



Mise au point

Les marqueurs sanguins non invasifs de fibrose hépatique au cours de l'infection chronique par le virus de l'hépatite C

Non invasive fibrosis serum markers in chronic hepatitis C virus infection

P. Halfon ^{a,*}, M. Bourlière ^b, G. Pénaranda ^c, P. Cacoub ^d^a Laboratoire de virologie Alphabio, 23, rue de Friedland, 13006 Marseille, France^b Service d'hépatogastroentérologie, hôpital Saint-Joseph, 26, boulevard de Louvain, 13285 Marseille cedex 08, France^c Département de biostatistiques et études épidémiologiques, CDL Pharma, 25-27, rue de Friedland, 13006 Marseille, France^d Service de médecine interne, hôpital Pitié-Salpêtrière, 91, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

Reçu le 5 janvier 2006 ; accepté le 27 mars 2006

Résumé

Propos. – La ponction-biopsie hépatique est considérée comme l'examen de référence dans le cadre de maladies fibrosantes du foie. C'est un examen invasif avec un taux de morbidité de 0,3 à 0,6 % et de mortalité jusqu'à 0,05 %. Ces dix dernières années, de nombreuses équipes ont développé des scores non invasifs de fibrose hépatique associant différents paramètres directs ou indirects de la fibrose en alternative à la biopsie hépatique. Les scores de fibrose sont calculés à partir d'algorithmes utilisant plusieurs paramètres de fibrose déterminés simultanément.

Actualités et points forts. – La performance diagnostique (aire sous la courbe) des scores chez les patients infectés par l'hépatite C varie de 0,78 à 0,90 dans le cadre du diagnostic de fibrose significative (> F2). Chez les co-infectés hépatite C-virus de l'immunodéficience humaine, la performance diagnostique varie de 0,74 à 0,88. Pour le diagnostic de cirrhose au cours des hépatites chroniques C, la performance diagnostique varie de 0,73 à 0,97.

Perspectives et projets. – Les marqueurs biologiques de la fibrose du foie représentent une réelle alternative à la ponction-biopsie hépatique par leur caractère non invasif, leur facilité de répétition et leur fiabilité. Les scores ne doivent toutefois être utilisés que dans les circonstances où ils ont été validés. L'avenir repose probablement sur la comparaison et la validation de ces scores après standardisation des méthodes de dosage.

© 2006 Publié par Elsevier SAS.

Abstract

Matter. – Liver biopsy is recommended for the management of patients infected by hepatitis C virus (HCV) and is currently the gold standard in assessing liver histology. It's an invasive test prone to complications with a morbidity rate of 0.3 to 0.6% and a mortality rate up to 0.05%. Since the last decade, researchers developed non invasive biomarkers of liver fibrosis as an alternative to liver biopsy. These scores are based on different algorithms with various combinations of biomarkers issued from extra-cellular matrix, serum and cells.

Current events. – The diagnostic performance of these scores, estimated by the AUROC for significant fibrosis (> F2), in patients with chronic hepatitis C reach 0.78 to 0.90 for the most accurate. In HIV-HCV co-infected patients and patients with hepatitis C cirrhosis the diagnostic performance of these scores reach 0.74 to 0.88 and 0.73 to 0.97 respectively.

Perspectives. – Liver fibrosis biomarkers constitutes an alternative to liver biopsy due to their non invasive approach, their easy reproducibility and accuracy. However, these scores must be used only after a validation in multicentric independent studies. The future is based on the comparison and validation of these scores after laboratory methods standardization.

© 2006 Publié par Elsevier SAS.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : philippe.halfon@alphabio.fr (P. Halfon).

115 *Mots clés* : Hépatite ; Hépatite C ; Fibrose hépatique ; Biopsie hépatique ; Marqueurs non invasifs

116 *Keywords*: Hepatitis; Hepatitis C; Liver fibrosis; Liver biopsy; Surrogate markers

1. Introduction

119 La cirrhose représente le stade évolué de la fibrose hépa-
 120 tique, et s'accompagne d'une perte progressive des fonctions
 121 hépatiques et d'une hypertension portale. Les principales mala-
 122 dies fibrosantes, maladie alcoolique du foie, stéatohépatites,
 123 hépatites virales et certaines maladies génétiques (dont l'hémo-
 124 chromatoses), représentent un problème de santé publique
 125 important. Les estimations de l'OMS font état de plus d'un
 126 milliard d'individus exposés à une maladie fibrosante du foie,
 127 représentant près de 800 000 cas d'hépatite C en France et une
 128 incidence de 12 000 morts par an. Le traitement de ces hépa-
 129 topathies fibrosantes, fonction de l'étiologie, sera d'autant plus
 130 efficace que la fibrose sera diagnostiquée précocément. Le
 131 diagnostic de fibrose repose classiquement sur l'examen anatomo-
 132 pathologique d'un fragment de foie recueilli par une pon-
 133 ction-biopsie hépatique (PBH). Ce prélèvement ne représente
 134 que 1/50 000 de la masse totale du foie, et considérant la dis-
 135 tribution hétérogène de la fibrose dans le foie, il ne donne
 136 qu'un reflet partiel de la fibrose hépatique. La morbidité et la
 137 mortalité de la PBH sont selon les séries de 0,3 à 0,6 et 0 à
 138 0,05 %, respectivement. Depuis plus de dix ans, de nombreuses
 139 équipes ont développé des alternatives à la PBH, pour permet-
 140 tre un diagnostic de fibrose « significative ». Plusieurs scores
 141 associant différents paramètres directs ou indirects de la fibrose
 142 ont été proposés [1–7]. En France, l'hépatite C est la deuxième
 143 cause de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire après la
 144 consommation excessive d'alcool. Le nombre de décès liés à
 145 l'hépatite C a été estimé en 2004 à environ 3300 par an en
 146 France. En ajoutant les cas de cirrhose et de carcinome hépa-
 147 tocellulaire ayant subi une transplantation, la cirrhose liée au
 148 virus de l'hépatite C représente 20 % des 800 transplantations
 149 hépatiques réalisées chaque année en France. Malgré les pro-
 150 grès thérapeutiques importants, notamment chez les patients
 151 infectés par un génotype 2 ou 3, le recours aux évaluateurs
 152 de l'histologie hépatique, PBH, bio-marqueurs ou techniques
 153 d'imagerie médicale, demeure indispensable. Dans cette revue
 154 seront abordés les nouveaux moyens diagnostiques biologiques
 155 de la fibrose hépatique, avec une application particulière dans
 156 l'hépatite C. Nous n'aborderons pas ici les techniques d'ima-
 157 gerie médicale, notamment l'intérêt récemment décrit par plu-
 158 sieurs équipes françaises des techniques dites d'élastographie
 159 impulsométrique analysant la « dureté » du foie (fibroscan) [8].

2. Rappels sur les mécanismes impliqués dans la fibrose hépatique

166 La fibrose, caractérisée par l'accumulation de constituants
 167 normaux de la matrice extra-cellulaire dans le foie, résulte
 168 d'un déséquilibre entre leur synthèse, leur dépôt et leur dégra-
 169 dation. La matrice extra-cellulaire hépatique représente chez
 170 l'homme moins de 3 % du poids du foie normal. Elle est loca-

lisée dans la capsule, et dans les espaces portes où elle s'orga-
 nise en matrice interstitielle et en lame basale autour des vais-
 seaux et des canaux biliaires. Elle est également présente dans
 la paroi des veines centrolobulaires et dans l'espace de Disse
 où elle ne forme pas une lame basale continue. Cette matrice
 est constituée d'un assemblage complexe de macromolécules
 réparties en cinq groupes : les collagènes, les glycoprotéines,
 l'élastine, les protéoglycanes et les glycosaminoglycanes. Les
 collagènes de types I et III représentent 80 % du collagène total
 et sont les principales protéines structurales de la matrice inter-
 stitielle, alors que le collagène de type IV est un composant des
 lames basales. Les glycoprotéines du foie sont la fibronectine
 et la laminine. L'élastine est présente au niveau des parois des
 vaisseaux et au sein de la matrice interstitielle. Les protéogly-
 canes sont des molécules hydrophiles qui forment un gel occu-
 pant les espaces laissés libres par les autres composants matri-
 ciels. L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane qui
 permet l'association des protéoglycanes entre elles.

La matrice extra-cellulaire est un tissu en perpétuel remode-
 lage au sein duquel les cellules peuvent migrer et interagir.
 Dans le foie normal, la production (fibrogenèse) et la dégrada-
 tion (fibrolyse) de la matrice sont en équilibre. Au cours des
 agressions chroniques, quelle qu'en soit la cause, la fibroge-
 nèse dépasse la dégradation aboutissant au développement
 d'une fibrose. Les cellules stellaires quiescentes du foie (ou
 cellules perisinusoïdales du foie, ou cellules de Ito) ont un
 rôle déterminant dans la fibrogenèse. Sous l'effet répété des
 agressions (virales, auto-immune, biliaire, toxiques ou mécani-
 ques) les hépatocytes, les cellules endothéliales, les cellules de
 Kupffer ou les lymphocytes sécrètent de nombreuses cytoki-
 nes. Deux cytokines ont un rôle majeur dans la deuxième
 étape d'activation des cellules quiescentes en myofibroblastes
 producteurs de grande quantité de collagène : la *platelet deri-
 ved growth factor* (PDGF) puissant facteur de prolifération des
 cellules, et le *transforming growth factor beta* (TGFβ) qui
 contribue à la synthèse et au dépôt des protéines. D'autres fac-
 teurs interagissent, notamment le *tumor necrosis factor alpha*
 (TNF alpha) et l'interleukine 1. Cela entraîne une accumulation
 excessive de la matrice aux dépens du parenchyme hépatique
 (4 à 15 fois la quantité de matrice d'un foie normal), et une
 distribution anormale de composants matriciels dans des terri-
 toires qui en sont normalement dépourvus. Parallèlement, il
 existe un processus de dégradation de la fibrose sous la dépen-
 dance de métalloprotéases matricielles (MMP) produites par les
 cellules perisinusoïdales et les cellules de Kupffer. Les myofi-
 broblastes synthétisent des inhibiteurs de ces métalloprotéases,
 spécifiques (TIMP) ou non spécifiques (alpha2-macroglobu-
 line). L'augmentation du propeptide N-terminal du procolla-
 gène de type III (PIIINP), du TIMP1 et du TGFβ reflètent
 une fibrogenèse active quel que soit le stade de l'hépatopathie.
 Le taux de collagène de type I traduit la quantité de collagène
 déposée dans le foie, tandis que les collagènes de type IV, VI

et XIV, le fragment P1 de la laminine, la tenascine et l'acide hyaluronique reflètent le turnover des lames basales et sont bien corrélés avec l'hypertension portale. Le collagène de type VI, les MMP2 et MMP9 sont associés à la fibrolyse [9–11]. L'irréversibilité d'un dépôt fibreux est liée à la présence de liens croisés en quantité importante, sous la dépendance de la lysyl-oxydase dont la concentration hépatique augmente précocement au cours de la fibrose.

236

237

3. Facteurs associés à la progression de la fibrose au cours de l'hépatite C

238

239

240

241

242

243

244

245

246

247

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

Après la contamination par le VHC, 30 à 40 % des sujets ont une maladie chronique bénigne sans conséquence alors que 60 à 70 % des patients développent une hépatite chronique avec élévation modérée des aminotransférases. La majorité de ces patients ont des lésions hépatiques nécro-inflammatoires discrètes et une fibrose du foie minime. Environ 20 % des hépatites chroniques C développent après 10 à 20 ans d'évolution une cirrhose. Le risque de cancer du foie, une fois la cirrhose constituée, est de 1 à 5 % par an. La progression de fibrose n'est pas un processus linéaire au cours du temps chez un même patient mais suit une courbe exponentielle, avec une nette accélération de la vitesse de progression de la fibrose hépatique à partir du stade F2. La progression de la fibrose hépatique est très variable d'un individu à l'autre et dépend de nombreux facteurs, notamment l'âge, le sexe (progression plus lente chez les femmes), la consommation d'alcool (> 50 g/j), la co-infection par le VIH, l'activité nécrotico-inflammatoire, et des facteurs métaboliques (stéatose, diabète, obésité). Les facteurs proprement viraux, comme la charge virale ou le génotype, semblent jouer peu sur la progression de la fibrose à l'exception du rôle modeste et débattu du génotype 3 [12]. Plusieurs facteurs génétiques de l'hôte pourraient influencer la progression de la fibrose hépatique, comme le gène codant la fraction C5 du complément [13].

4. La biopsie hépatique est-elle toujours l'examen de référence pour l'évaluation de la fibrose hépatique ?

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

279

280

281

282

283

284

285

La ponction-biopsie hépatique (PBH), décrite pour la première fois en 1883, est considérée comme l'examen de référence. Elle est réalisée le plus souvent par voie transpariétale intercostale, au mieux avec repérage échographique, après avoir éliminé une éventuelle contre-indication (trouble de la coagulation, emphysème, pleuropneumopathie controlatérale...) [14–17]. En cas d'anomalie de la coagulation, la PBH peut-être effectuée par voie transjugulaire. Pour une interprétation optimale, un échantillon d'au moins 20 mm comportant au moins 11 espaces portes est requis [18,19]. La PBH permet d'apprécier le degré et la distribution des principales lésions hépatiques : activité nécrotico-inflammatoire, fibrose, stéatose, infiltrat lymphocytaire, lésions biliaires ou vasculaires. L'examen anatomopathologique permet une orientation étiologique, montre la distribution topographique des lésions et éventuellement la présence concomitante de plusieurs pathologies. L'im-

Tableau 1

Score Metavir

Activité nécrotico-inflammatoire	Fibrose
Sans activité (A0)	Sans fibrose portale (F0)
Avec activité minimale (A1)	Fibrose portale sans septa (F1)
Avec activité modérée (A2)	Fibrose portale + rares septa (F2)
Activité sévère (A3)	Fibrose septale sans cirrhose (F3)
	Fibrose septale avec cirrhose (F4)

Tableau 2

Scores de fibrose utilisés dans les hépatites chroniques

Fibrose	Knodell	Sheuer	Metavir	Batts	Ishak
Absence	0	0	0	0	0
Espace Porte (+)	1	1	1	1	1
Espace Porte (++)	1	1	1	1	2
Fibrose Périportale	1	2	1	2	2
Ponts ou septum (+)	3	3	2	3	3
Ponts ou septum (++)	3	3	3	3	4
Cirrhose incomplète	4	4	4	4	5
Cirrhose définitive	4	4	4	4	6

portance de la fibrose est décrite en routine de façon semi-quantitative en utilisant des scores de précision variable. En Europe, le score Métavir [14] a progressivement détrôné le score de Knodell, peu reproductible (Tableau 1). Aux États-Unis le score d'Ishak reste la référence (Tableau 2). Plusieurs limites de la PBH méritent d'être soulignées [20]. Elle ne peut donc être renouvelée facilement. Il s'agit d'un examen coûteux (1000 euros). Le vécu par les malades et les médecins généralistes de la PBH comme un examen invasif voire agressif, est un frein à la prise en charge des malades atteints d'hépatite C [17]. La fiabilité de la PBH par rapport à la laparoscopie pour le diagnostic de cirrhose peut être prise en défaut dans 30 à 32 % des cas [21–23]. Des études ont montré une différence du score de fibrose d'au moins un stade (dans le score Métavir) entre des biopsies du foie droit et du foie gauche chez 33 à 45 % des patients [24,25]. L'étude de pièces chirurgicales de résection hépatique montre que la fibrose est estimée de façon correcte chez 65 % des patients si la PBH inférieure à 15 mm et chez 75 % des patients si la PBH était de 25 mm [18]. L'examen histologique hépatique ne permet pas d'apprécier la « dynamique » du processus fibrosant et ne peut évaluer indépendamment l'importance des mécanismes de fibrogenèse et de dégradation du tissu fibreux. Toutes ces données permettent de nuancer le caractère « d'examen de référence » de la PBH en matière d'évaluation de la fibrose et ont justifié la recherche de nouveaux marqueurs biologiques non invasifs de fibrose. L'importance de cette recherche est également illustrée par les besoins en termes de santé publique : en France, près de 800 000 patients sont atteints d'hépatite C, alors que le nombre estimé de ponctions-biopsies hépatiques réalisées annuellement est proche de 8 000.

5. Quelles sont les alternatives biologiques à la ponction-biopsie hépatique pour l'évaluation de la fibrose hépatique ?

337

338

339

340

341

342

343

344

- 343 ● spécifiques du foie ;
- 344 ● indépendants des anomalies métaboliques ;
- 345 ● non influencés par les altérations du système réticuloendo-
- 346 thélial ou rénal ;
- 347 ● peu ou pas influencés par des facteurs extra-hépatiques ;
- 348 ● assez sensibles pour différencier les différents stades de
- 349 fibrose ;
- 350 ● faciles à réaliser et reproductibles [26].

352 5.1. Les tests usuels ou les marqueurs indirects de fibrose

353 La valeur des aminotransférases seules pour l'appréciation
 354 du degré de fibrose est modérée [7,27,28]. Une seule étude
 355 montre une valeur prédictive positive (VPP) de 99 % de l'ala-
 356 mine aminotransférase (ALAT) supérieure à la normale pour le
 357 diagnostic de fibrose hépatique supérieure ou égale à F1 au
 358 cours des hépatites chroniques C. Mais l'ALAT normale avait
 359 une valeur prédictive négative (VPN) de 35 % pour une fibrose
 360 supérieure ou égale à F1 [29]. Plusieurs études montrent une
 361 bonne performance diagnostique (soit un pourcentage de sujets
 362 bien classé par une méthode, PD) pour le diagnostic de cir-
 363 rhose du rapport ASAT/ALAT supérieur à 1, sauf en cas d'hé-
 364 patopathie alcoolique [30–35]. La PD de ce rapport est aug-
 365 mentée si on y ajoute un taux de plaquettes inférieur à 130
 366 ou 150 G/L [31,32]. Le taux de prothrombine est un marqueur
 367 de fibrose sévère ou de cirrhose, reproductible, peu onéreux et
 368 facilement accessible en pratique clinique [36]. Un taux de pro-
 369 thrombine inférieur à 80 % a une bonne PD pour la cirrhose
 370 (86 %) [7].

373 5.2. Les marqueurs directs de la matrice extra-cellulaire

374 Seuls quelques marqueurs possèdent un intérêt en clinique.
 375 L'augmentation du taux sérique d'acide hyaluronique est liée à
 376 une augmentation de synthèse par les myofibroblastes activés
 377 et à une diminution de son élimination hépatique par des phé-
 378 nomènes de capillarisation des sinusoides hépatiques. Plusieurs
 379 études ont montré une bonne corrélation entre la concentration
 380 sérique d'acide hyaluronique et les scores histologiques de
 381 fibrose au cours des hépatopathies chroniques, quelle que soit
 382 l'étiologie [28,37–47]. Un taux d'acide hyaluronique inférieur
 383 à 50 µg/L permet d'exclure (VPN) une cirrhose, avec une PD
 384 de 100 % [47]. Au cours de la cirrhose constituée, le taux
 385 d'acide hyaluronique semble être le meilleur marqueur pronostic
 386 de la survenue de complications [48]. Le PIIINP est sur-

389 Tableau 3
 390 Diagnostic de cirrhose par les marqueurs sériques directs au cours des hépatites chroniques C

391 Auteurs	Année	Marqueur(s)	AUC	Seuil	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
392 Guechot et al.	1996	PIIIP	0,73	1 kU/L	60	74	–	–
393 Oberti et al.	1997	AH	–	30 µg/L	100	60	–	–
394 McHutchison et al.	2000	AH	–	60 µg/L	98	54	30	99
				110 µg/L	88	78	44	97
395 Walsh et al.	2000	Collagène IV	0,83	148 ng/mL	73	85	–	–
396 Halfon et al.	2005	AH	0,97	≤ 50 µg/L	100	79	20	100
397				> 237 µg/L	31	99	57	96

398 PIIIP : procollagène de type III ; TP : taux de prothrombine ; AH : acide hyaluronique ; VPN : valeur prédictive négative ; VPP : valeur prédictive positive ;
 399 Se : sensibilité ; Sp : spécificité, AUC : aire sous la courbe.

400 tout élevé en cas de lésions nécrotico-inflammatoires dans les
 401 hépatites virales ou alcooliques, mais sa PD pour le diagnostic
 402 de cirrhose est inférieure à celle de l'acide hyaluronique [7,37–
 403 40,49,50]. La laminine, le collagène de type IV ou son frag-
 404 ment 7S sont corrélés avec le score histologique de fibrose,
 405 mais leur PD pour la cirrhose est variable en fonction des étu-
 406 des et non supérieure à celle de l'acide hyaluronique [7,51–54].
 407 Dans les hépatopathies alcooliques il a été montré une bonne
 408 corrélation entre le taux d'YKL-40, le degré de fibrose et l'in-
 409 flammation [55], mais la valeur discriminante pour le diagnos-
 410 tic de cirrhose est faible [56]. Le TIMP-1 et le proMMP-2 ont
 411 une PD pour le diagnostic de cirrhose comparable à celle de
 412 l'acide hyaluronique [43], mais seul le TIMP-1 a une valeur
 413 diagnostique pour dépister la fibrose débutante. Le MMP-1
 414 semble inversement corrélé à l'activité inflammatoire et peut
 415 avoir un intérêt isolé ou en association avec le TIMP-1 ou le
 416 PIIINP [49,57]. Le TGFβta est corrélé à la fibrose hépatique
 417 mais sa PD est plus faible que celle de l'acide hyaluronique [7,
 418 58] ; sa diminution est corrélée à la réponse au traitement par
 419 interféron alpha au cours de l'hépatite C [59].

420 Le tableau 3 résume, par ordre chronologique, les travaux
 421 sur les principaux marqueurs sériques utilisés pour le diagnos-
 422 tic de cirrhose, indépendamment de l'étiologie de cette der-
 423 nière. L'acide hyaluronique semble le marqueur le plus intéres-
 424 sant pris isolément [60].

426 5.3. Les scores de fibrose

427 Les scores de fibrose sont calculés à partir d'algorithmes
 428 utilisant plusieurs paramètres de fibrose déterminés simultanément.
 429 Ils ont été développés pour estimer la fibrose hépatique
 430 afin d'améliorer les performances diagnostiques des tests qui,
 431 pris individuellement, avaient une valeur diagnostique insuffi-
 432 sante (Tableau 4). Les premiers scores ont été rapportés chez
 433 les patients alcooliques.

434 Plusieurs scores ont été proposés pour le diagnostic de cir-
 435 rhose chez les patients atteints d'hépatite chronique C
 436 (Tableau 5), reposant sur des critères faciles à déterminer
 437 (TP, INR, ASAT, ALAT, albumine, gammaglobulines, angio-
 438 mes stellaires) et avec une spécificité proche de 100 % mais
 439 une très faible sensibilité (15–57 %) [61–64]. Poynard et al.
 440 ont testé et validé sur une cohorte de 620 patients atteints d'hé-
 441 patite C un score simple (0 à 10) reposant sur l'âge et le taux
 442 de plaquettes. Un score supérieure ou égale à 6 permet d'iden-
 443 tifier les patients ayant une maladie active (lésions nécro-
 444

400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456

457 Tableau 4

458 Diagnostic d'une fibrose par les marqueurs biologiques non invasifs dans les maladies chroniques du foie

459 Test, auteur	Année	Maladie	Variables	Critère	Indice
460 <i>Score d'Oberti</i> , Oberti et al.	1997	Maladies chroniques du foie	Acide hyaluronique	–	PD : 73 %
461 <i>Fibrotest</i> , Imbert-Bismut et al.	2001	HCV, HBV, SHNA, alcool	Âge, sexe, bilirubine totale,	$F \geq 2$ (Metavir)	AUROC : 0,82–0,88
462 al.	2003		alpha2-macroglobuline,		AUROC : 0,78 (VHB)
463	2004		haptoglobine,		AUROC : 0,83 (Alcool)
464 <i>FORNS</i>	2002	HCV	apolipoprotéine A1, GGT	$< 4,2$: F0–F1	VPN : 96 %
465 Forns et al.			Score = 7,811–3,131 log	(Scheuer)	VPP : 66 %
466			(plaquettes) +0,781 log	$> 6,9$: F2–F4	
467 <i>APRI</i> , Wai et al.	2003	HCV	(GGT) +3,467 log (âge) –		
468			0,014 (cholestérol)		
469			ASAT (/LSN)/plaquettes	$< 0,50$: F0–F2	VPN : 90 %
470 <i>FIBROSpect II</i> , Patel et al.	2004	HCV	Acide hyaluronique, TIMP-	≥ 2 : F5F6	AUROC : 0,82
471			1, alpha2-macroglobuline	$\geq 0,36$: \geq F2 (Metavir)	VPP : 65 %
472					VPN : 74 %
473 <i>Grenoble</i> , Leroy et al.	2004	HCV	Score = 0,5903 log	$F \geq 2$ (Metavir)	PD : 75 %
474			(PIIINP)–0,1749 log		VPP : 76 %
475			(MMP-1)		AUROC : 0,83
476 <i>ELF group</i> , Rosenberg et al.	2004	HCV, alcool, SHNA	Âge, acide hyaluronique,	$F \geq 2$ (Scheuer, Ishak)	AUROC : 0,82
477			PIIINP, TIMP-1		Se : 60 %, Sp : 92 %
478 <i>Fibrometre</i> , Cales	2005	HCV pathologies virales,	Âge, sexe,	$< 0,39$: F0–F2	AUROC : 0,78
479		alcooliques.	alpha2macroglobuline,	$> 0,46$: F2–F4	Se : 90 %, Sp : 30 %
480			acide hyaluronique, apoA1,		VPN (F < 2) : 92 %
481			ASAT, bilirubine totale,		AUROC : 0,90
482			gamma-GT, plaquettes, taux		
483 <i>Hepascore</i> , Adams et al.	2005	HCV	de prothrombine, urée	$> 0,50$: F2–F4	AUROC : 0,82
484			Âge, sexe, alpha2-		Se : 63 %, Sp : 89 %
485			macroglobuline, acide		
486			hyaluronique, bilirubine		
			totale, gamma GT		

487 VHC : hépatite virale C ; VHB : hépatite virale B ; SHNA : stéatohépatite non alcoolique ; GGT : gamma glutamyl transférase ; VPN : valeur prédictive négative ; VPP : valeur prédictive positive ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité, AUROC : aire sous la courbe ROC ; PD : performance diagnostique ; pts : patients ; LSN : limite supérieure de la valeur normale ; ASAT : aspartate aminotransférase ; ALAT : alanine aminotransférase ; TIMP : inhibiteur spécifique des MMP ; PIIINP : propeptide N-terminal du procollagène III ; MMP-1 : métalloprotéase 1.

491 inflammatoires sévères, et/ou fibrose septale ou cirrhotique) avec une spécificité de 93 % et une sensibilité de 52 %. Cependant, la VPN n'était pas suffisamment élevée pour éviter une biopsie hépatique quand le score était inférieur à 6 [65].

495 Le fibrotest est un score calculé à partir de cinq paramètres sériques (haptoglobine, apolipoprotéine A1, bilirubine, GGT, alpha2-macroglobuline), avec ajustement selon l'âge et le sexe, initialement testé et validé sur une population de 339 patients atteints d'hépatite chronique C [1]. L'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour la prédiction de fibrose significative (Metavir \geq F2) était de 0,82 à 0,88. En utilisant pour la détection d'une fibrose significative deux valeurs seuils inférieure ou égale à 0,1 et supérieure ou égale à 0,6 (valeurs de 0 à 1), la VPN est de 100 % et la VPP de 90 %. L'actitest associe aux cinq paramètres précédents l'ALAT, et reflète l'activité nécrotico-inflammatoire [66,67]. Pour une valeur seuil de l'actitest de 0,36, la VPN pour exclure une nécrose significative est de 85 % [67]. Ces résultats ont été en partie confirmés dans une large étude indépendante multicentrique française, portant sur 504 patients atteints d'hépatite C, dans laquelle la PD du fibrotest pour la détection d'une fibrose significative (Metavir \geq F2) était de 0,79, avec des VPN et VPP de 91 et 80 %, respectivement [68]. La variabilité interlaboratoire du

fibrotest est bonne, sous réserve d'une standardisation des méthodes [69,70]. Deux études rétrospectives ont montré l'intérêt du fibrotest pour le suivi longitudinal des patients traités [71,72]. Le fibrotest a aussi été étudié sur de plus petites cohortes, non indépendantes, chez les patients atteints d'hépatite B, les patients co-infectés VIH–VHC, chez les buveurs excessifs et dans la stéato-hépatite non alcoolique [73,74]

Forns et al. ont testé et validé sur une population de 476 patients atteints d'hépatite C un score associant l'âge, les plaquettes, la GGT et le cholestérol. Les auteurs ont identifié deux valeurs seuils inférieure à 4,2 et supérieure à 6,9 permettant de définir les patients ayant une forte ou une faible probabilité d'avoir une fibrose significative (Scheuer \geq F2). Sur la cohorte de validation, 51 % des patients étaient correctement classés en utilisant les deux valeurs seuils. La valeur inférieure ($< 4,2$) avait une VPN de 96 % alors que la valeur supérieure ($> 6,9$) avait une VPP de 66 % [3]. Ce score semble utile pour exclure les patients ayant une fibrose minimale, mais a moins d'intérêt pour identifier les patients ayant une fibrose sévère et il apparaît moins sensible que le fibrotest [75].

Wai et al. ont testé et validé sur une population de 270 patients atteints d'hépatite C un score simple reposant sur les ASAT et les plaquettes. Ce score « APRI » est égal à ASAT (/

514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570

571 Tableau 5
572 Diagnostic de cirrhose par les scores sanguins de fibrose au cours de l'hépatite chronique C

573 Auteurs	Année	Marqueur(s)	AUC	Seuil	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
574 Poynard et al.	1997	Âge, plaquettes	0,79	≤ 2	84	52	81	58
575 Bonacini et al.	1997	Plaquettes, TP, ALAT/ASAT	–	≥ 8	17	99	97	33
576 Ikeda et al.	2000	gamma-globuline, AH, plaquettes, sexe	–	≥ 8	46	98	93	77
577 Saadeh et al.	2001	Plaquettes, ALAT/ASAT, INR	0,84	> 0	82	92	–	–
578				S < 3	85	58	–	–
579 Imbert-Bismut et al.	2001	Âge, sexe, alpha2-macroglobuline, bilirubine, GGT, apoA1, haptoglobine	0,92	S > 7	15	100	–	–
580 Kaul et al.	2002	Plaquettes, angiomes stellaires, ASAT, sexe	0,94	≤ 0,80	38	97	92	62
581 Luo et al.	2002	Plaquettes, globuline-albumine, ALAT/ASAT	–	> 0,80	27	97	90	55
582 Wai et al.	2003	ASAT, plaquettes	0,89	–	–	–	–	–
583				≤ 1,00	89	75	38	98
584 Callewaert et al.	2004	Protéines glyquées	0,87	> 2,00	57	93	57	93
585 Rosenberg et al.	2004	AH, PIIINP, TIMP-1	–	< -0,2	100	12	–	–
586 Adams et al.	2005	Âge, sexe, alpha2-macroglobuline, bilirubine, GGT, AH	0,89	> 0,6	17	100	–	–
587				0,564	30	99	90	83
588 Lok et al.	2005	Plaquettes, ALAT/ASAT, INR	0,81	≥ 0,84	71	89	–	–
589				< 0,2	92	30	46	86
				> 0,5	37	92	75	69

590 GGT : gamma glutamyl transférase ; VPN : valeur prédictive négative ; VPP : valeur prédictive positive ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; AH : acide hyaluronique ; ASAT : aspartate aminotransférase ; ALAT : alanine aminotransférase ; TIMP : inhibiteur spécifique des MMP ; PIIINP : propeptide N-terminal du procollagène III ; MMP-1 : métalloprotéase 1.

593 LSN = multiple de la limite supérieure de la normale) × 100/
594 plaquettes (10⁹/L). L'aire sous la courbe ROC (AUROC) pour
595 la détection d'une fibrose significative (Ishak ≥ F3) ou d'une
596 cirrhose (Ishak ≥ F5) est de 0,88 et 0,94, respectivement. Les
597 auteurs ont déterminé des valeurs seuils pour la fibrose signi-
598 ficative (< 0,50 et ≥ 1,50) et pour la cirrhose (≤ 1 et ≥ 2). Les
599 patients avec ou sans fibrose significative ou cirrhose peuvent
600 être déterminés avec des VPN de 90 et 100 %, et des VPP de
601 91 et 65 % respectivement [4]. Dans des études indépendantes
602 de validation, le score APRI avait une excellente spécificité
603 mais une faible sensibilité, et une PD moins bonne que celle
604 du fibrotest [76,77].

605 Durant les deux dernières années, plusieurs nouveaux scores
606 utilisant des marqueurs directs de fibrose ont été publiés [49,
607 78,79]. Le score de Grenoble testé sur 194 patients atteints
608 d'hépatite C repose sur le PIIINP et le MMP-1. Ce score, qui
609 va de 0 à 0,8, permet de différencier l'absence de fibrose d'une
610 fibrose significative (≥ F2) avec une AUROC de 0,82, une
611 sensibilité de 60 % et une spécificité de 92 % [49]. Le score
612 de Patel et al. testé et validé sur une population de 696 patients
613 a été breveté (FIBROSpect II). Ce score qui va de 0 à 1 intègre
614 l'acide hyaluronique, le TIMP-1 et l'alpha2-macroglobuline.
615 Pour une valeur seuil de 0,36 ce score permet de prédire l'ab-
616 sence de fibrose significative (≥ F2) avec une PD de 75 % [78,
617 80]. Le score de « l'European Liver Fibrosis Group » (ELF),
618 établi sur une cohorte de 1021 patients infectés par le VHC,
619 associe l'âge, l'acide hyaluronique, le PIIINP et le TIMP-1,
620 utilise les scores semi-quantitatifs de Scheuer et d'Ishak. Ce
621 score permet de détecter une fibrose significative avec une sen-
622 sibilité de 90 % mais une faible spécificité, et une bonne PD
623 pour détecter l'absence de fibrose (VPN 92 %). Ce score a été
624 déterminé chez les patients atteints d'hépatite chronique C,
625 d'hépatopathie alcoolique et de stéatohépatites non alcooliques
626 [79]. Le fibromètre, étudié chez 478 patients porteurs d'hépa-
627 tite C ou buveurs excessifs et validé chez 120 patients, utilise

sept variables (plaquettes, TP, alpha2-macroglobuline, acide
hyaluronique, urée, et âge) et s'adapte à la cause de la maladie
du foie en proposant deux formules pour la prédiction de
fibrose (une pour les maladies chroniques du foie de type
viral et une autre pour les maladies de type alcoolique), et a
une PD pour le diagnostic d'une fibrose significative supé-
rieure à celle du fibrotest (0,91 vs 0,86) [81]. La Fig. 1 issue

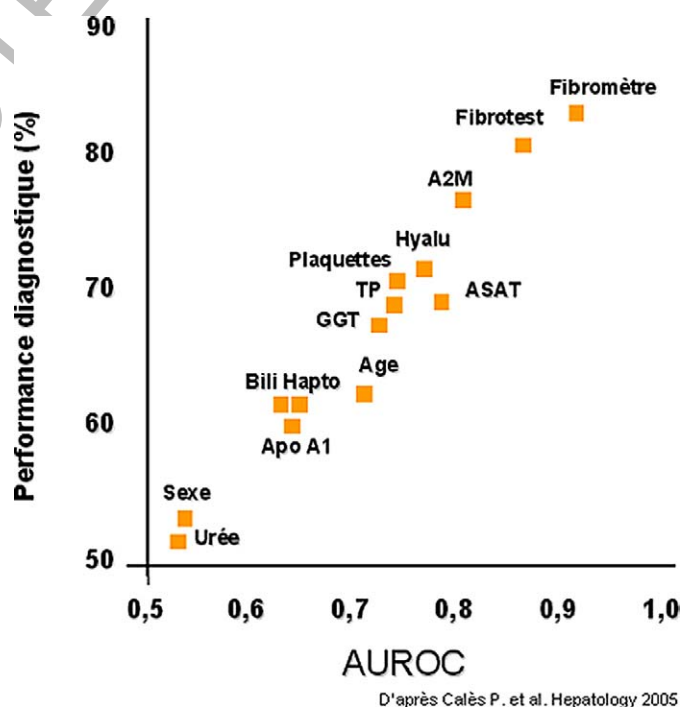


Fig. 1. Représentation de la précision diagnostique en fonction de l'AUC du fibromètre, du fibrotest et des marqueurs de fibrose composant leur formule respective : A2M, alpha2-macroglobuline ; HA, acide hyaluronique, PI, taux de prothrombine ; GGT, gamma-glutamyl-transpeptidase ; B, bilirubine ; H, haptoglobine ; ApoA1, apolipoprotéine-A1.

de l'étude de Calès et al. [81] représente la précision diagnostique en fonction de l'AUROC du fibromètre, du fibrotest, et des marqueurs de fibrose composant leurs formules respectives ; plus le score (ou marqueur) est situé dans la partie supérieure droite, plus il est précis dans le diagnostic de fibrose. Une autre particularité du fibromètre est de calculer un indice d'aire de fibrose particulièrement indiquée pour suivre l'évolution des cirrhoses. Récemment l'hepascor de Adams et al. [6] (combinant l'alpha2-macroglobuline, l'acide hyaluronique, la bilirubine, la GGT, l'âge, et le sexe) a été validé sur 104 patients. Un seuil de 0,5 permet de prédire la présence de fibrose significative avec une sensibilité de 63 % et une spécificité de 89 % (AUROC 0,82). Un score fondé sur le profil partiel des résidus glucidiques des glycoprotéines permet un diagnostic de cirrhose avec une PD à 0,87 [82]. Associé au fibrotest, il permet le diagnostic de cirrhose avec une spécificité de 100 % et une sensibilité de 75 %. Pour les scores biologiques de fibrose, le bénéfice de l'association semble modeste mais doit être précisé sur de grandes cohortes [77].

5.4. Les limites des marqueurs biologiques non invasifs de fibrose

La principale limite des marqueurs sériques de fibrose réside dans la standardisation des méthodes de dosage qui nécessite l'utilisation des mêmes réactifs, si possible des mêmes automates, un calibrateur commun systématique et un contrôle de qualité [83]. Cela est particulièrement important pour le dosage des protéines par immunonéphélométrie ou immunoturbidimétrie et la mesure des activités enzymatiques (ASAT, ALAT, GGT) à 37 °C avec une calibration [84,85]. Cette standardisation reste actuellement un problème non résolu dans un contexte où les laboratoires disposent d'un parc d'analyseurs hétérogène. L'application des recommandations internationales doit permettre cette standardisation actuellement non réalisée. Une autre limite, notamment pour les protéines ou les cytokines de la matrice extra-cellulaire, est la facilité et la reproductibilité des méthodes de dosage, nécessaires pour une large diffusion des tests. Des modifications physiologiques ou pathologiques peuvent être à l'origine de variation des concentrations sériques des marqueurs de fibrose (Tableau 6). Le repas augmente la concentration sérique de l'acide hyaluronique, mais ne modifie pas les variables incluses dans le fibrotest [86,87]. La concentration sérique de PIIINP est augmentée au cours des polyarthrites, de la sclérodémie, de la maladie de Paget et des fibroses pulmonaires. Pour le fibrotest, plusieurs circonstances rendent le fibrotest inutilisable : une hémolyse (diminution de l'haptoglobine), un syndrome inflammatoire important ou un sepsis (augmentation de l'haptoglobine ou de l'alpha2-macroglobuline), un syndrome de Gilbert (augmentation de la bilirubine totale), une hépatite aiguë, et une cholestase médicamenteuse ou extra-hépatique [66,83]. Pour le test de Forns et al., les limites résident, dans l'absence de description des méthodes de dosages des différents paramètres, de l'impact possible des dyslipidémies et des médicaments susceptibles de modifier le taux de cholestérol, et de la reproductibilité du dosage des plaquettes. Les limi-

Tableau 6
Causes de variation physiologique et pathologique des paramètres intégrés dans les marqueurs sériques de fibrose

Marqueurs sériques	Augmentation	Diminution
PIIINP	Polyarthrite, sclérodémie, maladie de Paget, fibrose pulmonaire	
Acide hyaluronique	Période post-prandiale Maladie inflammatoire articulaire Mésothéliome intoxication paracétamol Injection collagène	
Bilirubine	Maladie de Gilbert, hémolyse > 0,50 : F2–F4 cholestase extra-hépatique ou médicaments	
Haptoglobine	Sd inflammatoire, sepsis	Hémolyse
Alpha2-macroglobuline	Sd inflammatoire	
GGT	Cholestase extra-hépatique, médicaments	
ALAT/ASAT	Hépatite aiguë	

PIIINP : propeptide N-terminal du procollagène III ; GGT : gamma glutamyl transférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; ALAT : alanine aminotransférase ; Sd : syndrome.

tes du test APRI résident dans l'utilisation des ASAT exprimées en multiple de la limite supérieure de la normale, et sur la reproductibilité du dosage des plaquettes. Pour les autres tests, les situations susceptibles de modifier les concentrations sériques d'acide hyaluronique et de PIIINP doivent être prises en compte.

6. Utilisation pratique et rationnelle des marqueurs biologiques non invasifs de fibrose hépatique

6.1. Diagnostic de fibrose significative (>F2) dans le cadre de mono infection VHC

Des études sur la stratégie d'utilisation des tests ont déjà été réalisées [88,89]. Une approche, sans utilisation de la PBH en première intention, utilise le fibrotest–actitest chez tous les patients porteurs chroniques d'une hépatite C. Des difficultés d'interprétation du fibrotest sont rencontrées chez 5 à 20 % des patients atteints d'hépatite C [66,90]. La combinaison de trois marqueurs non invasifs de fibrose hépatique (fibrotest, APRI, score de Forns) a été analysée chez 235 patients infectés par le virus de l'hépatite C, avec un diagnostic concordant entre la PBH et les trois marqueurs biochimiques chez 63 (29 %) patients [88]. En combinant les marqueurs, 225 (96 %) patients ont pu être bien diagnostiqués. Inversement, 25 (10 %) patients présentaient manifestement une erreur de diagnostic de la PBH, avec une parfaite cohérence de l'ensemble des trois marqueurs non invasifs. La PBH n'apparaît plus tout à fait comme le « gold standard » attendu, et la combinaison des données de plusieurs marqueurs non invasifs semble intéressante. Un algorithme utilisant le fibrotest en première intention, puis le score APRI et de Forns, permet d'éviter la PBH dans 81 % des cas [88]. Cette approche a été confirmée par une étude récente de Lackner, qui conclut que la biopsie hépatique devrait être limitée à un faible nombre de patients [91].

799 D'autres études de ce type sont toutefois nécessaires, et un
800 consensus et/ou recommandation professionnelle s'avèrent être
801 indispensables.

803 6.2. Diagnostic de fibrose significative (> F2) dans le cadre 804 de la co-infection VIH-VHC

805
806 Cinq scores ont été évalués comparativement à la biopsie
807 hépatique chez les patients co-infectés VIH-VHC : le fibrotest,
808 le Fib-4, le SHASTA, l'APRI, et le Forns. Le fibrotest, évalué
809 chez 131 patients co-infectés, a montré de bonnes corrélations
810 avec les résultats obtenus par la PBH avec une AUROC de
811 0,86 [92]. Le Fib-4 qui utilise la combinaison de l'âge,
812 ALAT, ASAT, et les plaquettes, avait une AUROC de 0,74
813 chez 832 patients co-infectés issus de l'étude APRICOT [93].
814 Un troisième score SHASTA combinant l'acide hyaluronique,
815 l'albumine, les ASAT a été développé chez les patients co-
816 infectés donnant une AUROC de 0,88 comparativement à la
817 biopsie hépatique [5]. Une première étude a évalué l'APRI
818 chez 46 patients co-infectés, par une AUROC de $0,85 \pm 0,06$
819 [94]. Une seconde étude a évalué l'APRI et le Forns chez 357
820 patients avec une taille de PBH supérieure à 10 mm ; les
821 AUROC respectives de l'APRI et du Forns étaient de 0,73
822 [IC 95 % 0,66-0,78] et 0,71 [0,66 ; 0,76] [95].

824 6.3. Diagnostic de fibrose significative (> F2) dans le cadre 825 de la NASH et la maladie alcoolique du foie

826
827 Dans la maladie alcoolique du foie, l'étude de Naveau et al.
828 [96] chez 221 patients comparant prospectivement le fibrotest,
829 l'acide hyaluronique et la PBH, confirme les excellentes
830 valeurs prédictives du fibrotest dans les différents stades de
831 fibrose en particulier pour le stade F4. Le score de ELF a été
832 testé chez 61 patients ayant une maladie alcoolique du foie
833 avec des résultats intéressants mais moins que ceux rapportés
834 par le fibrotest [79].

835
836 Dans la maladie du foie non alcoolique stéatosique
837 (NAFLD), la distinction entre simple stéatose et hépatite stéa-
838 tosique (NASH) ne peut être réalisée que par l'histologie hépa-
839 tique. Le fibrotest a été évalué dans cette indication avec des
840 résultats encourageants (AUC 0,86 [IC 95 % 0,77-0,91]) [97].
841 Comme pour la fibrose, la distribution de la stéatose est hété-
842 rogène au niveau du foie [98]. Une équipe japonaise a récem-
843 ment rapporté l'utilisation de l'acide hyaluronique et du colla-
844 gène de type IV pour classer les patients ayant une NASH ou
845 une fibrose hépatique sévère. Ainsi, des taux de collagène de
846 type IV supérieur ou égal à 5,0 ng/mL et d'acide hyaluronique
847 supérieur ou égal à 43 ng/mL permettent avec une VPP de 86
848 et 92 % respectivement de classer correctement les patients en
849 NASH [99].

850 Une équipe a récemment publié le steatotest utilisé pour le
851 diagnostic de stéatose alcoolique du foie mais aussi pour les
852 NAFLD, et les stéatoses liées au VHC et au VHB (AUC
853 0,80) [100].

854 Bien que la valeur diagnostique du FT ait été étudiée pour la
855 maladie alcoolique du foie [96] et les stéatoses non alcooliques,

d'autres études sont nécessaires pour valider son utilisation dans ces conditions.

859 6.4. Surveillance de l'efficacité du traitement antiviral

860
861 Dans cette indication, le fibrotest, l'acide hyaluronique et le
862 score décrit par Leroy et al. [49] ont été étudiés. Le fibrotest
863 apparaît comme le plus intéressant puisqu'il permet de classer
864 les patients en fonction de leur réponse virologique avec une
865 excellente corrélation virohistologique [71,101].

867 7. Conclusion

868
869 Les marqueurs biologiques de la fibrose du foie représentent
870 une réelle alternative à la PBH par leur caractère non invasif,
871 leur facilité de répétition et leur fiabilité. Ils représentent une
872 véritable avancée pour l'accès au soin des patients atteints
873 d'hépatite C. Si le niveau de preuve de fiabilité diagnostique
874 d'un test comme le fibrotest peut être considéré comme suffi-
875 sant, les autres tests doivent continuer leur validation indépen-
876 dante. Ces méthodes non invasives ne doivent être utilisées que
877 dans les circonstances où elles ont été validées. Un risque
878 important, lié à leur facilité d'utilisation, est leur utilisation et
879 interprétation erronées qui justifient leur pratique raisonnée et
880 expérimentée. D'autres méthodes non invasives comme l'élasto-
881 métrie impulsionnelle (Fibroscan) présentent des résultats
882 encourageants. L'association du Fibroscan avec les marqueurs
883 sanguins de fibroses apparaît comme particulièrement intéres-
884 sante. L'avenir repose probablement sur la comparaison et la
885 validation de ces scores après standardisation des méthodes de
886 dosage dans les laboratoires, et sur la mise au point de mar-
887 queurs de la fibrogénèse qui nous permettront de différencier
888 les patients à faible ou fort potentiel évolutif de fibrose.

890 8. Références

- 891 [1] Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poy-
892 nard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis
893 C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-75.
- 894 [2] Cales P, Oberti F, Hubert I. Non-invasive evaluation of liver fibrosis by
895 the blood SNIFF scores. *Hepatology* 2004;40.
- 896 [3] Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-
897 Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without
898 hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:
899 986-92.
- 900 [4] Wai CT, Greenon JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA,
901 Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both
902 significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.
903 *Hepatology* 2003;38:518-26.
- 904 [5] Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, Sulkowski M, Astemborski J,
905 Thomas DL, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infec-
906 ted patients using serum fibrosis markers: the SHASTA index. *J Hepa-
907 tology* 2005;43:78-84.
- 908 [6] Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al.
909 Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic
910 hepatitis C infection. *Clin Chem* 2005;51:1867-73.
- 911 [7] Oberti F, Valsesia E, Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Aube C,
912 et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroente-
913 rology* 1997;113:1609-16.

- 913 [8] VJ Castera L, Foucher J. Transient elastography (Fibroscan) a novel
914 non-invasive sensitive method for the assessment of liver fibrosis in
915 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;40.
- 916 [9] Schuppan D, Ruehl M, Somasundaram R, Hahn EG. Matrix as a modu-
917 lator of hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2001;21:351–72.
- 918 [10] Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cel-
919 lular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000;275:2247–50.
- 920 [11] Benyon RC, Arthur MJ. Extra-cellular matrix degradation and the role
921 of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001;21:373–84.
- 922 [12] Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male PJ, Giostra E,
923 et al. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype spe-
924 cific way. *Gut* 2004;53:406–12.
- 925 [13] Hillebrandt S, Wasmuth HE, Weiskirchen R, Hellerbrand C, Keppeler
926 H, Werth A, et al. Complement factor 5 is a quantitative trait gene that
927 modifies liver fibrogenesis in mice and humans. *Nat Genet* 2005;.
- 928 [14] Bedossa P, Poinard T. An algorithm for the grading of activity in chro-
929 nic hepatitis C. The Metavir Cooperative Study Group. *Hepatology*
930 1996;24:289–93.
- 931 [15] Cadranet JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France:
932 results of a prospective nationwide survey. *Hepatology* 2000;32:477–
933 81.
- 934 [16] Abdi W, Millan JC, Mezey E. Sampling variability on percutaneous
935 liver biopsy. *Arch Intern Med* 1979;139:667–9.
- 936 [17] Bonny C, Rayssiguier R, Ughetto S, Aublet-Cuvelier B, Baranger J,
937 Blanchet G, et al. Pratiques et attentes des médecins généralistes en
938 matière d'hépatite C dans la région Auvergne. *Gastroenterol Clin Biol*
939 2003;27:1021–5.
- 940 [18] Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis
941 in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1449–57.
- 942 [19] Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy
943 size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the
944 sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003;39:239–44.
- 945 [20] Cadranet JF, Castera L, Cales P. La ponction-biopsie du foie dans le
946 diagnostic et la prise en charge des maladies chroniques du foie. *Gas-
947 troenterol Clin Biol* 2006;30:121–1223.
- 948 [21] Orlando R, Lirussi F, Okolicsanyi L. Laparoscopy and liver biopsy: fur-
949 ther evidence that the two procedures improve the diagnosis of liver cir-
950 rhosis. A retrospective study of 1,003 consecutive examinations. *J Clin
951 Gastroenterol* 1990;12:47–52.
- 952 [22] Helmreich-Becker I, Schirmacher P, Denzer U, Hensel A, Meyer zum
953 Buschenfelde KH, Lohse AW. Minilaparoscopy in the diagnosis of cir-
954 rhosis: superiority in patients with child-pugh A and macronodular
955 disease. *Endoscopy* 2003;35:55–60.
- 956 [23] Poniachik J, Bernstein DE, Reddy KR, Jeffers LJ, Coelho-Little ME,
957 Civantos F, et al. The role of laparoscopy in the diagnosis of cirrhosis.
958 *Gastrointest Endosc* 1996;43:568–71.
- 959 [24] Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG,
960 Pypopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in
961 liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*
962 2002;97:2614–8.
- 963 [25] Siddique I, El-Naga HA, Madda JP, Memon A, Hasan F. Sampling
964 variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatis
965 C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:427–32.
- 966 [26] Afdhal NH, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. *Am
967 J Gastroenterol* 2004;99:1160–74.
- 968 [27] Assy N, Minuk GY. Serum aspartate but not alanine aminotransferase
969 levels help to predict the histological features of chronic hepatitis C
970 viral infections in adults. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1545–50.
- 971 [28] Wong VS, Hughes V, Trull A, Wight DG, Petrik J, Alexander GJ.
972 Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic
973 hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1998;5:187–92.
- 974 [29] Pradat P, Alberti A, Poinard T, Esteban JI, Weiland O, Marcellin P,
975 et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic
976 hepatitis C: a European collaborative study. *Hepatology* 2002;36:973–7.
- 977 [30] Imperiale TF, Said AT, Cummings OW, Born LJ. Need for validation
978 of clinical decision aids: use of the AST/ALT ratio in predicting cirrho-
979 sis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2328–32.
- 980 [31] Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F,
981 et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-ala-
982 nine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis
983 in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch
984 Intern Med* 2003;163:218–24.
- 985 [32] Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum
986 aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of
987 fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*
988 2001;96:3142–6.
- 989 [33] Park GJ, Lin BP, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate amino-
990 transferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infec-
991 tion: is it a useful predictor of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol* 2000;
992 15:386–90.
- 993 [34] Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of
994 liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*
995 1999;30:1356–62.
- 996 [35] Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts
997 cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gas-
998 troenterol* 1998;93:44–8.
- 999 [36] Croquet V, Vuillemin E, Ternisien C, Pilette C, Oberti F, Gallois Y,
1000 et al. Prothrombin index is an indirect marker of severe liver fibrosis.
1001 *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1133–41.
- 1002 [37] Guechot J, Laudat A, Loria A, Serfaty L, Poupon R, Giboudeau J.
1003 Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-ter-
1004 minal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral
1005 hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem* 1996;42:558–
1006 63.
- 1007 [38] Guechot J, Poupon RE, Giral P, Balkau B, Giboudeau J, Poupon R.
1008 Relationship between procollagen III aminoterminal propeptide and
1009 hyaluronan serum levels and histological fibrosis in primary biliary cir-
1010 rhosis and chronic viral hepatitis C. *J Hepatol* 1994;20:388–93.
- 1011 [39] Nyberg A, Lindqvist U, Engstrom-Laurent A. Serum hyaluronan and
1012 aminoterminal propeptide of type III procollagen in primary biliary cir-
1013 rhosis: relation to clinical symptoms, liver histopathology and outcome.
1014 *J Intern Med* 1992;231:485–91.
- 1015 [40] Ninomiya T, Yoon S, Hayashi Y, Sugano M, Kumon Y, Seo Y, et al.
1016 Clinical significance of serum hyaluronic acid as a fibrosis marker in
1017 chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: histological
1018 evaluation by a modified histological activity index scoring system. *J
1019 Gastroenterol Hepatol* 1998;13:68–74.
- 1020 [41] Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Chappard D, Oberti F, Rifflet H,
1021 et al. Histopathological evaluation of liver fibrosis: quantitative image
1022 analysis vs semi-quantitative scores. Comparison with serum markers.
1023 *J Hepatol* 1998;28:439–46.
- 1024 [42] Yamada M, Fukuda Y, Koyama Y, Nakano I, Urano F, Katano Y, et al.
1025 Serum hyaluronic acid reflects the effect of interferon treatment on
1026 hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol
1027 Hepatol* 1996;11:646–51.
- 1028 [43] Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, Flemming P, Manns MP, Lich-
1029 tinghagen R. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as
1030 markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim
1031 Acta* 2002;316:71–81.
- 1032 [44] Plevris JN, Haydon GH, Simpson KJ, Dawkes R, Ludlum CA,
1033 Harrison DJ, et al. Serum hyaluronan—a non-invasive test for diagnosing
1034 liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:1121–7.
- 1035 [45] McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, Craig JR, Conrad A,
1036 Schiff ER, et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients
1037 with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consen-
1038 sus Interferon Study Group. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:945–51.
- 1039 [46] Guechot J, Loria A, Serfaty L, Giral P, Giboudeau J, Poupon R. Serum
1040 hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C:
1041 effect of alpha-interferon therapy. *J Hepatol* 1995;22:22–6.
- 1042 [47] Halfon P, Bourliere M, Penaranda G, Deydier R, Renou C, Botta-Frid-
1043 lund D, et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver
1044 fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. *Comp Hepatol* 2005;
1045 4:6.
- 1046 [48] Guechot J, Serfaty L, Bonnand AM, Chazouilleres O, Poupon RE, Pou-
1047 pon R. Prognostic value of serum hyaluronan in patients with compen-
1048 sated HCV cirrhosis. *J Hepatol* 2000;32:447–52.

- 1027 [49] Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol* 2004;99:271-9. 1084
- 1028 1085
- 1029 1086
- 1030 1087
- 1031 [50] Teare JP, Sherman D, Greenfield SM, Simpson J, Bray G, Catterall AP, et al. Comparison of serum procollagen III peptide concentrations and PGA index for assessment of hepatic fibrosis. *Lancet* 1993;342:895-8. 1088
- 1032 1089
- 1033 1090
- 1034 [51] Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Kawasaki H. Serum type III procollagen peptide, type IV collagen 7S domain, central triple-helix of type IV collagen and tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with chronic viral liver disease: relationship to liver histology. *Hepatology* 1994; 20:780-7. 1091
- 1035 1092
- 1036 1093
- 1037 1094
- 1038 [52] Yamada M, Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Takamatsu J, Hayakawa T. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in hemophiliacs with hepatitis C virus-associated chronic liver disease. *Acta Haematol* 1998; 99:212-6. 1095
- 1039 1096
- 1040 1097
- 1041 [53] Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Nishimura Y, Kawasaki H. Clinical significance of serum hyaluronan in patients with chronic viral liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:459-65. 1098
- 1042 1099
- 1043 1100
- 1044 [54] Zheng M, Cai WM, Weng HL, Liu RH. ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2002; 8:1073-6. 1101
- 1045 1102
- 1046 1103
- 1047 [55] Johansen JS, Moller S, Price PA, Bendtsen F, Junge J, Garbarsch C, et al. Plasma YKL-40: a new potential marker of fibrosis in patients with alcoholic cirrhosis? *Scand J Gastroenterol* 1997;32:582-90. 1104
- 1048 1105
- 1049 [56] Tran A, Benzaken S, Saint-Paul MC, Guzman-Granier E, Hastier P, Pradier C, et al. Chondrex (YKL-40), a potential new serum fibrosis marker in patients with alcoholic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:989-93. 1106
- 1050 1107
- 1051 1108
- 1052 [57] Murawaki Y, Ikuta Y, Okamoto K, Koda M, Kawasaki H. Serum matrix metalloproteinase-3 (stromelysin-1) concentration in patients with chronic liver disease. *J Hepatol* 1999;31:474-81. 1109
- 1053 1110
- 1054 1111
- 1055 [58] Nelson DR, Gonzalez-Peralta RP, Qian K, Xu Y, Marousis CG, Davis GL, et al. Transforming growth factor-beta 1 in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 1997;4:29-35. 1112
- 1056 1113
- 1057 [59] Neuman MG, Benhamou JP, Bourliere M, Ibrahim A, Malkiewicz J, Asselah T, et al. Serum tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine* 2002;17:108-17. 1114
- 1058 1115
- 1059 1116
- 1060 1117
- 1061 [60] Renou C, Muller P, Jouve E, Bertrand JJ, Raoult A, Benderriter T, et al. Revelance of moderate isolated thrombopenia as a strong predictive marker of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1657-9. 1118
- 1062 1119
- 1063 1120
- 1064 [61] Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1997;92: 1302-4. 1121
- 1065 1122
- 1066 1123
- 1067 1124
- 1068 [62] Saadeh S, Cammell G, Carey WD, Younossi Z, Barnes D, Easley K. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;33: 196-200. 1125
- 1069 1126
- 1070 [63] Kaul V, FriedenberG FK, Braitman LE, Anis U, Zaeri N, Fazili J, et al. Development and validation of a model to diagnose cirrhosis in patients with hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2623-8. 1127
- 1071 1128
- 1072 1129
- 1073 [64] Luo JC, Hwang SJ, Chang FY, Chu CW, Lai CR, Wang YJ, et al. Simple blood tests can predict compensated liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2002;49:478-81. 1130
- 1074 1131
- 1075 [65] Poynard T, Bedossa P. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. *METAVID and CLINIVIR Cooperative Study Groups. J Viral Hepat* 1997;4:199-208. 1132
- 1076 1133
- 1077 1134
- 1078 1135
- 1079 [66] Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, et al. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem* 2004;50:1344-55. 1136
- 1080 1137
- 1081 1138
- 1082 [67] Poynard T, Imbert-Bismut F, Munteanu M, Messous D, Myers RP, Thabut D, et al. Overview of the diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (fibrotest, HCV fibrosure) and necrosis (actitest) in patients with chronic hepatitis C. *Comp Hepatol* 2004;3:8. 1139
- 1083 1140
- [68] Halfon P, Bourliere M, Deydier R, Botta-Fridlund D, Renou C, Tran A, et al. Independent prospective multicenter validation of biochemical markers (fibrotest-actitest) for the prediction of liver fibrosis and activity in patients with chronic hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.*; (In press). 1140
- [69] Halfon P, Imbert-Bismut F, Messous D, Antoniotti G, Benchetrit D, Cart-Lamy P, et al. A prospective assessment of the interlaboratory variability of biochemical markers of fibrosis (fibrotest) and activity (actitest) in patients with chronic liver disease. *Comp Hepatol* 2002;1:3. 1141
- [70] Imbert-Bismut F, Messous D, Thibaut V, Myers RB, Piton A, Thabut D, et al. Intra-laboratory 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. 1142
- [71] Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratzu V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat* 2002;9:128-33. 1143
- [72] Poynard T, McHutchison J, Manns M, Myers RP, Albrecht J. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology* 2003;38:481-92. 1144
- [73] Halfon P, Ouzan D, Cattani L, Cacoub P. The prognostic tools of hepatitis C virus infections. *Presse Med* 2004;33:542-3. 1145
- [74] Rosenthal-Allieri MA, Peritore ML, Tran A, Halfon P, Benzaken S, Bernard A. Analytical variability of the fibrotest proteins. *Clin Biochem* 2005;38:473-8. 1146
- [75] Thabut D, Simon M, Myers RP, Messous D, Thibault V, Imbert-Bismut F, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;37:1220-1 (author reply 1). 1147
- [76] Le Calvez S, Thabut D, Messous D, Munteanu M, Ratzu V, Imbert-Bismut F, et al. The predictive value of fibrotest vs. APRI for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;39:862-3 (author reply 3). 1148
- [77] V.A. Sebastiani G, Boccato RJ. Predictive value of three non invasive methods for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2004;40:280A. 1149
- [78] Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hezode C, Oh E, Smith KM, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004;41:935-42. 1150
- [79] Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13. 1151
- [80] Poordad FF. FIBROSpect II: a potential noninvasive test to assess hepatic fibrosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4:593-7. 1152
- [81] Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology* 2005;42:1373-81. 1153
- [82] Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nat Med* 2004;10:429-34. 1154
- [83] Halfon P. Les limites du fibrotest dans la prise en charge de l'hépatite C. *Gastroenterol Clin Biol* 2006;30:117-20. 1155
- [84] Lessinger JM, Schiele F, Vialle A, Ferard G, Myara A, Guechot J, et al. Enzyme calibrators: principle and practical use. *Ann Biol Clin (Paris)* 2002;60:281-6. 1156
- [85] Ferard G, Imbert-Bismut F, Messous D, Piton A, Abella A, Burnat P, et al. Influence of pyridoxal phosphate in measuring aminotransferases activities in patients with viral hepatitis. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;62: 717-20. 1157
- [86] Idobe Y, Murawaki Y, Ikuta Y, Koda M, Kawasaki H. Post-prandial serum hyaluronan concentration in patients with chronic liver disease. *Intern Med* 1998;37:568-75. 1158
- [87] Munteanu M, Messous D, Thabut D, Imbert-Bismut F, Jouys M, Massard J, et al. Intra-individual fasting versus postprandial variation of bio-

- 1141 chemical markers of liver fibrosis (fibrotest) and activity (actitest).
 1142 *Comp Hepatol* 2004;3:3.
- 1143 [88] Bourlière M, Pénaranda G, Renou C, Botta-Fridlund D, Tran A, Portal
 1144 I, et al. Validation and comparison of indexes for fibrosis and cirrhosis
 1145 prediction in chronic hepatitis C patients. *J. Viral Hepat.* (In press).
- 1146 [89] Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, et al.
 1147 Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose
 1148 significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006;.
- 1149 [90] Halfon P, Bourlière M, Deydier R, Botta-Fridlund D, Renou C, Tran A,
 1150 et al. Independant prospective multicenter validation of biochemical
 1151 markers (fibrotest-actitest) for the prediction of liver fibrosis and acti-
 1152 vity in patients with chronic hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.* (In
 1153 press).
- 1154 [91] Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, et al. Com-
 1155 parison and validation of simple noninvasive tests for prediction of
 1156 fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:1376–82.
- 1157 [92] Myers RP, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, Thibault V, Bochet M,
 1158 Charlotte F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver
 1159 fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *AIDS* 2003;
 1160 17:721–5.
- 1161 [93] Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-
 1162 Garcia J, Lazzarin A, et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for
 1163 chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J*
 1164 *Med* 2004;351:438–50.
- 1165 [94] Al-Mohri H, Cooper C, Murphy T, Klein MB. Validation of a simple
 1166 model for predicting liver fibrosis in HIV/hepatitis C virus-coinfected
 1167 patients. *HIV Med* 2005;6:375–8.
- 1168 [95] Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, Merino D, Cano P,
 1169 Mira JA, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency
 1170 virus/hepatitis C virus coinfectd patients by simple non-invasive inde-
 1171 xes. *Gut* 2006;55:409–14.
- 1172 [96] Naveau S, Raynard B, Ratziu V, Abella A, Imbert-Bismut F, Messous
 1173 D, et al. Biomarkers for the prediction of liver fibrosis in patients with
 1174 chronic alcoholic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:167–
 1175 74.
- 1176 [97] Ratziu V, Massard J, Charlotte F, Messous D, Imbert-Bismut F, Bony-
 1177 hay L, et al. Diagnostic value of biochemical markers (fibrotest–fibo-
 1178 sure) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic
 1179 fatty liver disease. *BMC Gastroenterol* 2006;6:6.
- 1180 [98] Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al.
 1181 Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease.
 1182 *Gastroenterology* 2005;128:1898–906.
- 1183 [99] Sakugawa H, Nakayoshi T, Kobashigawa K, Yamashiro T, Maeshiro T,
 1184 Miyagi S, et al. Clinical usefulness of biochemical markers of liver
 1185 fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gas-
 1186 troenterol* 2005;11:255–9.
- 1187 [100] Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Charlotte F, Messous D,
 1188 et al. The diagnostic value of biomarkers (steatotest) for the prediction
 1189 of liver steatosis. *Comp Hepatol* 2005;4:10.
- 1190 [101] Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Lebrec D,
 1191 et al. An overview of biochemical markers (fibrotest–actitest) diagnostic
 1192 value in chronic liver diseases: a non-invasive alternative to liver
 1193 biopsy. *Hepatology* 2003;.
- 1194
1195
1196
1197