckman Coulter) [voir *Remarque C*]. Nouvel antisérum du fournisseur pour l'alpha2-macroglobuline. Depuis 2007 il n'y a plus d'ajustement spécifique pour le résultat de l'apolipoprotéine A1. (9-10) [voir *Remarque C*] Contrôle de qualité interne commercialisé par Beckman Coulter.

Les contrôles de qualité externe sont obligatoires en France et fortement recommandés pour les autres pays.

En cas de non disponibilité de contrôle qualité externe de l'alpha2 macroglobuline une étude comparative des résultats avec un autre laboratoire utilisant le même automate et la même méthode analytique peut être faite.

b) Méthodes immunoturbidimétriques

Dosages de l'alpha2 macroglobuline

L'alpha2macroglobuline a longtemps été dosée par méthode néphélométrique sur BN2, BN Prospec et Immage. Depuis 2005, la méthode turbidimétrique a été développée et mise en place sur différents automates (11). Les réactifs de la société Diagam (mail@diagam.com) ont été testés et utilisés pour la plupart d'entre eux, avec des standards et des contrôles internes ne nécessitant pas de correction. Les résultats d'analyse turbidimétriques utilisant des réactifs Diagam ont été comparés à ceux obtenus sur les néphélomètres BN2 et BN Prospec. Les résultats obtenus sur les automates Beckman ont été comparés à ceux de l'Immage.

- **Automates Modular P, Hitachi 917, Integra 400, Cobas 6000 et Cobas 8000** (Roche Diagnostics). Réactifs Diagam [voir **Remarque D**] ou réactifs Dako Cytomation avec ajustement spécifique [voir **Remarque B**] pour les résultats de l'alpha2-macroglobuline. Les réactifs Dako Cytomation ne sont pas validés sur Cobas 6000 et Cobas 8000. (11)
- **Automates AU5800, AU400, AU600, AU640 AU680 et AU2700** (anciennement Olympus). Réactifs Diagam, standards et contrôles internes sont utilisés. *Contact : sprinzis@beckman.com.*
- **Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60**, (Société Thermo Fisher Scientific). Depuis 2007, ces automates sont désormais commercialisés sous les dénominations respectives **T20**, **T20XT**, **T30**, **T60** et **T60 Nouvelle Génération**. Réactifs Diagam, standard et contrôles internes sont utilisés [voir **Remarque D**] ou réactifs Dako Cytomation. *Contact : thierry.diradourian@thermofischer.com*

- **Automate Advia 1650** (Siemens Healthcare Diagnostics anciennement Bayer Diagnostics). Réactifs Diagam, standards et contrôles internes sont utilisés [voir *Remarque D*].
- **Automate Architect c8000** (Société Abbott). Réactifs Diagam, standards et contrôles sont utilisés. [voir *Remarque D*].
- **Automate Vitros 4600, Vitros 5600, Vitros 5.1 Fusion** (Ortho Clinical Diagnostics). Réactifs Diagam, standards et contrôles sont utilisés.
- **Automate Synchron LX / DXC** (Beckman Coulter). Réactifs Diagam, standards et contrôles sont utilisés.
- **Automate Optilite – Optimised Protein System** (The Binding Site Group LTD). Réactifs, standards et contrôles internes de qualité du fournisseur (*The Binding Site Group LTD*). [voir *Remarque G*]

Les contrôles qualité externes sont obligatoires en France et fortement recommandés pour les autres pays.

En cas de non disponibilité de contrôle qualité externe de l'alpha2 macroglobuline une étude comparative des résultats avec un autre laboratoire utilisant le même automate et la même méthode analytique peut être faite.

Dosages de l'haptoglobine et de l'apolipoprotéine A1

- **Automates Modular P, Hitachi 917, Integra 400, Cobas 6000** et **Cobas 8000** (Roche Diagnostics). Réactifs et contrôles qualités internes commercialisés par Roche Diagnostic. (11)
- **Automates Dimension-RxL, ArX** et **Xpand** (Siemens Healthcare Diagnostics anciennement Dade Behring) [voir *Remarque A*]. Réactifs et contrôles qualités internes commercialisés par Siemens Healthcare Diagnostics. (12)
- **Automates AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700** et **AU5800** (Beckman Coulter anciennement Olympus) [voir *Remarque E*]. Réactifs commercialisés par Beckman Coulter excepté pour l'apolipoprotéine A1 qui doit être dosée avec les réactifs Diagam pour AU5800 et automates

similaires (AU480, AU680) et non avec ceux du fournisseur. Contrôle qualité interne commercialisée par Beckman Coulter et Diagam. *Contact* : sprinzis@beckman.com et mail@diagam.com.

- **Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60, Prime** (Thermo Fisher Scientific). Réactifs et contrôles qualité internes commercialisés par Thermo Fisher Scientific. Ces automates sont depuis 2007 commercialisés sous les dénominations **T20, T20XT, T30, T60 et T60 Nouvelle Génération**.
- **Automate Advia 1650** (Siemens Healthcare Diagnostics anciennement Bayer Diagnostics). [voir **Remarque F**]. Réactifs et contrôles internes commercialisés par Siemens Healthcare Diagnostics.
- **Automate Architect c8000** (Société Abbott). Réactifs et contrôles internes commercialisés par Abbott.
- **Automate Vitros 4600, Vitros 5600, Vitros 5.1 Fusion** (Ortho Clinical Diagnostics). Réactifs et contrôles internes commercialisés par Ortho Clinical Diagnostics.
- **Automate Optilite – Optimised Protein System** (The Binding Site Group LTD) (haptoglobine seulement). Réactifs, standards et contrôles internes de qualité du fournisseur (*The Binding Site Group LTD*) pour l'haptoglobine. [voir **Remarque G**]

Pour les dosages de l'haptoglobine et de l'apolipoprotéine A1 effectués sur les automates indiqués ci-dessus, les contrôles qualité externes sont obligatoires en France et fortement recommandés pour les autres pays.

Les résultats des protéines sont exprimés en gramme par litre (g/l).

Mesure des activités de la GGT, ALAT et ASAT

L'homogénéité des résultats des activités enzymatiques (GGT, ALAT, ASAT) entre le système analytique utilisé pour la validation des FibroTest/FibroMax et les autres systèmes analytiques doit être assurée. Il est nécessaire de calibrer à l'aide du C.f.a.s (Roche Diagnostics = valeur IFCC pour ASAT, ALAT et GGT). Indépendamment de cela, une vérification devra être faite avec le fournisseur de l'automate pour la traçabilité des résultats par rapport à une méthode de référence et/ou matériel de référence (16-22).

- **Automates Hitachi 917, Modular P, Integra 400, Cobas 6000 et Cobas 8000** (Société Roche Diagnostic). Réactifs commercialisés par Roche Diagnostics.

Les méthodes utilisées sont standardisées par rapport à la méthode IFCC.

Les mesures des activités enzymatiques ALAT et ASAT sont effectuées avec phosphate de pyridoxal à 37°C et calibrées à l'aide du C.f.a.s (Calibrator For Automated Systems – Société Roche Diagnostic). La GGT est mesurée selon la méthode Szasz pour les automates de Roche Diagnostics. Afin de sécurier la transférabilité des résultats, la GGT doit être calibrée à l'aide du C.f.a.s en utilisant la valeur cible de la méthode IFCC. Les contrôles qualité interne sont commercialisés par Roche Diagnostics.

- **Automates Dimension-RxL, ArX et XPAND** (Siemens Healthcare Diagnostics, anciennement Société Dade-Behring). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates.
- **Automates AU5800, AU400, AU480, AU600, AU640 et AU2700** (Société Beckman Coulter, anciennement Olympus). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates. *[Remarque E]*
- **Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60, Prime** (Société Thermo Fisher Scientific). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates. Depuis 2007, ces automates sont désormais commercialisés par la Société Siemens sous les dénominations respectives **T20**, **T20XT**, **T30**, **T60** et **T60 Nouvelle Génération**.

- **Automate Architect c8000** (Société Abbott).
Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates. Calibration CFAS (Roche Diagnostics) pour les mesures des activités enzymatiques de GGT, ALAT, ASAT.
- **Automate Advia 1650** (Société Siemens Medical Solutions Diagnostics, anciennement Bayer Diagnostics).
Réactifs, standards et contrôles commercialisés par le fournisseur des automates.
- **Automates Vitros 4600, Vitros 5600, Vitros 5.1 Fusion (Ortho Clinical Diagnostics)**. Réactifs, standards et contrôles internes commercialisés par le fournisseur des automates.

En résumé :

- Pour la GGT : méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence décrite par l'IFCC. (19). Pour les automates Roche, la GGT doit être mesurée avec la méthode Szasz qui se rapproche beaucoup de la méthode IFCC. La calibration est effectuée à l'aide du C.f.a.s. en utilisant la valeur IFCC de la GGT (et non la valeur Szasz de la GGT).
- Pour l'ALAT : méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence à 37°C décrite par l'IFCC et avec du **phosphate de pyridoxal**. (20-21)
- Afin de sécuriser la transférabilité des résultats des activités enzymatiques (GGT, ALAT, ASAT) entre le système analytique utilisé pour la validation des FibroTest/FibroMax et les autres systèmes analytiques, il est nécessaire :
 - soit de calibrer à l'aide du CFAS (valeur IFCC pour ASAT, ALAT et GGT),
 - soit d'inclure ce calibrateur dans la série des échantillons à analyser afin de déterminer, si besoin, un facteur permettant de corriger les résultats.

Dans tous les cas et avant de calculer un FibroTest/FibroMax, il est important de vérifier la traçabilité des résultats obtenus avec le fournisseur de l'automate.

- Les contrôles qualité externe sont obligatoires en France et fortement recommandés pour les autres pays.
- Les activités enzymatiques de la GGT, de l'ALAT et de l'ASAT sont exprimées en Unités Internationales par litre (UI/l).

Dosage de la bilirubine totale

- Automates Hitachi 917, Integra 400, Modular P, Cobas 6000 et Cobas 8000 (Société Roche Diagnostic).

Réactifs et contrôles commercialisés par la Société Roche Diagnostics.

Méthodes de dosage : diazoréactions selon Jendrassik Grof (23) pour l'Hitachi 917, selon Malloy-Evelyn (24) pour l'Integra 400, selon Wahlefeld (25) pour le Modular.

Les différentes méthodes ont été initialement calibrées avec le C.F.A.S Roche Diagnostics.

- Automates Dimension-RxL, ArX et XPAND (Siemens Healthcare Diagnostics, anciennement Dade Behring). Méthode analytique : diazoréaction selon la méthode de Doumas modifiée (26). Réactifs, standards et contrôle interne sont commercialisés par Siemens.
- Automates AU5800, AU400, AU600, AU640 and AU2700 (Beckman, anciennement Olympus). Méthode analytique : diazoréaction (DPD). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Beckman Coulter.
- Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60, Prime (Thermo Fisher Scientific). Méthode analytique : diazoréaction (DPD). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Thermo Fischer. Depuis 2007, les automates sont commercialisés par Siemens sous les noms respectifs de **T20**, **T20XT**, **T30**, **T60** et **T60 Nouvelle Generation**.
- Automate Architect c8000 (Abbott). Méthode analytique : diazoréaction (accélérateur surfactant non décrit par le fournisseur). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Abbott.
- Automate Advia 1650 analyzer (Siemens Medical Solutions Diagnostics). Méthode analytique : diazoréaction (DPD). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Siemens.

- Vitros 4600, Vitros 5600, Vitros 5.1 Fusion (Ortho Clinical Diagnostics). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Ortho Clinical Diagnostics.

Remarques

Comme précédemment recommandé et quelque soit l'automate utilisé, le biologiste doit vérifier avec le fournisseur la traçabilité des résultats avec une méthode ou matériel de référence. Le contrôle qualité externe est fortement recommandé et **obligatoire en France**.

Les résultats sont exprimés en micromoles par litre ($\mu\text{mol/L}$).

Table 1: Automates et dosages du FibroTest/FibroMax

Cette liste est provisoire. Des études sont en cours pour l'étendre à des automates et réactifs proposés par d'autres fournisseurs.

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Alpha-2 macroglobuline	<i>Siemens Healthcare Diagnostics</i> (anciennement Dade Behring) BN2 BN-Prospec Vista	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie	g/L
	<i>Beckman Coulter</i> Image	Beckman	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie [Remarque C]	g/L
	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P ou Integra 400 canal utilitaire	Diagam ou Dako Cytomation	ERM DA 470k (CRM 470) ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie Pas de facteur pour Diagam [Remarque D] Turbidimétrie Correction pour Dako [Remarque B]	g/L
	Cobas 6000 Cobas 8000	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie Pas de facteur pour Diagam [Remarque D]	
	<i>Beckman Coulter</i> (anciennement Olympus) AU5800 (AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700)	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	Synchron LX DXC	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	
	<i>Thermo Fischer Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Diagam ou Dako Cytomation	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie Pas de facteur de correction pour Diagam [Remarque D]	g/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Alpha-2 macroglobuline	Siemens Healthcare <u>Diagnostics</u> (Anciennement Bayer <u>Diagnostics</u>) Advia 1650	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<u>Abbott</u> Architect c8000	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<u>Ortho-Clinical Diagnostics</u> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<u>The Binding Site Group LTD</u> Optilite – Optimised Protein System	The Binding Site Group LTD	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
Haptoglobine	Siemens Healthcare <u>Diagnostics</u> (anciennement Dade- <u>Behring</u>) BN2 BN-Prospec Vista	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie	g/L
	<u>Beckman Coulter</u> Image	Beckman Coulter	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie [Remarque C]	g/L
	<u>Roche Diagnostics</u> Modular P Hitachi 917 Integra 400 Cobas 6000 Cobas 8000	Roche Diagnostics ou Diagam Roche Diagnostics	ERM DA 470k (CRM 470) ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque D] Turbidimétrie	g/L
	Siemens Healthcare <u>Diagnostics</u> (anciennement Dade- <u>Behring</u>) Dimension-RXL, ArX and XPand	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque A]	g/L
	<u>Beckman Coulter</u> (anciennement Olympus) AU5800 (AU400, AU480, AU600, AU680, AU640, AU2700)	Beckman	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque E]	g/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Haptoglobine	<i>Thermo Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Scientific	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (formerly Bayer)</i> Advia 1650	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000	Abbott	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<i>The Binding Site Group LTD</i> Optilite – Optimised Protein System	The Binding Site Group LTD	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
Apolipoprotéine A1	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (formerly Dade- Behring)</i> BN2 BN-Prospec Vista	Siemens	WHO-IFCC SP1-01	Néphélométrie	g/L
	<i>Beckman Coulter</i> Immage	Beckman Coulter	WHO-IFCC SP1-01	Néphélométrie [Remarque C]	g/L
	<i>Roche Diagnostics</i> Modular P Hitachi 917 Integra 400	Roche Diagnostics Ou Diagam	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie <i>Pas de facteur</i> [Remarque D]	g/L
	<i>Cobas 6000 Cobas 8000</i>	Roche Diagnostics			
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade- Behring)</i> Dimension RXL, ArX and Xpand	Siemens	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie [Remarque A]	g/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Apolipoprotéine A1	<i>Beckman Coulter</i> (anciennement <i>Olympus</i>) AU400 / AU600 / AU640 / AU2700 AU5800 (AU480, AU680) et AU400, AU600, AU640, AU2700	Beckman (OSR6142) Diagam	WHO-IFCC SP1-01 WHO-IFCC SP1-01 et SP1-03	Turbidimétrie Turbidimétrie [Remarque E]	g/L
	<i>Thermo Fischer scientific</i> (<i>Konelab</i>) T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Fisher Scientific	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie	g/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics</i> (anciennement <i>Bayer</i>) Advia 1650	Siemens	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie Facteur de correction [Remarque F]	g/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000	Abbott	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie	g/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie	g/L
GGT	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P Integra 400 Cobas 6000 Cobas 8000	Roche	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode de Szasz en conformité avec la méthode de référence IFCC C.f.a.s – valeur GGT IFCC	IU/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics</i> (anciennement <i>Dade-Behring</i>) Dimension-RXL, ArX et XPAND Vista	Siemens	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC [Remarque A]	IU/L
	<i>Beckman Coulter</i> (anciennement <i>Olympus</i>) AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700, AU5800	Beckman	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	IU/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
GGT	<i>Thermo Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Fisher Scientific	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	IU/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Bayer)</i> Advia 1650	Siemens	Méthode IFCC modifiée	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	IU/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000	Abbott	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC. Calibration C.f.a.s Roche	IU/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	IU/L
Bilirubine Totale	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P Integra 400 Cobas 6000 Cobas 8000	Roche Diagnostics	Technique de référence de Doumas (25) Standard de référence par le SRM	Diazoréaction: Jendrassik Grof (22) modifiée par Wahlefeld (24); Malloy-Evelyn (23)	µmol/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade Behring)</i> Dimension-RXL, ArX et XPAND Vista	Siemens	Technique de référence de Doumas (25) Standard de référence par le SRM	Diazoréaction Méthode de Doumas modifiée [Remarque A]	µmol/L
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> AU5800 (AU400, AU480 AU600 AU640, AU680 AU2700)	Beckman	Technique de référence de Doumas (25) Standard de référence par le SRM	Diazoréaction (DPD)	µmol/L
	<i>Thermo Fischer Diagnostics (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Fisher Scientific	Malloy Evelyn	Diazoréaction (DPD)	µmol/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Bilirubine Totale	<i>Siemens Healthcare Diagnostics</i> (anciennement Bayer) Advia 1650	Siemens	Méthode de référence AACC	Oxydation par le vanadate	µmol/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000	Abbott	NIST SRM 916a	Diazoréaction	µmol/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	Standard de Référence par le SRM	Diazoréaction	µmol/L
ALT	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular Integra Cobas 6000 Cobas 8000	Roche Diagnostics	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	IU/L
	<i>Siemens (anciennement Dade Behring)</i> RxL Dimension RXL ArX XPAND Vista	Siemens	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	IU/L
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> AU5800 (AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700)	Beckman	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	IU/L
	<i>Thermo Fisher Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Generation	Thermo Fisher Scientific	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	IU/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (formerly Bayer Diagnostics)</i> Advia 1650	Siemens	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	IU/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
ALT	<i>Abbott</i> Architect c8000	Abbott	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC. Calibration C.f.a.s Roche	IU/L
	<i>Ortho-CD</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	Méthode de référence IFCC avec phosphate de pyridoxal (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC.	IU/L

Table 2: Méthodes d'analyse préconisées pour les dosages complémentaires du FibroMax: ASAT, cholestérol total, triglycérides, glycémie à jeun

Paramètres	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
ASAT	Méthode de référence IFCC avec du phosphate de pyridoxal	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC. (Calibration initiale avec CFAS Roche pour l'Architect c8000 de Abbott)	UI/l
Cholesterol Total	Test colorimétrique (27)	Méthode enzymatique standardisée par hydrolyse enzymatique des esters de cholestérol suivie d'une réaction de Trinder	mmol/l
Triglycerides	Test colorimétrique (27)	Méthode enzymatique standardisée par hydrolyse enzymatique des esters de cholestérol suivie d'une réaction de Trinder	mmol/l
Glycémie à jeun	Test UV (28)	Méthode de référence à l'héxokinase	mmol/l

Pour ces paramètres, la transférabilité des résultats a été vérifiée sur les automates listés ci-dessus.

Dans le cas d'une utilisation d'automates différents de ceux listés ci-dessus, merci de contacter BioPredictive (contact@biopredictive.com)

Pour les automates déjà en place dans les laboratoires, s'assurer auprès des fournisseurs que la traçabilité des résultats aux systèmes de référence a été vérifiée, en accord avec les Directions Européennes DIVD mises en place fin 2003. Si des corrections sont à apporter à la programmation des tests, bien s'assurer auprès des fournisseurs qu'elles ont été faites sur l'automate utilisé.

Remarque A – Dimension RXL, ARX et XPAND

Une étude sur 150 patients atteints d'hépatite C chronique a permis de valider le FibroTest sur les automates de la Gamme Dimension. L'alpha2macroglobuline n'est pas disponible sur les automates de la Gamme Dimension.

Contact Siemens Healthcare Diagnostics: Mr. Didier HEULS –*Chef de Ventés Siemens Healthcare SA/NV*; Tél +32 253 69510; [mail: didier.heuls@siemens.com](mailto:didier.heuls@siemens.com)

Remarque B – Réactifs Dako Cytomation

Une étude comportant 146 patients a permis de valider le dosage turbidimétrique de **l'alpha2-macroglobuline** avec réactifs Dako Cytomation sur les automates Roche Diagnostics (11). Une différence d'environ 15% entre la néphélométrie (BN2) et la turbidimétrie (automates Roche) a été observée pour le dosage de l'alpha2macroglobuline avec réactifs Dako Cytomation. Dans le cadre du FibroTest, l'introduction d'un *facteur de correction pour Modular et pour Cobas Intégra* est nécessaire pour assurer la concordance des résultats entre le système de référence dans le cadre du FibroTest (néphélométrie BN2). Ces facteurs de correction ont été établis dans des conditions analytiques très strictes et sont disponibles auprès de BioPredictive.

Le biologiste désireux de réaliser le dosage de l'alpha2-macroglobuline dans le cadre du FibroTest sur automate Roche Diagnostics, devra se conformer aux recommandations suivantes:

- Utiliser les réactifs, calibrateur et contrôles DakoCytomation.
- Se conformer aux instructions de la fiche technique d'adaptation fournie par Roche Diagnostics pour les automates Modular P et Cobas Intégra.

- Pour chaque série de dosage, les deux contrôles de niveaux doivent être introduits pour DakoCytomation.
- Les valeurs de contrôles doivent être impérativement comprises entre plus ou moins 5 % de la valeur cible annoncée par le fabricant.
- Appliquer le facteur de correction après validation de la série.

Roche Diagnostics :

Hotline France: +33 4 76 76 30 65; mail : diagassistance@roche.com

Monde: Mr. Didier GARRY-*Chef de Produit SWA*- Tél +33 4 76 76 31 44; mail: didier.garry@roche.com

Tél DAKO CYTOMATION: (Fournisseur ELITechGroup SOLUTIONS):

Contact France: Tél +33 4 83 36 10 82; mail: commandes@elitechgroup.com

Monde (export): Mr. Romain BERGEAUT, Tél +33 1 41 45 07 10 ; mail: r.bergeaut@elitechgroup.com

Remarque C – Beckman Coulter

Différentes études comparatives des résultats des protéines de FibroTest-ActiTest (alpha2-macroglobuline, apolipoprotéine A1, haptoglobine) ont été réalisées entre les néphélémètres de la Société Beckman Coulter et les néphélémètres BN2 et BNProspect de la Société Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade Behring). Les résultats de ces études ont conduit à des modifications concernant le dosage **d'alpha2-macroglobuline** (nouvel antisérum) afin d'obtenir des résultats similaires à ceux obtenus dans le laboratoire ayant validé le FibroTest. En l'état actuel, les résultats **d'apolipoprotéine A1** obtenus sur automate Immage nécessitent d'être corrigés par un facteur établi au cours de deux études différentes. Néanmoins, ce problème a été résolu en 2007 par une étude interne (Beckman Coulter) montrant la bonne transférabilité des résultats de l'Apolipoprotéine A1 entre Immage et BN2 ainsi qu'entre LX et Immage. Le facteur de correction n'est plus nécessaire.

Contacter la Société Beckman Coulter (Mme Susi PRINZIS -*Chef de Produit Biochimie Clinique*- Tél +33 1 49 90 91 70 ou le standard +33 1 49 90 90 00; mail: sprinzis@beckman.com) pour plus d'information sur les réactifs à utiliser pour l'alpha2-macroglobuline et l'apolipoprotéine A1.

Remarque D – Réactifs Diagam

Les réactifs de la Société Diagam ont été évalués sur les automates Modular (Société Roche Diagnostics) pour les dosages turbidimétriques des protéines du FibroTest (alpha2-macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine A1). Leur application est désormais disponible pour différents automates et les résultats des dosages ne nécessitent pas de facteur de correction.

Contacter la Société Diagam (Mr. Gilbert Ameryckx -*CEO Diagam* - Tél : +32 495 255 080 ou Mob +32 684 439 068; mail: mail@diagam.com)

Remarque E – Automates AU (Beckman Coulter, anciennement Olympus)

Une étude sur 150 patients avec maladies chroniques du foie a permis de valider le FibroTest et FibroMax sur le AU5800 ainsi que sur la Gamme AU utilisant les mêmes réactifs et méthodes analytiques. Le dosage de l'alpha2macroglobuline est réalisé, lui, avec réactifs Diagam. Le dosage de l'apolipoprotéine A1 est réalisé avec des réactifs Diagam sur le AU5800 et automates similaires de la gamme (AU480 et AU680).

Contacter la Société Beckman (ou l'ancienne société Olympus) Mme. Susi PRINZIS -*Chef de Produit Biochimie Clinique* -Tel: +33 1 49 90 91 70 ou le standard +33 1 49 90 90 00 ; mail: sprinzis@beckman.com.

Remarque F – Apolipoprotéine A1 sur Advia 1650

En ce qui concerne l'apolipoprotéine A1 sur Advia 1650 (référence 03050910) un facteur correctif doit être appliqué aux résultats. Ce facteur de correction est établi dans des conditions analytiques très strictes et est disponible auprès de BioPredictive.

Contact Siemens Healthcare Diagnostics: Mr. Didier HEULS, *Chef des Ventés Siemens Healthcare SA/NV* ; Tel +32 253 69510 ; mail: didier.heuls@siemens.com

Remarque G - Apolipoprotéine A1 sur automate Optilite (Optimized Protein System)

Une étude de transférabilité a validé les réactifs de l'alpha2-macroglobuline et l'haptoglobine (The Binding Site Group LTD) pour l'utilisation de FibroTest et FibroMax sur l'automate OPTILITE (Optimized Protein System). L'apolipoprotéine A1 n'est actuellement pas disponible sur les analyseurs OPTILITE; une étude de transférabilité de l'apolipoprotéine A1 est actuellement en cours.

Contact The Binding Site Group LTD: Mr. Mark Perkins – *Chef de Produit des Dosages à l'International* - Tél: +44 (0) 121 456 9651 ; mail: mark.perkins@bindingsite.co.uk

C – Références

1. Poynard T, Morra R, Ingiliz P, Imbert-Bismut F, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Massard J, Benhamou Y, Ratziu V. Biomarkers of liver fibrosis. *Adv Clin Chem.* 2008;46:131-60. Review.
2. Halfon P, Munteanu M, Poynard T. FibroTest-ActiTest as a non-invasive marker of liver fibrosis. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32:22-39.
3. Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrec D, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, de Ledinghen V. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol.* 2007;7:40.
4. Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, Delaporte G, Doutheau D, Klump T, Sala M, Thibaud D, Trepo E, Thabut D, Myers RP, Poynard T. A prospective assessment of the inter-laboratory variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) in patients with chronic liver disease. *Comp Hepatol.* 2002;1:3.
5. Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, Devers L, Hainque B, Mercadier A, Poynard T. Intralaboratory analytical variability of biochemical markers of fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest) and reference ranges in healthy blood donors. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42:323-33.
6. Morra R, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Messous D, Ratziu V, Poynard T. FibroMAX: towards a new universal biomarker of liver disease? *Expert Rev Mol Diagn.* 2007;7:481-90. Review.
7. Munteanu M, Messous D, Thabut D, Imbert-Bismut F, Jouys M, Massard J, Piton A, Bonyhay L, Ratziu V, Hainque B, Poynard T. Intra-individual fasting versus postprandial variation of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest). *Comp Hepatol.* 2004;3:3.
8. Messous D, Munteanu M, Morra R, Piton A, Poynard T, Hainque B, Imbert-Bismut F. Time impact of serum storage temperature on stability of important liver enzymes and proteins, and on FibroTest-ActiTest results. *Clinica Chimica Acta.* 2005;335:400.
9. Rosenthal-Allieri MA, Peritore M, Tran A, Halfon P, Benzakena S, Bernada A. Analytical variability of the FibroTest proteins. *Clin Biochem* 2005;38:473-8.
10. Rosenthal-Allieri MA, Tran A, Halfon P, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Peritore ML, Poynard T, Bernard A. Optimal correlation between different instruments for FibroTest-ActiTest protein measurement in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterol Clin Biol.* 2007;31:815-21.
11. Piton A, Messous D, Imbert-Bismut F, Berges J, Munteanu M, Poynard T, Hainque B. Alpha2-macroglobulin immunoturbidimetric assays (DakoCytomation

- reagents) on Roche Diagnostic analysers (Modular P, Cobas Integra). Application to FibroTest-ActiTest (FT-AT). *Ann Biol Clin.* 2005;63:385-95.
12. Imbert-Bismut F, Messous D, Raoult A, Poynard T, Bertrand JJ, Marie PA, Louis V, Audy C, Thouy JM, Hainque B, Piton A. Results transferability on RXL, ARX, X-Pand, BN2 (Dade Behring) and modular DP (Roche Diagnostics) analysers: application to component assays of FibroTest and ActiTest. *Ann Biol Clin.* 2005;63:305-13.
 13. Bienvenu J, Doche C, Later R, Manceaux J.C, Pontet E, Pressac M, Vassault A, Dumont G. Améliorations apportées par le matériau de référence CRM 470 dans la standardisation du dosage des protéines sériques. *Ann Bio Clin.* 1997;55:37-40.
 14. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J, Blaabjerg O, Blirup- Jensen S, Carlstrom A, Petersen PH, Johnson AM, Milford- Ward A, Ritchie RF, Svendsen PJ, Whicher J. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the commission of the European Communities . College of American Pathologists. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1996;34:517-20.
 15. Albers J.J, Marcovina S.M, and H. Kennedy International Federation of Clinical Chemistry Standardization Project for Measurement of Apolipoproteins A1 and B. II Evaluation and Selection of Candidate Reference Materials. *Clin Chem.* 1992;38:658-62.
 16. Myara A, Ferard G, Guéchet J, Imbert-Bismut F, Lasnier E, Piton A, Voitot H, Dhumeaux D. Calibration to achieve standardization in enzymology, example of ALT. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39, Special Supplement pp S1-S448.
 17. Groupe de Travail SFBC (Lessinger J.M, Doffoel S, Ferard G, Grafmeyer D, Schiele F, Vassault A, Vialle A) -Assurance de Qualité en Enzymologie Clinique- et Hépatites-(Myara A, Guéchet J, Imbert-Bismut F, Lasnier E, Piton A, Voitot H). Le calibrage en enzymologie clinique : principe, conditions d'application et résultats. *Ann Biol Clin.* 2002;60:281-6.
 18. Ferard G, Piton A, Messous D, Imbert-Bismut F, Frairi A, Poynard T, Lessinger JM. Intermethod calibration of alanine aminotransferase (ALT) and gamma-glutamyltransferase (GGT) results: application to FibroTest and ActiTest scores. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 400-6.
 19. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N, Lessinger JM, Linsinger TP, Misaki H, Panteghini M, Pauwels J, Schiele F, Schimmel HG, Weidemann G, Siekmann L; International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C.

- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 6. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of gamma-glutamyltransferase. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:734-8.
20. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N, Lessinger JM, Linsinger TP, Misaki H, Panteghini M, Pauwels J, Schiele F, Schimmel HG, Weidemann G, Siekmann L; International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 4. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:718-724.
21. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N, Lessinger JM, Linsinger TP, Misaki H, Panteghini M, Pauwels J, Schiele F, Schimmel HG, Weidemann G, Siekmann L; International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:725-731.
22. Férard G, Imbert-Bismut F, Messous D, Piton A, Abella A, Burnat P, Hainque B, Glasser N, Lessinger JM. Influence of pyridoxal phosphate in measuring aminotransferases activities in patients with viral hepatitis. *Ann Biol Clin.* 2004;62:717-20. French.
23. Jendrassik Grof. Vereinfachte Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blutbilirubins. *Biochem Z.* 1938;297:8189.
24. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with photoelectric colorimeter *J Biol Chem.* 1937;19:984-93.
25. Wahlefeld AW, Herz G, Bernt E. Modification of the Malloy-Evelyn method for a simple, reliable determination of total bilirubin in serum. *Scand J Clin Lab Invest.* 1972;29,supp 26, Abstract 11-12.
26. Doumas BT, Perry BW, Sasse EA, Straumfjord JV Jr. Standardization in bilirubin assays: evaluation of selected methods and stability of bilirubin solutions. *Clin Chem.* 1973;19:984-93.
27. Trinder P. *Ann Clin Biochem.* 1969;6:24.
28. Peterson JL and Young DS. *Anal Biochemistry.* 1958;23:301.
29. Thierry Poynard, Mona Munteanu, Olivier Deckmyn, Yen Ngo, Fabienne Drane, Djamila Messous, Jean Marie Castille, Chantal Housset, Vlad Ratziu, Françoise Imbert-Bismut. Applicability and precautions of use of liver injury biomarker FibroTest. A reappraisal at 7 years of age. *BMC Gastroenterol.* 2011;11:39.

30. Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:1449-57.
31. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, Messous D, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem*. 2004;50:1344-55.

D – Précautions d'emploi

Compte tenu des différents facteurs de risque de faux positifs et de faux négatifs (29) les précautions suivantes doivent être signalées aux utilisateurs :

- Respecter les recommandations analytiques pour l'utilisation des automates et des réactifs.
- Différer la prescription en cas de situation transitoire favorisant une modification des composants de FibroTest :
 - Hémolyse aiguë (Accès palustre, médicaments entraînant une hémolyse comme la ribavirine, l'azathioprine) susceptible de diminuer l'haptoglobine et d'augmenter la bilirubine non conjuguée.
 - Hépatite aiguë quelle qu'en soit la cause, médicamenteuse, virale (surinfection par virus HAV, HBV, EBV), ou auto-immune. La nécrose hépatique massive, entraîne une augmentation majeure des transaminases et de la bilirubine totale.
 - Inflammation aiguë comme une infection bactérienne ou virale aiguë concomitante : infection broncho-pulmonaire ou urinaire. L'augmentation importante de l'haptoglobine peut entraîner des résultats à risque de faux négatifs.
 - Cholestase extra-hépatique, comme une lithiase biliaire.
- Demander l'avis d'un spécialiste des maladies du foie pour l'interprétation lors de situation chronique où les composants peuvent être modifiés :
 - Hémolyse chronique en particulier chez les patients ayant une valve cardiaque.
 - Maladie de Gilbert.
 - Les inhibiteurs de protéases utilisés dans l'infection VIH peuvent augmenter la bilirubine non conjuguée (Indinavir, Atazanavir) ou les GGT et ALAT (Ritonavir)
- L'interprétation de FibroTest a été validée chez les transplantés rénaux.
- Chez les patients avec insuffisance rénale ou en dialyse, le FibroTest a une valeur diagnostique acceptable, moindre par rapport aux transplantés. De nouvelles études sont nécessaires.
- D'une façon générale l'existence de valeurs extrêmes de l'un des six composants doit entraîner une prudence dans l'interprétation des résultats, en particulier :
 - Haptoglobine inférieure à 0,12 g/L, où une hémolyse ou l'anhaptoglobinémie (plus fréquente chez les patients de l'Afrique de l'ouest) doivent être éliminées
 - Haptoglobine supérieure à 3.2 g/L, où une inflammation aiguë doit être éliminée

- Transaminases ALAT supérieures à 622 UI/L où une hépatite aiguë doit être éliminée
- Bilirubine supérieure à 30 micromoles/L et GGT inférieure à 50 UI/L où une maladie de Gilbert doit être suspectée.
- Alpha2-macroglobuline supérieure à 5.9g/l.

En cas de discordance entre le résultat d'une biopsie et d'un FibroTest, il est conseillé d'en discuter avec un spécialiste des maladies du foie. Les causes de ces discordances peuvent être dues à un défaut du FibroTest précédemment énuméré ou à un défaut de la biopsie. La biopsie du foie, même dans les conditions de qualité (un seul fragment, taille d'au moins 15 mm et nombre d'espaces portes au moins égal à 5), a une variabilité intrinsèque (entre 2 biopsies du même foie) importante : variabilité d'au moins un stade de fibrose dans 33% des cas et d'au moins un grade d'activité dans 24% des cas. (29) Une étude prospective a montré que des discordances importantes, d'au moins 2 stades et deux grades entre FibroTest–ActiTest et la biopsie, pratiqués le même jour ont été observées chez 28.7% et était attribués à la biopsie dans 18.1% des cas. (30)

E – Contact

Nous sommes à votre disposition pour toute information complémentaire :

Site Internet <http://biopredictive.com>

Email contact@biopredictive.com

Tel +33 1 84 79 23 90

Fax +33 1 84 79 03 07

Adresse postale 218 Boulevard Saint Germain

75007 PARIS

France