

Recommandations Techniques pour la réalisation du FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest

Guide pour les biologistes et les laboratoires d'analyses médicales



BioPredictive
218 Boulevard Saint-Germain
75007 PARIS
FRANCE

Version 3.5.3

Dernière Modification : 2022-01-06

Table des matières

Table des matières	2
Introduction	4
Description de la gamme de produits BioPredictive.....	4
<i>Tests hépatiques</i>	4
<i>Packages de tests</i>	4
FibroTest-ActiTest.....	5
FibroMax.....	6
NASH-FibroTest.....	6
Conditions d'utilisation	7
Les différentes analyses biologiques.....	7
A - Etape pré-analytique	9
Prélèvements sanguins.....	9
Interférences	9
B - Méthodes analytiques et automates utilisés pour les dosages FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest	10
Méthodes.....	10
Fournisseurs et automates	11
Automates et méthodes analytiques évalués pour une bonne transférabilité des résultats du FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest	12
Dosages des protéines.....	12
<i>a) Méthodes immunonéphélométriques</i>	12
<i>b) Méthodes immunoturbidimétriques</i>	12
Mesure des activités de la GGT, ALAT et ASAT.....	14
Dosage de la bilirubine totale.....	16
Tableau 1: Automates et dosages du FibroTest-ActiTest/FibroMax/NASH-FibroTest.....	17
Tableau 2: Méthodes d'analyse préconisées pour les dosages complémentaires du FibroMax et NASH-FibroTest : ASAT, cholestérol total, triglycérides, glycémie à jeun	23
C – Références	26
D – Précautions d'emploi	29
E – Contact	30

Introduction

BioPredictive est une compagnie biopharmaceutique indépendante, basée en France qui produit et commercialise des tests diagnostiques pour les maladies hépatiques.

Description de la gamme de produits BioPredictive

Tests hépatiques

La gamme des produits BioPredictive est composée de tests diagnostiques sanguins faciles à réaliser et à interpréter.

- **FibroTest**, évalue la fibrose hépatique et la cirrhose,
- **ActiTest**, évalue l'activité nécrotico-inflammatoire,
- **SteatoTest** (versions 1 et 2), évalue la surcharge hépatique en graisse (stéatose ou foie gras),
- **NashTest** (versions 1 et 2), évalue l'inflammation hépatique (NASH) pour les maladies métaboliques,
- **AshTest**, évalue l'inflammation pour la maladie alcoolique du foie,
- **HCV Geno-FibroTest**, combine la génomique avec le FibroTest pour prévoir la réponse virologique soutenue de certains traitements du VHC,
- **SteatoScreen**, est un test de dépistage pour les maladies métaboliques,
- **Elasto-FibroTest**, est une combinaison du FibroTest et des résultats d'élastométrie pour une meilleure évaluation de la fibrose hépatique à l'aide des dispositifs d'élastographie.

Chaque test est accompagné d'un score et de sa traduction en stade/grade pour faciliter l'interprétation.

Packages de tests

La plupart des tests BioPredictive sont proposés sous forme de package de tests. Ces packages permettent aux médecins, en utilisant une seule ordonnance, de bénéficier d'un diagnostic clair et approfondi nécessaire à une décision médicale appropriée.

BioPredictive propose les packages suivants :

- **FibroTest-ActiTest**, incluant FibroTest et ActiTest
- **FibroMax**, incluant FibroTest, ActiTest, SteatoTest, NashTest et AshTest
- **NASH-FibroTest**, incluant FibroTest, SteatoTest 2, NashTest 2, ActiTest et AshTest

FibroTest-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)

FibroTest-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 multiples études cliniques, sont brevetés.

FibroTest-ActiTest sont des diagnostics non invasifs utilisés comme outils biologiques partout dans le monde et dont la qualité des dosages dépend de la transférabilité des résultats des dosages 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 les laboratoires, L'IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) a décrit des méthodes de référence pour le dosage des différents 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 Geno-FibroTest (combinaison du FibroTest-ActiTest, 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). (32-33)

FibroMax

Le **FibroMax** regroupe 5 tests différents (6) : 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 pour l'évaluation de la stéatose et de la stéato-hépatite métabolique et alcoolique.

- 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).

Les mêmes recommandations sont applicables pour le SteatoScreen (combinaison de FibroTest et SteatoTest). (34)

NASH-FibroTest

Le **NASH-FibroTest** regroupe 5 tests différents : FibroTest, SteatoTest 2, NashTest 2, ActiTest et AshTest. NASH-FibroTest est proposé pour les patients atteints de maladies métaboliques du foie (stéatohépatite métabolique) ayant les facteurs de risques suivants : surpoids, diabète, hyperlipémie. (35, 36)

- SteatoTest 2 est calculé à partir des résultats de plusieurs dosages : alpha2 macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine A1, Gamma GT, ALAT, ASAT, cholestérol total, triglycérides et glycémie à jeun ajusté en fonction de l'âge et du sexe. Contrairement à la première génération de SteatoTest, le poids, la taille et la bilirubine totale ne sont plus nécessaires au calcul du SteatoTest 2.
- NashTest 2 est calculé à partir des résultats de plusieurs dosages : alpha2 macroglobuline, haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine totale, Gamma GT, ALAT, ASAT, cholestérol total, triglycérides et glycémie à jeun ajustés en fonction de l'âge et du sexe. Par rapport à la première génération de NashTest, le poids et la taille ne sont plus nécessaires au calcul du NashTest 2.
- ActiTest et AshTest sont inclus car ils peuvent être utiles lorsqu'une stéatohépatite non alcoolique est associée à une hépatite virale chronique (ActiTest) ou à une consommation excessive d'alcool (AshTest).

Conditions d'utilisation

Les biologistes des laboratoires d'analyses de biologie médicale souhaitant calculer des FibroTests, FibroMax, NASH-FibroTest et ou autres tests unitaires mentionnés ci-dessus sont tenus de prendre connaissance des conditions à respecter pour la réalisation des différentes analyses. Ces recommandations concernent les **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. (Page 12)

Les différentes analyses biologiques

Pour chaque paramètre biologique les **unités** indiquées entre parenthèse **doivent être respectées pour le calcul de chacun des tests**.

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 6 paramètres biochimiques :

- Alpha2-macroglobuline (g/L)
- Haptoglobine (g/L)
- Apolipoprotéine A1 (g/L)
- GGT (gamma glutamyl transpeptidase) (UI/L)
- Bilirubine totale (micromoles/L)
- ALAT (alanine aminotransférase) (UI/L)

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 biochimiques suivants :

- Alpha2-macroglobuline (g/L)
- Haptoglobine (g/L)
- Apolipoprotéine A1 (g/L)
- GGT (gamma glutamyl transpeptidase) (UI/L)

- Bilirubine totale (micromoles/L)
- ALAT (alanine aminotransférase) (UI/L)
- ASAT (aspartate aminotransférase) (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)

Le **NASH-FibroTest** associe les paramètres biochimiques suivants :

- Alpha2-macroglobuline (g/L)
- Haptoglobine (g/L)
- Apolipoprotéine A1 (g/L)
- GGT (gamma glutamyl transpeptidase) (UI/L)
- Bilirubine totale (micromoles/L)
- ALAT (alanine aminotransférase) (UI/L)
- ASAT (aspartate aminotransférase) (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 et du sexe, pour le calcul du NASH-FibroTest. (35-36)

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 ou après un léger repas (7) sur un tube sec ou avec héparinate de lithium.
- Pour le FibroMax et le NASH-FibroTest, 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 les mêmes conditions.
- En cas de demande isolée de SteatoTest 2 ou NashTest 2 le prélèvement sanguin est identique à celui du NASH-FibroTest, à l'exception de la bilirubine pour SteatoTest 2 et doit respecter les mêmes 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 et NASH-FibroTest, 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 au maximum 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 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-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest

La transférabilité des résultats du FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest 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-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest.

Méthodes

- Les mesures des activités enzymatiques doivent être effectuées selon la méthode IFCC de référence, à 37°C, pour ALAT et ASAT (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 fiabiliser la transférabilité des résultats et homogénéiser les résultats entre le système analytique de référence 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

Attention le nom de certains fournisseurs peut être amené à changer en fonction d'éventuels regroupements.

Les fabricants d'automates soulignés ci-après ont fait l'objet d'une étude de transférabilité des résultats du FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest. 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

et AU, anciennement Olympus

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

SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS:

BN2, BNProspec (anciennement Dade Behring), Atellica NEPH 630 et Atellica CH

RxL, ArX, XPand, VISTA, anciennement Dade Behring

ADVIA 1650 (anciennement Bayer Diagnostics).

ABBOTT

ARCHITECT c8000

ALINITY c (seul ou intégré avec d'autres modules Alinity c ou i)

ROCHE DIAGNOSTICS

HITACHI 917, INTEGRA 400,

MODULAR P, COBAS 6000 et 8000,

COBAS Pro c503

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 évalués pour une bonne transférabilité des résultats du FibroTest-ActiTest, FibroMax et NASH-FibroTest

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'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).

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, BNProspec, Atellica NEPH 630** (Siemens Healthcare Diagnostics). Réactifs et contrôle interne commercialisés par Siemens.
- **Automate Immage** (Société Beckman Coulter) [voir **Remarque C**]. Nouvel antisérum du fournisseur pour l'alpha2-macroglobuline. Depuis 2007 il n'y a plus d'ajustement spécifique [voir **Remarque C**] pour le résultat de l'apolipoprotéine A1. (9-10) 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

Dosage de l'alpha-2 macroglobuline

L'alpha-2 macroglobuline 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 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, Cobas 8000 et Cobas Pro c503 (Roche Diagnostics). Réactifs Diagam [voir *Remarque D*] ou réactifs Dako Cytomation avec ajustement spécifique [voir *Remarque B*] pour les résultats de l'alpha-2 macroglobuline. Les réactifs Dako Cytomation ne sont pas validés sur Cobas 6000 et Cobas 8000. (11)
- Automates AU5800, AU400, AU480, AU600, AU640, AU680 et AU2700 (anciennement Olympus). Réactifs Diagam, standards et contrôles internes sont utilisés. (Contact BioPredictive Ref#D).
- Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60, (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 BioPredictive Ref#G).
- Automates Advia 1650 (Siemens Healthcare Diagnostics anciennement Bayer Diagnostics) et Atellica CH. Réactifs Diagam, standards et contrôles internes sont utilisés [voir *Remarque D*].
- Automates Architect c8000 et Alinity c (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 sont commercialisés par le 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, Cobas 8000 et Cobas Pro c503 (Roche Diagnostics). Réactifs et contrôles qualités internes commercialisés par Roche Diagnostics. (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 et non avec ceux du fournisseur. Contrôle qualité interne commercialisée par Beckman Coulter et Diagam.

- 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) et Atellica CH. Réactifs et contrôles internes commercialisés par Siemens Healthcare Diagnostics [voir *Remarque F*].
- Automates Architect c8000 et Alinity c (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 / NASH-FibroTest 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, Cobas 8000 et Cobas Pro c503 (Société Roche Diagnostic). Réactifs commercialisés par Roche Diagnostics.

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

Les mesures des activités enzymatiques ALAT et ASAT sont effectuées à 37°C et calibrées à l'aide du C.f.a.s (Calibrator for automated systems – Roche Diagnostic). [voir *Remarque H*]

La GGT est mesurée selon la méthode Szasz pour les automates de Roche Diagnostics. Afin de fiabiliser 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 Dade-Behring). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates.

- Automates AU5800, AU400, AU480, AU600, AU640, AU680 et AU2700 (Beckman Coulter, anciennement **Olympus**). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates. [voir *Remarque E*]
- Automates Konelab 20, 20XT, 30, 60, Prime (Thermo Fisher Scientific). Réactifs, standards et contrôles internes commercialisés par le fournisseur des automates. Ces automates sont désormais commercialisés par la Société Siemens sous les dénominations respectives **T20**, **T20XT**, **T30**, **T60** et **T60 Nouvelle Génération**.
- Automate Architect c8000 et Alinity c (Abbott). Réactifs commercialisés par le fournisseur des automates.
- Automate Advia 1650 (Siemens Healthcare Diagnostics, anciennement **Bayer Diagnostics**) et Atellica CH. 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 et ASAT : méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence à 37°C décrite par l'IFCC. (20-21) [voir *Remarque H*].

Afin de fiabiliser la transférabilité des résultats des activités enzymatiques (GGT, ALAT, ASAT) entre le système analytique utilisé pour la validation des FibroTest/FibroMax/NASH-FibroTest et les autres systèmes analytiques référencés dans ces recommandations, 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 / NASH-FibroTest, 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, Cobas 8000, Cobas Pro c503 (Roche Diagnostics).** Réactifs et contrôles commercialisés par 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, et selon Dumas pour le Cobas Pro c503.
Les différentes méthodes ont été initialement calibrées avec le C.f.a.s (Roche Diagnostics). Contrôles qualité interne commercialisés par Roche Diagnostics.
- **Automates Dimension-RxL, ArX et XPAND (Siemens Healthcare Diagnostics, anciennement Dade Behring).** Méthode analytique : diazoréaction selon la méthode de Dumas modifiée (26). Réactifs, standards et contrôle interne sont commercialisés par Siemens.
- **Automates AU5800, AU400, AU600, AU640 et 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 et Alinity c (Abbott).** Méthode analytique : diazoréaction (accélérateur surfactant non décrit par le fournisseur). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Abbott.
- **Automate Advia 1650 (Siemens Healthcare Diagnostics).** Méthode analytique : diazoréaction (DPD). Réactifs, standards et contrôles qualité interne sont commercialisés par Siemens.
- **Automate Atellica CH (Siemens Healthineers).** Méthode analytique : Oxydation du vanadate. 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 quel que 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 ($\mu\text{mol/L}$).

Tableau 1: Automates et dosages du FibroTest-ActiTest/FibroMax/NASH-FibroTest

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 (anciennement Dade Behring)</i> BN2 BN-Prospec Vista Atellica NEPH 630 Atellica CH	Siemens Diagam	ERM DA 470k (CRM 470) ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie Turbidimétrie	g/L
	<i>Beckman Coulter</i> Immage	Beckman	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie [Remarque C]	g/L
	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P ou Integra 400 <i>canal utilitaire</i>	Diagam ou Dako Cytomation	ERM DA 470k (CRM 470) ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de facteur pour Diagam</i> [Remarque D] Turbidimétrie <i>Correction pour Dako</i> [Remarque B]	g/L
	Cobas 6000 Cobas 8000 Cobas Pro c503	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de facteur de correction pour Diagam</i> [Remarque D]	
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> AU5800 (AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700) Synchron LX DXC	Diagam Diagam	ERM DA 470k (CRM 470) ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie Turbidimétrie	g/L
	<i>Thermo Fischer Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Diagam ou Dako Cytomation	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de facteur de correction pour Diagam</i> [Remarque D]	g/L

Paramètres	Automates	Réactifs - Fournisseurs	Matériau OU méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
Alpha-2 macroglobuline	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (Anciennement Bayer Diagnostics)</i> Advia 1650	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000 Alinity c	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie <i>Pas de correction</i>	g/L
	<i>The Binding Site Group LTD</i> Optilite – Optimised Protein System	The Binding Site Group LTD	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
Haptoglobine	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade- Behring)</i> BN2 BN-Prospec Vista Atellica NEPH 630 Atellica CH	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Néphélométrie	g/L
	<i>Beckman Coulter</i> Immage	Beckman Coulter	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque C]	g/L
	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P Integra 400	Roche Diagnostics ou Diagam	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque D]	g/L
	Cobas 6000 Cobas 8000 Cobas Pro c503	Roche Diagnostics	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade- Behring)</i> Dimension-RXL, ArX et XPand	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie [Remarque A]	g/L
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> 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	<u>Thermo Scientific (Konelab)</u> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Scientific	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<u>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Bayer)</u> Advia 1650	Siemens	ERM DA 470k (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<u>Abbott</u> Architect c8000 Alinity c	Abbott	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<u>Ortho-Clinical Diagnostics</u> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
	<u>The Binding Site Group LTD</u> Optilite – Optimised Protein System	The Binding Site Group LTD	ERM DA 470 (CRM 470)	Turbidimétrie	g/L
Apolipoprotéine A1	<u>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade- Behring)</u> BN2 BN-Prospec Vista Atellica NEPH 630 Atellica CH	Siemens	WHO-IFCC SP1-01	Néphélométrie Turbidimétrie	g/L
	<u>Beckman Coulter</u> Immage	Beckman Coulter	WHO-IFCC SP1-01	Néphélométrie [Remarque C]	g/L
	<u>Roche Diagnostics</u> Hitachi 917 Modular P Integra 400 Cobas 6000 Cobas 8000 Cobas Pro c503	Roche Diagnostics Ou Diagam Roche Diagnostics	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie <i>Pas de facteur</i> [Remarque D]	g/L
	<u>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade- Behring)</u> Dimension RXL, ArX et 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 (anciennement Olympus)</i> AU400 / AU600 / AU640 / AU2700	Beckman (OSR6142)	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie	g/L
	AU5800 (AU480, AU680) et AU400, AU600, AU640, AU2700	Diagam	WHO-IFCC SP1-01 et SP1-03	Turbidimétrie [Remarque E]	
	<i>Thermo Fischer scientific (KoneLab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Génération	Thermo Fisher Scientific	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie	g/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Bayer)</i> Advia 1650	Siemens	WHO-IFCC SP1-01	Turbidimétrie Facteur de correction [Remarque F]	g/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000 Alinity c	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 Cobas Pro c503	Roche	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode de Szasz en conformité avec la méthode de référence IFCC C.f.a.s – valeur GGT IFCC	UI/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Dade-Behring)</i> Dimension-RXL, ArX et XPAND Vista	Siemens	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC [Remarque A]	UI/L
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700, AU5800	Beckman	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	UI/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	UI/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Bayer)</i> Advia 1650 Atellica CH	Siemens	Méthode IFCC modifiée JCCLS_SOP CRM-001	Méthode en conformité avec la méthode IFCC IFCC modifiée	UI/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000 Alinity c	Abbott	Méthode de référence IFCC (19)	Méthode en conformité avec la méthode IFCC	UI/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	UI/L
Bilirubine Totale	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular P Integra 400 Cobas 6000 Cobas 8000 Cobas Pro c503	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 Fisher 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 (anciennement Bayer)</i> Advia 1650 Atellica CH	Siemens	Méthode de référence AACC SRM 916	Oxydation par le vanadate	µmol/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000 Alinity c	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
ALAT	<i>Roche Diagnostics</i> Hitachi 917 Modular Integra Cobas 6000 Cobas 8000 Cobas Pro c503	Roche Diagnostics	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	UI/L
	<i>Siemens (anciennement Dade Behring)</i> RxL Dimension RXL ArX XPAND Vista	Siemens	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	UI/L
	<i>Beckman Coulter (anciennement Olympus)</i> AU5800 (AU400, AU480, AU600, AU640, AU680, AU2700)	Beckman	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	UI/L
	<i>Thermo Fisher Scientific (Konelab)</i> T20, T20XT, T30, T60, T60 Nouvelle Generation	Thermo Fisher Scientific	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC	UI/L
	<i>Siemens Healthcare Diagnostics (anciennement Bayer Diagnostics)</i> Advia 1650 Atellica CH	Siemens	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H] Méthode de référence IFCC (20)	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC IFCC modifiée P5P	UI/L
	<i>Abbott</i> Architect c8000 Alinity c	Abbott	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique avec P5P en conformité avec la méthode de référence IFCC	UI/L
	<i>Ortho-Clinical Diagnostics</i> Vitros 4600, Vitros 5600 Vitros 5.1 (Fusion)	Ortho-CD	Méthode de référence IFCC (20) [Remarque H]	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC.	UI/L

Tableau 2: Méthodes d'analyse préconisées pour les dosages complémentaires du FibroMax et NASH-FibroTest : ASAT, cholestérol total, triglycérides, glycémie à jeun

Paramètres	Matériau ou méthode de référence	Méthodes Analytiques	Unités
ASAT	Méthode de référence IFCC (19) <i>[Remarque H]</i>	Méthode enzymatique en conformité avec la méthode de référence IFCC. Méthode enzymatique avec P5P en conformité avec la méthode de référence IFCC pour ARCHITECT c8000 et Alinity c Méthode IFCC modifiée P5P pour Atellica CH	UI/L
Cholestérol Total	Test colorimétrique (27)	Méthode enzymatique standardisée par hydrolyse enzymatique des esters de cholestérol suivie d'une réaction de Trinder	mmol/L
Triglycérides	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 au tableau 1.

Dans le cas d'une utilisation d'automates différents de ceux listés au tableau 1, 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 BioPredictive Ref#A)

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.
- 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.

(contact BioPredictive Ref#B et C)

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 BNProspec 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. (Contact BioPredictive Ref#D)

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. (Contact BioPredictive Ref#E)

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

Une étude sur 150 patients avec maladies chroniques du foie a permis de valider le FibroTest / FibroMax / NASH-FibroTest sur le AU5800 ainsi que sur la Gamme AU utilisant les mêmes réactifs et méthodes analytiques. Le dosage de l'alpha2macroglobuline est réalisé 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). (Contact BioPredictive Ref#D)

Remarque F – Apolipoprotéine A1 sur Advia 1650

En ce qui concerne l'apolipoprotéine A1 sur Advia 1650 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 BioPredictive Ref#A)

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 BioPredictive Ref#F)

Remarque H – À propos de l'utilisation du pyridoxal-5-phosphate (P-5-P) pour les dosages ALAT / ASAT

Dans le cadre de l'ActiTest, l'usage de la méthode de référence IFCC avec P-5-P pour le dosage des ALAT est recommandé chez les patients présentant une déficience en vitamine B6 (37-38). Dans le cadre de SteatoTest, SteatoTest 2, NashTest, NashTest 2, FibroMax et NASH-FibroTest l'usage de la méthode de référence IFCC avec P-5-P pour les dosages des ALAT et ASAT est recommandé chez les patients présentant une déficience en vitamine B6. (37-38)

C – Références

1. Poynard T, Morra R, Ingiliz P, Imbert-Bismut F, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Massard J, Benhamou Y, Ratzu 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, Ratzu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrech 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, Ratzu 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, Ratzu 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 analyzers (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) analyzers: 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, Djamilia Messous, Jean Marie Castille, Chantal Housset, Vlad Ratzu, 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, Ratzu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem.* 2004;50:1344-55.
32. Costa JM, Telehin D, Munteanu M, Kobryn T, Ngo Y, Thibault V, Joseph M, Ratzu V, Benhamou Y, Koz'ko V, Dubins'ka G, Poveda JD, Poynard T. HCV-GenoFibrotest: a combination of viral, liver and genomic (IL28b, ITPA, UGT1A1) biomarkers for predicting treatment response in patients with chronic hepatitis C. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011;35:204-13.
33. Poynard T, de Ledinghen V, Zarski JP, Stanciu C, Munteanu M, Vergniol J, France J, Trifan A, Lenaour G, Vaillant JC, Ratzu V, Charlotte F; Fibrosis-TAGS group. Performances of Elasto-FibroTest(®), a combination between FibroTest(®) and liver stiffness measurements for assessing the stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2012;36:455-63.
34. Deckmyn O. BioPredictive 2010. SteatoScreen internal evaluation.
35. Poynard T, Peta V, Munteanu M, Charlotte F, Ngo Y, Ngo A, Perazzo H, Deckmyn O, Pais R, Mathurin P, Myers R, Loomba R, Ratzu V; FLIP consortium, the FibroFrance-CPAM group, the FibroFrance-Obese group, and the Selonsertib group. The diagnostic performance of a simplified blood test (SteatoTest-2) for the prediction of liver steatosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019;31:393-402.
36. Poynard T, Munteanu M, Charlotte F, Perazzo H, Ngo Y, Deckmyn O, Pais R, Merrouche W, de Ledinghen V, Mathurin P, Ratzu V; FLIP Consortium, the FibroFrance-CPAM Group, the FibroFrance-Obese Group. Diagnostic performance of a new noninvasive test for nonalcoholic steatohepatitis using a simplified histological reference. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2018;30:569-77.
37. Gossens K, Van Uytanghe K, Thienpont LM. Trueness and comparability assessment of widely used assays for 5 common enzymes and 3 electrolytes. *Clin Chim Acta.* 2015;442:44-5.
38. Infusino I, Frusciante E, Braga F, Panteghini M. Progress and impact of enzyme measurement standardization. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55:334-40.
39. Varaut A, Fontaine H, Serpaggi J, Verkarre V, Vallet-Pichard A, Nalpas B, Imbertbismuth F, Lebray P, Pol S. Diagnostic accuracy of the fibrotest in hemodialysis and renal transplant patients with chronic hepatitis C virus. *Transplantation.* 2005;80:1550-5.
40. Alric L, Kamar N, Bonnet D, Danjoux M, Abravanel F, Lauwers-Cances V, Rostaing L. Comparison of liver stiffness, fibrotest and liver biopsy for assessment of liver fibrosis in kidney-transplant patients with chronic viral hepatitis. *Transpl Int.* 2009;22:568-73.
41. Ratzu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T; LIDO Study Group. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2005;128:1898-906.

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.
 - Syndrome 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 et les patients avec insuffisance rénale ou en dialyse. (39, 40)
- 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 d'Afrique subsaharienne) 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 pour lesquels un syndrome de Gilbert doit être suspectée.
 - Alpha2-macroglobuline supérieure à 5.9 g/L.

En cas de discordance entre le résultat d'une ponction-biopsie hépatique 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), est limitée par les erreurs d'échantillonnages et la répartition inhomogène des lésions. Une étude utilisant comme référence une large biopsie chirurgicale a montré une discordance de 35 % pour le stade de fibrose. (30) La discordance pour le stade de fibrose était de 41% entre deux biopsies chez le même patient pratiquées le même jour. (41) Une discordance d'au moins deux stades ou deux grades d'activité entre le FibroTest et la biopsie a été estimée à 29%. (29) L'imputabilité de la discordance a été attribuée au FibroTest dans 2,4 % des cas, à la biopsie dans 18% et sans imputabilité possible dans 8,2 % des cas. (31)

E – Contact

Nous sommes à votre disposition pour toute information complémentaire :

Site Internet <http://biopredictive.com>

Email contact@biopredictive.com ou experts@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