

Retours d'Euromedlab 2023 des Seniors

Feedback from Euromedlab 2023 for Seniors

Bruno Baudin¹

Édith Bigot²

Amandine Bœuf³

Vincent Delatour³

Chiara Giangrande³

Damien Gruson⁴

Guillaume Grzych⁵

Caroline Le Goff⁶

Agnès Mailloux⁷

Katell Peoc'h⁸

Laurence Piéroni⁹

Vincent Sapin¹⁰

Hana Tabalani¹¹

Michel Vaubourdolle¹²

¹ Département de Biochimie-Hormonologie-Suivi thérapeutique général- Hôpital Trousseau, DMU BioGeM, APHP Sorbonne Université, Paris, France et Université Paris Saclay, Paris France

² Laboratoire de Biochimie, CHU Nantes, Nantes, France

³ Laboratoire national de métrologie et d'essai (LNE), Paris, France

⁴ Laboratoires cliniques, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Louvain, Belgique

⁵ Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU de Lille, Lille, France

⁶ Chimie Clinique, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

⁷ Centre National de Référence d'Hémobiologie Plaquettaire, Hôpital Saint Antoine, DMU BioGeM, APHP Sorbonne Université, Paris, France

⁸ Université Paris Cité, Service de Biochimie, Hôpital Bichat, APHP, Paris et Hôpital Beaujon, APHP, Clichy, France

⁹ Département de Biochimie-Hormonologie-Suivi thérapeutique général- Hôpital Tenon, DMU BioGeM, APHP Sorbonne Université, Paris, France

¹⁰ Laboratoire de Biochimie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

¹¹ Laboratoire de Biologie, CH de Cannes, Cannes, France

¹² Département de Biochimie-Hormonologie-Suivi thérapeutique général- Hôpital Saint Antoine, DMU BioGeM, APHP Sorbonne Université, Paris, France

Correspondance : L. Piéroni
<laurence.pieroni@aphp.fr>

Présentation

Katell Peoc'h

Laurence Piéroni

Instaurés dans les *Annales de Biologie Clinique* en 2019, ces « Retours d'Euromedlab » (congrès coorganisé par l'European Federation of Laboratory Medicine et l'International Federation of Clinical Chemistry, organisations scientifiques internationales auxquelles est affiliée la Société Française de Biologie Clinique) ont vu cette année les collaborations s'ouvrir vers d'autres participants que les seuls membres de la SFBC.

Les membres du Collège National des Biochimistes Hospitaliers, de la Société Royale de Médecine de Laboratoire de Belgique (qui participera à l'organisation du prochain congrès Euromedlab à Bruxelles en 2025) ont bien voulu s'associer aux seniors et juniors de la SFBC, qui œuvrent pour représenter la France dans les congrès internationaux et font part, à leur retour, de leur expérience en rédigeant des articles pour la revue afin de permettre une diffusion à l'échelle nationale des thématiques d'intérêt des sociétés internationales de biologie clinique et de médecine de laboratoire.

Parmi les juniors, récipiendaires d'une bourse EFLM-Young Scientists (Emeline Gernez), d'une bourse SFBC (Élodie Lebretonchel, Charles Lefèvre et Lucie Vaudran), ou membres des Young Scientists (Marie Lenski, Aleksei Tikhonov, Jules Al Samara, Vincent Determe), tous ont répondu présents avec enthousiasme.

Les anciens, habitués pour certains depuis 2019 ou s'étant récemment portés volontaires, ont à leur retour pris du temps pour nous relater les conférences qui leur ont paru refléter les évolutions et tendances actuelles de la biologie clinique.

Durant ce congrès, riche en conférences et en présentations d'innovations technologiques, de nouveaux groupes de travail EFLM et/ou IFCC impliquant nos collègues français ont été inaugurés : le Task and Finish Group "Biological Markers of Diagnosis and Follow-up of nitrous oxide abuse", dirigé par Guillaume Grzych, le Working group "Biomarkers of mild traumatic brain injury", dirigé par Vincent Sapin, past-président de la SFBC.

Enfin, notre collègue Anne Vassault s'est vue remettre le prix Robert Schaffer 2023 de l'IFCC pour ses travaux portant sur le développement de normes à utiliser en médecine de laboratoire (voir l'éditorial dans le présent numéro).

Cette démarche s'intègre dans une volonté globale d'accroître la visibilité de la Biologie Médicale Française, de participer au développement et à la formation continue des Biologistes, et d'intégrer notre activité dans les grandes tendances internationales.

La présidente de la Société Française de Biologie Clinique et la rédactrice en chef des *Annales de Biologie Clinique* s'associent pour remercier chaleureusement l'ensemble des contributeurs à ces articles et vous donnent rendez-vous en 2025 pour Euromedlab-Bruxelles.

Session "High-Sensitivity cardiac troponin I: how lab based and point of care tests can improve patient outcomes"

Caroline Le Goff

Au cours du lunch workshop organisé par QuidelOrtho, le Professeur Jean-Paul Cristol a modéré une session sur "High-Sensitivity cardiac troponin I: how lab based and point of care tests can improve patient outcomes". Jasper Boeddinhuis a commencé en nous proposant une stratégie de tri, des performances cliniques du Point of Care (POC) et des tests de laboratoires basés sur l'algorithme de l'European Society of Cardiology (ESC) 0-1h.

Il a introduit sa présentation en rappelant les trois critères de l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) concernant les troponines ultrasensibles, à savoir que :

- 1) le 99^e percentile de la limite supérieure de référence doit pouvoir être mesuré avec une imprecision analytique < 10 % ;
- 2) les tests doivent pouvoir mesurer la troponine au-dessus de la limite de détection (LOD) chez 50 % des individus en bonne santé ;
- 3) le 99^e percentile de la limite supérieure de référence devrait être spécifique au sexe.

Il a ensuite rappelé que 10 % des patients qui se présentent en salle d'urgence arrivent pour une suspicion d'infarctus aigu du myocarde (IAM). Un diagnostic et un traitement rapides permettent d'éviter que l'ischémie ne se prolonge et que la nécrose ne soit trop importante et le fait de faire un rapide « Rule out » est intéressant médicalement et économiquement. En 2011, l'ESC avait publié l'algorithme 0-3h mais en 2015, l'ESC a publié son nouvel algorithme 0-1h dans ses recommandations. Ce dernier est de plus en plus utilisé.

Cependant, un prélèvement à 1h est parfois un peu tôt pour les urgentistes par rapport à la prise en charge globale du patient ainsi depuis 2020, l'ESC a aussi intégré un algorithme 0-2h dans ses recommandations. Cela dit, comme le but de sa présentation était de nous parler de l'algorithme 0-1h, il nous a présenté des résultats d'études en utilisant ce dernier qui est considéré comme sûr, efficace et valable aussi chez les personnes âgées ainsi que chez les insuffisants rénaux. Ensuite, il nous a présenté les résultats d'une étude dérivée de son importante étude sur des patients admis pour des symptômes suggestifs d'IAM qu'il a menée dans le but de valider la performance clinique de la hs-cTnI-VITROS dans cette population. L'objectif premier était la comparaison de la précision diagnostique quantifiée par l'aire sous la courbe ROC (AUC) de la hs-cTnI-VITROS par rapport à la hs-cTnT-Elecsys et à la hs-cTnI-Architect, et dans un sous-groupe également par rapport à la hs-cTnI-Centaur et à la hs-cTnI-Access. Les objectifs secondaires comprenaient la dérivation et la validation d'un algorithme hs-cTnI-VITROS-0/1-h. La précision diagnostique du dosage de la hsTnI-VITROS pour l'IAM s'est avérée élevée et au moins comparable à celle des dosages de la hs-cTnT/I bien établis et d'autres nouveaux dosages. Ainsi, un algorithme simple incorporant les concentrations de hs-cTnI VITROS au moment de l'admission (T0) et les variations absolues au cours de la première heure (T1h) permettent d'effectuer un tri en vue d'une exclusion sûre et d'un diagnostic précis de l'IAM chez la majorité des patients se présentant aux urgences avec des douleurs thoraciques. Il a ensuite poursuivi son exposé avec quelques cas cliniques pour illustrer l'utilisation de cet algorithme 0-1h avant de conclure sur le fait que ce dernier présente des performances cliniques très intéressantes avec une très bonne sensibilité et une valeur prédictive négative proche de 100 % ainsi qu'une bonne précision.

Enfin, il a terminé son exposé en nous montrant que les performances cliniques des POC sont très comparables à celles des dosages sur les automates conventionnels. Ensuite, le Professeur François Roubille nous a exposé différents cas cliniques où il a entre autres montré que lorsque le patient est vraiment dans un état critique, l'ECG et les signes cliniques parlent d'eux-mêmes. Il nous a présenté des cas de patients auxquels il a été confronté et a montré l'importance d'obtenir un résultat de troponine rapidement. Il a aussi souligné que l'utilisation de la variation absolue de la valeur de la hs-cTnI cardiaque pour diagnostiquer un IAM aux urgences est meilleure que l'utilisation de la variation relative, exprimée en pourcentage de la valeur de base.

En conclusion, ces deux brillants orateurs ont mis en évidence l'importance de l'utilisation des recommandations de l'ESC concernant l'application de l'algorithme 0-1h avec ou sans POC.

Session « Infrarouge et RMN : applications en biologie médicale, réelles et à imaginer »

Bruno Baudin

La mesure de l'absorbance des énergies atomiques en infrarouge est bien connue en chimie et a remplacé heureusement la trousse du petit chimiste pour l'étude des calculs rénaux et urinaires ; elle est devenue la technique de référence. Par contre, les autres applications sont encore à imaginer car sucres, lipides, protéines et acides nucléiques possèdent tous les liaisons C-H qui sont les plus facilement mesurables à quelques hertz (Hz). Les appareils disponibles réalisent des mesures en absorbance (échantillon dans un tube), en transflection (sur une plaque) ou atténuation de réflectance totale (plaque en sélénide de zinc). Il s'agirait de mesures dans des fluides biologiques (identification, mais quantification difficile), mais aussi dans des cellules et des tissus (sur plaques). Les appareils actuels sont des spectromètres infrarouges à transformée de Fourier (ATR-FTIR spectroscopy : bande passante de 4 000 à 400 cm^{-1}) utilisant l'intelligence artificielle pour interroger les banques de spectres (*machine learning*). Les appareils infrarouges restent d'accès financier facile et avec une formation technique assez réduite ; c'est au biologiste d'imaginer les applications et mettre en œuvre des protocoles cliniques.

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est apparue en biologie un peu plus tôt que l'infrarouge, surtout la RMN du proton (^1H -RMN) pour l'identification des particules lipoprotéiques dans les fluides biologiques. En 30 minutes, les techniques actuelles sont capables de fractionner six VLDL, six LDL, quatre HDL (donc mieux qu'avec l'ultracentrifugation pourtant jusqu'alors technique de référence et que l'électrophorèse encore utilisée par les laboratoires spécialisés) et donnent la concentration en triglycérides et en cholestérol-HDL, cholestérol-LDL dans une bonne corrélation avec les méthodes chimiques. Une application dans l'étude des NASH et NAFLD a été présentée. Dans les urines, la ^1H -RMN identifie et quantifie l'hippurate, la créatinine, le glucose, des acides aminés et des acides organiques ce qui donnerait un intérêt particulier à cette méthode dans l'étude des maladies rares

du métabolisme, en concurrence de la spectrométrie de masse en phase gazeuse pour les acides organiques urinaires avec déjà 59 métabolites retrouvés par la ¹H-RMN. Une application dans la survie a été présentée avec un profil urinaire de survie ! Une autre application dans le diabète avec 17 métabolites. La méthode est stable, peu sensible aux effets de la température. Elle est reproductible, non destructive, prend peu d'échantillon et avec peu de préparation. Il suffit de conserver les échantillons à -80 °C, décongeler, centrifuger, ajouter un tampon et injecter dans l'appareil RMN. En route pour d'autres applications ; bien sûr les appareils représentent un bel investissement, mais nous sommes habitués avec la spectrométrie de masse.

Session IFCC "AI applications in clinical laboratory medicine"

Damien Gruson

Katell Peoc'h

La séance d'ouverture du lundi était dédiée à l'intelligence artificielle et à ses applications en biologie clinique.

Elle débutait par une présentation du Pr Gruson, intitulée "Current and future applications in laboratory medicine". Cette présentation portait sur les applications médicales et opérationnelles de l'intelligence artificielle (IA) en biologie clinique, avec des répercussions pour les patients, les médecins, et les biologistes. L'IA joue un rôle croissant dans la transformation de la pratique médicale, offrant de nouvelles opportunités mais soulevant également des défis liés à la cybersécurité, l'éthique et la responsabilité. Cependant, la présentation soulignait aussi la nécessité de ne pas craindre l'IA, mais plutôt de devenir acteur dans ce changement. Les biologistes devant acquérir les compétences nécessaires pour comprendre et utiliser l'IA de manière responsable et éthique. Enfin, la responsabilité et l'éthique jouent un rôle crucial dans l'utilisation de l'IA en biologie clinique. Les décisions prises par les algorithmes d'IA doivent être transparentes, explicables et équitables. Cette présentation évoquait aussi la complémentarité entre IA et intelligence humaine, en intégrant notamment une citation rabelaisienne : « *Science sans conscience n'est que ruine de l'âme* ».

La seconde présentation, réalisée par le Pr Delveaux, s'intéressait à l'intérêt de l'IA dans l'écosystème de la e-santé, de ses applications et de ses challenges.

Il a notamment insisté sur le côté ancien (premier système en 2011) et extrêmement productif de ce domaine, avec un nombre exponentiel de start-up se développant sur le sujet, mais également sur l'importante déperdition pour produire des systèmes durables et économiquement viables. *A priori* très peu de ces applications sont par ailleurs marquées CE, ce qui pose le problème de leur justesse et fiabilité.

Il a également illustré les différences entre un système expert, un système de "Machine learning" et un système de "Deep learning". Il a souligné les problématiques de sécurité que présentaient ces applications, qui doivent notamment ne pas être exploitées par exemple par des systèmes d'assurances privées.

La troisième présentation de la session a été conduite par le Dr Gmira, et s'intéressait aux aspects de l'éthique dans le domaine du déploiement et de l'utilisation de l'IA en Santé, et en particulier dans le domaine de la biologie délocalisée. Parmi les grandes idées développées se trouvait notamment l'importance du consentement éclairé pour l'utilisation de données personnelles, qui semble avoir été parfois oublié, et pour la prise en charge par une IA, qui est insuffisamment annoncée. Elle insistait notamment sur le fait que le patient, usager du système de santé, est par essence encore plus vulnérable que les autres individus, et mérite d'être protégée par un arsenal législatif suffisant et par l'existence de moyens de vérifications de l'application de ces lois.

Les deux dernières présentations étaient une illustration de l'utilisation de l'IA en biologie médicale, la première présentant l'identification de profils complexes biologiques dans la numération formule sanguine et significativement associés au sepsis par le Dr Agnello, la seconde par le Dr Sanchez-Berdial présentant des analyses de données du score de fibrose FIB-4 dans de larges cohortes de populations pour la prévention de la stéatohépatite métabolique. La session aura été teintée d'une envie de discerner ce qui est positif de ce qui l'est moins, ce qui est utile de ce qui peut être dommageable ou dangereux, afin d'en tirer une boîte à outils pour les futurs développements.

Symposium "Point-of-Care Testing: Home, Hospital and Beyond"

Michel Vaubourdolle

Agnès Mailloux

Ce symposium comportait quatre sessions plénières et a réuni plus d'une centaine de participants et une vingtaine d'intervenants provenant de vingt pays, représentant une

grande variété de situations cliniques et organisationnelles dans lesquelles la biologie « hors-les-murs du laboratoire » peut apporter des améliorations significatives à la prise en charge des patients.

La première session était consacrée aux situations hospitalières et à l'intérêt clinique des EBMD dans certaines pathologies d'urgence : suivi en temps réel du cortisol et de la PTH en per-opératoire en chirurgie ORL, aspects récents du monitoring de l'équilibre acido-basique et de l'oxygénation en réanimation, hémostasie délocalisée en chirurgie cardiaque, ammoniémie au poste de soins dans le diagnostic et le suivi des maladies héréditaires du métabolisme chez le nouveau-né. Au cours de cette session, Agnès Mailloux (CNRHP, Paris) a présenté les enjeux et les difficultés de la coordination entre les laboratoires et les unités de soins pour une utilisation optimale de la bilirubinémie néonatale. Les problématiques de standardisation des techniques, de dialogue clinico-biologique, de maîtrise des risques des EBMD et de comparaison avec les bilirubinomètres transcutanés (TROD) ont été évoquées. Ces éléments ont été repris par le groupe WG-NB IFCC nouvellement créé et auquel participe Agnès Mailloux. Les interventions suivantes ont complété ce panorama d'applications cliniques avec la description des situations hospitalières particulières pour lesquelles la cytologie et la mesure de l'HbA1c ont l'avantage d'être évaluées en poste de soins. La discussion a permis de montrer que ces situations d'intérêt clinique sont de plus en plus nombreuses et validées par des études contrôlées.

La deuxième session était consacrée aux extensions en cours de la biologie « hors-les-murs » au-delà du périmètre désormais « classique » des situations hospitalières centrées sur la biologie des soins critiques. Une revue de ces nouvelles applications dans le domaine des soins primaires aux États-Unis a été faite, puis des contextes particuliers ont été évoqués : soins primaires en Australie avec une densité médicale très faible et des distances très grandes, Afrique du Sud avec des infrastructures médicales encore insuffisantes et un objectif de médecine plus personnalisée, contexte particulier des îles Philippines soumise aux risques de submersion. Puis, un élargissement des applications cliniques au-delà du contexte de la biologie d'urgence a été envisagé : Michel Vaubourdolle a présenté une revue critique des travaux réalisés dans le monde sur l'intérêt des EBMD, TROD et autotests pour le suivi optimisé des maladies chroniques dans le contexte de la santé mobile. Une extension des sites de réalisation des EBMD dans les cabinets médicaux en Nouvelle-Zélande a également été présentée. Enfin, le sujet des tests directement réalisés auprès des usagers/patients (DTCT = *direct-to-consumer testing*) a été abordé par

deux intervenants européens. Ces tests, très controversés en Europe, ne sont pas régulés au sein du système de santé et correspondent à une demande de raccourcissement des circuits de soins et d'auto-responsabilisation des patients sur leur santé. Les situations sont très différentes d'un pays à l'autre en fonction de la nature du système de financement de la santé. Dans tous les cas, une fiabilisation des dispositifs et une information adaptée des patients sur leur utilisation sera requise, avec ou sans l'intervention et l'expertise des laboratoires médicaux. Une régulation au niveau national serait utile avec des objectifs de santé publique pour réduire les risques liés à un mercantilisme excessif.

La troisième session a abordé le management de la qualité des EBMD au Pays de Galles et aux États-Unis. Des situations différentes concernent les contextes hospitaliers et les soins primaires avec des niveaux possibles d'assurance qualité différents. De même, les exigences nationales et les responsabilités (laboratoire, professionnels de santé, etc.) sont variables d'un pays à l'autre. Le groupe IFCC C-POCT qui organisait ce symposium vient de publier un « *position paper* » résumant les recommandations consensuelles du groupe sur la biologie « délocalisée » réalisée par des professionnels de santé en dehors du contexte hospitalier (Khan *et al.*).

La quatrième session du samedi matin était ciblée sur les innovations technologiques et managériales en *point-of-care testing* (POCT). Cette session avait été préparée avec les industriels du diagnostic. Des sujets variés ont été abordés : particularités du POC pour la validation des méthodes, traitement des anomalies et non conformités des résultats de tests délocalisés, indicateurs de performance et audits en POCT, CQI et EEQ en dehors du laboratoire, problèmes et solutions pour la gestion des compétences des opérateurs POC.

La discussion générale a confirmé le foisonnement sur tous les continents des développements technologiques et informatiques dans le domaine, ainsi que l'implication majeure et générale des spécialistes en médecine de laboratoire en tant qu'experts de la maîtrise des risques dans ce domaine en pleine mutation et en croissance rapide.

Référence

Khan A, Pratumvinit B, Jacobs E, *et al.* Point-of-care testing performed by healthcare professionals outside the hospital setting: consensus-based recommendations from the IFCC Committee on Point-of-Care Testing (IFCC C-POCT). *Clin Chem Lab Med* 2023 Jun 2. doi : 10.1515/cclm-2023-0502. Online ahead of print.

Symposium “Precision Medicine”; Sessions “Multi-omics profiling in the era of cancer Precision Medicine” – T. Ozben (Turkey) et “Genetic diagnosis and multi-omics clustering for diabetes precision medicine” – P. Froguel (France)

Guillaume Grzych

L'utilisation des approches multi-omiques a émergé comme un outil prometteur dans la compréhension approfondie de la biologie des pathologies complexes que sont le cancer et le diabète. En intégrant les données provenant de multiples plateformes de séquençage et d'analyse, telles que le séquençage de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des métabolites, les études multi-omiques permettent une vision plus complète des altérations moléculaires sous-jacentes à ces maladies. Comme évoqué en première partie par le Professeur Tomris Ozben, dans le cancer, ces approches révèlent des signatures génomiques, transcriptomiques et protéomiques spécifiques à chaque type de cancer, permettant une classification plus précise des tumeurs et une meilleure prédiction de la réponse au traitement. De plus, l'analyse multi-omique peut également identifier des altérations moléculaires rares ou sous-représentées, qui pourraient être des cibles thérapeutiques potentielles. En seconde partie de la conférence, le professeur Philippe Froguel à la tête du laboratoire EGID (European Genomic Institute for Diabetes) localisé à Lille, nous montre que dans le diabète, les études multi-omiques permettent de mieux comprendre les mécanismes moléculaires complexes qui contribuent à l'homéostasie du glucose, à la résistance à l'insuline et à la dysfonction des cellules bêta du pancréas. Ces approches révèlent des interactions complexes entre les gènes, les voies métaboliques et les régulations épigénétiques, fournissant ainsi de nouvelles pistes pour le développement de thérapies ciblées et de biomarqueurs prédictifs. Cette approche holistique de l'analyse moléculaire ouvre de nouvelles perspectives pour une médecine de précision personnalisée, en permettant une prise en charge plus efficace et individualisée des patients atteints de cancer et de diabète. Cependant, malgré les avantages potentiels des études multi-omiques, des défis importants subsistent, notamment en ce qui concerne la normalisation et l'intégration des données provenant de différentes plateformes, ainsi que l'interprétation complexe des résultats. Néanmoins, avec l'avancement continu des technologies de séquençage et des méthodes analytiques, l'utilisation des approches multi-omiques

est destinée à jouer un rôle de plus en plus important dans la recherche et la pratique clinique en oncologie et en diabétologie, ouvrant ainsi la voie à des avancées significatives dans le diagnostic, le traitement et la prévention de ces maladies complexes.

Le biologiste devra-t-il devenir un expert de l'ensemble des omics pour traiter une approche pathologique ou alors des équipes d'expert en omics individualisés devront-ils travailler ensemble ? C'est également un challenge qui attend à la fois la profession mais aussi l'avenir de la formation des futures biologistes médicaux.

Symposium “Biomarkers of liver diseases”; Session “What combination of non-invasive fibrosis tests should be used for the diagnosis of fibrosis in NAFLD/MAFLD?”

Guillaume Grzych

Edith Bigot

La fibrose hépatique, affection chronique fréquente du foie, nécessite un diagnostic et un suivi précis pour garantir une prise en charge appropriée. Du fait de la progression de l'obésité et du diabète de type 2, NASH et NAFLD sont des causes de fibrose hépatique en très nette augmentation. Dans cette optique, le Professeur Jérôme Boursier du CHU d'Angers nous présente les différents marqueurs non invasifs de fibrose hépatique, leurs combinaisons en pratique clinique ainsi que les résultats des études les utilisant. Parmi ces marqueurs non invasifs, les techniques d'imagerie telles que l'élastographie par résonance magnétique (ERM) et l'élastographie par ultrasons (EUS) ou FibroScan® permettent une évaluation précise de la rigidité du foie, qui est étroitement liée à la fibrose hépatique. Ces techniques fournissent des mesures quantitatives de la fibrose hépatique, ce qui permet de diagnostiquer et de suivre la progression de la maladie au fil du temps. Parmi les paramètres non invasifs figurent également des marqueurs biologiques, soit reflétant directement la fibrose hépatique : hyaluronate, métalloprotéinases inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinases), soit indirects : transaminases, albumine, taux de prothrombine, plaquettes... le plus souvent.

L'utilisation de ces biomarqueurs permet une évaluation plus objective de la fibrose hépatique et peut être combinée avec d'autres paramètres biologiques ou non (IMC, âge, sexe) pour améliorer la précision du diagnostic et du suivi. Ainsi des scores combinés ont été

développés pour intégrer plusieurs marqueurs non invasifs et fournir une évaluation globale de la fibrose hépatique. Par exemple, le score de fibrose hépatique FIB-4, facile à déterminer puisqu'il combine l'âge, les transaminases sériques, et la numération plaquettaire, a démontré sa valeur dans le diagnostic et le suivi de la fibrose hépatique. Plusieurs études internationales associant en première intention l'utilisation du FIB-4 comme screening des patients à risque puis le FibroScan® permettent de mieux détecter les sujets à risque de fibrose (stade 3-4) pour les orienter vers l'hépatologue et/ou leur proposer une prise en charge (modifications règles hygiéno-diététique, traitement pharmacologique, chirurgie bariatrique). En conclusion, les marqueurs non invasifs, tels que l'imagerie, les paramètres biologiques et les scores combinés, offrent une alternative précieuse à la biopsie hépatique pour le diagnostic et le suivi de la fibrose hépatique, permettant ainsi une évaluation plus sûre et plus pratique de cette maladie chronique complexe. Cependant leur utilisation doit rester prudente afin de ne pas multiplier le nombre de faux positifs, des recommandations claires sont nécessaires à l'utilisation des scores biologiques pour le diagnostic et le suivi des fibroses hépatiques.

Symposium "Biomarkers of liver diseases"; Session "Adipocytokines and liver diseases in 2023: where are we?" – C. Peralta (Spain)

Guillaume Grzych

Edith Bigot

Les adipocytokines, également connues sous le nom de cytokines adipocytaires, sont des molécules bioactives sécrétées principalement par les cellules adipeuses du tissu adipeux blanc, qui jouent un rôle crucial dans la régulation de divers processus métaboliques et inflammatoires. Ces molécules ont suscité un intérêt considérable en raison de leur implication dans les pathologies hépatiques, notamment la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) et la stéato-hépatite non alcoolique (NASH).

L'obésité et l'accumulation excessive de graisse dans le foie sont des facteurs de risque importants pour le développement de la NAFLD et de la NASH. Les adipocytokines, telles que l'adiponectine et la résistine, jouent un rôle-clé dans la régulation de l'homéostasie énergétique et de l'inflammation, et leur dysfonctionnement est étroitement lié à la progression de la maladie

hépatique. L'adiponectine, par exemple, est une adipocytokine anti-inflammatoire et insulino-sensibilisante qui est généralement réduite chez les patients atteints de NAFLD et de NASH. Sa diminution entraîne une insulino-résistance, une inflammation accrue et une augmentation de l'accumulation de graisse hépatique. En revanche, la résistine, une adipocytokine pro-inflammatoire, est souvent surexprimée chez les patients atteints de NAFLD et de NASH, favorisant ainsi l'inflammation hépatique et l'aggravation de la maladie.

Outre l'adiponectine et la résistine, d'autres adipocytokines telles que la leptine, la visfattine, la chemérine et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-alpha) sont également impliquées dans les pathologies hépatiques. La leptine, par exemple, est une hormone sécrétée par les adipocytes qui régule l'appétit et le métabolisme énergétique. Cependant, chez les patients atteints de NAFLD et de NASH, la résistance à la leptine peut se produire, ce qui perturbe son rôle régulateur et peut contribuer à la progression de la maladie hépatique. De plus, la visfattine, la chemérine et le TNF-alpha sont des adipocytokines pro-inflammatoires généralement augmentées chez les patients atteints de NAFLD et de NASH, favorisant ainsi l'inflammation et la fibrose hépatique.

Comprendre le rôle complexe des adipocytokines dans les pathologies hépatiques est essentiel pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant ces molécules. Des études ont montré que la modulation des niveaux d'adipocytokines peut avoir des effets bénéfiques sur la progression de la NAFLD et de la NASH. Par exemple, l'administration exogène d'adiponectine a été proposée comme une approche potentielle pour traiter la NAFLD et la NASH en améliorant l'insulino-résistance.

Update on 25-OH Vitamin D Measurement and Metabolites. Pr. Étienne Cavalier (Belgium)

The use of bone turnover markers and vitamin D metabolites for personalized patient management, M. Herrmann (Austria)

Hana Tabalani

La vitamine D et ses métabolites étaient à l'honneur le mardi 23 mai avec deux sessions, la première sponsorisée et présentée par le Professeur Étienne Cavalier

(Belgique), la deuxième intégrée dans la session « case report » et présentée par Markus Herrmann (Autriche). Ces deux sessions, complémentaires, ont été illustrées par la présentation de cas cliniques.

Ils ont dans un premier temps rappelé l'importance de la vitamine D dans le maintien de l'homéostasie phosphocalcique mais aussi ses autres effets pléiotropiques. Les orateurs rappellent également que, selon les recommandations actuelles, seul le dosage de la 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D) permet d'apprécier les stocks de l'organisme. Ils évoquent également les difficultés rencontrées dans la détermination des valeurs de référence, qui n'est pas parfaitement consensuelle selon les sociétés savantes. Il ne semble pas encore y avoir totalement consensus sur la définition d'une carence, d'une insuffisance ou encore du taux optimal à atteindre.

Ils ont ensuite décrit les difficultés dans la standardisation des méthodes de dosages de la 25(OH)D les plus fréquemment utilisées dans différentes populations. En effet, les essais de standardisation sont réalisés chez des personnes saines, mais le dosage de la 25(OH)D est effectué dans différentes pathologies.

Par exemple à cause de sa lipophilicité, quelle que soit la méthode de dosage adoptée, une étape de dissociation complète de la 25(OH)D des protéines porteuses est nécessaire pour pouvoir la quantifier avec exactitude. Certaines conditions physiologiques (grossesse, ethnie) ou pathologique (insuffisance rénale et hépatique) influencent la cinétique de dissociation de la molécule.

Le Pr Cavalier a rappelé l'intérêt limité du dosage de la 1,25(OH)2D, forme active de la 25-hydroxyvitamine D. Les taux sériques de 1,25(OH)2D n'ont pas de relation avec les réserves de vitamine D. La mesure de la 1,25(OH)2D est utile dans l'investigation des patients présentant une hypercalcémie inexplicée, une sarcoïdose, des troubles granulomateux, une ostéomalacie induite par une tumeur...

Ils ont par la suite évoqué les métabolites de la vitamine D. Le principal métabolite de la 25(OH)D est la 24,25(OH)2D, qui se forme sous l'action du CYP24A1. Dans des conditions physiologiques, la concentration sérique de 24,25(OH)2D s'élève à environ 10 % de la concentration en 25(OH)D. Normalement, la 25(OH)D et la 24,25(OH)2 sont fortement corrélées. Par conséquent, la mesure isolée de la 24,25(OH)2 ne fournit pas d'informations supérieures à celles de la 25(OH)D. Cependant, la détermination simultanée des deux métabolites avec le calcul du rapport des métabolites de la vitamine D (VMR) s'est avérée utile dans différents cas que les orateurs ont illustré.

Des études de cohortes montrent que la carence en vitamine D est plus fréquente dans la population afro-américaine. Si les facteurs sociaux, environnementaux et la pigmentation jouent un rôle, il existe aussi des polymorphismes génétiques communs des protéines porteuses de la vitamine D (VDBP). Cette carence plus fréquente n'est pas toujours associée à un déficit osseux ou à une augmentation du risque de fractures. Les deux orateurs ont indiqué que les seuils actuels n'étaient pas applicables à cette population. La détermination parallèle des deux métabolites chez cette population reflète mieux le statut individuel en vitamine D que la mesure de la 25(OH)D seule.

Les orateurs ont également montré l'intérêt la mesure en parallèle 24,25(OH)2D et 25(OH)D avec le calcul VMR, chez les patients où le métabolisme de la vitamine D est altéré et pour identifier les causes d'hypercalcémie. À titre d'exemple ont été présentés des cas d'hypercalcémie PTH-indépendante, due à une perte de fonction de la 24-hydroxylase (activité CYP24A1 réduite ou inexistante). Dans ces cas, la supplémentation en vitamine D peut engendrer des effets indésirables graves. Le dosage effondré du métabolite 24,25(OH)2D serait une aide pour orienter les tests génétiques.

Ils ont également présenté les résultats de l'étude réalisée sur 1200 sujets jeunes, et publiée par le Pr Cavalier dans CCLM en 2020. En mesurant simultanément la 25(OH)D et la 24,25(OH)2D, ils ont pu proposer un seuil de carence en vitamine D chez cette jeune population, ainsi qu'une approche plus individuelle dans la détermination de la carence en vitamine D.

En conclusion : la standardisation du dosage de la 25(OH)D est difficile en raison de sa forte liaison avec ses transporteurs, la nécessité de mesurer la 25(OH)D2 et 25(OH)D3 de façon équimolaire et la coexistence de plusieurs molécules chimiquement apparentées qui peuvent réagir de manière croisée... Malgré cela, le nombre de méthodes de dosage de la 25(OH)D a considérablement augmenté, avec des risques d'erreurs potentiels.

La mesure de la 24,25(OH)2D et du rapport VMR semblent intéressants dans certaines populations. Ces dosages restent cependant limités à des laboratoires disposants de techniques séparatives par chromatographie en phase liquide à haute performance, couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC- MS/MS).

Pour aller plus loin :

Cavalier E, Huyghebaert L, Rousselle O, *et al.* Simultaneous measurement of 25(OH)-vitamin D and 24,25(OH)2-vitamin D to define cut-offs for CYP24A1 mutation and vitamin D deficiency in a population of 1200 young subjects. *Clin Chem Lab Med* 2020 ; 58 (2) : 197-201.

Alonso N, Zelzer S, Eibinger G, Herrmann M. Vitamin D Metabolites: Analytical Challenges and Clinical Relevance. *Calcif Tissue Int* 2023 ; 112 (2) : 158-177.

Symposium « Biomarqueurs du traumatisme crânien léger »

Vincent Sapin

Le symposium (n°9/24 mai) sur les biomarqueurs du traumatisme crânien léger (TCL) avait comme objectif principal de démontrer l'intérêt d'une démarche de recherche translationnelle dans l'identification de biomarqueurs utilisables en routine clinique en s'appuyant sur des données de recherche fondamentale. Toutes les présentations ont débuté par un rappel de l'importance de disposer d'outils objectifs donc de biologie pour répondre au défi diagnostique posé pour les patients ayant subi un TCL dans le cadre de leur management au sein des services d'urgence en focalisant sur la recherche de lésions intracrâniennes, complications graves qui doivent être correctement identifiées afin d'initier une prise en charge immédiate neurologique ou neurochirurgicale. Les orateurs ont tous insisté sur le fait qu'il fallait aussi des biomarqueurs de pronostic pour optimiser une filière de soins post-TCL présentée par plusieurs des orateurs comme une épidémie silencieuse en regard des conséquences négatives dans la vie courante des patients. C'est le cas du premier orateur Javier Egea exposant les travaux de son équipe s'intéressant au rôle de l'inflammation dans le dialogue « microglie-astrocyte » avec des acteurs comme TLR4 ou NLRP3 dont les conséquences physiopathologiques sont indéniables sur l'activité synaptique et les fonctions cérébrovasculaires. Par la suite Henrik Zetterberg a insisté sur la nécessité de connaître la physiologie des biomarqueurs impliqués (comme leurs cinétiques ou leurs caractéristiques d'expression) pour optimiser leurs valeurs ajoutées diagnostiques. Pour cela, il s'est appuyé sur l'exemple de deux biomarqueurs très actuels que sont la protéine Tau et les neurofilaments (NFL). Anne-Cécile Chiollaz a ensuite relaté l'expérience de l'équipe genevoise qui cherche à identifier des biomarqueurs applicables à une population spécifique que sont les enfants. Elle a indiqué qu'il fallait des valeurs de référence décisionnelles et spécifiques pour cette population et a insisté sur le rôle des biomarqueurs dans la création d'une filière de suivi pédiatrique post TCL. Daniel Morell-Garcia a présenté les retours de l'équipe espagnole suite à la mise en place aux urgences adultes du niveau binôme « GFAP-UCHL1 ». Enfin,

les travaux de Lorena Babini ont établi la faible valeur ajoutée des biomarqueurs sanguins pour prédire la nécessité d'un second scanner de la tête chez des patients sous anti-coagulants ayant subi un TCL avec un premier scanner sans lésions intracrâniennes. À la suite des cinq présentations, les deux modérateurs de la session ont conclu sur l'importance actuelle et future des biomarqueurs pour les aspects diagnostiques et pronostiques chez des patients ayant subi un TCL.

Réunion annuelle des Working Group Apo, Bilirubine, PCT et bone metabolism

Vincent Delatour

Comité IFCC sur les biomarqueurs du métabolisme osseux

Ce comité, présidé par Étienne Cavalier (CHU de Liège) travaille sur la standardisation des dosages pour différents biomarqueurs du métabolisme osseux, en particulier la PTH et la vitamine D.

Concernant la PTH, Vincent Delatour a présenté les résultats d'une étude de commutabilité ayant pour objectif d'identifier les matrices les plus appropriées pour produire des étalons internationaux qui pourraient être utilisées pour améliorer la comparabilité inter-technique, qui est actuellement très largement perfectible. Les résultats montrent que des pools de plasma surchargés en PTH recombinante sont adaptés mais la commutabilité reste relativement variable pour les valeurs basses.

Étienne Cavalier a ensuite présenté les résultats d'une étude ayant évalué l'effet d'une recalibration *in silico* des dosages de PTH. Bien cette étude n'a été réalisée que pour un nombre limité d'immuno-essais, les résultats montrent qu'une standardisation de l'étalonnage via la méthode de référence candidate par LC/MS/MS permettrait d'améliorer très substantiellement la comparabilité des résultats fournis par les différents immuno-essais. Cela permettrait de disposer de valeurs normales standardisées identiques pour les différentes méthodes, qu'elles soient de seconde ou de troisième génération.

Concernant la vitamine D, Étienne Cavalier a présenté les résultats d'une étude ayant pour objectif d'évaluer la justesse et les incertitudes de mesure des différentes méthodes de dosages. Pour cela, un nombre important d'échantillons ont été analysés avec différents immuno-essais et une méthode de référence par LC/

MS/MS. Malgré le fait que des références soient disponibles (matériaux de référence certifiés, méthodes de références développées dans plusieurs laboratoires de référence), les résultats de l'étude montrent que les différentes méthodes ne fournissent pas toujours de résultats justes et comparables d'une méthode à l'autre, ce qui est relativement décevant. Les incertitudes de mesure sont parfois élevées et il apparaît nécessaire de poursuivre les travaux de standardisation.

Enfin, une discussion s'est tenue sur la nomenclature des dosages de différents biomarqueurs du métabolisme osseux, qui gagneraient à être harmonisée. Un travail est en cours sur ce sujet et sera poursuivi.

Groupe de travail IFCC sur la standardisation des dosages d'apolipoprotéines par spectrométrie de masse

Ce groupe travaille depuis plusieurs années sur la standardisation des dosages d'un panel d'apolipoprotéines : apoA-I, B, C-I, C-II, C-III, E et apo (a). Comme le seul laboratoire disposant d'une méthode de référence pour le dosage de l'ApoB, de l'ApoA-I et de la Lp(a) a fermé et que les matériaux de référence certifiés sont tous en rupture de stock, les fabricants de produits de diagnostic *in vitro* ne sont actuellement plus en mesure d'établir ni de vérifier le raccordement métrologique des résultats. Il existe donc un besoin urgent de combler ce manque. Une méthode de référence candidate par LC/MS/MS a été développée et des étalons sont en cours de production mais ils ne seront pas disponibles avant 2024. Un des objectifs du groupe de travail consiste à ce que les résultats des dosages d'apolipoprotéines soient à l'avenir rendus en mmol/L et non pas en mg/L. Ceci est motivé par le fait que les apolipoprotéines sont des protéines de structure hautement hétérogènes, en particulier l'apo(a) : il est donc peu adapté de convertir les concentrations massiques en concentrations molaires via une masse moléculaire unique. À noter la présence dans ce groupe de travail de trois membres français : Vincent Delatour et Chiara Giangrande du LNE pour les aspects métrologiques (production d'étalons) et Eduardo Angles-Cano, Directeur de Recherche INSERM, qui apporte une expertise très appréciée, notamment en ce qui concerne la présence de fragments d'apolipoprotéines.

Groupe de travail IFCC sur la standardisation de la procalcitonine

Ce groupe de travail, présidé par Vincent Delatour (LNE Paris), travaille depuis plusieurs années sur la standardisation des dosages de procalcitonine, un biomarqueur du sepsis. Le groupe de travail a réalisé une étude au sein de laquelle ont été collectés les résultats de plus d'une centaine de contrôles externes de qualité (EEQ) en Europe. En France, ProBioQual a contribué. Les résultats de l'étude montrent que la variabilité inter-technique varie énormément d'une EEQ à l'autre. Dans certains cas, la variabilité inter-technique est de l'ordre de quelques pourcents, suggérant que les différents immuno-essais fournissent des résultats équivalents. Dans d'autres cas, la variabilité inter-technique peut dépasser 25-30 %, suggérant que la standardisation est insuffisante doit être améliorée. Cette situation s'explique par le fait que les EEQ utilisent différents types d'échantillons (sérums frais, congelés, lyophilisés, surchargés ou non en PCT recombinante) : il est assez raisonnable de penser que certains échantillons de contrôle ne sont pas commutables, ce qui fausse l'interprétation des résultats et donne une estimation erronée de la comparabilité inter-technique. Afin de déterminer quel est l'état de l'art réel en termes d'harmonisation, le groupe travaille sur l'organisation d'une étude de commutabilité ayant pour objectif d'identifier le type d'échantillons de contrôle mimant le mieux le comportement d'échantillons de patients. Différents fournisseurs d'EEQ ont d'ores et déjà partagé leurs matériaux de contrôle et différents matériaux de référence candidats ont été produits via une collaboration entre le LNE, le CHU de Montpellier (Jean-Paul Cristol) et l'AP-HP (Laurence Piéroni). La commutabilité de ces différents échantillons sera évalué en comparant leur comportement avec celui d'un panel d'échantillons de patients fournis par l'AP-HP (Pierre Hausfater) dans le cadre du projet Européen Septimet, auquel le CEA a également participé. Par la suite, une comparaison interlaboratoire reposant sur des échantillons de commutabilité rigoureusement démontrée sera organisée afin de documenter le niveau actuel d'harmonisation et le besoin de l'améliorer ou non.

Afin d'évaluer la faisabilité d'améliorer la comparabilité des résultats fournis par les différentes méthodes dosages de PCT à travers une standardisation de l'étalonnage, Amandine Bœuf (LNE Paris) a présenté la validation d'une méthode de référence candidate par LC/MS/MS développée conjointement par le LNE et l'ESPCI. Les résultats de cette méthode ont été comparés à ceux fournis par les principaux immuno-essais. Les résultats montrent que les immuno-essais fournissent des résultats deux fois plus élevés que la méthode de référence candidate par LC/MS/MS.

Comme une recalibration des immuno-essais contre la spectrométrie de masse impliquerait de redéfinir les cut-offs actuellement utilisés en pratique clinique courante, cette solution est jugée peu souhaitable. Il est donc envisagé de privilégier une harmonisation des dosages via la méthode Kryptor, qui est actuellement utilisée par la plupart des fabricants pour établir la traçabilité métrologique des résultats.

Groupe de travail IFCC sur la standardisation des dosages de bilirubine néonatale

Ce groupe de travail, co-présidé par Lindsey Mackay et Ronda Greaves (Australie), travaille depuis 2023 sur la standardisation des dosages de bilirubine néonatale. Ces dosages font l'objet d'une importante variabilité inter-technique, ce qui pose des problèmes majeurs pour disposer d'un diagnostic fiable et assurer une prise en charge adaptée. Vincent Delatour (LNE Paris) et Agnès Mailloux (CNRHP, Hôpital Saint-Antoine) ont présenté les résultats des travaux réalisés dans le cadre du groupe de travail SFBC sur la bilirubine néonatale. Une première étude a été réalisée pour évaluer la comparabilité de l'étalon national. Une seconde étude a été réalisée pour évaluer la comparabilité inter-technique et la possibilité d'améliorer celle-ci à travers une standardisation de l'étalonnage. Les résultats montrent qu'il est possible d'améliorer la comparabilité des dosages via une standardisation de l'étalonnage mais que les méthodes de dosages présentent des limitations importantes aux valeurs basses. Le groupe de travail s'attachera à combler le manque d'étalons de référence à l'échelle internationale. La qualité du travail réalisé par le GT SFBC a été soulignée et une collaboration est en cours pour poursuivre les travaux engagés.

Symposium IFCC "Precision Medicine will boost Medical Test Standardization of protein Biomarkers"

Amandine Boeuf

Ce symposium de l'IFCC, présidé par le Pr Philippe Gillery et le Pr Christa Cobbaert, avait pour objectif de montrer que les développements mis en œuvre dans un objectif de médecine personnalisée vont accélérer les projets de standardisation de biomarqueurs protéiques.

Tout d'abord, le Pr Philippe Gillery a présenté un état des lieux et une analyse critique des initiatives de standardisation et d'harmonisation de la Division Scientifique (SD) de la Fédération Internationale de Chimie Clinique et de Médecine de Laboratoire (IFCC). Bien que de nombreux tests de laboratoire aient été standardisés, à l'instar des tests HbA1c, d'autres initiatives sont plus longues ou rencontrent des difficultés en vue de leur implémentation. Cela est amplifié par le fait que de plus en plus de tests d'analytes de différentes structures (hormones, peptides, protéines) nécessitent d'être standardisés, de plus en plus de matériaux de références sont produits pour un même analyte et de plus en plus de domaines sont couverts (pharmacologie, hématologie). En plus de ces préoccupations qui montrent une tendance à dupliquer les initiatives, l'IFCC SD est sensible à l'impact économique, aux ressources nécessaires et aux changements non négligeables au niveau clinique (*e.g.* changements de valeur de référence, changement de procédures cliniques...) que la standardisation peut engendrer. Ainsi, l'IFCC SD a réévalué les stratégies à mettre en place en insistant sur le fait que toutes les parties prenantes doivent être impliquées, particulièrement les fabricants de DM-DIV, que les efforts doivent être mutualisés, et que les besoins cliniques doivent être prioritaires.

Ensuite, le Pr Neil Kelleher a introduit la notion de protéoformes : ensemble de formes distinctes d'une protéine, incluant les isoformes, les variations de séquence, les modifications post-traductionnelles. La présence d'une modification ou d'une variation dans la séquence ou la structure d'une protéine peut impacter son activité ou sa fonction. Ainsi, l'analyse des protéoformes permet d'obtenir des informations cruciales. Le suivi spécifique d'une ou plusieurs protéoformes particulières représente une valeur ajoutée pour le diagnostic ou le suivi thérapeutique personnalisé de patients. L'analyse de protéines intactes par spectrométrie de masse (protéomique « *top-down* ») est une méthode privilégiée pour la caractérisation des protéoformes et représente une avancée importante en spectrométrie de masse biologique et en recherche translationnelle. Différentes études « *top-down* » de protéoformes en matrice biologique, comme l'analyse des apolipoprotéines ApoA-I et ApoA-II, et le projet Human Proteoform ont été présentés.

Le Pr Yuri van der Burgt a ensuite présenté une famille de protéoformes particulières : les glycoprotéomes (protéomes de protéines portant des glycosylations). En plus d'un intérêt clinique, l'étude des glycosylations présente un intérêt thérapeutique. En effet, différents traitements ciblant des protéines glycosylées ont été

mis au point (e.g. antibiotiques). La présentation s'est particulièrement focalisée sur les techniques analytiques utilisées pour l'analyse de glyco-protéomes et sur le besoin actuel de développer des méthodologies pour la quantification d'un panel de glyco-protéomes. L'exemple de la quantification de protéomes spécifiques de l'antithrombine par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) selon une stratégie protéomique « *bottom-up* » (digestion enzymatique de la protéine et quantification de certains peptides issus de la digestion) a été présenté. Cette méthode représente un complément aux tests diagnostiques actuels et une avancée vers des diagnostics de nouvelle génération.

Enfin, le Pr Christa Cobbaert a présenté les développements d'une stratégie protéomique « *bottom-up* » permettant d'obtenir des résultats de quantification de l'apolipoprotéine apo(a) par LC-MS/MS, traçables aux unités du Système International, et ce à partir d'étalons peptidiques. La digestion enzymatique étant une étape cruciale pour assurer une quantification exacte avec ce type d'étalonnage, il est nécessaire de démontrer l'équimolarité de la digestion, c'est-à-dire qu'une mole de protéine va générer une mole de peptide d'intérêt. Pour cela, il est non seulement nécessaire de réaliser une cinétique de digestion, mais aussi de vérifier qu'il n'y a pas de sites d'omissions de coupure à proximité de ce peptide. La spectrométrie de masse à très haute résolution a été mise en œuvre et a permis d'identifier trois peptides. Ces travaux, visant le développement d'une méthode de référence, s'inscrivent dans le cadre du groupe de travail apolipoprotéine par spectrométrie de masse (APO-MS) de l'IFCC dont l'objectif est de rétablir un système de référence pour les mesures de lipoprotéine (a).

Plenary Session "Diagnostic advances in dementia"

Chiara Giangrande

Avec cette session plénière, le professeur Kaj Blennow a fait un tour d'horizon sur les résultats obtenus par son équipe dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer grâce au développement de méthodes de détection des biomarqueurs dans le LCR et dans le sang, et l'application de celles-ci pour le dépistage, le diagnostic et dans suivi thérapeutique dans les essais cliniques.

Bien que la découverte de la maladie d'Alzheimer ait eu lieu en 1907 après l'observation, lors de l'autopsie, de plaques amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires chez une patiente de 51 ans, ce n'est que dans les années 80 que le mécanisme physiopathologique conduisant à ces manifestations cliniques a été associée avec un constituant biologique : la protéine bêta-amyloïde (A β), une protéine transmembranaire dont la coupure séquentielle de la part de la β - puis γ -sécrétase libère respectivement les extrémités N- et C-terminales du peptide A β . Ce mécanisme, appelé la cascade amyloïde, a établi les bases pour le développement de l'immunothérapie anti-amyloïde. À ce jour, un grand nombre de anticorps thérapeutiques anti-amyloïdes se trouvent dans la phase III de leur développement et les premières données montrent que l'administration de ces médicaments est assez prometteuse quant à la réduction des plaques amyloïdes. Le déclin cognitif des patients suivis dans ces études cliniques a aussi subi un ralentissement des affections après les premiers 18 mois de traitement. Pour cette raison, il est important de disposer de biomarqueurs susceptibles d'être utilisés comme outils de screening pour le triage des patients présentant des symptômes cognitifs précoces et comme tests diagnostiques avant et pendant l'administration du traitement. Kaj Blennow a résumé comment les tests développés dans le liquide céphalorachidien ont ouvert la voie à un diagnostic plus fiable. Aujourd'hui, un système de classification dénommé « AT(N) » a été mis en place selon les recommandations du « National Institute on Aging and Alzheimer's Association » et prévoit l'utilisation de biomarqueurs classés en trois catégories à des fins de recherche. Dans la classe « A », on trouve le biomarqueur A β 42, qui mesure le dépôt amyloïde dans le cerveau et dont sa concentration dans le LCR est diminué de 55 % en moyenne par rapport au groupe témoin. Dans la classe « T », on trouve P-tau181, qui mesure le niveau de phosphorylation de la protéine tau, dont la concentration est en moyenne augmentée de 187 % dans le LCR des patients Alzheimer. Dans la classe « N » (comme Neurodégénération), on trouve des biomarqueurs tels que la protéine tau totale (T-tau), dont la concentration augmente en moyenne de 248 % chez les patients Alzheimer. Ces biomarqueurs ont tous été validés via un grand nombre d'études longitudinales sur des cohortes de patients suivi sur plusieurs années, comme BioFinder. Ils ont été aussi évalués chez des patients présentant un déficit cognitif léger (MCI) ayant ensuite développé la maladie d'Alzheimer. D'autres études longitudinales ont aussi montré que les biomarqueurs du LCR subissent déjà des modifications dans leur concentration dans la phase préclinique

de la maladie, avec A β 42 montrant des changements avant la protéine tau. La corrélation du biomarqueurs A β 42 dans le LCR avec les données de tomographie par émission de positons (TEP) a été démontrée grâce à la cohorte ADNI, permettant de conclure sur la corrélation du biomarqueur avec le niveau de dépôt de plaques amyloïdes dans le cerveau. En plus, la concentration d'A β 42 dans le LCR est un biomarqueur plus précoce que le scanner TEP.

Le deuxième biomarqueur jouant un rôle clef dans le diagnostic de l'Alzheimer est la protéine tau. Pourtant, en partant de cette protéine nous pouvons définir deux biomarqueurs différents : tau totale (T-tau) dont la concentration est augmentée dans des maladies neuro-dégénératives autres que la maladie d'Alzheimer et qui n'est donc pas spécifique de la maladie. Il convient de noter que T-tau est inclus dans la classe N du système AT(N)), tandis que tau phosphorylée (P-tau) est inclus dans la classe T du système AT(N)) car elle est plus spécifique et permet un diagnostic plus précoce.

A β 42 est à présent un biomarqueur pour lequel il existe des méthodes de référence et des matériaux de référence certifiés listés dans la base de données JCTLM. Il existe aussi des tests validés et automatisés et la corrélation entre les différents tests actuellement disponibles a été établie.

D'autres biomarqueurs comme la protéine neurograine sont actuellement en cours d'implémentation pour le diagnostic d'Alzheimer mais la vraie révolution

consiste dans le transfert des tests du LCR au sang. Les immuno-essais ciblant les A β ont été transférés en plasma, montrant une bonne corrélation avec les données d'imagerie. Des méthodes par spectrométrie de masse ont été aussi développées. Par ailleurs, le ratio A β 42/40 a montré une meilleure corrélation avec les mécanismes amyloïdogènes. Ce ratio est réduit de façon plus modeste dans le plasma par rapport au LCR, ce qui rend les tests A β dans le sang moins robustes. En ce qui regarde tau, les dosages de T-tau en plasma se sont révélés très fiables dans la prédiction de lésions neuronales mais les dosages en plasma ne sont pas adaptés au diagnostic de la maladie d'Alzheimer. P-tau181 en plasma est un bon biomarqueur qui montre une bonne corrélation avec les concentrations dans le LCR et les données d'imagerie. Par contre, sa concentration dans le sang est plus faible et la quantification demeure d'un réel défi analytique. D'autres formes phosphorylées sont très prometteuses (P-tau212, P-tau217 et P-tau231) pour le diagnostic précoce et des immuno-essais sont en cours de développement/validation. P-tau pourra aussi être utilisé pour le suivi thérapeutique dans les études cliniques. La combinaison de différents biomarqueurs et des cut-off plus standardisés permettront un diagnostic plus fiable et moins invasifs dans un futur proche.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.