



REVISTA DE
GASTROENTEROLOGÍA
DE MÉXICO

www.elsevier.es



■ Artículo original

Evaluación de índices no invasivos de fibrosis en pacientes mexicanos con hepatitis crónica por virus C

Ortiz-Olvera NX,¹ Herrera-Chi BA,² Méndez-Navarro J,¹ Morán-Villota S,³ Dehesa-Violante M.⁴

- 1 Gastroenterólogo adscrito.
- 2 Médico residente, Clínica de Hepatitis, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional SXXI. México, D. F.
- 3 Coordinador de Laboratorio de Investigación en Gastro-Hepatología, adscrito al Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- 4 Jefe del Departamento de Gastroenterología, Clínica de Hepatitis, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI. México, D. F.

Recibido el 26 de agosto de 2010; aceptado el 9 de octubre de 2010.

■ Resumen

Antecedentes: Entre los múltiples métodos propuestos para predecir la presencia de fibrosis en los pacientes con hepatitis crónica por virus C, están los índices obtenidos a partir de pruebas bioquímicas en suero (índice de la relación AST/plaquetas [APRI]; índice de Forns [IF]).

Objetivo: Comparar la certeza diagnóstica del IF y APRI para predecir la presencia de fibrosis.

Métodos: Se incluyeron 105 pacientes con hepatitis crónica por VHC y biopsia hepática. A partir de las pruebas bioquímicas de cada paciente se calculó el IF y APRI. Se construyeron curvas operativas

Palabras clave:
Fibrosis, hepatitis C, cirrosis, biopsia, México.

■ Abstract

Background: Among the many methods proposed to predict the presence of fibrosis in patients with chronic hepatitis C are the indices models obtained from serum biochemical tests, the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI) and the Forns index (FI).

Objective: To compare the diagnostic accuracy of the Forns index and APRI for predicting cirrhosis.

Methods: We included 105 patients with chronic hepatitis C and a liver biopsy. The FI and APRI were calculated from the biochemical tests of each patient. Receivers operating characteristic (ROC) curves were calculated to determine the best cutoff to

Key words:
Fibrosis, hepatitis C, cirrhosis, biopsy, Mexico.

Correspondencia: M. en I. C. Nayeli Xochiquetzal Ortiz Olvera. Ave. Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc. CP. 06725. Teléfono: 0155 5627 6900 ext. 21565 21566. Correo electrónico: nayelioxortiz@yahoo.com.mx

para el receptor (COR) para determinar el mejor punto de corte para discriminar entre cirrosis (F4), fibrosis avanzada (F3 - F4), y fibrosis portal (F1) de acuerdo a la escala de Knodell. Se evaluó la certeza diagnóstica mediante la obtención de sensibilidad (Sn), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para cada uno de los índices.

Resultados: A partir de las curvas COR se encontró que para el IF, el mejor punto de corte para predecir F4 es mayor que 7.64, con Sn 62.5% y Sp 91.8% (ABC = 0.881); para F3-F4, el mejor punto de corte es >6.93, con Sn 42.9% y Sp 89.6% (ABC = 0.772). Para el índice APRI un valor mayor que 1.74 fue el mejor para predecir F4 con Sn 75% y Sp 82% (ABC = 0.799), un valor mayor que 1.7 permitió predecir F3-F4 con Sn 47.6% y Sp 85.4% (ABC = 0.768).

Conclusiones: Los resultados confirman la utilidad del IF y APRI para predecir fibrosis avanzada y cirrosis.

discriminate between cirrhosis (F4), advanced fibrosis (F3-F4), and portal fibrosis (F1) according to the Knodell score. Diagnostic accuracy was assessed by obtaining sensitivity (Sn), specificity (Sp), positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) for each of the indices.

Results: ROC curves showed that the best cutoff for predicting cirrhosis (F4) for the FI is >7.64, with Sn 62.5% and Sp 91.8% (Area under the curve, AUC = 0.881), for advanced fibrosis (F3 - F4) the best cutoff value is >6.93 with Sn 42.9% and Sp 89.6% (AUC = 0.772). An APRI value of >1.74 was the best predictor for F4 with Sn 75% and Sp 82% (AUC = 0.799), and a cutoff value of >1.7 for predicting F3-F4 with Sn 47.6% and Sp 85.4% (AUC = 0.768).

Conclusions: The results confirm the utility of both the FI and APRI for predicting advanced fibrosis and cirrhosis.

■ Introducción

La hepatitis crónica por virus C (VHC) es considerada como una de las enfermedades infecciosas más frecuentes y de mayor morbi-mortalidad a nivel mundial.¹⁻³

Considerando que la progresión a cirrosis es una característica de las enfermedades crónicas del hígado, la determinación del grado de fibrosis hepática (FH) constituye uno de los principales factores que determina el pronóstico y el manejo de la hepatitis viral crónica.⁴ En los pacientes con hepatitis crónica por VHC, la evaluación de fibrosis e inflamación es crucial para determinar la progresión de la lesión y definir el tratamiento.^{5,6}

El estudio histopatológico de la biopsia hepática (bxH) es actualmente el método de referencia para evaluar el grado de fibrosis e inflamación;⁷ sin embargo, la bxH es un procedimiento invasivo, que no está exento de riesgo, lo cual ha limitado su mayor aplicación en la práctica clínica.⁸

En años recientes se han propuesto diferentes alternativas indirectas pero no invasivas para evaluar el grado de fibrosis e inflamación hepática,^{9,10} que incluyen la obtención de modelos a partir de la combinación de varios parámetros bioquímicos (índice de la relación AST/plaquetas [APRI]; índice de Forns [IF]), o por medición de diferentes biomarcadores en suero (índice de fibrosis o fibrotest) o en aliento (prueba en aliento con metacetina);¹¹ así como mediante estudios de imagen (tomografía axial computada) o a partir de la evaluación de la rigidez del hígado por medio de ultrasonido (elastrografía).¹²

El APRI o índice de la relación AST/plaquetas fue descrito por Wai y colaboradores¹³ en pacientes con hepatitis crónica por VHC sin tratamiento previo. El índice de Forns es un sistema de puntaje que combina edad, gamma-glutamil-traspeptidasa (GGT), colesterol y el número de plaquetas.¹⁴

El objetivo del presente estudio fue evaluar el IF y APRI para predecir la presencia de fibrosis en

pacientes mexicanos con diagnóstico de hepatitis crónica por VHC.

■ Métodos

Pacientes: Se estudiaron 178 pacientes con hepatitis crónica por virus C. El diagnóstico se estableció por la presencia de anticuerpos para virus de la hepatitis C (VHC, ELISA de tercera generación) y detección del ácido ribonucleico del VHC (PCR Cobas Amplicor, versión 2.0, Roche Molecular systems, WTC, México D.F). Para establecer el grado de inflamación y de fibrosis se evaluó el índice de actividad histológica de la biopsia hepática.

Se excluyeron los pacientes con antecedente de tratamiento antiviral previo o actual; enfermedad hepática crónica concomitante (alcohol, virus de hepatitis B, autoinmune); enfermedades graves del sistema cardiovascular, pulmonar o renal; enfermedades malignas de cualquier origen; alteraciones en la coagulación; trasplante hepático. También se excluyeron pacientes que no contaban con pruebas bioquímicas completas para evaluación funcional hepática o cuya biopsia hepática fue catalogada como de “mala calidad” (ver descripción en el siguiente apartado).

A todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre en ayuno mínimo de 12 horas para la medición de las pruebas bioquímicas hepáticas (aminotransferasas, bilirrubinas, tiempos de coagulación, albúmina, globulinas, colesterol y plaquetas) las cuales fueron analizadas en el equipo *Modular Analytics P* marca ROCHE/HITACHI (2010 F. Hoffmann-La Roche, Ltd).

Biopsia hepática e Histopatología hepática: La biopsia hepática se realizó bajo la técnica convencional. Se utilizó *Tru-Cut* y en algunos casos pistola automática (Bard®); el espécimen se fijo en formalina a 10% y fue procesada bajo la técnica habitual; posteriormente fueron teñidas con hematoxilina-eosina, PAS con diastasa (ácido periódico de Schiff) y tricrómico de Masson.¹⁵ Todas las biopsias fueron evaluadas por un patólogo con experiencia en hepatología, quien estuvo cegado a los resultados clínicos y de laboratorio. La FH fue evaluada de acuerdo a la escala de Knodell, en una escala de 0 a 4: (F0 = sin fibrosis; F1 = fibrosis portal; F3 = puentes de fibrosis; F4 = cirrosis).¹⁶

Para evaluar la calidad de la biopsia se utilizaron los criterios de Regev: cuando la biopsia tuvo

una longitud mayor o igual que 15 mm, cinco o más espacios porta y un solo fragmento, se consideró óptima; una biopsia entre 10 y 15 mm de longitud, con menos de 5 espacios porta o fragmentada se consideró como biopsia de “calidad regular”; y si fue menor a 10 mm de longitud se consideró de “mala calidad”.¹⁷

Índice de Forn (IF): Para calcular el IF se utilizaron cuatro variables: edad (años cumplidos), niveles de GGT (UI/L), colesterol (mg/dL) y conteo plaquetario ($10^9/L$); el cálculo se llevó a cabo utilizando la fórmula propuesta por Forn y colaboradores en 2002, la cual se describe a continuación:¹⁴

$$IF = 7.811 - 3.131 \cdot \ln(\text{plaquetas}) + 0.781 \cdot \ln(\text{GGT}) + 3.467 \cdot \ln(\text{edad}) - 0.014 (\text{colesterol}).$$

Índice APRI: Para calcularlo se utilizan dos mediciones bioquímicas, AST (UI/L) y conteo plaquetario ($10^9/L$). Se calculó utilizando la fórmula propuesta por Wai y colaboradores en 2003:¹³

$$APRI = \frac{AST}{LSN} \times 100 \\ \text{Plaquetas } (10^9/L)$$

Análisis estadístico: Las características demográficas se describen en términos de promedios (\pm una desviación estándar), mediana (intervalos) y porcentajes. Se realizaron curvas de características operativas para el receptor (curva COR) para la obtención de los puntos de corte para cada uno de los índices. Se evaluó sensibilidad (Sn), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VPP), y valor predictivo negativo (VPN). El punto de corte óptimo de cada uno de los índices se definió como el punto con la mayor sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con diferentes grados de fibrosis. Un paciente fue clasificado como positivo cuando el valor del índice fuer mayor al valor de corte óptimo establecido. Para establecer el diagnóstico de fibrosis hepática, se consideró el resultado de la escala de Knodell. El análisis se realizó utilizando el paquete SPSS para Windows (versión 17.0; SPSS, Chicago, IL, USA).

■ Resultados

De los 178 pacientes estudiados, se incluyeron 105 pacientes con edad promedio de 44.8 ± 11.9 años; 56 mujeres y 49 hombres. Se excluyeron 73 casos: por enfermedad hepática concomitante ($n = 45$),

■ **Tabla 1.** Características clínicas y bioquímicas de la población general.

Características	Población total n = 105	Grado de fibrosis hepática				p
		F0 n = 48	F1 n = 36	F3 n = 13	F4 n = 8	
Edad, media (±DE)	44.8 (±11.9)	42.6(±11.6)	45 (±12.3)	48.8 (±13.2)	49.8 (±9)	NS
Genero fem/masc, n (%)	56 (53)/49 (47)	28 (58)/20 (42)	16 (44)/20 (66)	7(58)/5(42)	5(55)/4(45)	NS
IMC, media (±DE)	27.4 (±4.2)	27.4 (±4.2)	27.4 (±3.8)	26.9 (±4.3)	29.1 (±4)	NS
ALT UI/L, media (±DE)	106 (±93)	90 (± 98)	121(±96)	120 (±85)	111 (±35)	NS
AST UI/L, media (±DE)	84 (±87)	70 (±103)	92 (±74)	110 (±74)	93 (±30)	NS
GGT UI/L, media (±DE)	95.7 (±101)	70 (±73)*	105 (±115)	104(±82)	198 (±138)*	<0,05
BT mg/dL, media (±DE)	0.87 (±0.4)	0.87 (±0.46)	0.90 (±0.4)	0.81 (±0.22)	1.01 (±0.46)	NS
Albumina g/L, media (±DE)	4.2 (±0.35)	4.2 (±0.4)	4.2 (±0.23)	4.3 (±0.35)	4.0 (±0.33)	NS
Plaquetas (109/L), media (±DE)	212 (±71.2)	224 (±71)*	206 (±66)*	219 (±81,4)*	145 (±46)*	<0,01
TP (seg), media (±DE)	13.1 (±0.85)	12.8 (±0.8)*	13.1(±0.85)*	13.3 (±0.9)*	13.9 (±0.32)*	<0,01
Glucosa mg/dL, media (±DE)	99 (±19,7)	98 (±23)	96 (±11)	100 (±18,4)	112 (±27)	NS
Colesterol mg/dL, media (±DE)	162 (±35)	169 (±38)	159 (±30)	151 (±29)	159 (±45)	NS
Genotipo 1 VHC, n(%)	73 (69,5)	32 (66,7)	24 (66,7)	11 (84,6)	6 (75)	NS

DE= desviación estándar; NS= no significativo; IMC= índice de masa corporal; VHC= virus de hepatitis C; ALT= aspartato-alanino-transferasa; AST= aspartato-amino-transferasa; GGT= gama-glutamyl-transpeptidasa, BT= bilirrubina total; TP= tiempo de protrombina; * = prueba de t.

pruebas bioquímicas incompletas (n = 22) y biopsia hepática de “mala calidad” (n = 6). Las características demográficas y los resultados de laboratorio de la población, se resumen en la **Tabla 1**.

Con base a la escala de Knodell, se estableció el diagnóstico de ausencia de fibrosis (F0) n = 48, fibrosis portal (F1) n = 36, puentes de fibrosis (F3) n = 13 y cirrosis (F4) n = 8. La curva COR para el IF reveló que el mejor punto de corte para predecir cirrosis (F4) fue mayor que 7.64, con Sn 62.5% y Sp 91.8%, con un ABC de 0.881 (**Figura 1**). Considerando el punto de corte mayor que 6.9, la Sp disminuyó a 86.9%. El APRI mayor que 1.74 pudo predecir F4 con Sn 75% y Sp 82%, con un ABC de 0.799. Considerando el punto de corte mayor que 1.5, la Sp disminuyó a 78.7% (**Tabla 2**).

La curva COR para el IF y predecir fibrosis avanzada (F3-F4), reveló que el mejor punto de corte fue mayor que 6.93, con Sn 42.9% y Sp 89.6%, con un ABC de 0.772. El APRI mayor que 1.7 pudo predecir F3-F4 con Sn 47.6% y Sp 85.4%, con un ABC de 0.768 (**Figura 2**).

En fibrosis portal (F1), la curva COR para el IF reveló que el mejor punto de corte para predecir F1 fue menor que 3.8, con Sn 75% y Sp 33%, con un ABC de 0.541. El APRI menor que 0.5, pudo predecir F1 con Sn 75% y Sp 33%, con un ABC de 0.554.

■ Discusión

Considerando el punto de corte mayor que 6.9, referido originalmente por Forns y colaboradores, la Sp disminuye a 86.9%. Considerando el punto de corte mayor que 1.5, referido por Wai y colaboradores, la Sp disminuye a 78.7%.

Los resultados del presente estudio confirman la utilidad de los índices de Forns y APRI para predecir con aceptable grado de certeza la presencia de cirrosis o de fibrosis avanzada en pacientes con hepatitis crónica por VHC, pero muestran su limitación para predecir fibrosis incipiente.

Es importante mencionar que los puntos de corte obtenidos a partir de las curvas COR en este grupo de pacientes difieren de los informados originalmente por sus autores,^{13,14} probablemente debido a la diferencia en los métodos y equipos utilizados para la medición de las variables bioquímicas incluidas en los índices.

La situación anterior confirma la importancia de llevar a cabo estudios de validación y por consiguiente la obtención de sus propios puntos de corte en cada centro, donde se pretenda utilizar los índices de fibrosis como herramientas para la selección e inclusión de pacientes con hepatitis crónica por VHC a diferentes esquemas de tratamiento.

■ **Tabla 2.** Certeza diagnóstica de los índices no invasivos en nuestra población (n=105); prevalencia de cirrosis 7,62% y fibrosis avanzada 20%.

Fibrosis	I FORNS	APRI
Cirrosis (F4)	> 7,64	> 1.74
Sn (%)	62,5	75
Sp (%)	91,8	82
VPP (%)	38,6	25,6
VPN (%)	96,7	97,5
Seguridad (%)	89,6	81,5
Fibrosis avanzada (F3-F4)	> 6,93	> 1.7
Sn (%)	42,9	47,6
Sp (%)	89,6	85,4
VPP (%)	41,1	44,9
VPN (%)	85,6	86,7
Seguridad (%)	76,3	77,8

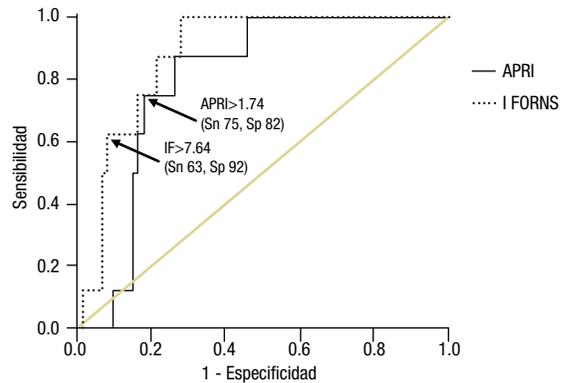
Sn= sensibilidad; Sp= especificidad; VPP= valor predictivo positivo; VPN= valor predictivo negativo.

Comparando los resultados de las curvas COR, se observó un mejor desempeño del IF en comparación al índice APRI para la predicción de cirrosis y fibrosis avanzada, hallazgo que también se ha reportado en estudios previos.¹⁸ Probablemente la inclusión de un mayor número de variables en el IF, expliquen parcialmente su mejor rendimiento en la predicción de fibrosis avanzada y cirrosis.

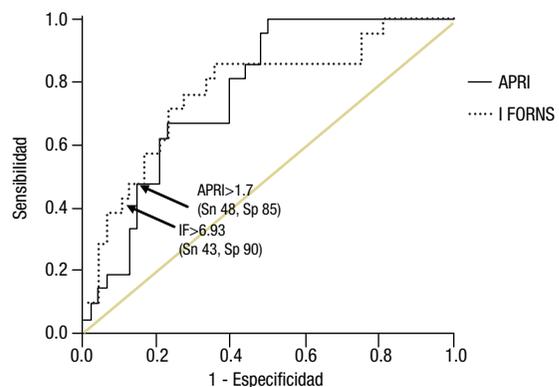
En nuestro estudio el IF obtuvo una mejor especificidad para detectar cirrosis y fibrosis avanzada (91.8% y 89.6%, respectivamente) que el índice APRI (82% y 85.4%, respectivamente). Ambos índices alcanzaron un valor predictivo negativo para cirrosis mayor a 96% y >85% para fibrosis avanzada, pero la especificidad para identificar fibrosis portal (F1) fue baja.

Estudios similares han sido reportados aunque evaluando únicamente el índice APRI, una revisión sistemática sobre la exactitud diagnóstica del índice APRI encontró que en 22 estudios la sumatoria de la curva COR para fibrosis significativa y cirrosis fue de 0.76 y 0.82, respectivamente.¹⁹ Loaeza-del Castillo y colaboradores,²⁰ evaluaron el índice APRI en pacientes mexicanos con hepatitis C, hepatitis autoinmune y enfermedad por hígado graso no alcohólico, y encontraron que en el subgrupo de hepatitis C (n = 164) la curva COR para fibrosis significativa fue de 0.776 y para cirrosis 0.830, con sensibilidad de 89% y especificidad

■ **Figura 1.** Muestra la curva COR con los valores del IF y APRI para predecir la presencia de cirrosis (F4) en paciente con hepatitis crónica por VHC (n = 105). El ABC para el IF es 0.881 y para el APRI es 0.799.



■ **Figura 2.** Muestra la curva COR con los valores del IF y APRI para predecir la presencia de fibrosis avanzada (F3-F4) en paciente con hepatitis crónica por VHC (n = 105). El ABC para el IF es 0.772 y para el APRI es 0.768.



ALT: Aspartato-alanino-transferasa; AST: Aspartato-amino-transferasa; GGT: Gama-glutamilo-transferasa; BT: Bilirrubina total; Sn: Sensibilidad; Sp: Especificidad; VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo; COR: Curvas de características operativas del receptor; ABC: Área bajo la curva; VHC: Virus de hepatitis C; LSN: Límite superior normal; ln: Logaritmo natural.

de 70.9%. Otros estudios como el reportado por Shin y colaboradores,²¹ han evaluado también el índice APRI en un subgrupo de pacientes con hepatitis crónica B encontrando una curva COR de 0.86 para fibrosis avanzada. Finalmente McGooan y colaboradores²² evaluaron el APRI en población pediátrica con resultados limitados, la curva

COR fue de 0.71 y 0.52 para fibrosis y cirrosis, respectivamente.

Ninguno de los índices de evaluación indirecta de fibrosis hepática ha demostrado ser útil en la identificación de fibrosis incipiente y por lo tanto su utilidad se limita a identificar aquellos pacientes con mal pronóstico para el tratamiento debido a su avanzado grado de fibrosis. En cambio en los pacientes con hepatitis crónica por VHC, que de acuerdo a los índices se excluya la presencia de fibrosis avanzada, la biopsia hepática sigue siendo la mejor prueba de referencia para conocer el grado de fibrosis antes de iniciar el tratamiento antiviral.^{23,24}

La inclusión del estudio histopatológico como método de referencia no está exento de sesgos; tanto por el posible error de lectura, pero principalmente por error de muestreo del tejido hepático, considerando que en la hepatitis C el daño hepático no es uniforme. Para tratar de minimizar el efecto de estos sesgos en el presente estudio la lectura de las biopsias las realizó un solo patólogo y para garantizar la calidad de las mismas se utilizó los criterios de Regev.

Entre las limitaciones del estudio se podría mencionar la selección de los pacientes por tratarse de un centro de referencia que probablemente no representa a la población general y finalmente la inclusión de un número muy pequeño de pacientes con cirrosis (F4).

En el presente estudio, el porcentaje de sujetos con fibrosis avanzada fue 20% y con cirrosis 7.6%, distribución similar a la población de estudio de Forn y colaboradores,¹⁴ que informaron 26% con fibrosis avanzada y 6% con cirrosis. En cambio el grupo de pacientes incluidos en el estudio de Wai y colaboradores,¹³ 49% tenían fibrosis avanzada y 16% cirrosis. Esta situación también puede influir en los resultados de evaluación de los índices. Por ejemplo, la disminución observada en los valores de predicción del índice APRI pudo estar determinada en el presente estudio, tanto por la distribución de los pacientes por grado de fibrosis y así como por la similar concentración de AST entre los grupos con diferentes grados de fibrosis.

Recientemente, Castera y colaboradores²⁵ han propuesto algoritmos combinando métodos serológicos no invasivos y elastografía, evaluando su rendimiento en la identificación de fibrosis hepática y principalmente evitando con dicho algoritmo

la realización de biopsias hepáticas en 50% de los pacientes con fibrosis significativa y en 70% de los casos con cirrosis, uno de los objetivos futuros de estos modelos y algoritmos en la aplicación clínica.

Los resultados del presente estudio sugieren un mejor rendimiento del IF en comparación al índice APRI para predecir fibrosis avanzada, en pacientes con hepatitis crónica por virus C. Se requiere la realización de otros estudios que comparen el rendimiento de los índices de Forn y APRI y de otros métodos no-invasivos como fibrotest, prueba en aliento con metacetina y elastografía, en la predicción de fibrosis hepática para su valoración y potencial inclusión en la práctica clínica.

■ Agradecimientos y declaraciones

Proyecto realizado con el Apoyo del FIS/IMSS/PROT/546.

Referencias

1. Sebastiani G, Vario A, Guido M, Alberti A. Sequential algorithms combining non-invasive markers and biopsy for the assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2007;13:525-31.
2. Romero M, Martín del Campo M, Oterob A, et al. Estudio comparativo de dos modelos que utilizan parámetros bioquímicos en el diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática en pacientes con hepatitis C. *Med Clin (Barc)* 2005;124:761-4.
3. Dienstag J, McHutchison JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2006;130:231-64.
4. Afdhal N, Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: A concise review. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1160-74.
5. NIH Consensus statement on management of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S3-S20.
6. Ghany MG, Strader D, Thomas D, Seeff LB. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009;49:1335-74.
7. Standish R, Cholongitas E, Dhillon A, et al. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut* 2006;55:569-78.
8. Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol* 1986;21:65-73.
9. Shaheen A, Wan A, Myers R. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: A systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007;102:589-2600.
10. Shire NJ, Rao MB, Succop P, et al. Improving noninvasive methods of assessing liver fibrosis in patients with hepatitis C virus/human immunodeficiency virus co-infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:471-80.
11. Moran S, Gallardo-Wong I, Rodriguez-Leal G, et al. L-[1-13C]phenylalanine breath test in patients with chronic liver disease of different etiologies. *Isotopes Environ Health Stud* 2009;45:192-7.
12. Castera L. Transient elastography and other noninvasive tests to assess hepatic fibrosis in patients with viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2009;16:300-14.
13. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518-26.
14. Forn X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-92.
15. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology. The C.V. Mosby Co. 1973.
16. Knodell RG, Isaac KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-5.
17. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-8.

18. Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chan HL. Development of a non-invasive algorithm with transient elastography (Fibroscan and serum test formula for advanced liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:1095-103
19. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: A systematic review. *Hepatology* 2007;46:912-921.
20. Loeza-del-Castillo A, Paz-Pineda F, Oviedo-Cárdenas E, Sánchez-Ávila F, Vargas-Vorackova. AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2008;7:350-357
21. Shin WC, Park SH, Jang MK, et al. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis.* 2008;40:267-74.
22. McGoogan KE, Smith PB, Choi SS, Berman W, Jhaveri R. Performance of the AST-to-platelet ratio index as a noninvasive marker of Fibrosis in pediatric patients with chronic viral hepatitis. *JPGN* 2010;50:344-346.
23. Ramos Paesa, Marcilla F, Lopez G, et al. Valuation of APRI and Forns models for non-invasive diagnosis of fibrosis in patients with hepatitis C in coinfectd and non-coinfectd with HIV. *An Med Interna* 2007;24:369-74.
24. Shiffman ML. Retreatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S128-S134.
25. Castera L, Sebastiani G, Le Bail B, de Ledinghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2010;52:191-198.