

Avis

Évaluation de dix analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois* et système de mesure des procédures de biologie médicale

Transmission au ministre : 28 février 2014

Une production de l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux

Le présent avis est produit par l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) qui assume l'entière responsabilité de sa forme et de son contenu définitifs.

Chaque analyse a été évaluée avec une approche méthodologique qui prend en considération, notamment, les facteurs suivants :

- la pertinence clinique;
- la validité clinique;
- la validité analytique;
- les conséquences prévisibles sur les ressources du système de santé et de services sociaux de l'introduction de l'analyse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*.

Équipe de projet

Direction

Alicia Framarin, M.D., M. Sc.
Michel LeBrun, M.B.A., Ph. D.

Professionnels scientifiques

Faïza Boughrassa, M.D., M. Sc.
Nathalie Girard, M. Sc., Ph. D.
Phuong Hua, M. Sc.
Geneviève Martin, Ph. D.
Jean-Marie Moutquin, M.D., M. Sc., FRCSC
Éric Potvin, Ph. D.
Éric Tremblay, M. Sc.
Éva Tsakonas, M. Sc.
Maggy Wassef, M. Sc.

Recherche d'information scientifique

Caroline Dion, MBSI, *bibl. prof.*
Mathieu Plamondon, MSI

Soutien documentaire

Micheline Paquin, *tech. doc.*

Édition

Responsable

Diane Guilbault

Coordination

Patricia Labelle

Révision linguistique

Révision Littera Plus

Mise en page

Marie-Andrée Houde

Vérification bibliographique

Denis Santerre

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2014

Bibliothèque et Archives Canada, 2014

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-70454-6 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2014

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée à condition que la source soit mentionnée.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Évaluation de dix analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 2014. 173 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

Responsabilité

L'Institut assume l'entière responsabilité de la forme et du contenu définitifs du présent document. Les conclusions ne reflètent pas forcément les opinions des personnes consultées dans le cadre de ce dossier.

Déclaration de conflit d'intérêts

Tous les membres du comité scientifique ont rempli un formulaire de déclaration de conflit d'intérêts. Aucun conflit à signaler.

COMITÉ SCIENTIFIQUE – ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Président

M. Jean-Marie Moutquin, M.D., FRCSC

- Scientifique principal – soutien à la pratique clinique, Institut national d'excellence en santé et en services sociaux

Membres

Lambert Busque, M.D., FRCPC

- Hématologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Lorraine Caron, Ph.D.

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

Louis Gaboury, M.D., Ph. D.

- Anatomo-pathologiste, Hôtel-Dieu du CHUM

Annie-Claude Labbé, M.D., FRCPC

- Microbiologiste infectiologue, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Hôpital général de Montréal

François Rousseau, M.D., FRCPC

- Médecin biochimiste, CHU de Québec

Maude Saint-Jean, M.D.

- Pédiatrie, microbiologie médicale et infectiologie, maladies infectieuses, Hôpital Fleury

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard, T.M., B.A.

- Conseillère en évaluation des technologies, Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

LISTE DES ANALYSES

Tableau-synthèse des recommandations.....	i
Mesure des acides biliaires totaux.....	1
Aortopathies familiales - panels de gènes.....	17
Analyse du profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes.....	45
Détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y par QF-PCR.....	72
Dosage de la calprotectine fécale	88
Dosage de l'acide valproïque libre	104
Dosage de l'activité DIRECTE anti-Xa du rivaroxaban	117
Recherche d'adénovirus par PCR quantitative en temps réel chez les patients immunosupprimés	129
Détection de l'infliximab et des anticorps anti-infliximab avec ELISA ou avec chromatographie liquide à haute performance	142
Dosage quantitatif du topiramate par LC-MS/MS	158

TABLEAU-SYNTÈSE DES RECOMMANDATIONS

	ANALYSE	TECHNOLOGIE	RECOMMANDATION	COMMENTAIRES - RECOMMANDATIONS ADDITIONNELLES
2013-03-001	Mesure des acides biliaires totaux	Établie	Introduction (avec commentaires additionnels)	• On doit s'assurer qu'il y aura un contrôle de la qualité interne et externe. • Il est nécessaire d'élaborer un algorithme décisionnel avec des indications précises pour cette analyse afin d'éviter qu'elle devienne un test de routine pour toutes les femmes enceintes avec du prurit. • On doit s'assurer que le délai de réponse est court (une des demandes mentionne qu'il ne s'agit pas d'une analyse court délai) et qu'il répond aux besoins cliniques. • On doit s'assurer de l'accès équitable et rapide à l'analyse sur le territoire en raison des risques pour le fœtus.
2013-03-002	Aortopathies familiales – panels de gènes	Innovatrice	Réévaluation	Étant donné le caractère innovateur de cette technique de séquençage de panel de gènes, son introduction requiert une documentation plus approfondie de la pertinence clinique de chacun des gènes inclus dans le panel. De l'information supplémentaire sera demandée aux requérants.
2013-03-003	Profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes	Établie : ELISA pour 2 des 6 substrats Innovatrice : BIOCHIP	Refus de la demande telle que présentée	Il aurait été préférable de : ▪ présenter chaque analyse séparément, par marqueur et par maladie, pour en établir la pertinence clinique; ▪ présenter un algorithme pour les indications de l'analyse; ▪ mieux définir la valeur pondérée pour chaque analyse; ▪ définir les valeurs seuil; ▪ justifier la valeur clinique ajoutée de la BIOCHIP par rapport au test d'immunofluorescence conventionnelle déjà disponible.
2013-03-004	Détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y par QF-PCR	Établie	Introduction	Analyse très bien établie avec des bénéfices importants escomptés. Le MSSS doit s'assurer de la réduction des analyses de caryotype et du nombre d'heures consacrées à cette technique dans les laboratoires de cytogénétique.

	ANALYSE	TECHNOLOGIE	RECOMMANDATION	COMMENTAIRES - RECOMMANDATIONS ADDITIONNELLES
2013-03-005	Dosage de la calprotectine fécale	Innovatrice	Introduction conditionnelle	Introduction conditionnelle : ▪ à la production d'un algorithme pour les indications cliniques; ▪ au suivi étroit des prescriptions et des résultats; ▪ à un contrôle de la qualité interne et externe. Il y a peu de données disponibles pour la technique EliA Calprotectin. Attention à la surprescription de cette analyse : elle ne devrait pas être prescrite aux adultes pour lesquels on n'envisage pas une orientation vers un spécialiste, ni aux patients avec un diagnostic possible de cancer, ni aux enfants avec suspicion de maladie inflammatoire de l'intestin qui ne sont pas orientés vers un spécialiste. Le MSSS doit faire un suivi afin de s'assurer que l'usage de cette analyse permettra une diminution du nombre de colonoscopies.
2013-03-006	Dosage de l'acide valproïque libre	Établie	Refus	L'utilité clinique n'est pas démontrée et aucune donnée sur la validité clinique n'a été repérée. Peu de corrélation entre la concentration mesurée et l'état clinique.
2013-03-007	Dosage de l'activité directe anti-Xa du ribaroxaban	Innovatrice	Introduction	La présomption d'utilité clinique et la pertinence de cette analyse sont importantes; on est dans le contexte d'un patient en situation d'hémorragie ou à risque d'hémorragie en raison d'une chirurgie urgente. La production des données cliniques prendra du temps. Le besoin de contrôler les effets secondaires graves du ribaroxaban est impératif. L'introduction de l'analyse est recommandée, malgré l'absence des données de validité clinique, en raison de la gravité du problème et des risques associés à l'utilisation du médicament.
2013-03-008	Recherche d'adénovirus par PCR quantitative en temps réel chez les patients immunosupprimés	Établie	Introduction	Suggestion pour le Répertoire : Discipline : Microbiologie; sous-section : Diagnostic moléculaire

	ANALYSE	TECHNOLOGIE	RECOMMANDATION	COMMENTAIRES - RECOMMANDATIONS ADDITIONNELLES
2013-03-009	Détection de l'infliximab et de l'anticorps anti-infliximab avec ELISA ou avec chromatographie liquide à haute performance	Établie : ELISA Innovatrice : HPLC-HMSA	Introduction	Peu de données disponibles pour la technique HPLC-HMSA, bien qu'elle semble supérieure à l'ELISA. Même si nous recommandons l'introduction de cette analyse, l'information disponible ne nous permet pas de prioriser l'une ou l'autre des deux méthodes.
2013-03-010	Dosage quantitatif du topiramate par LC-MS/MS	Innovatrice pour l'indication demandée	Refus	L'utilité clinique et la pertinence sont peu documentées. On encourage le demandeur à soumettre une nouvelle demande avec une documentation plus approfondie et un algorithme d'utilisation clinique.

Analyses pour lesquelles la réponse est reportée au prochain avis :

2013-03-002a Analyse complète des régions codantes de gènes impliqués dans les cardiomyopathies hypertrophiques par séquençage à ultra-haut débit (nouvelle génération). Vingt gènes : *ACTC1*, *ACTN2*, *CSRP3*, *GAA*, *GLA*, *GBE1*, *LAMP2*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *MYOZ2*, *NEXN*, *PLN*, *PRKAG2*, *TNNC1*, *TNNI3*, *TNNT2*, *TPM1*, *TTR*.

2013-03-002c Panel cardiovasculaire : séquençage des régions codantes complètes de 67 gènes en parallèle répartis dans 2 grandes classes de maladies cardiovasculaires : 1) cardiomyopathie et 2) arythmie. Cette nouvelle analyse inclut les 20 gènes dont le séquençage est actuellement inscrit dans le répertoire du MSSS.

2013-03-011 Dépistage en multiplex de quatre maladies récessives au Saguenay–Lac-Saint-Jean, soit : acidose lactique congénitale, tyrosinémie héréditaire type1, neuropathie sensitivomotrice avec ou sans agénésie du corps calleux et ataxie récessive spastique de Charlevoix-Saguenay.

MESURE DES ACIDES BILIAIRES TOTAUX (RÉFÉRENCE – 2013.03.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeurs :** CHU Sainte-Justine; Hôpital Saint-Luc du CHUM
- 1.2 Date de transmission des demandes d'examen au MSSS**
- CHU Sainte-Justine : 15 juin 2013
 - Hôpital Saint-Luc du CHUM : 28 septembre 2012
- 1.3 Date de réception des demandes à l'INESSS :** 1^{er} novembre 2013
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre :** 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCE

2.1 Nom de la technologie

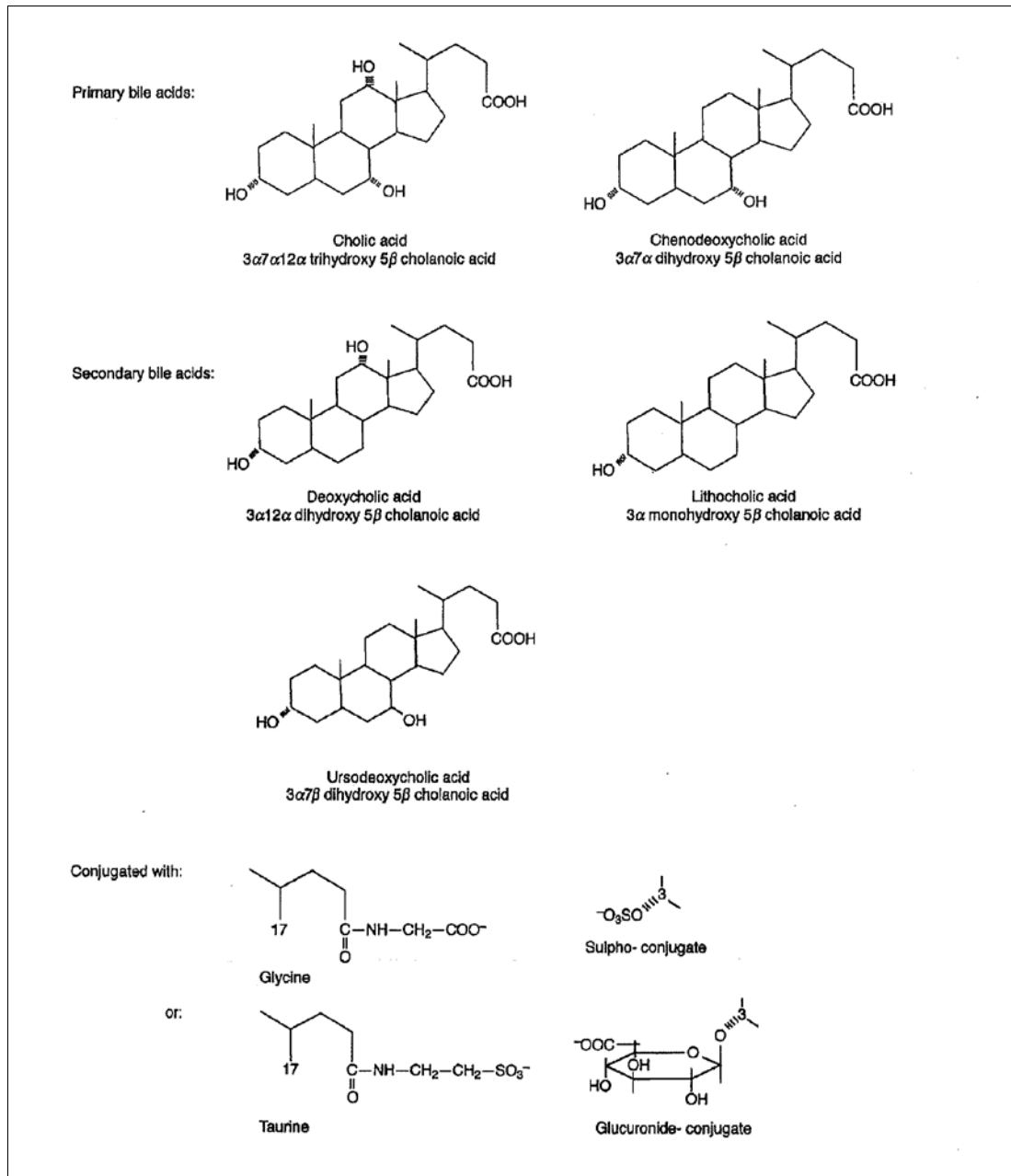
Mesure des acides biliaires (sels) totaux dans le sérum des femmes enceintes pour établir le diagnostic d'exclusion de la cholestase gravidique. Il s'agit d'un dosage quantitatif effectué par une méthode enzymatique et mesuré par absorbance à 410 nm sur analyseur Beckman-Coulter (HSJ) ou Cobas (HSL).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Les acides biliaires sont les produits terminaux du catabolisme du cholestérol [Egan *et al.*, 2012; Walker *et al.*, 2002]. Plus de 90 % de la synthèse des sels biliaires provient des hépatocytes et le reste est d'origine extrahépatique [Egan *et al.*, 2012].

Les acides biliaires chez l'humain partagent tous un radical alpha-hydroxyl, en position 3, qui leur confère leur caractéristique d'activité détergente permettant la digestion et l'absorption des acides gras et des lipides au niveau des villosités tissulaires intestinales. Les acides biliaires primaires synthétisés par le foie sont l'acide cholique (CA) surtout et l'acide chénodéoxycholique (CDCA). Les acides biliaires secondaires, soit l'acide déoxycholique (DCA) et l'acide lithocholique (LCA), sont les produits d'une déconjugaison et d'une déhydroxylation 7 α occasionnées par l'action bactérienne qui a modifié leur structure au niveau de l'iléon terminal et du colon (figure 1).

Figure 1 Formules structurales des acides biliaries



Source : Walker *et al.*, 2002. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

Un acide biliaire tertiaire, l'acide ursodéoxycholique (UDCA), détectable chez l'humain sous forme de traces, est le produit de modifications combinées microbiennes du tube digestif et métaboliques au niveau du foie [Walker *et al.*, 2002].

La sécrétion des acides biliaries à travers la membrane canaliculaire de l'hépatocyte est coordonnée par plusieurs mécanismes de transport énergivores (surtout ATP dépendant), mais qui sont autorégulés. Ces mécanismes d'autorégulation du transport canaliculaire sont l'origine la plus probable des diverses manifestations de la cholestase intrahépatique.

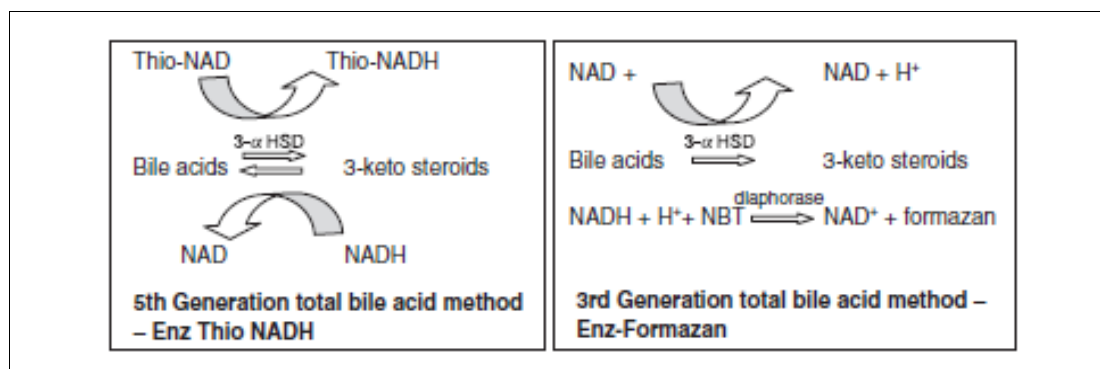
Ainsi, physiologiquement, 30 g par jour d'acides biliaires sont sécrétés par le foie (à partir, initialement, de 0,5 g de cholestérol). Cette bile sera emmagasinée dans la vésicule biliaire et elle sera libérée dans la lumière duodénale au moment d'un repas. La bile est ensuite réabsorbée dans l'iléon terminal pour se retrouver au foie via la veine porte (circulation entéro-hépatique). Environ 5 % des acides biliaires se retrouveront dans les matières fécales.

À l'occasion d'un repas, 4 à 6 g de bile seront sécrétés, soit un total de 12 à 18 g ou même jusqu'à 30 g de sels biliaires par jour. Par la suite, le cycle de réabsorption pourra être réactivé de 3 à 15 fois par jour selon les occasions [Walker *et al.*, 2002].

La concentration des sels biliaires passera de 20 à 50 mmol/l dans les canalicules biliaires, et jusqu'à 300 mmol/l dans la vésicule biliaire; elle sera de 20 à 50 $\mu\text{mol/l}$ dans la veine porte et la concentration dans le sang périphérique à jeun sera de 3 à 5 $\mu\text{mol/l}$ [Walker *et al.*, 2002]. Après un repas, cette concentration augmente de 2 à 5 fois avec un pic 60 à 90 min après le repas. Ces changements sont moins significatifs avec des niveaux élevés pathologiques [Walker *et al.*, 2002].

Il existe différentes méthodes pour mesurer les sels biliaires dans le sang. Il est possible de les mesurer séparément par des méthodes analytiques sophistiquées telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC)¹, le couplage chromatographie gazeuse–spectrométrie de masse (GC-MS) ou autres MS (FAB-MS)² ou GC-MS en tandem [Dias, 2012; Ducroq *et al.*, 2010; Rani *et al.*, 2006; Walker *et al.*, 2002; Azer *et al.*, 1997; Bacq *et al.*, 1995]. Les acides biliaires totaux peuvent être quantifiés aisément par des méthodes conventionnelles de spectrophotométrie enzymatique en se basant sur leur structure biochimique commune à l'aide de l'enzyme 3- α hydroxystéroïd déshydrogénase (3- α HSD). Plusieurs troussees commerciales sont offertes pour effectuer cette mesure par autoanalyseur avec lecteur optique. La cinquième génération de mesure enzymatique est la plus couramment utilisée (figure 2).

Figure 2 Méthodes enzymatiques actuelles de mesure des acides biliaires



Source : Ducroq *et al.*, 2010. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

2.3 Société ou développeur

Deux troussees ont été proposées, qui utilisent la même méthodologie, soit le dosage quantitatif enzymatique.

Hôpital Saint-Luc du CHUM : BQ Kits. Mesure quantitative des acides biliaires totaux

1. HPLC : *high-performance liquid chromatography*.

2. FAB-MS : *fast atom bombardment - mass spectrometry*.

(Enzymatic cycling) 5^e génération (Catalog no BQ 042A-EALD-USA) :

- utilisant le 3 α HSD;
- analyseur Cobas -311;
- absorbance : 405 nm.

À noter : l'utilisation de contrôles de qualité interne Randox et de contrôles de qualité externe RCPAQAP (Australie).

CHU Sainte-Justine : Randox Kit – Mesure quantitative enzymatique calorimétrique (5^e génération (Catalog no BI 3863-Irlande) :

- utilisant le 3 α HSD;
- analyseur Beckman Coulter DxC 880i;
- absorbance : 410 nm.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

FDA : uniquement pour la recherche

BQ : non homologué au Canada. La compagnie a l'intention de faire une demande d'homologation au Canada (selon le requérant du CHUM, communication personnelle, décembre 2013).

Randox : bien que le requérant indique que la trousse est homologuée au Canada, nous n'avons pu le confirmer. En effet, la seule trousse homologuée au Canada pour le dosage enzymatique des acides biliaires totaux semble être un produit homologué en 2007 de la Compagnie Diazyme de Californie (Santé Canada 74467).

2.7 Valeur pondérée

- Hôpital Saint-Luc du CHUM (BQ Kit) : 19,87
- CHU Sainte-Justine (Randox Kit) : 43,22

La grosse différence de valeur pondérée entre les deux requérants se trouve dans le nombre de contrôles internes (3) réalisés par dosage de spécimen au CHU Sainte-Justine; ainsi, la différentielle moyenne entre les deux laboratoires requérants se trouve à l'item réactifs et matériel, soit 10,87 \$/patient au CHUM Saint-Luc et 34,87 \$/patient au CHU Sainte-Justine.

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEUX DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Les femmes enceintes présentant un prurit dans la deuxième moitié de leur grossesse, sans lésions dermatologiques autres que celles occasionnées par le grattage. Le prurit est permanent et généralisé, avec une localisation particulière dans la paume des mains et à la plante des pieds [Pata *et al.*, 2011], et il disparaîtra dans les 4 à 21 jours du postpartum [Pusl et Beuers, 2007]. La cholestase gravidique est un diagnostic d'exclusion en l'absence de troubles obstructifs biliaires ou hépatiques, d'hépatite infectieuse ou toxique, de fièvre ou d'autres maladies systémiques prurigineuses (c.-à-d. Hodgkin) [Gaudet *et al.*, 2000]. La

prééclampsie, le syndrome de HELLP (*hemolysis, liver enzymes, low platelets*) et la nécrose aiguë graisseuse hépatique sont aussi des diagnostics différentiels obstétricaux très graves à considérer.

Le dosage quantitatif des acides biliaires totaux, parmi les autres tests biochimiques hépatiques pertinents, permettra de confirmer ou non le diagnostic de cholestase hépatique [Chen *et al.*, 2013; Egan *et al.*, 2012; RCOG, 2011; Wong *et al.*, 2008; Walker *et al.*, 2002].

3.2 Description de la maladie visée

La cholestase de grossesse (cholestase intrahépatique de grossesse) survient surtout après 30 semaines [Pusl et Beuers, 2007], bien qu'une apparition plus précoce puisse survenir (jusqu'à 8 semaines de grossesse) [Geenes et Williamson, 2009], particulièrement s'il s'agit d'une grossesse multiple [Pusl et Beuers, 2007].

Son étiologie n'est pas complètement élucidée : il y aurait des facteurs hormonaux dont la concentration très élevée d'estrogènes en cas de grossesse (particulièrement les grossesses multiples), et sa récurrence (45 % à 75 %) lors de grossesses ultérieures ou avec la prise de contraceptifs oraux. D'autres suggèrent une influence hormonale chez des femmes génétiquement susceptibles [Geenes et Williamson, 2009]. Certains gènes candidats ont été identifiés [Diken *et al.*, 2014] et une fréquence 12 fois plus élevée a été observée chez les sœurs de patientes atteintes [Müllenbach *et al.*, 2005]. L'influence génétique pourrait aussi expliquer en partie les variations de prévalence de cette condition selon les ethnies ou les pays; sa prévalence est inférieure à 1 % en Asie, en Australie et en Amérique du Nord [Pusl et Beuers, 2007], elle varie de 0,2 % à 0,5 % en France [Gaudet *et al.*, 2000], elle est de 10,2 % dans les pays scandinaves et au Portugal [Pata *et al.*, 2011; Glantz *et al.*, 2004], mais elle se situe autour de 10 % dans les pays d'Amérique du Sud tels que la Bolivie et le Chili [Gaudet *et al.*, 2000]. La prévalence la plus élevée a été observée dans certaines ethnies indiennes d'Amérique : 13,8 % dans les ethnies Aimara de Bolivie et 27,6 % pour les ethnies Araucanias du Chili [Geenes et Williamson, 2009; Pusl et Beuers, 2007].

À concentrations excessives, les acides biliaires sont toxiques. En effet, des niveaux intracellulaires élevés sont associés à un dommage oxydatif et à l'apoptose cellulaire dans le foie adulte et fœtal [Egan *et al.*, 2012], allant jusqu'à la carcinogénèse chez l'adulte [Debruyne *et al.*, 2001].

L'effet chez la mère est surtout celui d'un prurit intense associé à une qualité de vie qui se détériore par manque de sommeil, à tel point que l'issue dans certains cas nécessitera un accouchement prématuré lorsque les traitements symptomatiques ou spécifique (UDCA) ne sont pas efficaces. Certains ont rapporté une fréquence plus élevée d'hémorragie postpartum, mais qui n'a pas été confirmée dans toutes les publications [Walker *et al.*, 2002].

Par ailleurs, l'augmentation des acides biliaires sériques accentuerait la sensibilité myométriale à l'ocytocine et la sécrétion des prostaglandines expliquant la survenue d'accouchements prématurés spontanés (19,6 % et 32,5 %) [Pusl et Beuers, 2007; Gaudet *et al.*, 2000], respectivement.

C'est surtout chez le fœtus que l'augmentation des acides biliaires a des conséquences graves. En effet, les sels biliaires traversent facilement la barrière placentaire avec une accumulation dangereuse d'acides biliaires chez le fœtus, qui est incapable de les détoxifier en raison de son immaturité métabolique [Gaudet *et al.*, 2000]. Des morts *in utero* ont été

rapportées (0,4 % à 4,1 %), surtout si le dosage des acides biliaires totaux dépassait 40 µmol/l [Pusl et Beuers, 2007]. Le retard de croissance est fréquent (18,8 %) [Gaudet *et al.*, 2000] ainsi que des anomalies du rythme cardiaque fœtal (15 %) et la souffrance fœtale en travail (22 % à 41 %) [Wong *et al.*, 2008; Pusl et Beuers, 2007]. En tenant compte de toutes les morbidités, Gaudet et ses collaborateurs [2000] ont estimé que le risque de complications fœtales avec la cholestase était de 59 %.

Une revue récente de la littérature [Diken *et al.*, 2014] fait état d'un taux de morbidité périnatale de 3,5 % à 11 %, d'accouchement prématuré de 36 % à 38 %, de présence de méconium dans le liquide amniotique de 27 à 45 % et de souffrance fœtale intrapartum de 14 % à 22 %. Il semble y avoir une relation directe entre la concentration circulante des acides biliaires et les complications fœtales et néonatales. Certains rapportent une concentration supérieure à 40 µmol/l [Glantz *et al.*, 2004] alors que, pour d'autres, le seuil se trouve à > 100 µmol/l [Diken *et al.*, 2014]. Une méta-analyse d'essais cliniques randomisés a démontré un effet protecteur fœtal de l'UDCA avec une réduction du taux d'accouchement prématuré, de souffrance fœtale, du syndrome de détresse respiratoire et d'admission aux soins intensifs néonataux, mais pas du taux de mortalité *in utero* [Bacq *et al.*, 2012].

Il est donc important d'établir rapidement un diagnostic afin d'entreprendre un traitement approprié.

3.3 Nombre de patients visés

Avec une prévalence < 1,0 %, on s'attend à près de 900 cas de cholestase de grossesse par année au Québec, y inclus une prévalence augmentée (de 5 à 12 fois selon les auteurs) dans les cas de grossesses multiples et des prévalences élevées parmi les femmes enceintes venant des pays scandinaves, mais surtout d'Amérique du Sud (Chili et Bolivie). À noter qu'il existe des variations saisonnières : c'est surtout en hiver ou au début du printemps que la cholestase gravidique se manifeste.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Tous les professionnels de la santé engagés dans les soins prénataux, ainsi que les biochimistes des laboratoires pour assurer le contrôle de la qualité et le transfert rapide du résultat aux professionnels cliniques concernés.

3.5 Modalités d'administration du test

Après le diagnostic, le dosage quantitatif devrait être répété de façon régulière pour évaluer la gravité de la condition ou son amélioration à la suite du traitement spécifique avec l'UDCA. Dans 9 essais cliniques randomisés [Bacq *et al.*, 2012], les dosages étaient répétés aux 2 à 3 semaines après le dosage initial et le début du traitement.

À noter qu'il est recommandé d'effectuer ce test à jeun, (mais peu de variations si la concentration est déjà très élevée) et de faire un prélèvement sérique pour le test enzymatique.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Cette analyse n'est pas inscrite dans le répertoire et elle est faite hors Québec.

Durant l'année 2012-2013, 211 tests ont été faits soit à Toronto (Hospital in Common, coût unitaire 17,00 \$), à Hamilton, Ontario (Hamilton General Hospital, coût unitaire 11,00 \$ ou 14,00 \$) ou à Cincinnati (Cincinnati Children's Hospital, coût unitaire 843,00 \$ à 930,00 \$).

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

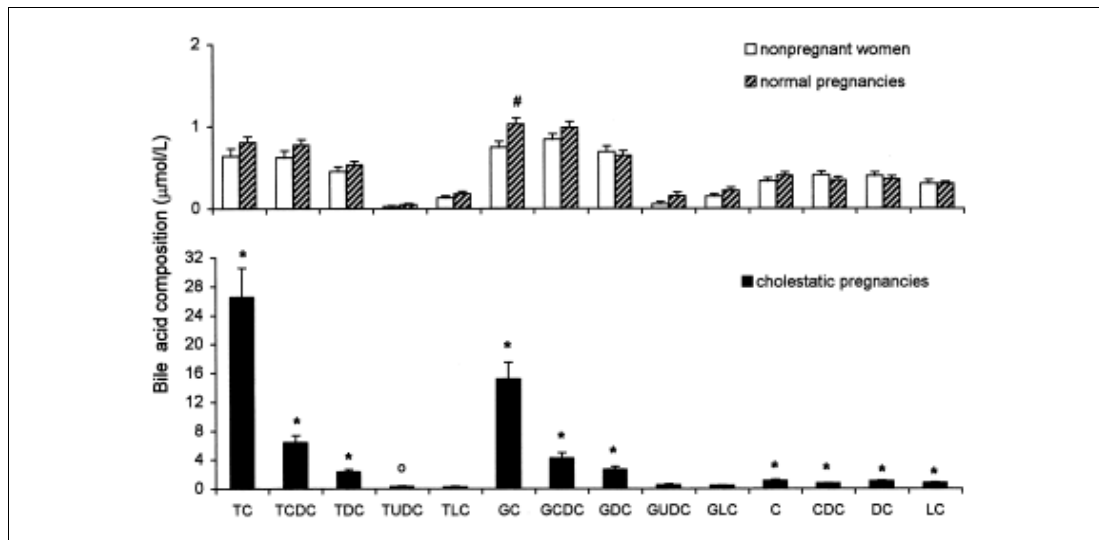
La technologie actuelle utilise une méthode enzymatique de cinquième génération (voir 2.2) qui a l'avantage de mesurer l'ensemble des acides biliaries, libres et conjugués, par une technique automatisée dont la lecture prend moins d'une minute.

Cette technique est maintenant reconnue comme la plus simple, la plus rapide à effectuer et la moins coûteuse [Bailey *et al.*, 2012; Dias, 2012; Rani *et al.*, 2006; Azer *et al.*, 1997].

Le dosage des acides biliaries totaux mesure l'ensemble des acides biliaries sériques primaires (acide cholique : C; acide chenodeoxycholique : CDC), secondaires (acide deoxycholique : DC; acide lithocholique : LC) et tertiaires (acide ursodeoxycholique : UDCA), qu'ils soient libres ou conjugués.

La figure 3 illustre la concentration de chacun de ces composés chez la femme non enceinte, la femme enceinte normale au troisième trimestre et dans le cas des grossesses cholestatiques. On note qu'en moyenne la concentration totale d'acides biliaries est de $5,7 \pm 0,4 \mu\text{mol/l}$ chez la femme non enceinte (ici une population portugaise caucasienne), avec une concentration légèrement supérieure, mais non significative, dans la population enceinte ($6,6 \pm 0,3 \mu\text{mol/l}$, variation de 1,7 à $10,4 \mu\text{mol/l}$). Par contre, chez les femmes portugaises avec cholestase gravidique, la concentration moyenne était 10 fois plus élevée à $62,1 \pm 8,2 \mu\text{mol/l}$, variation de 12,3 à $219,4 \mu\text{mol/l}$ [Brites *et al.*, 1998].

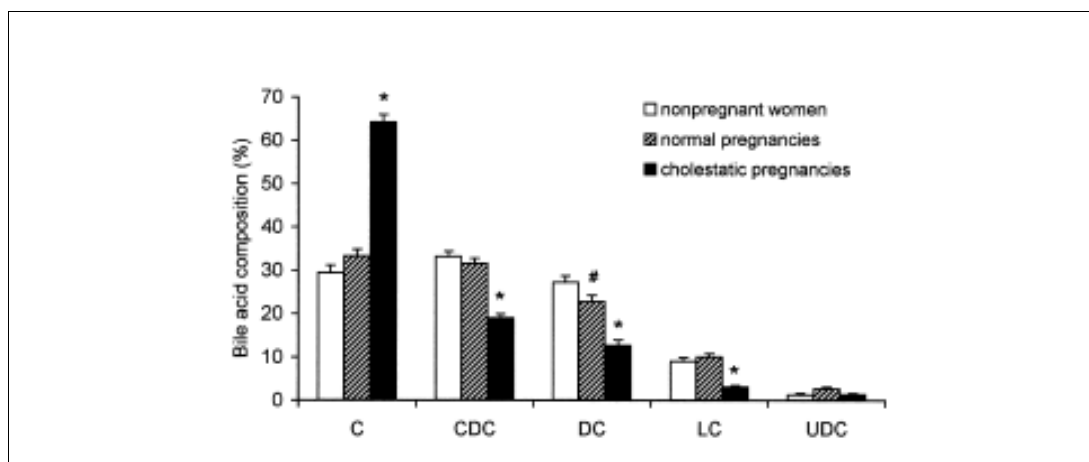
Figure 3 Concentrations moyennes des différents acides biliaries libres ou conjugués chez les femmes non enceintes et les femmes enceintes avec ou sans cholestase gravidique



Source : Brites *et al.*, 1998.

À noter que les proportions des différents acides biliaires sont similaires chez les femmes enceintes ou non alors que, chez les femmes avec cholestase, c'est surtout l'acide cholique qui est augmenté [Brites *et al.*, 1998; fig. 4].

Figure 4 Proportion relative des différents acides biliaires chez les femmes non enceintes, enceintes et avec cholestase gravidique



Source : Brites *et al.*, 1998.

Une autre équipe [Egan *et al.*, 2012] a évalué, avec un devis transversal, les niveaux circulants d'acides biliaires durant la grossesse chez un peu plus de 200 femmes caucasiennes irlandaises avec grossesse unique normale. Les prélèvements, effectués à 12, 20, 28 et 36 semaines et en postpartum immédiat, montrent des concentrations similaires durant la grossesse avec une médiane variant de 2,9 à 3,5 $\mu\text{mol/l}$ et en postpartum de 2,6 $\mu\text{mol/l}$. Plus de 98 % des valeurs étaient inférieures à 10 $\mu\text{mol/l}$ avec des valeurs chez 216 des 219 femmes variant de 0,3 à 9,8 $\mu\text{mol/l}$ et trois mesures à 16,7, 12,0 et 11,6 $\mu\text{mol/l}$ permettant d'établir une valeur seuil maximale chez la femme enceinte à 10 $\mu\text{mol/l}$ [Egan *et al.*, 2012]; la valeur seuil (6 à 14 $\mu\text{mol/l}$) rallie la plupart des auteurs [Diken *et al.*, 2014; Geenes et Williamson, 2009; Wong *et al.*, 2008; Pusch et Beuers, 2007; Gaudet *et al.*, 2000].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

En plus de la facilité à réaliser cette analyse avec autoanalyseur, la méthode enzymatique est simple, facile d'accès, rapide et peu coûteuse. L'avantage majeur est la capacité d'effectuer ce test de laboratoire au Québec et d'ainsi obtenir le résultat très rapidement afin de confirmer le diagnostic, d'entreprendre le traitement spécifique, d'en suivre l'évolution et, potentiellement, d'éviter un excès de mortalité et de morbidité périnatale.

4.4 Coût de la technologie et des options : n'a pas encore été analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Il s'agit de l'introduction d'un nouveau test qui se fait actuellement hors Québec.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Chez la femme enceinte atteinte de prurit dans la deuxième moitié de la grossesse, le diagnostic de cholestase gravidique sera établi en présence d'une concentration élevée anormale d'acides biliaires dans le sang ($> 10 \mu\text{mol/l}$) alors que les autres tests de fonction hépatique restent normaux, à la limite supérieure de la normale ou légèrement augmentés pour la grossesse. La bilirubine peut être légèrement élevée [Chen *et al.*, 2013; Diken *et al.*, 2014; RCOG, 2011; Brites *et al.*, 1998]. À noter que le prurit est relativement fréquent en cas de grossesse (près de 1 femme sur 4), mais dans seulement une petite fraction ($\leq 1 \%$) la cause est la cholestase gravidique [RCOG, 2011].

On parle d'une cholestase gravidique sévère lorsque les niveaux sériques atteignent 40 ou 100 $\mu\text{mol/l}$, et c'est à partir de 40 $\mu\text{mol/l}$ que la mortalité et la morbidité périnatales deviennent un risque majeur [Chen *et al.*, 2013; Pata *et al.*, 2011; RCOG, 2011; Glantz *et al.*, 2004].

Le traitement maternel spécifique a démontré son efficacité quant à l'amélioration du pronostic fœtal [Bacq *et al.*, 2012]. Le dosage sérié aux semaines 1, 2 et 3 (selon les auteurs) après l'introduction du traitement permet d'évaluer la réponse au traitement et l'amélioration ou non de la condition [Bacq *et al.*, 2012; RCOG, 2011]. En cas de non-réponse, il faut envisager le déclenchement prématuré du travail afin de prévenir les complications périnatales ou de soulager l'état insoutenable du prurit chez la mère.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Les choix thérapeutiques sont soit la prolongation de la grossesse, qui est privilégiée lorsqu'il y a amélioration de la condition et diminution de la concentration sérique des acides biliaires, ou l'accouchement prématuré iatrogénique dans le cas contraire.

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (LR)		x	
Courbe ROC		x	
Exactitude		x	

La sensibilité à détecter la maladie avec les acides biliaires dépend du niveau seuil déterminé. Celui-ci varie de 6 à 14 $\mu\text{mol/l}$ selon les auteurs. En Irlande, Wong et ses collaborateurs [2008], avec un taux de 6 $\mu\text{mol/l}$, confirment le diagnostic de 151 grossesses avec cholestase des 769 grossesses avec prurit, soit une prévalence de 20 %, mais qui représente 0,84 % de toutes les grossesses observées. Néanmoins, ce n'est qu'à un taux $\geq 11 \mu\text{mol/l}$ que les accouchements prématurés sont survenus.

Avec un taux $\geq 11 \mu\text{mol/l}$, Brites et ses collaborateurs [1998] trouvent une sensibilité à 100 % et une spécificité à 89 %. En Suède, Glantz et ses collègues [2004] observent 505 grossesses

avec des acides biliaires $\geq 10 \mu\text{mol/l}$, soit 1,5 % des 45 485 grossesses survenues durant la période étudiée. Parmi les cholestases de grossesse, 81 % ($n = 409$) sont considérées comme légères (acides biliaires de 10 à 39 $\mu\text{mol/l}$) et 19 % ($n = 96$) sont considérées comme sévères (acides biliaires $\geq 40 \mu\text{mol/l}$). De façon surprenante, aucune complication fœtale n'est survenue dans le groupe à cholestase légère, et ce n'est que lorsque les concentrations se sont élevées à 40 $\mu\text{mol/l}$ que les accouchements prématurés et les asphyxies périnatales sont survenus.

Néanmoins, le dosage des sels biliaires est le moyen le plus sensible et le plus spécifique de détection de la cholestase gravidique en présence de prurit [Geenes et Williamson, 2009; Walker *et al.*, 2002] comparativement à tous les autres tests de la fonction hépatique qui peuvent ou non être modifiés. De plus, l'élévation des sels biliaires peut précéder dans certains cas les modifications des autres tests hépatiques [Walker *et al.*, 2002].

Une seule publication fait état du taux de faux positifs à 7,5 % et de faux négatifs à 10,0 % pour une valeur seuil de 33,6 $\mu\text{mol/l}$ d'acides biliaires totaux, lorsque mesurés par HPLC-MS en tandem [Chen *et al.*, 2013].

5.3 Validité analytique (ou technique)

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice		x	
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		

La validité analytique présentée concerne la méthode enzymatique (5^e génération) des deux trousses (Randox, BioQ) utilisées par les deux demandeurs. Cette méthode sera comparée, s'il y a lieu, avec d'autres méthodes.

L'imprécision de mesure, soit les mesures répétées lors d'un test (variabilité intratest) ou lors de tests différents (variabilité intertest) est exprimée en coefficients de variation pour une concentration donnée. Cette variation est minime et elle se situe de 0 % à 4,5 % (intratest) et de 0,9 % à 4,14 % (intertest) pour des concentrations de sels biliaires totaux de 5 à 95 $\mu\text{mol/l}$ (annexe A). La D^{re} Marie-Claire Bélanger du CHUM a validé dans son laboratoire les mesures d'imprécision. De plus, elle participe à un programme de validation externe australien (RCPAQAP) où 10 échantillons de 6 à 79 $\mu\text{mol/l}$ ont été évalués avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,9992$ (communication personnelle le 17/12/2013).

La sensibilité analytique est excellente et elle inclut les formes libres et conjuguées des acides biliaires totaux, en raison de leur configuration structurale biochimique.

La spécificité analytique, soit la capacité à différencier entre les sels biliaires et les interférences avec la méthode enzymatique utilisée, est elle aussi excellente. La trousse Randox montre une interférence de moins de 10 % avec les triglycérides, l'acide ascorbique, la bilirubine et l'hémoglobine.

La concordance, soit la mesure obtenue à l'aide de la méthode enzymatique comparativement à celle d'une autre méthode de « référence », a été rapportée par comparaison avec la mesure obtenue par HPLC : les mesures ainsi obtenues avaient une moyenne de $43,4 \pm 24,0$ $\mu\text{mol/l}$ avec la méthode enzymatique vs $43,5 \pm 22,6$ $\mu\text{mol/l}$ par HPLC; (r^2 : 0,97) [Bacq *et al.*, 1995]. Lorsque la méthode enzymatique de cinquième génération (Thio NADH) a été comparée à celle de troisième génération (Formozan), les coefficients de corrélation de 3 rapports étaient excellents (r^2 = 0,9696 : CHUM; 0,99 : trousse Randox; 0,94 sur 174 échantillons : Dias *et al.*, 2012).

La linéarité de la mesure était excellente entre 0 et 150 ou 180 $\mu\text{mol/l}$ selon les trousses proposées (Randox, BioQ). Bailey et ses collaborateurs [2012] rapportent un r^2 à 0,9991 entre 2 et 105 $\mu\text{mol/l}$.

La récupération sur dilution sériée montre une corrélation variant de 93 % à 123 % pour des concentrations de 1 à 170 $\mu\text{mol/l}$ [Dias *et al.*, 2012] alors que Bailey et ses collaborateurs [2012] mesurent une moyenne de 106 % ou de 95 % pour les méthodes de cinquième ou de troisième génération à des concentrations variant de 10 à 100 $\mu\text{mol/l}$ du principal acide biliaire, l'acide taurocholique.

La plus petite concentration détectable différente de zéro varie de 0,2 et 0,4 $\mu\text{mol/l}$ pour les trousses de cinquième et de troisième génération, respectivement [Bailey *et al.*, 2012].

La stabilité des réactifs est assurée pour 7 jours (-2 à -8°C) selon les fabricants (Randox, BioQ), mais elle est rapportée à 30 jours par Bailey et ses collaborateurs [2012] et elle est de 3 mois à -20°C (Randox, BioQ).

5.4 Recommandations d'autres organismes

En Ontario, le test est utilisé principalement pour le diagnostic de la cholestase gravidique et pour certaines conditions rares en pédiatrie.

Au Royaume-Uni, le Collège Royal des obstétriciens gynécologues recommande la mesure des acides biliaires totaux pour établir le diagnostic définitif de la cholestase gravidique et pour en suivre l'évolution [RCOG, 2011].

On recommande de faire le suivi aux 7 à 14 jours si le diagnostic est établi. Les manuels d'obstétrique recommandent aussi cette mesure.

6 RÉPERCUSSIONS POSSIBLES DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Ce test est réalisé à l'extérieur du Québec, mais on peut s'attendre à une augmentation des dosages. Cependant, il s'agit d'un test facile et simple à réaliser, avec lecture d'absorbance par analyseur. Finalement, ce test est peu coûteux; Bailey et ses collaborateurs [2012] rapportent un coût de réactif de 5,97 \$ avec la trousse BioQ en Ontario. À noter qu'on s'attend à une augmentation du nombre des requêtes, particulièrement en hiver et au début du printemps.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : non disponibles.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

Ce test devrait être disponible dans les centres de grossesses à risque élevé où la cholestase gravidique devrait être prise en charge, en raison de la mortalité et de la morbidité périnatales rapportées.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

La mesure des acides biliaires totaux est indispensable pour établir le diagnostic de la cholestase gravidique qui atteint près de 1 % de la population enceinte, surtout vers la 30^e semaine de grossesse. Elle permet le diagnostic différentiel avec un bon nombre de maladies dermatologiques prurigineuses fréquentes en cours de grossesse, de maladies systémiques avec atteinte hépatique, mais surtout de maladies très graves de grossesse comme l'éclampsie, le syndrome de HELLP et la nécrose aiguë graisseuse du foie.

7.2 Validité clinique

La validité clinique est très bien établie. Les acides biliaires totaux ne sont élevés que dans la cholestase gravidique. La sensibilité est souvent de 100 % avec une spécificité de 80 à 85 %. La concentration circulante est presque la même chez la femme non enceinte et enceinte et elle se situe de 0 à moins de 10 $\mu\text{mol/l}$. Le seuil pathologique de détection est établi au-dessus de 10 $\mu\text{mol/l}$, et certains estiment que la condition est grave lorsque la mesure est supérieure à 40 ou à 100 $\mu\text{mol/l}$.

7.3 Validité analytique

Le dosage par méthode quantitative enzymatique est précis, fiable, valide et reproductible.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Usage reconnu et répandu avec recommandation ferme du NHS et du Collège Royal des obstétriciens gynécologues du Royaume-Uni.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Mesure des acides biliaires totaux

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction (voir commentaires additionnels)
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

On doit s'assurer qu'il y aura un contrôle de la qualité interne et externe.

Il est nécessaire d'élaborer un algorithme décisionnel avec des indications précises pour cette analyse afin d'éviter qu'elle devienne un test de routine pour toutes les femmes enceintes présentant du prurit.

On doit s'assurer que le délai de réponse est court (une des demandes mentionne qu'il ne s'agit pas d'une analyse court délai) et qu'il répond aux besoins cliniques.

On doit s'assurer de l'accès équitable et rapide de l'analyse sur le territoire en raison des risques pour le fœtus.

RÉFÉRENCES

- Azer SA, Klaassen CD, Stacey NH. Biochemical assay of serum bile acids: Methods and applications. *Br J Biomed Sci* 1997;54(2):118-32.
- Bacq Y, Sentilhes L, Reyes HB, Glantz A, Kondrackiene J, Binder T, et al. Efficacy of ursodeoxycholic acid in treating intrahepatic cholestasis of pregnancy: A meta-analysis. *Gastroenterol* 2012;143(6):1492-501.
- Bacq Y, Myara A, Brechot MC, Hamon C, Studer E, Trivin F, et al. Serum conjugated bile acid profile during intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J Hepatol* 1995;22(1):66-70.
- Bailey D, Rokhforooz F, Hoffman B. Analytical evaluation of two enzymatic methods for the measurement of total bile acid in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Clin Biochem* 2012;45(13-14):1099 [abstract P502].
- BQ Kits. Total bile acids assay kits (Enzymatic cycling). Catalog number: BQ042A-EALD. Performance characteristics.
- Brites D, Rodrigues CM, Van Zeller H, Brito A, Silva R. Relevance of serum bile acid profile in the diagnosis of intrahepatic cholestasis of pregnancy in an high incidence area: Portugal. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;80(1):31-8.
- Chen J, Deng W, Wang J, Shao Y, Ou M, Ding M. Primary bile acids as potential biomarkers for the clinical grading of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Int J Gynecol Obstet* 2013;122(1):5-8.
- Debruyne PR, Bruyneel EA, Li X, Zimmer A, Gespach C, Mareel MM. The role of bile acids in carcinogenesis. *Mutat Res* 2001;480-481:359-69.
- Dias VC. Evaluation of the Randox® 5th generation enzymatic-colorimetric assay for quantitation of serum total bile acids on the INTEGRA® 800. *Clin Biochem* 2012;45(13-14):1106 [abstract P523].
- Diken Z, Usta IM, Nassar AH. A clinical approach to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am J Perinatol* 2014;31(1):1-8.
- Ducroq D H, Morton MS, Shadi N, Fraser HL, Strevens C, Morris J, et al. Analysis of serum bile acids by isotope dilution-mass spectrometry to assess the performance of routine total bile acid methods. *Ann Clin Biochem* 2010;47(Pt 6):535-40.
- Egan N, Bartels A, Khashan AS, Broadhurst DI, Joyce C, O'Mullane J, et al. Reference standard for serum bile acids in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 2012;119(4):493-8.
- Gaudet R, Merviel P, Berkane N, Schoupe S, Cocheton JJ, Uzan S. Fetal impact of cholestasis of pregnancy: Experience at Tenon hospital and literature review. *Fetal Diag Ther* 2000;15(4):191-7.
- Geenes V et Williamson C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *World J Gastroenterol* 2009;15(17):2049-66.
- Glantz A, Marschall HW, Mattsson LA. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology* 2004;40(2):467-74.

- Müllenbach R, Bennett A, Tetlow N, Patel N, Hamilton G, Cheng F, et al. ATP8B1 mutations in British cases with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Gut* 2005;54(6):829-34.
- Pata O, Vardareli E, Ozcan A, Serteser M, Unsal I, Saruç M, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Correlation of preterm delivery with bile acids. *Turk J Gastroenterol* 2011;22(6):602-6.
- Pusl T et Beuers U. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:26.
- Randox. Total bile acids (TBA) 5th generation enzymatic colorimetric. Specific performance characteristics – Revised 21 Sept 2012.
- Rani K, Garg P, Pundir CS. Discrete analysis of bile acid in serum and bile with 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase and diaphorase immobilized onto alkylamine glass beads. *Indian J Biochem Biophys* 2006;43(2):98-104.
- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG). Green-top Guideline no. 43: Obstetric cholestasis. Londres, Angleterre : RCOG; 2011. Disponible à : <http://www.rcog.org.uk/files/rcog-corp/GTG43obstetriccholestasis.pdf>.
- Walker IA, Nelson-Piercy C, Williamson C. Role of bile acid measurement in pregnancy. *Ann Clin Biochem* 2002;39(Pt 2):105-13.
- Wong LFA, Shallow H, O'Connel MP. Comparative study on the outcome of obstetric cholestasis. *J Mat Fetal Neonat Med* 2008;21(5):327-30.

ANNEXE A

Mesure de l'imprécision (répétabilité – reproductibilité)

		VARIABILITÉ INTRATEST	VARIABILITÉ INTERTEST
AUTEURS, ANNÉE		CV : %	CV : %
Ducroq <i>et al.</i> , 2010		< 3,4	< 3,4
Dias, 2012	23,8 µmol/l	1,0	0,9
	41,2 µmol/l	2,0	1,5
Kit Randox	5,9 µmol/l	4,50	4,14
	11,1 µmol/l	2,54	2,50
	27,9 µmol/l	1,29	1,63
Kit BioQ	8,0 µmol/l	3,9	2,9
	23,0 µmol/l	1,3	2,6
CHUM (2013) – Oct, 2012	16 µmol/l	0	
	31 µmol/l	0	
	91 µmol/l	0	
CHUM (2013) – Sept, 2012	16 µmol/l	4,4	
	31 µmol/l	3,6	
	91 µmol/l	3,9	
CHUM (2013) – 8 jours	17 µmol/l		4,4
	32 µmol/l		3,6
	95 µmol/l		3,9
	36 µmol/l (pool)		3,7
CHUM (2013) – 7 jours (100 mesures)	36 µmol/l		1,5
CHUM (2013) – 3 mois (37 mesures)	36 µmol/l		3,9

AORTOPATHIES FAMILIALES - PANELS DE GÈNES (RÉFÉRENCE – 2013.03.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeurs

- CHU Sainte-Justine (panel 15 gènes aortopathies)
- CHUS-Hôpital Fleurimont (panel 7 gènes TAAD³)

1.2 Date de transmission des demandes d'examen au MSSS

- CHU Sainte-Justine : 30 septembre 2013
- CHUS-Hôpital Fleurimont : 30 août 2012

1.3 Date de réception des demandes à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Séquençage à ultra-haut débit ou de nouvelle génération (NGS⁴).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) permet d'obtenir rapidement et à coûts moindres la séquence de plusieurs gènes simultanément, d'exomes ou de génomes entiers. Plusieurs plateformes utilisant des technologies et des chimies différentes existent actuellement sur le marché. Mais, quelle que soit la technique, le NGS est effectué en trois étapes : la préparation de l'échantillon (et la génération de la librairie⁵), le séquençage et l'analyse des résultats.

Lors de la préparation des échantillons, l'ADN génomique est fragmenté et une librairie fixée sur un support solide est générée. Les demandeurs utilisent une technologie (Illumina, MiSeq et HiSeq) et une approche (panel de gènes) qui nécessitent un enrichissement des régions d'intérêt par PCR avant de procéder au séquençage.

Le séquençage est réalisé selon un principe de base similaire à l'approche de Sanger : les

3. Dilatation, anévrisme ou dissection de l'aorte thoracique.

4. Le terme « séquençage de nouvelle génération » (*next generation sequencing*) fait référence aux différentes plateformes de séquençage récemment développées, qui partagent toutes un rendement de lecture très élevé comparativement aux méthodes de séquençage traditionnelles (Sanger).

⁵ Librairie ou banque de gènes.

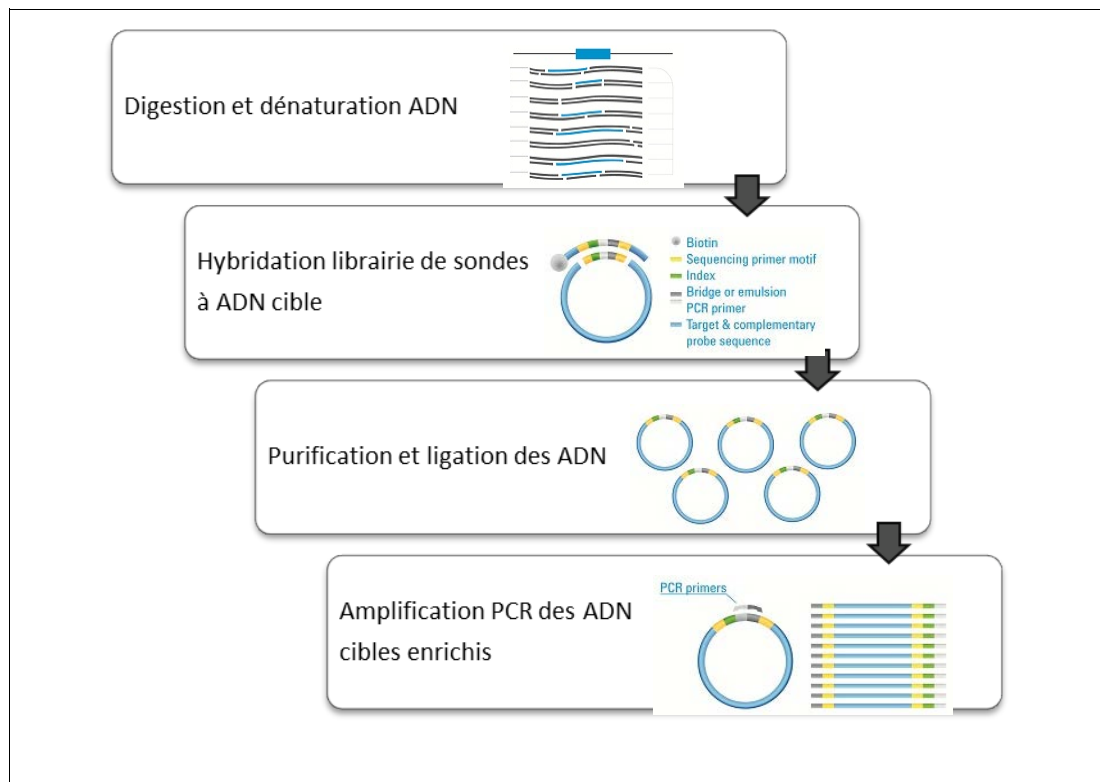
nucléotides des fragments d'ADN sont identifiés au cours de la synthèse d'un brin complémentaire à la matrice. Le nucléotide ajouté à chaque cycle est identifié par sa fluorescence (type et intensité). Toutefois, contrairement au séquençage classique, le NGS effectue et déchiffre des millions de réactions simultanément.

Finalement, les séquences obtenues peuvent être assemblées et alignées avec une séquence de référence. Les variations sont ensuite confirmées par séquençage selon la méthode de Sanger, tel que recommandé par l'American College of Medical Genetics and Genomics, et annotées.

CHU Sainte-Justine

À la suite d'une revue des analyses offertes sur le marché (principalement aux États-Unis) pour les aortopathies familiales ou associées à des syndromes, 15 gènes, pour lesquels les exons et points de jonction seront examinés, ont été sélectionnés pour faire partie du panel : *ACTA2*, *CBS*, *COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL5A2*, *FBN1*, *FBN2*, *MYH11*, *MYLK*, *SLCA10*, *SMAD3*, *TGFB2*, *TGFBR1*, *TGFBR2* (85 kb). L'enrichissement et la préparation de la librairie de matrice sont effectués par circularisation de fragments d'ADN avec oligonucléotides synthétisés selon les spécifications du demandeur (*custom*) (système HaloPlex d'Agilent) et le séquençage sur l'appareil HiSeq 2500 (Illumina).

Figure 1 Enrichissement par circularisation de fragments d'ADN (système HaloPlex, Agilent)⁶

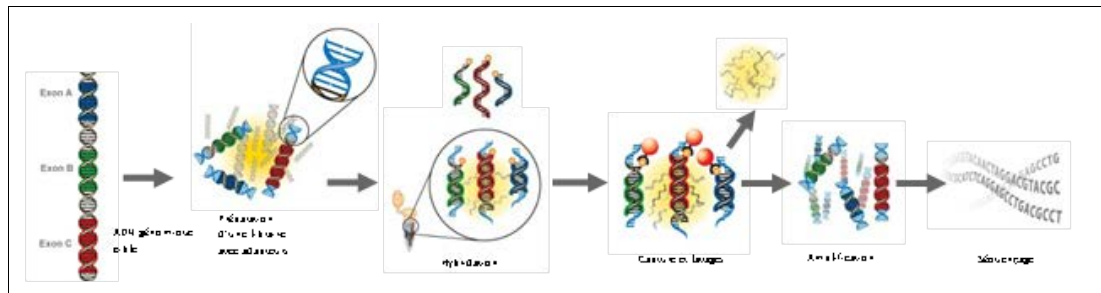


Source : Agilent Technologies. HaloPlex Custom Kits - Details & Specifications [site Web]. Disponible à : <http://www.genomics.agilent.com/article.jsp?crumbAction=push&pageId=3061>.

CHUS-Hôpital Fleurimont

6. Adaptée de : <http://www.genomics.agilent.com/article.jsp?crumbAction=push&pageId=3061>.

L'enrichissement des exons et des points de jonction de 7 gènes *ACTA2*, *FBN1*, *MYH11*, *MYLK*, *SMAD3*, *TGFBR1*, *TGFBR2* est réalisé par capture d'hybrides avec oligos (*custom*) (système SeqCap Ez de Roche Nimblegen). MiSeq (Illumina) est utilisé pour le séquençage. Le demandeur mentionne que les oligos ont été choisis en collaboration avec les experts de la compagnie afin de maximiser l'enrichissement. La qualité minimale acceptée à l'occasion du séquençage sera de Q30. Il est à noter que les exons 1 des gènes *TGFBR1* et *TGFBR2* seront séquencés par Sanger en raison d'une plus faible couverture de séquence attribuable au %GC élevé de ces régions⁷. De plus, une confirmation des variants observés sera faite par séquençage selon la méthode de Sanger. Les gènes ont été sélectionnés à la suite de la révision des preuves scientifiques soutenant leur valeur clinique⁸.



2.3 Société ou développeur : Illumina (séquenceur).

La plateforme de séquençage MiSeqDx (Illumina) a été approuvée par la FDA pour usage en diagnostic clinique.

- CHU Sainte-Justine : 604,48
- CHUS-Hôpital Fleurimont : 782,13 (inclut le coût de séquençage Sanger)

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont ceux ayant :

7. Communications électroniques et téléphoniques personnelles avec M. Serge Gravel, Ph. D., responsable de l'analyse sur le plan technique (27 et 28 novembre 2013).

- une histoire familiale positive;
- la possibilité d'un diagnostic de syndrome de Marfan, de syndrome de Loeys-Dietz ou d'une autre anomalie des tissus connectifs à exclure ou à confirmer.

D'autres personnes ciblées par le test ou situations cliniques dans lesquelles le test est indiqué :

- parents, frères ou sœurs et enfants d'une personne porteuse d'une mutation associée à une aortopathie;
- dépistage prénatal lorsqu'un parent est reconnu porteur d'une mutation associée à une aortopathie.

3.2 Description des maladies visées

Les aortopathies se caractérisent par la dilatation, l'anévrisme ou la tortuosité de l'aorte. L'anévrisme et la dissection de l'aorte thoracique (TAAD⁹) sont responsables de 15 000 décès annuellement aux États-Unis [Pomianowski et Elefteriades, 2013; Clouse *et al.*, 2004]. La prévalence annuelle des TAAD est estimée à environ 10 cas par 100 000 habitants [Clouse *et al.*, 1998]. Malgré une dilatation progressive, l'anévrisme de l'aorte thoracique (AAT) demeure asymptomatique jusqu'à ce que la dissection ou la rupture se produise. La prévalence annuelle de la dissection/rupture de l'AAT est d'environ 3 cas par 100 000 [Clouse *et al.*, 2004; Meszaros *et al.*, 2000]. Le risque de mortalité associé aux TAAD dépend principalement de l'évolution au moment de la découverte. Ainsi, pour un AAT détecté préalablement à une rupture ou une dissection, le risque de mortalité opératoire est < 15 % alors qu'il peut atteindre 40 % ou dépasser 50 % dans les formes aiguës : dissection ou rupture, respectivement [Shores *et al.*, 1994]. Il existe deux types de TAAD : les formes héréditaires syndromiques (syndromes de Marfan, de Loeys-Dietz, d'Ehler-Danlos, etc.) observées chez les patients jeunes et les formes idiopathiques et dégénératives, plus fréquentes chez les patients plus âgés. Environ 20 % des TAAD résultent d'un défaut génétique acquis par transmission héréditaire très souvent autosomique dominante et de pénétrance variable [Albornoz *et al.*, 2006; Milewicz *et al.*, 1998]. Bien que plusieurs mutations aient été identifiées, la plupart des cas de formes familiales non syndromiques demeurent de cause inconnue [Radu *et al.*, 2009]. (Voir l'annexe pour une description plus détaillée des maladies).

3.3 Nombre de patients visés

Selon les demandeurs :

- CHU Sainte-Justine : 1 à 5 par semaine, soit 52 à 260/an, comprenant enfants, adultes et apparentés.
- CHUS - Hôpital Fleurimont : 20/an (Québec et Sherbrooke).

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Génétique moléculaire, conseil génétique, cardiologie, pathologie.

3.5 Modalités d'administration du test

L'analyse est effectuée à partir de l'ADN génomique extrait d'un échantillon de sang (un

9. Anévrisme : dilatation permanente et localisée d'une artère d'au moins 50 % par rapport à son diamètre normal, attribuable à une faiblesse de la paroi.

Dissection : déchirure de l'intima aortique créant une fausse lumière de longueur variable [Callewaert *et al.*, 2009].

échantillon de salive ou un frottis buccal peuvent aussi être utilisés).

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Selon les demandeurs, il s'agit d'une nouvelle analyse.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Le NGS est une alternative prometteuse au séquençage Sanger, mais son utilité clinique dans le cas de l'analyse d'un panel de gènes ou d'exomes repose sur la capacité d'enrichir ou d'amplifier les régions d'intérêt avec précision [Wooderchak-Donahue *et al.*, 2012]. L'étape de l'enrichissement doit permettre l'atteinte d'une profondeur de lecture¹⁰ élevée tout en réduisant le nombre des erreurs introduites par l'amplification ou par d'autres manipulations de l'échantillon, de façon assurer une spécificité et une sensibilité optimales. Plusieurs stratégies d'enrichissement, dont les avantages varient en fonction des caractéristiques intrinsèques des séquences cibles, sont actuellement disponibles. Brièvement, trois types d'enrichissement existent, soit par PCR (à l'intérieur de petits compartiments comme RainDance, Fluidigm, AmpliSeq), par hybridation et extension (HaloPlex, TruSeq) et par hybridation seulement (SureSelect, SureCap EZ). Des études visant à comparer diverses techniques d'enrichissement ont démontré d'importantes différences, notamment en ce qui concerne la profondeur de lecture générée et le nombre de variants identifiés [Hedges *et al.*, 2011; Kiialainen *et al.*, 2011; Teer *et al.*, 2010].

La technique de séquençage utilisée par les plateformes d'Illumina consiste à effectuer la synthèse d'un brin complémentaire à chacun des millions de brins de matrices fixées sur un support solide à partir d'amorces et grâce à des nucléotides terminateurs (réversibles) couplés à des fluorochromes spécifiques au type nucléotide. La réaction de séquençage est constituée d'une série de cycles permettant l'ajout successif de nucléotides dont la présence est détectée à chaque cycle.

Les séquences obtenues sont assemblées et comparées à la séquence de référence. Les variations identifiées sont ensuite analysées une à une pour leur pertinence clinique à la suite, ou non, d'une étape de filtrage automatisé grâce des outils bioinformatiques.

À court terme, le séquençage Sanger continuera à être utilisé en complémentarité avec le NGS, notamment pour les régions difficiles à cibler (GC riches ou séquences répétitives) et pour confirmer les variations identifiées par NGS [Rehm *et al.*, 2013; Ware et Jefferies, 2012].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Comparativement au séquençage Sanger, le NGS en laboratoire clinique permet de cibler plus rapidement un ensemble de régions génomiques associées à une maladie héréditaire connue, en raison de la couverture de séquences plus large et avec un coût moindre.

4.4 Coût de la technologie et des options

10. La profondeur de lecture est le rapport entre la longueur de tous les fragments de séquences lus mis bout à bout et la longueur de la séquence cible. Par exemple, si l'on séquence 25 millions de bases (Mb) pour un génome de 5 Mb, on a une profondeur équivalant à 5 fois le génome. Plus la profondeur est importante, plus nombreuses seront les lectures chevauchantes que l'on pourra assembler, et plus grande sera la fraction du génome couverte. Cela permet d'obtenir une séquence finale la plus complète possible, avec un minimum de « trous », de régions non séquencées (Furelaud G et Esnault Y. Le séquençage des génomes – compléments [site Web]. Disponible à : www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/genomes/plus/fragm_stats.htm).

TECHNOLOGIE	HiSeq2000 – MiSeq (Illumina)	SANGER
Séquences couvertes par analyse	8,5 - 600 Gb	0,006 Gb
Coût du séquençage par analyse	41 \$ - 502 \$/Gb	5 000 \$/Gb
Temps d'analyse	39 heures - 11 jours	1 jour

Source : tableau adapté de Makrythanasis et Antonarakis, 2012.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

Les anévrismes demeurent généralement asymptomatiques jusqu'à ce qu'une dissection ou une rupture se produise avec des conséquences néfastes, et ce, malgré une dilatation progressive de l'aorte. Les TAAD ont été décrits comme une caractéristique de plusieurs conditions cliniques qui sont parfois difficiles à distinguer l'une de l'autre. Les tests qui font l'objet des demandes actuelles offrent la possibilité de préciser le diagnostic, de stratifier les risques associés et de moduler l'approche médicale pour tenter de limiter ou d'éliminer les événements aigus. Si une mutation pathogène est identifiée chez le probant, d'autres membres de la famille peuvent se voir offrir un dépistage ciblé de la même mutation. Ceux qui portent la mutation peuvent ensuite faire l'objet d'une surveillance accrue ou d'un traitement approprié, tandis que des tests coûteux et stressants seront épargnés à ceux qui ne portent pas la mutation [Burton *et al.*, 2010].

Malgré certains recoupements, les mutations dans certains gènes sont associées à certaines maladies particulières. Les gènes les plus fréquemment reconnus comme causals dans les FTAAD sont : *ACTA2*, *TGFRB1/2*, *MYH11*, *MYLK*, *SMAD3*, alors que ceux associés aux syndromes de Marfan (SM), de Loeys-Dietz (SLD) et d'Ehlers-Danlos (SED) sont principalement *FBN1*, *TGFR1/2*, *TGFB2*, *SMAD3*, *COL1A1/3A1/5A1/5A2*.

Le panel proposé par le groupe du CHUS est constitué des gènes qu'on trouve le plus fréquemment associés aux TAAD, syndromiques ou non, et celui du groupe du CHU Sainte-Justine est plus exhaustif, car il contient des gènes pour lesquels des mutations ont été rarement décrites et des gènes non associés aux TAAD mais permettant, dans certains cas, un diagnostic différentiel des syndromes.

Il est à noter que des études d'association entre les diverses maladies et les gènes ne sont pas disponibles pour plusieurs de ces gènes [Pomianowski et Eleftheriades, 2013]. Ces études sont difficiles à produire compte tenu des prévalences faibles pour plusieurs maladies, de la pénétrance incomplète et du niveau de mutations *de novo* parfois imposant. Des études de concordance phénotype/génotype sont plus fréquentes.

ACTA2

Ce gène de 5 kb (3 exons) situé sur le chromosome 10q23.31 a été associé aux FTAAD, à la maladie de Moya Moya et au syndrome de dysfonction multisystémique des muscles lisses. Il code pour l'actine alpha spécifique aux cellules du muscle lisse vasculaire. Des mutations dans *ACTA2* ont été identifiées chez 10 à 15 % des patients atteints de TAAD familiale non syndromique, et dans 2,5 % des TAAD sporadiques, surtout observés chez de jeunes patients [Guo *et al.*, 2009; Morisaki *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2007]. Malgré l'aspect autosomique dominant des mutations associées à ce gène, une pénétrance réduite a été rapportée (50 %). Toutefois, en combinant l'ensemble des phénotypes vasculaires, la pénétrance s'élève à 80 % [Pomianowski et Eleftheriades, 2013; Guo *et al.*, 2009].

La banque de données (version professionnelle 2013.4) *Human Gene Mutation Database* (HGMD¹¹) dénombre 38 mutations individuelles identifiées jusqu'à présent. De celles-ci, 25 sont associées aux TAAO et 10 autres sont associées aux aortopathies ou à d'autres phénotypes cardiovasculaires. Ces variations sont principalement des substitutions d'acides aminés résultant en des mutations non-sens ou faux-sens.

CBS

Ce gène de 18 kb constitué de 15 exons est associé à l'homocystinurie, une maladie métabolique autosomique récessive [Yap, 2003]. La présentation clinique de cette maladie est très similaire au syndrome de Marfan (grande taille, *ectopia lentis*, myopie sévère et anomalies squelettiques). Contrairement au syndrome de Marfan, l'homocystinurie est associée à de graves problèmes de développement cognitif et à un risque accru d'AVC en bas âge. Le séquençage de ce gène se retrouve à l'occasion sur les panels pour le diagnostic différentiel entre l'homocystinurie et le syndrome de Marfan. HGMD dénombre 181 mutations dans la version professionnelle, presque toutes associées à l'homocystinurie (172/181). L'association du gène *CBS* aux TAAO est inexistante.

COL1A1

Ce gène est constitué de 51 exons répartis sur 17,5 kb sur le chromosome 17q21.33. Les mutations du gène *COL1A1* sont associées avec l'ostéogénèse imparfaite (OI) types I à IV, le syndrome Ehlers-Danlos (SED) de types I et VIIA, la maladie de Caffey et l'ostéoporose idiopathique. Les mutations liant le gène et le syndrome Ehlers-Danlos de type VIIA sont rares et mentionnées par une vingtaine de rapports de cas décrivant des mutations ponctuelles dans la région codante et dans les sites de jonction. Malfait et ses collaborateurs [2007] ont suggéré qu'une mutation de trois résidus arginine en cystéine pourrait conférer une prédisposition à une rupture artérielle. Cette observation demeure toutefois anecdotique. Les données publiques de HGMD dénombrent 609 mutations différentes dont 569 sont associées à l'OI, 16 au SED, 6 à une densité osseuse réduite, 1 à la maladie de Caffey et les 17 autres à des phénotypes cliniques incomplets.

COL3A1

Ce gène de 5 exons répartis sur 2,6 kb du chromosome 2q32.2 porterait des mutations dans 98 % des cas de SED de type IV (vasculaire). Le SED de type IV représente entre 5 et 10 % des cas de SED et il serait causé par des mutations autosomiques dominantes. Des mutations de ce gène ont également été rapportées à l'origine du SED de types II et III. La moitié des mutations observées seraient *de novo* [Mayer *et al.*, 2010].

Pas moins de 254 mutations pathogéniques de *COL3A1* ont été décrites dans la version professionnelle de HGMD. Les mutations donnent lieu à des substitutions d'acides aminés, mais également, et ce, dans une proportion anormalement élevée, à la délétion de un ou plusieurs exons. De plus, de 2 à 3 % des patients portent une délétion ou une insertion.

COL5A1 et COL5A2

Le SED classique (types I et II) représente 90 % des cas de SED. Environ 50 % des cas présentent des mutations autosomiques dominantes dans ces gènes. *COL5A1* est muté dans 85 à 90 % des cas contre 10 à 15 % pour *COL5A2* [Symoens *et al.*, 2012]. Environ 50 % des mutations identifiées seraient *de novo* [Malfait *et al.*, 2010].

11. L'information extraite de la banque HGMD donne au lecteur un ordre de grandeur quant à la fréquence des lésions rapportées dans chaque gène. Ces données n'ont pas été vérifiées à la source, ni corroborées avec d'autres banques du même genre.

Les gènes *COL5A1* et *COL5A2* ont une taille de 200 kb (66 exons) et 146 kb (54 exons) respectivement, et ils sont situés sur les chromosomes 9q34.3 et 2q32.2. Les mutations ponctuelles décrites mènent à des substitutions d'acides aminés et à la terminaison prématurée de la protéine. Des délétions et des insertions ont également été rapportées. La banque HGMD dénombre respectivement, pour *COL5A1* et *COL5A2*, 119 et 21 mutations pathogéniques.

FBN1

Ce gène, situé sur le chromosome 15q21.1, couvre plus de 600 kb et possède une séquence codante hautement fragmentée (65 exons). Les mutations sont de type autosomique dominant et une pénétrance variable du phénotype est observée [Akutsu *et al.*, 2010].

La banque HGMD rapporte 1492 mutations pathogéniques dont 86 % sont associées au syndrome Marfan (SM) classique alors que les autres sont associées à des manifestations cliniques incomplètes du SM. Les mutations situées entre les exons 24 et 32 du gène, tout comme les mutations *de novo* identifiées chez 25 % des patients, sont associées à un phénotype plus grave de la maladie (néonatal) [Morse *et al.*, 1990]. Les mutations ponctuelles décrites entraînent des substitutions d'acides aminés, des troncations prématurées de la protéine et des erreurs d'épissage. Des délétions et des insertions ont également été rapportées.

FBN2

FBN2 se situe sur le chromosome 5q23.3; il couvre 209 kb et contient 33 exons.

Les 47 mutations répertoriées dans HGMD sont toutes associées à l'arachnodactylie congénitale avec contractures (ACC) ou syndrome de Beals, sauf une. Contrairement aux conclusions des premières études publiées, une dilatation au niveau de la racine aortique a été rapportée chez quelques cas. L'ACC est une maladie à transmission autosomique dominante. Les mutations rapportées consistent en mutations de substitution qui touchent les séquences codantes (faux-sens/non-sens) et les sites d'épissage.

MYH11

MYH11 est situé sur le chromosome 16p13.11 et code pour la chaîne lourde de la myosine 11 spécifique des cellules du muscle lisse [Pannu *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2006]. Ce gène de 40 exons (134 kb) a été associé aux FTAAD et à certaines leucémies myéloïdes aiguës (M4). Des mutations autosomiques dominantes dans ce gène seraient impliquées dans 2 % des TAAD non syndromiques et consisteraient principalement en des mutations des sites d'épissage et des substitutions d'acides aminés. Kuang et ses collaborateurs [2011] ont rapporté une duplication de la région chromosomique 16p13.1 dans laquelle se trouve *MYH11* dans le cas d'individus présentant des FTAAD. Des délétions ont également été décrites [Zhu *et al.*, 2006]. La banque HGMD dénombre 29 mutations, dont 24 sont associées aux TAAD.

MYLK

MYLK est situé sur le chromosome 3q21.1 et code pour la kinase de la chaîne légère de la myosine spécifique des cellules du muscle lisse vasculaire. Il s'agit d'un gène constitué de 30 exons répartis sur 180 kb.

Des mutations autosomiques dominantes dans *MYLK* ont rarement été identifiées dans le cadre de TAA, et ce, seulement parmi les patients atteints de FTAAD non syndromique (environ 1 %) [Wang *et al.*, 2010]. Des 9 mutations décrites à ce jour, 5 sont associées aux TAA : des mutations ponctuelles résultant en une substitution d'acides aminés et une troncation de la protéine produite. Le phénotype associé aux mutations dans *MYLK* est caractérisé par la survenue d'une dissection aortique sans dilatation préalable ou avec la présence d'un léger élargissement de l'artère. Il existe une grande variabilité phénotypique parmi les porteurs d'une mutation qui ont été étudiés, allant d'une dissection survenue en bas âge à l'absence totale de manifestations cliniques en âge avancé. Quelques cas présentent des complications gastro-intestinales telles que diverticuloses, polypes, cancer colorectal et maladie inflammatoire de l'intestin [Wang *et al.*, 2010].

SLC2A10

Ce gène de 5 exons répartis sur 24 kb est associé au syndrome de tortuosité artérielle, maladie rare dont moins de 80 cas ont été décrits dans la littérature. Il est situé sur le chromosome 20q13.1 et code pour le transporteur de glucose GLUT10. Jusqu'ici, 23 mutations autosomiques récessives du gène *SLC2A10* ont été rapportées. Les mutations ponctuelles mènent à des substitutions d'acides aminés et des délétions. Les individus atteints ont une propension à la formation d'un anévrisme, à la dissection vasculaire et à la sténose des artères pulmonaires.

SMAD3

Un total de 12 mutations, sur les 17 identifiées dans ce gène de 8 exons (25,5 kb), ont été rapportées chez des individus présentant le syndrome de Loeys-Dietz de type 3 (syndrome d'anévrisme-ostéoarthrite). Les mutations décrites étaient héréditaires et consistaient en mutations ponctuelles menant à une substitution d'acides aminés et à des délétions et insertions de 1 à 2 paires de bases [Van de Laar *et al.*, 2012].

Les 5 autres mutations de *SMAD3*, situées sur le chromosome 15q22.38, sont associées aux TAA familiales, soit environ 2 % des cas.

TGF β -2

TGF β 2 est situé sur le chromosome 1q41 et code pour le facteur de croissance transformant β . Il s'agit d'un gène de 7 exons répartis sur 95 kb. Il a récemment été associé aux TAA [Renard *et al.*, 2013; Boileau *et al.*, 2012; Lindsay *et al.*, 2012]. Sur les 15 mutations rapportées, 14 ont été identifiées chez des individus souffrant de TAA.

Les mutations décrites consistent en faux-sens et en insertions/délétions (5 à 15 pb) qui résultent en un changement de cadre de lecture ou l'introduction d'un codon de terminaison prématuré.

TGFRB1 et TGFRB2

Des mutations dans les gènes de *TGFRB1* et 2 ont été associées au SM, SLD et à plusieurs types de tumeurs. Chez les individus souffrant de SLD, 95 % portent une mutation dans *TGFRB1* ou 2. Dans les cas de syndrome de Marfan, les mutations dans *TGFRB1* et 2 sont

moins fréquentes.

Les gènes *TGFBR1* et *TGFBR2* sont situés sur les chromosomes 9q22.33 et 3p24.1 respectivement [Loeys *et al.*, 2005]. Il s'agit de gènes de taille relativement restreinte, soit 44 kb et 9 exons pour *TGFBR1* et 2 exons codants et 22 kb pour *TGFBR2*.

Plusieurs mutations ont été rapportées comme étant pathogéniques : 46 pour *TGFBR1* et 108 pour *TGFBR2*. Celles-ci résultent majoritairement en la substitution d'acides aminés, mais des troncations de protéines, des erreurs d'épissage de même que des délétions/insertions ont été décrites dans ces deux gènes dans le cadre des TAAD. Dans les cas de SLD, environ 75 % de ces mutations ont été détectées dans *TGFBR1* contre 25 % dans *TGFBR2*.

Des mutations sont observées dans 1 à 4 % des cas dans les FTAAD [Stheneur *et al.*, 2008; Sakai *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2006]. Dans les cas héréditaires, malgré le caractère autosomique dominant des mutations, la pénétrance est très variable. Il est à noter que 75 % des personnes affectées par le SLD présentent des mutations *de novo*.

Tableau 1 Maladies présentant des aortopathies et les gènes associés

PATHOLOGIE	PRÉVALENCE	DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL	GÈNES ASSOCIÉS
Syndrome de Marfan	1 : 5000	arachnodactylie congénitale avec contractures syndrome de Loeys-Dietz syndrome MASS syndrome de Shprintzen-Goldberg prolapsus valvulaire mitral syndrome d'Ehlers-Danlos	<i>FBN1</i> (86 % des cas) <i>TGFBR1</i> et 2
Syndrome de Loeys-Dietz (inclut le syndrome d'anévrisme ostéoarthrite)	< 1 : 1 000 000 (< 200 000 personnes affectées aux É.-U.)	syndrome de Marfan syndrome d'Ehlers-Danlos syndrome de Shprintzen-Goldberg	<i>TGFBR1</i> et 2 (95 % des cas) <i>SMAD 3</i>
Syndrome d'Ehlers-Danlos	Prévalence 1 : 75 000	Entre autres : syndrome de Silverman syndrome de Marfan syndrome de Loeys-Dietz	<i>COL1A1</i> <i>COL3A1</i> <i>COL5A1</i> et 2 <i>SMAD3</i>
Syndrome de tortuosité artérielle	Prévalence inconnue	syndrome de Loeys-Dietz, syndrome d'Ehlers-Danlos type vasculaire (SED IV), et syndrome de Marfan	<i>SLC2A10</i>
Syndrome d'arachnodactylie congénitale avec	Prévalence inconnue	syndrome de Marfan	<i>FBN2</i>

PATHOLOGIE	PRÉVALENCE	DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL	GÈNES ASSOCIÉS
contractures			
FTAAD	20 % des TAAD	TAAD sporadique TAAD syndromique	<i>ACTA2</i> <i>TGFBR1</i> et 2 <i>TGFB2</i> <i>MYLK</i> <i>SMAD3</i>

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Ce test n'est pas dans le Répertoire. Les demandes sont envoyées hors Québec. Selon les données du MSSS, 18 analyses ont été réalisées à l'extérieur, totalisant 44 000 \$ au cours de la période d'avril 2012 à mars 2013.

Les analyses peuvent être effectuées dans plusieurs centres qui offrent le séquençage sous forme de panel ou de gènes individuels. En fonction du gène, le service offert comprend un séquençage et l'analyse de délétions/duplication ou un séquençage seul. Le service offert par neuf centres accrédités est résumé dans le tableau ci-dessous. Dix laboratoires ont été vérifiés : Ambry Genetics; ARUP Laboratories; Center for Human Genetics; Centogene; Gene DX; Fulgent Therapeutics; Health in Code; Mayo Medical Laboratories; National Institute for Health Research; Prevention Genetics.

	<i>ACTA2</i>	<i>CBS</i>	<i>COL1A1</i>	<i>COL3A1</i>	<i>COL5A1/2</i>	<i>FBN1</i>	<i>FBN2</i>
Centres offrant l'analyse	9/10	5/10	1/10	8/10	7/10	10/10	7/10
	<i>MYH11</i>	<i>MYLK</i>	<i>SCL2A10</i>	<i>SMAD3</i>	<i>TGFB2</i>	<i>TGFBR 1 et 2</i>	
Centres offrant l'analyse	9/10	6/10	7/10	8/10	5/10	10/10	

5.2 Validité clinique

Le séquençage semi-automatisé de Sanger est utilisé depuis plusieurs années pour faire les analyses diagnostiques et il est considéré comme l'étalon-or (*gold standard*). Toutefois, l'évolution des technologies de séquençage (NGS) permet maintenant l'analyse simultanée de plusieurs gènes, de l'exome ou même de l'ensemble du génome à l'aide d'une approche à haut débit et faible coût. Pour ces raisons, le NGS est en processus d'adoption dans un contexte clinique. Dans cette foulée, la FDA a approuvé l'utilisation de la plateforme MiSeqDx d'Illumina pour usage clinique à la fin de 2013.

L'utilisation de l'approche NGS pour les maladies d'origine multigénique a permis d'identifier plusieurs variations décrites comme pathogéniques et confirmées par la suite par séquençage classique [Lepri *et al.*, 2014; Umbarger *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2013; Pomianowski et Eleftheriades, 2013]. De par sa capacité analytique, le NGS surpasse le séquençage de Sanger, puisque le séquençage simultané de plusieurs gènes tel qu'il est réalisé par NGS serait difficile sinon irréalisable dans un contexte de laboratoire diagnostique selon l'approche classique.

Toutefois, les limitations de cette technologie ont mené à recommander que les approches par NGS ne soient pas utilisées exclusivement pour rechercher et valider la présence de variants. Le séquençage selon la méthode de Sanger est nécessaire pour explorer les régions

où la profondeur de lecture est inadéquate et pour valider les variants observés. Toutefois, l'introduction dans un contexte clinique est souhaitable considérant que les bénéfices associés à l'utilisation des NGS sont supérieurs à leurs risques associés (mémoire de la FDA pour l'introduction de MiSeqDx, ACMG [Rehm *et al.*, 2013; Sikkema-Raddatz *et al.*, 2013]).

L'enrichissement des cibles à séquencer constitue une étape importante pour assurer la profondeur de lecture appropriée. Plusieurs études ont donc comparé les différentes troupes disponibles sur le marché.

Baetens et ses collaborateurs [2011] ont testé une méthode par PCR en émulsion multiplex couplée à un séquençage de nouvelle génération (NGS) dans le but de mettre en évidence des mutations associées au syndrome de Marfan (*FBN1*, *TGFBR1* et *TGFBR2*). Dans un premier temps, la technique a permis de détecter 5 mutations connues relativement à des cas confirmés de SM ou de syndrome de Loeys-Dietz (SLD). Dans un deuxième temps, la technique a été testée auprès de 87 patients répondant aux critères Ghent. En tout, 75 mutations de *FBN1*, dont 67 uniques, ont été identifiées. L'utilisation de la MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*) parmi les cas toujours déclarés négatifs a permis d'identifier 4 larges délétions/insertions. Finalement, un séquençage Sanger a mis en évidence une mutation faux-sens dans l'exon 1 de *FBN1*. L'exon 1 du gène a été volontairement omis de l'analyse. Finalement, le taux global d'identification des mutations a été calculé à 92 % [Umbarger *et al.*, 2014].

Wooderchak-Donahue et ses collaborateurs [2012] ont comparé deux protocoles d'enrichissement, soit une technique de PCR en émulsion (Raindance) et une méthode de capture d'hybride en solution (SureSelect). Un panel d'aortopathie regroupant 9 gènes (*FBN1*, *FBN2*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *COL3A1*, *MYH11*, *ACTA2*, *SLC2A10*, *NOTCH1*) totalisant 194 exons (100 kb de séquence) a été utilisé. Le taux de couverture des séquences cibles et l'efficacité d'identification des variants ont été comparés. La profondeur de lecture générée par les deux techniques d'enrichissement a été comparée à celle obtenue par l'enrichissement exomique complet. On a retenu 6 échantillons différents; 4 contrôles étaient positifs et, dans 2 échantillons tests, aucune mutation dans les gènes *FBN1*, *TGFBR1/2* n'a été détectée (Sanger/MLPA). Une bonne couverture de séquence a été atteinte par les deux approches : hybridation : 472 X (190-592) et PCR : 415 X (303-554). L'hybridation affiche une meilleure couverture de séquence, mais une plus grande variation *inter locus* que la méthode PCR. L'enrichissement de l'exome complet a généré une couverture de séquence équivalant à 150 X. De plus, considérant chaque exon indépendamment, l'hybridation permet l'atteinte d'une couverture de 50 X pour 98,5 % des exons (PCR : 85,5 % et exome complet : 70 %). Avec l'hybridation, la variation de couverture est prévisible, touchant certains exons en particulier, alors qu'avec la PCR la variabilité est dépendante de l'échantillon et moins prévisible. Au total, 252 variants ont été identifiés dont 195 sont communs aux deux méthodes (concordance de 77 %). La validité des variants discordants n'a pas été examinée par séquençage de Sanger. Il est à noter toutefois qu'une proportion importante de ceux-ci se trouvait dans les introns (où la couverture est faible) et dans le gène *NOTCH1* dont la séquence est riche en GC et dont l'homologie avec d'autres gènes *NOTCH* est élevée. Une nouvelle mutation pathogénique (*COL3A1*) a été mise en évidence pour 1 des 2 échantillons tests. Considérant la souplesse de conception, les performances et les coûts, les auteurs concluent que l'enrichissement par capture d'hybrides relativement aux mutations associées aux aortopathies constitue une méthode qui s'adapte bien au laboratoire clinique. Leurs travaux soulignent également l'importance

d'une étape de confirmation des variations observées [Baetens *et al.*, 2011].

Sakai et ses collaborateurs [2012] ont utilisé deux technologies, le séquençage ciblé sur biopuce (*resequencing array-ResA*) et le NGS (*PCR multiplex et plateforme Illumina*) afin d'analyser 8 gènes associés aux formes syndromiques de dissections et anévrismes de l'aorte (AAD) chez 70 patients opérés en raison d'une AAD thoracique (35), abdominale (30) ou des deux sites (5). Aucun des patients inclus dans cette étude ne présentait un tableau clinique compatible avec l'une ou l'autre des formes syndromiques de TAAD. Les gènes qu'ils ont retenus sont *FBN1*, *TGFBR2*, *TGFBR1*, *COL3A1*, *PLOD1*, *MYH11*, *SLC2A10* et *ACTA2*. Les deux technologies ont permis de mettre en évidence 18 nouveaux variants, dont 1 uniquement par ResA et 2 uniquement par NGS. Sur les 18 nouveaux variants, 3 ont été jugés pathogéniques, soit pour 4,3 % de tous les patients avec AAD et 8,6 % des patients du sous-groupe thoracique (TAAD). ResA et le NGS ont permis, de façon similaire, la détection de la plupart des variants, mais pas de tous. La technologie ResA est rapide et efficace pour la mise en évidence des substitutions de nucléotides, mais inefficace pour les courtes insertions/délétions. De plus, du point de vue pratique, il est très fastidieux de mettre à jour fréquemment l'information contenue sur une biopuce maison. Le NGS a permis d'identifier tous les types de mutation, mais il nécessite des outils informatiques spécialisés et validés [Wooderchak-Donahue *et al.*, 2012].

L'utilité et la validité de chacune des plateformes ont été rapportées au cours des dernières années dans le cas de différentes maladies, dans une littérature abondante. En résumé, comparativement à la méthode de Sanger, la sensibilité, la spécificité et la reproductibilité du MiSeq et du HiSeq atteignent près de 100 % dans les régions ayant une couverture appropriée [Lepri *et al.*, 2014; Umbarger *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2013; Sikkema-Raddatz *et al.*, 2013].

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité		x	
Spécificité		x	
Valeur prédictive positive (VPP)			x
Valeur prédictive négative (VPN)			x
Rapport de vraisemblance (LR)			x
Courbe ROC			x
Exactitude			x

5.3 Validité analytique (ou technique)

Quelques études comparatives ont été réalisées pour évaluer la performance et la validité des trousse d'enrichissement SeqCap EZ de Roche Nimblegen en comparaison avec les trousse Sure Select de Agilent ainsi que TruSeq et Nextera Rapid Capture Exome d'Illumina. Les publications rapportent que la trousse de Roche Nimblegen permet la capture d'un nombre inférieur d'exons; par contre, elle assure une meilleure uniformité de la couverture 20X et permet une meilleure capture des séquences flanquantes [Sakai *et al.*, 2012].

McInerney-Leo et ses collaborateurs [2013] ont comparé la couverture des exons pour les gènes *COL1A1* et 2, *FBN1*, *TGFBR1* et 2 avec différentes trousse disponibles commercialement [McInerney-Leo *et al.*, 2013; Asan *et al.*, 2011; Clark *et al.*, 2011; Sulonen

et al., 2011]. La trousse de Roche Nimblegen permettait une couverture de ces gènes, respectivement, de 85,5 %, 91 %, 95 %, 95 % et 92 %. Il est à noter que l'exon 1 de *TGFBR1* n'était pas couvert.

La trousse HaloPlex d'Agilent a été mise sur le marché en 2013 et ne semble pas avoir fait l'objet d'une publication jusqu'à présent.

Après une révision de la littérature, il semble que chaque trousse possède des lacunes. Par conséquent, l'utilisateur doit s'assurer d'avoir une couverture suffisante des exons à caractériser et il doit confirmer les variations génétiques avant de les rapporter (par Sanger ou autre) [McInerney-Leo *et al.*, 2013].

Sakai et ses collaborateurs [2012] ont utilisé deux technologies, soit le séquençage ciblé sur biopuce (*resequencing array-ResA*) et le NGS, afin d'analyser 8 gènes associés aux formes syndromiques de dissections et anévrysmes de l'aorte (AAD) chez 70 personnes opérées en raison d'une AAD thoracique (35), abdominale (30) ou des deux sites (5) [Sikkema-Raddatz *et al.*, 2013].

Performances de ResA/NGS

Considérant les 70 échantillons, l'efficacité de lecture des bases (appel des bases) était de 95,7 % (87,3 à 97,6 %). Le NGS a permis de couvrir toutes les séquences ciblées (100 %) avec une profondeur de lecture d'environ 600 X pour chaque gène.

Sensibilité analytique

Afin de valider la sensibilité de la biopuce, des amplicons contenant des mutations connues ont été testés, soit 16 substitutions, 3 courtes délétions (1 à 2 bp) et 1 insertion (1 pb). Le ResA a détecté 87,5 % des substitutions en mode automatique (14/16) et 93,8 % (15/16) en mode manuel et automatique. Aucune des petites insertions/délétions (indel) n'a été détectée, ni en manuel, ni en automatique.

Le ResA a permis de mettre en évidence 70 substitutions différentes, soit entre 0 et 3 par patient. De celles-ci, 51 étaient déjà répertoriées (banque des SNP131 ou données locales). Les 19 nouvelles mutations ont été vérifiées par un séquençage Sanger. Une mutation (PLOD1) était homozygote alors que les autres étaient hétérozygotes.

Le logiciel NestGENe a détecté une moyenne de 876 variants (581-1209), avec un score de mutation de 10 ou plus pour l'ensemble des 70 échantillons. MAQ (cartographie qualité) et SeattleSeq (annotation) ont repéré une moyenne de 271 variants (111-384). Un exercice d'exclusion semi-automatique des variants situés à l'extérieur des régions d'intérêt ou déjà connus a permis de ramener le nombre de ces variants entre 0 et 6 par échantillon. Par ailleurs, 20 nouveaux variants ont été détectés par MAQ et NextGENe.

Teer et ses collaborateurs (2010) ont comparé trois méthodes d'enrichissement génomique préalable au NGS sur la plateforme Illumina en évaluant la sensibilité pour le génotype et l'efficacité de détection des variants. Les méthodes sont le MIP (*molecular inversion probe*), un dérivé d'hybridation et d'extension PCR, une méthode d'hybridation en solution (HSS) et une méthode d'hybridation sur puce (HSP). Un ensemble d'exons regroupant des séquences hautement conservées issus de 528 gènes non contigus (2,612 Mb) étaient visés [Sakai *et al.*, 2012].

Performance comparée

Le design des sondes pour chacune des méthodes a permis d'obtenir de l'information de séquence pour 95,9 % (2,506 Mb), 92,6 % (2,419 Mb) et 93,8 % (2,450 Mb) relativement aux méthodes MIP, hybridation en solution et hybridation sur puce, respectivement.

Fraction de séquences alignées aux régions d'intérêt

La fraction reflète la capacité de la méthode à enrichir les séquences cibles appropriées. L'analyse a porté sur 6 échantillons différents (2 par méthode). Le MIP a généré environ 30 millions de fragments lus (1100 Mb au total) et l'hybridation (HSS et HSP) entre 10 et 14 millions de fragments lus (environ entre 400 et 500 Mb au total). Parmi ces séquences lues, 57 % (600 Mb), 55 à 59 % ($\approx$ 290 Mb) et 52 % à 55 % (193 à 270 Mb) étaient relatives aux méthodes MIP, HSS et HSP.

Profondeur et uniformité de couverture

Les méthodes d'enrichissement MIP, HSS et HSP ont permis d'atteindre une couverture de séquence minimale de 10X pour 79 %, 87 % et 93 % et de 20X pour 74 %, 83 % et 89 % des régions d'intérêt, respectivement.

Sensibilité

Les sensibilités analytiques globales calculées étaient de 78 % pour le MIP, 86 % pour le HSS et 92 % pour le HSP. Un génotype a été assigné par les 3 méthodes pour 70 % des bases situées dans des régions d'intérêt alors qu'un génotype a été assigné au moyen d'une seule méthode pour 25 % des bases. Les trois méthodes n'ont pas réussi à assigner un génotype dans 5 % des bases.

Concordance du génotype

Il n'existe pas d'étalon-or pour chacune des bases à tester. Deux sources de données ont été utilisées afin de vérifier la précision du génotype assigné (Infinium 1M SNP et un séquençage *shotgun* 30X de couverture). Toutes les méthodes ont permis d'obtenir un taux de concordance entre le génotype assigné et le génotype de référence, qui varie entre 99,84 % et 99,99 %.

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité			x
Reproductibilité			x
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice			x
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur			x
Autres selon le type de test			

5.4 Recommandations d'autres organismes

L'American Heart Association a publié en 2010 un guide de pratique pour les patients souffrant de maladies aorto-thoraciques, dans lequel des recommandations concernant le

diagnostic et la prise en charge sont présentées [Teer *et al.*, 2010].

Si une mutation dans un gène associé aux TAAD (*FBN1*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *COL3A1*, *ACTA2*, *MYH11*) est identifiée chez un patient, les parents du premier degré devraient être orientés vers un conseil génétique et faire l'objet d'un test.

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

L'interprétation des variants identifiés nécessite des ressources bioinformatiques et humaines importantes. Les bases de données de mutations connues, les logiciels de prédiction des variations sur la fonction de la protéine et la littérature scientifique doivent être consultés afin de caractériser un variant.

La complexité de la technologie et de l'interprétation des résultats nécessite un personnel spécialisé avec une formation professionnelle initiale et continue appropriée.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois

La recherche individuelle de mutations pour chacun des gènes du panel par la technique Sanger est plus coûteuse qu'une analyse de séquence de masse. Toutefois, les limites technologiques actuelles ne permettent pas d'écarter complètement les techniques standards d'analyse des mutations (Sanger et MLPA).

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

La ligne de partage entre l'utilité du NGS à des fins cliniques ou à des fins de recherche est difficile à tracer.

Le NGS identifie des mutations de pathogénicité variable, probable ou incertaine, qui peuvent influencer sur les décisions cliniques et personnelles [Hiratzka *et al.*, 2010].

Le NGS ouvre la porte aux découvertes fortuites de mutations pathogéniques à l'extérieur de la question clinique initiale [Evans et Rothschild, 2012; Makrythanasis et Antonarakis, 2012].

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Les TAAD sont des conditions médicales fréquentes qui présentent un haut risque de mortalité et de morbidité. Environ 20 % des cas sont d'origine familiale et causés par l'altération d'un seul gène. Les mutations sont dominantes et transmissibles, prédisposant les apparentés à du dépistage préventif et les porteurs à de la surveillance accrue. Le NGS est une technologie émergente en clinique, qui offre la possibilité d'évaluer le statut de plusieurs gènes de front (sensibilité accrue). Contrairement au séquençage Sanger, le NGS est plus rapide et moins coûteux. La priorisation clinique des mutations identifiées demeure un enjeu majeur.

7.2 Validité clinique

Peu d'études de validation utilisant une approche de séquençage de haut débit comme celles proposées ont été repérées dans la littérature. Toutefois, la corrélation entre les

TAAD et les gènes proposée par le CHUS a été validée individuellement par Sanger pour tous les gènes. Le CHU Sainte-Justine propose un panel plus large visant une approche plus exhaustive des maladies de l'aorte (TAAD et autres syndromes des tissus connectifs).

7.3 Validité analytique

Peu d'études ont été repérées quant à l'utilisation des stratégies d'enrichissement proposées. Toutefois, le NGS est une technique robuste qui a démontré une grande sensibilité analytique. Les variants trouvés doivent être confirmés par Sanger.

7.4 Recommandations d'autres organismes

À l'heure actuelle, les recommandations visent surtout l'importance de mettre en évidence les variants pathogéniques, et ce, peu importe la technique employée. L'American College of Medical Genetics and Genomics recommande que les variants identifiés et les régions dont la couverture est inadéquate par NGS soient examinés par une approche différente (généralement un séquençage semi-automatisé de Sanger).

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Aortopathies familiales – panels de gènes

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☒ Avis de réévaluation

Étant donné le caractère innovateur de cette technique de séquençage de panel de gènes, son introduction requiert une documentation plus approfondie de la pertinence clinique de chacun des gènes inclus dans le panel. De l'information supplémentaire sera demandée aux requérants.

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

RÉFÉRENCES

- Akutsu K, Morisaki H, Okajima T, Yoshimuta T, Tsutsumi Y, Takeshita S, et al. Genetic analysis of young adult patients with aortic disease not fulfilling the diagnostic criteria for Marfan syndrome. *Circ J* 2010;74(5):990-7.
- Albornoz G, Coady MA, Roberts M, Davies RR, Tranquilli M, Rizzo JA, Elefteriades JA. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections—Incidence, modes of inheritance, and phenotypic patterns. *Ann Thorac Surg* 2006;82(4):1400-5.
- Arslan-Kirchner M, Epplen JT, Faivre L, Jondeau G, Schmidtke J, De Paepe A, Loeys B. Clinical utility gene card for: Loeys-Dietz syndrome (TGFB1/2) and related phenotypes. *Eur J Hum Genet* 2011;19(10).
- Asan, Xu Y, Jiang H, Tyler-Smith C, Xue Y, Jiang T, et al. Comprehensive comparison of three commercial human whole-exome capture platforms. *Genome Biol* 2011;12(9):R95.
- Baetens M, Van Laer L, De Leeneer K, Hellemans J, De Schrijver J, Van De Voorde H, et al. Applying massive parallel sequencing to molecular diagnosis of Marfan and Loeys-Dietz syndromes. *Hum Mutat* 2011;32(9):1053-62.
- Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, Tsipouras P, Wenstrup RJ. Ehlers-Danlos syndromes: Revised nosology, Villefranche, 1997. Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). *Am J Med Genet* 1998;77(1):31-7.
- Boileau C, Guo DC, Hanna N, Regalado ES, Detaint D, Gong L, et al. TGFB2 mutations cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections associated with mild systemic features of Marfan syndrome. *Nat Genet* 2012;44(8):916-21.
- Burton H, Alberg C, Stewart A. Mainstreaming genetics: A comparative review of clinical services for inherited cardiovascular conditions in the UK. *Public Health Genomics* 2010;13(4):235-45.
- Callewaert BL, Loeys BL, Ficcadenti A, Vermeer S, Landgren M, Kroes HY, et al. Comprehensive clinical and molecular assessment of 32 probands with congenital contractural arachnodactyly: Report of 14 novel mutations and review of the literature. *Hum Mutat* 2009;30(3):334-41.
- Callewaert BL, Willaert A, Kerstjens-Frederikse WS, De Backer J, Devriendt K, Albrecht B, et al. Arterial tortuosity syndrome: Clinical and molecular findings in 12 newly identified families. *Hum Mutat* 2008;29(1):150-8.
- Chiu HH, Wu MH, Wang JK, Lu CW, Chiu SN, Chen CA, et al. Losartan added to beta-blockade therapy for aortic root dilation in Marfan syndrome: A randomized, open-label pilot study. *Mayo Clin Proc* 2013;88(3):271-6.
- Clark MJ, Chen R, Lam HY, Karczewski KJ, Euskirchen G, Butte AJ, Snyder M. Performance comparison of exome DNA sequencing technologies. *Nat Biotechnol* 2011;29(10):908-14.
- Clouse WD, Hallett JW Jr, Schaff HV, Spittell PC, Rowland CM, Ilstrup DM, Melton LJ 3rd. Acute aortic dissection: Population-based incidence compared with degenerative aortic aneurysm rupture. *Mayo Clin Proc* 2004;79(2):176-80.

- Clouse WD, Hallett JW Jr, Schaff HV, Gayari MM, Ilstrup DM, Melton LJ 3rd. Improved prognosis of thoracic aortic aneurysms: A population-based study. *JAMA* 1998;280(22):1926-9.
- Evans JP et Rothschild BB. Return of results: Not that complicated? *Genet Med* 2012;14(4):358-60.
- Germain DP. Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:32.
- Gersony DR, McClaughlin MA, Jin Z, Gersony WM. The effect of beta-blocker therapy on clinical outcome in patients with Marfan's syndrome: A meta-analysis. *Int J Cardiol* 2007;114(3):303-8.
- Guo DC, Papke CL, Tran-Fadulu V, Regalado ES, Avidan N, Johnson RJ, et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and Moyamoya disease, along with thoracic aortic disease. *Am J Hum Genet* 2009;84(5):617-27.
- Guo DC, Pannu H, Tran-Fadulu V, Papke CL, Yu RK, Avidan N, et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) lead to thoracic aortic aneurysms and dissections. *Nat Genet* 2007;39(12):1488-93.
- Hedges DJ, Guettouche T, Yang S, Bademci G, Diaz A, Andersen A, et al. Comparison of three targeted enrichment strategies on the SOLiD sequencing platform. *PLoS One* 2011;6(4):e18595.
- Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, Bersin RM, Carr VF, Casey DE Jr, et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: Executive summary. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. *Catheter Cardiovasc Interv* 2010;76(2):E43-86.
- Kiialainen A, Karlberg O, Ahlford A, Sigurdsson S, Lindblad-Toh K, Syvanen AC. Performance of microarray and liquid based capture methods for target enrichment for massively parallel sequencing and SNP discovery. *PLoS One* 2011;6(2):e16486.
- Kuang SQ, Guo DC, Prakash SK, McDonald ML, Johnson RJ, Wang M, et al. Recurrent chromosome 16p13.1 duplications are a risk factor for aortic dissections. *PLoS Genet* 2011;7(6):e1002118.
- Lepri FR, Scavelli R, Digilio MC, Gnazzo M, Grotta S, Dentici ML, et al. Diagnosis of Noonan syndrome and related disorders using target next generation sequencing. *BMC Med Genet* 2014;15(1):14.
- Li X, Buckton AJ, Wilkinson SL, John S, Walsh R, Novotny T, et al. Towards clinical molecular diagnosis of inherited cardiac conditions: A comparison of bench-top genome DNA sequencers. *PLoS One* 2013;8(7):e67744.
- Lindsay ME, Schepers D, Bolar NA, Doyle JJ, Gallo E, Fert-Bober J, et al. Loss-of-function mutations in TGFB2 cause a syndromic presentation of thoracic aortic aneurysm. *Nat Genet* 2012;44(8):922-7.
- Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, Callewaert BL, De Backer J, Devereux RB, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010;47(7):476-85.

- Loeys BL, Schwarze U, Holm T, Callewaert BL, Thomas GH, Pannu H, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006;355(8):788-98.
- Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet* 2005;37(3):275-81.
- Makrythanasis P et Antonarakis SE. High-throughput sequencing and rare genetic diseases. *Mol Syndromol* 2012;3(5):197-203.
- Malfait F, Wenstrup RJ, De Paepe A. Clinical and genetic aspects of Ehlers-Danlos syndrome, classic type. *Genet Med* 2010;12(10):597-605.
- Malfait F, Symoens S, De Backer J, Hermanns-Le T, Sakalihasan N, Lapiere CM, et al. Three arginine to cysteine substitutions in the pro-alpha (I)-collagen chain cause Ehlers-Danlos syndrome with a propensity to arterial rupture in early adulthood. *Hum Mutat* 2007;28(4):387-95.
- Mayer K, Kennerknecht I, Steinmann B. Clinical utility gene card for: Ehlers-Danlos syndrome types I-VII. *Eur J Hum Genet* 2010;18(9).
- McInerney-Leo AM, Marshall MS, Gardiner B, Coucke PJ, Van Laer L, Loeys BL, et al. Whole exome sequencing is an efficient, sensitive and specific method of mutation detection in osteogenesis imperfecta and Marfan syndrome. *Bonekey Rep* 2013;2:456.
- Meszaros I, Morocz J, Szlavi J, Schmidt J, Tornoci L, Nagy L, Szep L. Epidemiology and clinicopathology of aortic dissection. *Chest* 2000;117(5):1271-8.
- Milewicz DM, Chen H, Park ES, Petty EM, Zaghi H, Shashidhar G, et al. Reduced penetrance and variable expressivity of familial thoracic aortic aneurysms/dissections. *Am J Cardiol* 1998;82(4):474-9.
- Morisaki H, Akutsu K, Ogino H, Kondo N, Yamanaka I, Tsutsumi Y, et al. Mutation of ACTA2 gene as an important cause of familial and nonfamilial nonsyndromic thoracic aortic aneurysm and/or dissection (TAAD). *Hum Mutat* 2009;30(10):1406-11.
- Morse RP, Rockenmacher S, Pyeritz RE, Sanders SP, Bieber FR, Lin A, et al. Diagnosis and management of infantile marfan syndrome. *Pediatrics* 1990;86(6):888-95.
- Nollen GJ, Groenink M, Tijssen JG, Van Der Wall EE, Mulder BJ. Aortic stiffness and diameter predict progressive aortic dilatation in patients with Marfan syndrome. *Eur Heart J* 2004;25(13):1146-52.
- Oderich GS, Panneton JM, Bower TC, Lindor NM, Cherry KJ, Noel AA, et al. The spectrum, management and clinical outcome of Ehlers-Danlos syndrome type IV: A 30-year experience. *J Vasc Surg* 2005;42(1):98-106.
- Pannu H, Tran-Fadulu V, Papke CL, Scherer S, Liu Y, Presley C, et al. MYH11 mutations result in a distinct vascular pathology driven by insulin-like growth factor 1 and angiotensin II. *Hum Mol Genet* 2007;16(20):2453-62.
- Pearson GD, Devereux R, Loeys B, Maslen C, Milewicz D, Pyeritz R, et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute and National Marfan Foundation Working Group on research in Marfan syndrome and related disorders. *Circulation* 2008;118(7):785-91.
- Pomianowski P et Elefteriades JA. The genetics and genomics of thoracic aortic disease. *Ann Cardiothorac Surg* 2013;2(3):271-9.

- Radu NC, Gervais M, Allaire E, Loisançe DY, Kirsch ME. Physiopathologie des anévrismes idiopathiques de l'aorte thoracique ascendante. *Presse Med* 2009;38(7-8):1076-88.
- Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med* 2013;15(9):733-47.
- Renard M, Callewaert B, Malfait F, Campens L, Sharif S, del Campo M, et al. Thoracic aortic aneurysm and dissection in association with significant mitral valve disease caused by mutations in TGFBR2. *Int J Cardiol* 2013;165(3):584-7.
- Sakai H, Suzuki S, Mizuguchi T, Imoto K, Yamashita Y, Doi H, et al. Rapid detection of gene mutations responsible for non-syndromic aortic aneurysm and dissection using two different methods: Resequencing microarray technology and next-generation sequencing. *Hum Genet* 2012;131(4):591-9.
- Sakai H, Visser R, Ikegawa S, Ito E, Numabe H, Watanabe Y, et al. Comprehensive genetic analysis of relevant four genes in 49 patients with Marfan syndrome or Marfan-related phenotypes. *Am J Med Genet A* 2006;140(16):1719-25.
- Shores J, Berger KR, Murphy EA, Pyeritz RE. Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term beta-adrenergic blockade in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 1994;330(19):1335-41.
- Sikkema-Raddatz B, Johansson LF, de Boer EN, Almomani R, Boven LG, van den Berg MP, et al. Targeted next-generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. *Hum Mutat* 2013;34(7):1035-42.
- Singh KK, Rommel K, Mishra A, Karck M, Haverich A, Schmidtke J, Arslan-Kirchner M. TGFBR1 and TGFBR2 mutations in patients with features of Marfan syndrome and Loeys-Dietz syndrome. *Hum Mutat* 2006;27(8):770-7.
- Stheneur C, Collod-Beroud G, Faivre L, Gouya L, Sultan G, Le Parc JM, et al. Identification of 23 TGFBR2 and 6 TGFBR1 gene mutations and genotype-phenotype investigations in 457 patients with Marfan syndrome type I and II, Loeys-Dietz syndrome and related disorders. *Hum Mutat* 2008;29(11):E284-95.
- Sulonen AM, Ellonen P, Almusa H, Lepistö M, Eldfors S, Hannula S, et al. Comparison of solution-based exome capture methods for next generation sequencing. *Genome Biol* 2011;12(9):R94.
- Symoens S, Syx D, Malfait F, Callewaert B, De Backer J, Vanakker O, et al. Comprehensive molecular analysis demonstrates type V collagen mutations in over 90% of patients with classic EDS and allows to refine diagnostic criteria. *Hum Mutat* 2012;33(10):1485-93.
- Teer JK, Bonnycastle LL, Chines PS, Hansen NF, Aoyama N, Swift AJ, et al. Systematic comparison of three genomic enrichment methods for massively parallel DNA sequencing. *Genome Res* 2010;20(10):1420-31.
- Umbarger MA, Kennedy CJ, Saunders P, Breton B, Chennagiri N, Emhoff J, et al. Next-generation carrier screening. *Genet Med* 2014;16(2):132-40.
- Van de Laar IM, van der Linde D, Oei EH, Bos PK, Bessems JH, Bierma-Zeinstra SM, et al. Phenotypic spectrum of the SMAD3-related aneurysms-osteoarthritis syndrome. *J Med Genet* 2012;49(1):47-57.

- Van de Laar IM, Oldenburg RA, Pals G, Roos-Hesselink JW, de Graaf BM, Verhagen JM, et al. Mutations in SMAD3 cause a syndromic form of aortic aneurysms and dissections with early-onset osteoarthritis. *Nat Genet* 2011;43(2):121-6.
- Van der Linde D, van de Laar IM, Bertoli-Avella AM, Oldenburg RA, Bekkers JA, Mattace-Raso FU, et al. Aggressive cardiovascular phenotype of aneurysms-osteoarthritis syndrome caused by pathogenic SMAD3 variants. *J Am Coll Cardiol* 2012;60(5):397-403.
- Van Karnebeek CD, Naeff MS, Mulder BJ, Hennekam RC, Offringa M. Natural history of cardiovascular manifestations in Marfan syndrome. *Arch Dis Child* 2001;84(2):129-37.
- Wang L, Guo DC, Cao J, Gong L, Kamm KE, Regalado E, et al. Mutations in myosin light chain kinase cause familial aortic dissections. *Am J Hum Genet* 2010;87(5):701-7.
- Ware SM et Jefferies JL. New genetic insights into congenital heart disease. *J Clin Exp Cardiol* 2012;S8.
- Wessels MW, Catsman-Berrevoets CE, Mancini GM, Breuning MH, Hoogeboom JJ, Stroink H, et al. Three new families with arterial tortuosity syndrome. *Am J Med Genet A* 2004;131(2):134-43.
- Wooderchak-Donahue WL, O'Fallon B, Furtado LV, Durtschi JD, Plant P, Ridge PG, et al. A direct comparison of next generation sequencing enrichment methods using an aortopathy gene panel- clinical diagnostics perspective. *BMC Med Genomics* 2012;5:50.
- Yap S. Classical homocystinuria: Vascular risk and its prevention. *J Inherit Metab Dis* 2003;26(2-3):259-65.
- Zhu L, Vranckx R, Khau Van Kien P, Lalande A, Boisset N, Mathieu F, et al. Mutations in myosin heavy chain 11 cause a syndrome associating thoracic aortic aneurysm/aortic dissection and patent ductus arteriosus. *Nat Genet* 2006;38(3):343-9.

ANNEXE

Résumé du tableau clinique des syndromes associés aux TAAD

Syndrome de Marfan (SM)

Le SM est la forme de TAAD syndromique la plus commune; sa prévalence est estimée à 1 cas par 5000 individus [Makrythanasis et Antonarakis, 2012]. Le diagnostic clinique repose sur les critères nosologiques de Ghent [Pearson *et al.*, 2008]. Le SM se caractérise par des atteintes cardiovasculaires, oculaires et squelettiques. Les anomalies oculaires sont l'*ectopia lentis* (déplacement du cristallin) et la myopie élevée. Les défauts squelettiques touchent la cage thoracique, les extrémités des quatre membres (effilées et fragiles) et la scoliose.

Le prolapsus de la valve mitrale et la dilatation de l'artère pulmonaire sont les défauts cardiaques les plus fréquemment observés. La dilatation se situe surtout à la racine aortique et elle se développe généralement en bas âge (75 % des cas avant 19 ans) [Loeys *et al.*, 2010]. La dilatation est provoquée par la réduction de la compliance aortique et l'augmentation de la rigidité de la paroi [Van Karnebeek *et al.*, 2001]. De plus 20 % des individus développent un anévrisme ou une dissection de l'aorte abdominale. La surveillance de toute l'aorte par imagerie est indiquée pour les patients adultes. Le traitement est surtout chirurgical, mais il peut inclure l'utilisation de bêtabloquants et d'antihypertenseurs, bien que, pour ces cas, l'efficacité de ces thérapies soit encore à l'étude [Nollen *et al.*, 2004].

Syndrome Loeys-Dietz (SLD)

La prévalence de ce syndrome est rapportée comme étant inférieure à 1/1 000 000 par Orphanet, et l'Office of Rare Diseases du National Institute of Health (NIH) estime à moins de 200 000 la population affectée aux États-Unis. La caractéristique principale des patients atteints du SLD est la présence de TAAD au niveau de la racine aortique. La moitié des patients présentent des anévrismes ou des dissections dans d'autres artères (cérébrales ou abdominales). La plupart des cas présentent une tortuosité des artères du cou et de la tête. D'autres caractéristiques cliniques sont classiques du SLD, soit des anomalies squelettiques (cage thoracique, scoliose, laxité articulaire, arachnodactylie, pied bot) craniofaciales (hypertélorisme, lèvre bifide, fente palatine, craniosynostose) et cutanées (peau translucide, prédisposition aux ecchymoses, cicatrices dystrophiques) [Chiu *et al.*, 2013; Gersony *et al.*, 2007]. Malgré les similitudes phénotypiques entre le SLD et le SM, certaines sont clairement distinctives telles que la tortuosité artérielle généralisée, la fente palatine et la craniosynostose. De plus, la dissection artérielle survient plus tôt et elle est préalable à une dilatation moins prononcée (40 mm au maximum) chez les patients atteints du SLD comparativement au SM. Des complications plus fréquentes à l'accouchement ont également été observées [Loeys *et al.*, 2005]. Le traitement prophylactique standard inclut un bêtabloquant et une réduction de l'exercice physique intense [Loeys *et al.*, 2006]. Des études sont en cours afin de tester l'effet des antihypertenseurs.

Syndrome d'Ehlers-Danlos (SED)

Le SED est une entité hétérogène constituée de plusieurs sous-types de maladies du tissu conjonctif. Sa prévalence se situe entre 1/20 000 et 1/100 000 en fonction du sous-type. Jusqu'à présent, au moins 14 gènes ont été associés à ce syndrome. Il a été estimé qu'environ 50 % des mutations identifiées seraient d'origine germinale contre 50 % *de novo* [Arslan-Kirchner *et al.*, 2011]. Le SED classique (types I et II), représentant 90 % des cas, se caractérise par l'hyperextensibilité de la peau, la présence de cicatrices typiques et une laxité articulaire accrue.

La forme classique du SED serait causée par une anomalie du collagène de type 5 impliquant des mutations dans les gènes *COL5A1* et *COL5A2* et dont la transmission est majoritairement autosomique dominante. Le SED de type IV, ou de type vasculaire, représente entre 5 et 10 % des cas de SED [Malfait *et al.*, 2010]. Le SED IV se caractérise par une fragilité des parois artérielles qui prédispose les personnes atteintes à un risque élevé de rupture sans nécessairement présenter une dilatation préalable. Cette fragilité atteint également les tissus gastro-intestinaux et utérins. D'autres caractéristiques cliniques comme la peau translucide, une prédisposition aux ecchymoses et une forme craniofaciale typique sont associées au SED. L'âge moyen du premier incident artériel ou gastro-intestinal documenté est 23 ans. Lorsque suspectées d'être atteintes du SED IV en raison d'une manifestation clinique associée, 25 % des personnes dont le cas a été confirmé étaient âgées d'au moins 20 ans et 80 % d'au moins 40 ans à la première manifestation clinique [Germain, 2007; Beighton *et al.*, 1998]. Les interventions chirurgicales sont difficiles en raison de la fragilité excessive et généralisée du système vasculaire. L'American Heart Association recommande tout de même une chirurgie préventive chez les patients présentant une dilatation.

Syndrome de l'anévrisme-ostéoarthritis (SAO)

Récemment décrite comme une forme syndromique de TAAD, le SAO se caractérise par la présence d'anévrismes et de dissections au niveau de la racine aortique combinés à des tortuosités artérielles, des anomalies squelettiques ou cutanées et à l'apparition précoce d'ostéoarthritis [Oderich *et al.*, 2005]. Il fait maintenant partie des SLD de type III. Sa prévalence selon l'Orphanet serait inférieure à 1/1 000 000. Comme le SM, les TAAD de la racine aortique représentent la manifestation clinique la plus fréquente. Des anévrismes touchant d'autres artères sont souvent repérés. La dissection ou la rupture survient généralement à un diamètre artériel plus faible que pour le SM ou les TAAD familiales non syndromiques. Une approche chirurgicale préventive est recommandée chez ces individus [Van de Laar *et al.*, 2012; 2011].

Syndrome de tortuosité artérielle (STA)

Le STA est principalement caractérisé par l'élongation, la déformation, la sténose et l'élargissement des artères. Les autres manifestations cliniques sont typiques de celles décrites dans d'autres syndromes des tissus connectifs comme la fragilité et l'hyperextensibilité de la peau, l'arachnodactylie, la malformation de la cage thoracique et la laxité articulaire [Van der Linde *et al.*, 2012].

Arachnodactylie congénitale avec contractures (ACC)

L'ACC ou syndrome de Beals est une anomalie du tissu conjonctif caractérisée par des contractions musculaires anormales et prolongées, une arachnodactylie, une scoliose grave, un défaut du cartilage des oreilles et un développement musculaire insuffisant [Callewaert *et al.*, 2008; Wessels *et al.*, 2004]. Sa prévalence est inconnue. Bien que l'ACC se confonde avec le SM (néonatal), la présence de contractures articulaires multiples et la morphologie du pavillon des oreilles sont des caractéristiques discriminantes. Contrairement aux conclusions des premières études publiées, une dilatation au niveau de la racine aortique a été rapportée chez quelques cas. L'ACC est une maladie à transmission autosomique dominante causée par une mutation du gène *FBN2* situé sur le chromosome 5q23. L'échographie prénatale peut mettre en évidence des contractures articulaires dans les cas suspects. La prise en charge des enfants atteints d'une ACC varie en fonction des symptômes observés. La chirurgie précoce de la scoliose prévient les complications à l'âge adulte. Des évaluations cardiologique et ophtalmologique sont recommandées.

Tableau A1 Aortopathies d'origine syndromique

GÈNE	PHÉNOTYPE	GÉNOTYPE	DIAGNOSTIC (DIFFÉRENTIEL)	PRONOSTIC SUIVI/TRAITEMENT	NGS*
<i>FBN1</i> Fibrilline 1 65 exons	Marfan TAAD racine aortique Prolapse de la valve mitrale Prévalence 1 : 5000	1 492 mutations (1 278 remplissent les critères Ghent) AD Pénétrance variable 75 % avec parent atteint	<u>Nosologie Ghent</u> Grande taille Arachnodactylie Thorax entonnoir Dislocation cristallin Scoliose Hyperlaxité articulaire	TAAD < 19 ans (75 %) Rupture < 40 ans 50 % de décès Imagerie/chirurgie/bétabloquant antihypertenseurs	CHUS CHU SJ
<i>TGFBR1</i> <i>TGFBR2</i> Récepteur du facteur de croissance transformant β 9 et 7 exons	Loeys-Dietz TAAD racine aortique et autres Tortuosité PDA/ASD Prévalence inconnue	46 et 108 mutations (75 % <i>de novo</i>) AD Pénétrance variable 5 % des FTAAD non LDS	Arachnodactylie Thorax entonnoir Scoliose Hyperlaxité articulaire Fente palatine Craniosynostose Ecchymoses Cicatrices dystrophiques	Survie médiane 26 ans Restriction activité physique bétabloquant antihypertenseurs	CHUS CHU SJ
<i>COL3A1</i> Collagène 3 α 1 51 exons	Ehlers-Danlos (type vasculaire) 5 à 10 % des cas d'EDS Anévrisme (rare) Dissection (élevée) Tortuosité (absente) Prévalence 1 : 75 000	254 mutations (50 % <i>de novo</i>) AD	Peau translucide Ecchymoses Forme craniofaciale typique Perforations gastro-intestinales	Survie médiane 48 ans 25 % des cas avec rupture de TAAD avant 20 ans Imagerie/biopsie tissulaire/chirurgie difficile	CHU SJ
<i>SMAD3</i> Famille SMAD membre 39 exons	Anévrisme Ostéoarthrite TAAD racine aortique et autres Tortuosité PDA/ASD/PS Prévalence inconnue	17 mutations 1 à 2 % des TAAD non syndromiques préalablement rapportés AD Pénétrance élevée Très grande variabilité intra et interfamiliale	Anomalies squelettiques et cutanées similaires au SM et au SLD Ostéoarthrite	Survie médiane 54 ans Maladie vasculaire grave et généralisée Mortalité élevée Chirurgie préventive à considérer	CHUS CHU SJ
<i>SLC2A10</i> Transporteur du glucose 5 exons	Tortuosité artérielle TAAD racine aortique et autres (rare) Tortuosité (élevée) PS Prévalence inconnue	23 mutations AR	Présentation clinique chevauchant celles du SLD et du SED	Mortalité élevée en bas âge en raison des TAAD et du risque d'AVC Imagerie	CHU SJ

GÈNE	PHÉNOTYPE	GÉNOTYPE	DIAGNOSTIC (DIFFÉRENTIEL)	PRONOSTIC SUIVI/TRAITEMENT	NGS*
<i>TGFB2</i> Facteur de croissance transformant β 8 exons	« SLD like » TAAD racine aortique (élevée) Dissection (rare) Tortuosité (moyenne) Prévalence inconnue	15 mutations AD	Présentation clinique chevauchant celles du SM et du SLD	Anévrisme détecté vers 35 ans	CHU SJ
<i>COL1A1</i> Collagène I 51 exons	Ostéogénèse imparfaite Régurgitation aortique fréquente TAAD racine aortique et autres (rare) Tortuosité (absente) Prévalence 1 : 15 000	609 mutations AD Pénétrance variable	Petite taille Sclérotiques bleues Ostéopénie Susceptibilité aux fractures Présentation clinique chevauchant celle du SED	Survie variable Risque de rupture chez les jeunes adultes Surveillance cardiovasculaire Chirurgie difficile	CHU SJ
<i>COL5A1</i> <i>COL5A2</i> Collagène 566 et 38 exons	Ehlers-Danlos (classique) 90 % des cas d'EDS Prévalence 1 : 30 000	119 et 21 mutations AD 75 % des cas sont mutés dans <i>COL5A1</i> et 25 % dans <i>COL5A2</i>	Diagnostic différentiel entre type classique et type vasculaire Classification de Villefranche	6 % des cas avec légère dilatation aortique Traitement des symptômes (antalgie, orthèses)	CHU SJ
<i>FBN2</i> Fibrilline 233 exons	Arachnodactylie avec contractures TAAD racine aortique (rare) Prolapse de la valve mitrale, PDA, BAV, ASD Prévalence inconnue	47 mutations AD	Diagnostic différentiel avec le SM néonatal Contractures multiples Hypotonus musculaire Scoliose sévère Oreille de Stahl	Surveillance cardiovasculaire Chirurgie de la scoliose Traitements symptomatiques	CHU SJ

Tableau A2 Aortopathies d'origine non syndromique

GÈNE	PHÉNOTYPE (FRÉQUENCE)	GÉNOTYPE	DIAGNOSTIC (DIFFÉRENTIEL)	PRONOSTIC SUIVI/TRAITEMENT	NGS
<i>ACTA2</i> α -actine 9 exons	FTAAD Type 4 TAAD racine aortique (élevé) Tortuosité (absente) PDA, BAV	38 mutations AD Pénétrance 50 % 15 % des FTAAD 2,5 % TAAD sporadique	Manifestations cutanées (livedo réticulaire) Anomalies oculaires (<i>iris flocculi</i>) Dysfonction systémique du muscle lisse	Survie médiane 67 ans Risque élevé d'AVC et de maladie coronarienne Considérer la chirurgie précoce	CHUS CHU SJ

GÈNE	PHÉNOTYPE (FRÉQUENCE)	GÉNOTYPE	DIAGNOSTIC (DIFFÉRENTIEL)	PRONOSTIC SUIVI/TRAITEMENT	NGS
<i>MYH11</i> Myosine 42 exons	FTAAD PDA TAA aorte ascendante (élevée) Dissection (faible) Tortuosité (absente) PDA (élevé)	29 mutations AD Pénétrance très variable Au moins 1 parent présente le PDA 2 % des FTAAD	Expression clinique très variable	Risque élevé d'occlusion vasculaire et d'AVC Mort subite avant la quarantaine rapportée	CHUS CHU SJ
<i>MYLK</i> Myosine kinase 33 exons	FTAAD Type 7 TAA aorte ascendante (rare) Dissection (élevée) Tortuosité (absente)	9 mutations AD Pénétrance très variable 1 % des FTAAD	Problèmes gastro- intestinaux	Pas de dilatation prédissection. Intervention d'urgence à la suite du premier cas seulement	CHUS CHU SJ

Tableau A3 Autres

GÈNE	PHÉNOTYPE (FRÉQUENCE)	GÉNOTYPE	DIAGNOSTIC (DIFFÉRENTIEL)	PRONOSTIC SUIVI/TRAITEMENT	NGS
<i>CBS</i> Cystathionine β-synthase 17 exons	Homocystinurie Maladie métabolique des nouveau-nés Prolapse de la valve mitrale Prévalence 1 : 344 000	181 mutations Pénétrance variable AR	Exclusion du SM 19 % des cas présentent des traits marfanoïdes	AVC < 16 ans (25 %) AVC < 30 ans (50 %) Traiter pour assurer un développement normal folate, vit. B12 et pyridoxine	CHU SJ

ANALYSE DU PROFIL IMMUNOSÉROLOGIQUE DES MALADIES CUTANÉES AUTO-IMMUNES (RÉFÉRENCE – 2013.03.003)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 11 avril 2013

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Analyse du profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes par immunofluorescence indirecte sur substrats spécifiques et ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) en microplaque.

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

L'analyse immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes consiste à rechercher la présence d'autoanticorps sériques dirigés contre des constituants protéiques de la peau. Deux méthodes sont incluses dans la requête du demandeur :

Immunofluorescence indirecte sur une mosaïque de six substrats (BIOCHIP Mosaïcs™ de la compagnie EUROIMMUN)¹² : œsophage de primate, peau humaine traitée par une solution de NaCl, cellules exprimant les desmoglénines 1 et 3, la BP230¹³ (globulaire domaine C-terminal) et la BP180 (figure 1). Chaque substrat est dans une biopuce¹⁴ disponible pour une analyse simultanée.

La technique consiste à mettre en contact le sérum (dilué à 1/10) avec les substrats. Les autoanticorps présents se fixent au déterminant antigénique de la protéine visée. Le complexe antigène-anticorps est révélé par un anticorps (IgG) marqué au fluorochrome,

12. EUROIMMUN. Autoantibodies against antigens of the skin [site Web]. Disponible à : http://www.euroimmun.de/index.php?id=aak_gegen_antikoerper_der_haut&L=1 (consulté le 21 novembre 2013).

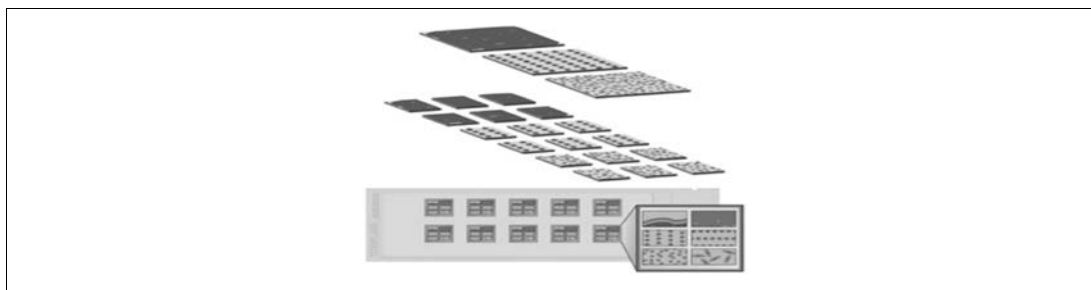
13. BP pour *Bullous Pemphigoid*.

14. Une biopuce est un outil d'analyse et de diagnostic d'environ 1 cm². Elle se présente sous la forme d'un support en verre ou en silicium sur lequel sont fixées des protéines. (Lexique d'Universcience [site Web]. Disponible à : <http://www.universcience.fr/fr/lexique/definition/c/1248117915087/-/p/1239022830869/>).

l'isothiocyanate de fluorescéine, et visualisé à l'aide d'un microscope à fluorescence conventionnel.

Les anticorps antistatutaire intercellulaire dirigés contre les desmoglénines 1 et 3 réagissent avec les antigènes de surface des kératinocytes. L'analyse de la section tissulaire de l'œsophage montre une fluorescence granulaire. La différenciation entre les desmoglénines 1 et 3 étant difficile, les cellules spécifiques transfectées sont utilisées pour permettre un diagnostic précis. Lorsque les autoanticorps dirigés contre la BP180 ou la BP230 sont présents, une fluorescence du côté de l'épiderme sera observée sur l'échantillon de peau divisée à la jonction dermo-épidermale par une solution de sel. À l'œsophage, la membrane basale épidermique est visible sous forme d'une coloration linéaire entre la couche basale et le tissu conjonctif. Ces anticorps peuvent être différenciés au moyen de biopuces enduites de BP180-NC16A-4X et de cellules transfectées spécifiquement avec le BP230 (globulaire domaine C-terminal) [EUROIMMUN, 2014].

Figure 1 Mosaïque biopuce (*BIOCHIP mosaic*)



Source : Zarian *et al.*, 2012. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

Méthode ELISA en microplaque pour la détection spécifique des autoanticorps : différentes troupes ELISA correspondant à 5 antigènes recombinants sont disponibles pour une analyse quantitative des protéines ciblées, à l'exception de l'envoplakine pour laquelle l'analyse est semi-quantitative (caractérisation des autoanticorps ou identification des épitopes cibles). Ces antigènes sont : domaine extracellulaire de la desmoglénine 1 ou 3, envoplakine, tétramère du domaine NC16A de la BP180 (BP180-NC16A-4X), segment C-terminal de la BP230 (BP230-CF).

La méthode ELISA comprend une microplaque avec 8 puits individuels de réactifs. La détection d'anticorps monospécifiques est réalisée en plusieurs étapes : 1) dilution du sérum au 1:100; 2) incubation avec l'antigène recombinant sur le support solide; 3) incubation avec un conjugué (anticorps monoclonal anti-IgG humain) couplé à la peroxydase. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps IgG, IgA et IgM spécifiques se lieront au site antigénique correspondant. Les résultats quantitatifs exprimés en U/ml sont obtenus par la mesure spectrophotométrique de l'intensité de la réaction colorimétrique [EUROIMMUN, 2014]. D'autres troupes de la compagnie japonaise Medical & Biological Laboratories (MBL) sont disponibles.

2.3 Société ou développeur

La compagnie EUROIMMUN (Medizinische Labordiagnostika AG) (Allemagne).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Les trousse ELISA (IgG) de la compagnie EUROIMMUN sont homologuées par Santé Canada : antidesmogléine 1 (n° 82882); antidesmogléine 3 (n° 82881); anti-envoplakine (n° 91661); anti-BP180-NC16A-4X (n° 74292); anti-BP230-CF (n° 91721).

L'IIFT : Dermatology Mosaic 7 (EUROIMMUN) a reçu l'homologation de Santé Canada en juillet 2013 (n° 91721).

La FDA a approuvé les trousse ELISA (IgG) par technique semi-quantitative pour les anti-BP180 et anti-BP230 de la MBL International Corporation (k071961¹⁵); par technique qualitative ou semi-quantitative pour l'anti-BP180-4X ELISA (IgG) d'EUROIMMUN US Inc. (k083615¹⁶) et par technique semi-quantitative ou qualitative pour le dosage des antidesmogléines 1 et 3 (IgG) d'EUROIMMUN US Inc. (k091969¹⁷). Nous n'avons pas trouvé d'approbation pour la trousse Dermatology Mosaic 7 (EUROIMMUN).

2.7 Valeur pondérée : 148

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Patients atteints de maladies bulleuses auto-immunes et pris en charge en onco-dermatologie.

3.2 Description des maladies visées

Les maladies bulleuses auto-immunes acquises représentent un groupe hétérogène de maladies rares dues à une atteinte de la peau ou des muqueuses externes en raison de la production d'autoanticorps dirigés contre les antigènes de surface des kératinocytes dont les composantes des desmosomes¹⁸ (anti-substance intercellulaire) et d'autres antigènes ne faisant pas partie des complexes de jonction [Grando, 2012]. Ces autoanticorps sont responsables de la perte de la structure intercellulaire par acantholyse (ou perte d'adhésion des cellules dans la peau¹⁹) et de la formation de bulles intraépidermiques (pemphigus). Les autoanticorps peuvent être dirigés contre la jonction dermo-épidermique (antimembrane basale) causant une altération de l'un de ses constituants (hémidesmosomes, filaments d'ancrage) et la formation de bulles sous-épidermiques (pemphigoïde bulleuse). Différents antigènes (protéines) sont associés à plusieurs formes cliniques [HAS, 2011b; Humbel, 2003] :

- pemphigus foliacé : desmogléine 1;
- pemphigus vulgaire : desmogléines 1 et 3;
- pemphigus paranéoplasique : plakines (desmoplakines 1 et 2, envoplakine et périplakine), desmogléines 1 et 3, BPAG1²⁰, plectine (HD1);

15. Food and Drug Administration (FDA). 510(k) Substantial equivalence determination decision summary. 510(k) Number: k071961. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K071961.pdf.

16. 510(k) Number: k083615. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K083615.pdf.

17. 510(k) Number: k091969. Disponible à : http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K091969.pdf.

18. Desmosome : protéine permettant l'adhésion intercellulaire et assurant la jonction interkératinocytaire.

19. Deux principaux isoformes sont ciblés : desmogléine 1 exprimée surtout dans l'épithélium superficiel et moins dans la muqueuse orale; desmogléine 3 exprimée surtout dans l'épithélium de la muqueuse orale et la couche suprabasale de l'épiderme.

20. BPAG1 : Bullous Pemphigoid Antigen 1.

- pemphigoïde bulleuse : BPAG1 et BPAG 2;
- pemphigoïde cicatricielle : BPAG1 et BPAG 2, LABD²¹ Antigen 1, intégrine, laminine 5, collagène VII;
- dermatose bulleuse à IgA linéaire : BPAG1 ou BPAG2, LABD, collagène VII;
- pemphigus à IgA : desmocollines 1 et 2;
- pemphigoïde *gestationis* ou *Herpes gestationis* : BPAG2, BP180-NC16A;
- épidermolyse bulleuse acquise : collagène XVII.

La pemphigoïde bulleuse est la forme clinique la plus fréquente²². L'incidence est de 43 cas par million d'habitants par année au Royaume-Uni et de 7 à 13 cas par million d'habitants par année dans les autres parties de l'Europe [Venning *et al.*, 2012]. Elle atteint les personnes âgées de 70 ans et plus et se manifeste dans sa forme classique par du prurit, de l'érythème et la formation de bulles sans atteinte des muqueuses et sans signe de Nikolsky²³. Les formes atypiques s'accompagnent d'une atteinte des muqueuses, notamment au niveau buccal [HAS, 2011a]. Elles sont associées à une morbidité importante (p. ex. démangeaisons graves et impétiginisation²⁴) qui compromet la qualité de vie. Les taux de mortalité à 1 an rapportés dans quatre études recensées par Schmidt et ses collègues [2012] varient entre 19 % et 29 %.

La pemphigoïde de la grossesse est une forme rare qui survient aux deuxième et troisième trimestres de la gestation, associant prurit intense, urticaire et vésicules bulleuses débutant au niveau du ventre [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011].

Le pemphigus est une maladie plus rare, et son incidence varie, selon la littérature, de 1 à 16 nouveaux cas par million d'habitants par année [Joly et Sin, 2011]. La forme connue comme pemphigus vulgaire présente une atteinte des muqueuses (érosions buccales surtout) et cutanée tardive (éruption bulleuse) avec signe de Nikolsky positif lorsque l'atteinte est profonde. Les séquelles, dues notamment à l'atteinte cutanée, ophtalmologique et buccale et aux effets secondaires du traitement immunosuppresseur, sont irréversibles. En l'absence d'atteinte des muqueuses, on parle de pemphigus superficiel ou foliacé [HAS, 2011b].

Le pemphigus paranéoplasique est la forme la plus grave associée à d'autres maladies néoplasiques, surtout lymphoprolifératives [Humbel, 2003]. Il est extrêmement rare et sa prévalence est inconnue²⁵.

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur estime à environ 100 patients par année le volume provincial attendu pour les trois prochaines années.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Dermato-oncologie et hémato-immunologie.

21. LABD : dermatose bulleuse à IgA linéaire ou Linear IgA bullous dermatosis

22. Bernard P. Pemphigoïde bulleuse [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=FR&Expert=703 (consulté le 24 janvier 2014).

23 Le signe de Nikolsky correspond à un décollement cutané provoqué par le frottement appuyé de la peau saine. Il traduit un décollement intraépidermique (acantholyse) au cours des pemphigus. (Collège National des Enseignants de Dermatologie. Item 116 : Dermatoses bulleuses auto-immunes. Disponible à : http://umvf.univ-nantes.fr/dermatologie/enseignement/dermato_45/site/html/cours.pdf).

24. Surinfection microbienne ressemblant à un impétigo sur une affection cutanée qui n'était pas initialement infectée, telle qu'un eczéma.

25 Dubertret L. Pemphigus paranéoplasique [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=FR&Expert=63455 (consulté le 24 janvier 2014).

3.5 Modalités d'administration du test

Le prélèvement sanguin est effectué dans un centre de prélèvement à l'aide d'une ponction veineuse.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Actuellement, deux examens sont disponibles pour confirmer le diagnostic de pemphigus ou de pemphigoïde bulleuse : l'examen histologique sur prélèvement cutané d'une bulle intacte et l'immunofluorescence directe sur biopsie cutanée. L'examen histologique permet de préciser la localisation épidermique des bulles [Joly *et al.*, 2011; Humbel, 2003]. L'immunofluorescence directe de la zone péribulleuse met en évidence des dépôts linéaires d'IgG et de fraction du complément C3 le long de la jonction dermo-épidermique avec un aspect fluorescent linéaire (pemphigoïde bulleuse) ou à la surface des kératinocytes avec une fluorescence en nid d'abeille de l'épithélium (pemphigus) [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011; Joly *et al.*, 2011].

La détection sérique des autoanticorps anticutanés par immunofluorescence indirecte, utilisant comme substrat l'œsophage de singe ou la peau humaine traitée avec du NaCl, a été pendant longtemps la méthode de référence [Tampoia *et al.*, 2012a]. Cette technique permet de détecter la présence d'anticorps anti-membrane basale de l'épithélium malpighien (anti-ZMB) avec une fluorescence linéaire (pemphigoïde bulleuse) et les anticorps antisubstance intercellulaire (anti-SIC) de l'épithélium malpighien avec une fluorescence en nid d'abeille de l'épithélium (pemphigus) [Humbel, 2003]. Selon certains auteurs, ces procédés sont difficiles à standardiser et ils dépendent des compétences du manipulateur [Charneux *et al.*, 2011].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La mosaïque BIOCHIP constitue un spectre antigénique complet disponible en une seule analyse et permettant d'établir la différence entre les pemphigus vulgaire et foliacé.

L'ELISA est une technique simple et le résultat est obtenu en une journée, ce qui permet l'analyse d'un grand nombre d'échantillons en un temps relativement court [Lee *et al.*, 2012]. Elle donne des résultats quantitatifs et ne nécessite pas de personnel expérimenté [Atzori *et al.*, 2008].

Selon l'information tirée du formulaire soumis par le demandeur, la mosaïque BIOCHIP et la technique ELISA constituent une approche spécifique qui permet un diagnostic précis chez 90 % des patients.

4.4 Coût de la technologie et des options : n'a pas été analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Cette analyse pourrait remplacer la recherche d'anticorps antimembrane basale cutanée (pemphigoïde) (code 20700) et antistrat intracellulaire (pemphigus) cutané (code 20715) par immunofluorescence indirecte.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

L'analyse du profil immunosérologique permet de confirmer le diagnostic clinique des maladies cutanées auto-immunes par l'identification de l'antigène ciblé par les autoanticorps et de différencier différentes formes cliniques, notamment les pemphigus vulgaire ou foliacé et des formes atypiques de la pemphigoïde bulleuse.

Dans le cas du **pemphigus**, on rapporte une corrélation entre le profil immunologique des autoanticorps et le phénotype clinique. La présence d'antidesmoglérine 3 est spécifique à une atteinte des muqueuses et la présence des antidesmoglérines 1 et 3 est spécifique à une atteinte cutanéomuqueuse [Joly et Sin, 2011]. En outre, plus les taux des autoanticorps sont élevés, plus l'atteinte clinique est importante [HAS, 2011b; Joly et Sin, 2011].

Dans les stades précoces ou dans les formes atypiques, la **pemphigoïde bulleuse** peut être confondue avec une variété de dermatoses, y compris des réactions médicamenteuses localisées. Les critères cliniques et histopathologiques, et surtout le développement des méthodes immunologiques par ELISA, permettent le diagnostic sérologique chez la plupart des patients [Schmidt *et al.*, 2012].

Corrélation entre les titres d'antidesmoglérines 1 et 3 (par ELISA) et la gravité du pemphigus

Le degré d'extension de la maladie est évalué cliniquement par la gravité, le nombre et l'étendue des lésions cutanéomuqueuses, le nombre d'érosions, notamment au niveau oral, le nombre de vésicules apparues depuis le diagnostic ou l'intensité du prurit.

Pemphigus vulgaire

Dans le cas du pemphigus vulgaire, on observe dans la majorité des études une corrélation significative entre les taux des antidesmoglérines 1 et 3 et l'étendue ou l'activité de la maladie lorsque le diagnostic est établi (tableau 1).

Durant le suivi de l'évolution de la maladie, Belloni-Fortina et ses collaborateurs [2009] n'ont pas constaté de corrélation entre les titres d'antidesmoglérines 1 et 3 et l'étendue cutanéomuqueuse. En revanche, Herrero-González et ses collaborateurs [2010] ont montré une importante corrélation entre les taux d'antidesmoglérine 3 et un pronostic défavorable de la maladie (plusieurs poussées réfractaires, maladies chroniques) ($p < 0,001$), mais aucune association n'a été observée avec les niveaux d'anticorps antidesmoglérine 1 ($p =$ non disponible).

Dans une autre étude [Abasq *et al.*, 2009], on a observé une diminution des taux d'antidesmoglérine 1 (de 113,8 U/ml à 22,3 U/ml; $p < 0,001$) chez les patients atteints de pemphigus vulgaire avec des lésions cutanéomuqueuses en rémission complète de leurs lésions cutanées. La diminution des taux d'antidesmoglérine 3 était de 148,4 U/mL à

99,4 U/ml à jour ($p < 001$) chez les patients en rémission complète de leurs lésions muqueuses. La diminution du taux d'antidesmogléine 3 était moins importante que celle de l'antidesmogléine 1 chez les patients avec pemphigus cutanéomuqueux ou foliacé (cutanée). Pour 11 patients atteints du pemphigus foliacé ou vulgaire avec lésions cutanéomuqueuses récidivantes, l'antidesmogléine 1 était significativement plus élevée ($p = 0,03$) pendant les rechutes que pendant les périodes de rémission. En revanche, aucune différence significative n'a été notée pour l'antidesmogléine 3 entre les périodes de rémission complète et les rechutes ($p = 0,13$) des lésions muqueuses du pemphigus vulgaire.

Tableau 1 Relation entre les titres d'antidesmogléines 1 et 3 par ELISA et la gravité de la maladie dans le cas du pemphigus vulgaire

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITE OU DE L'EXTENSION DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE		VALEUR DE P
			TYPE	RÉSULTAT	
Herrero-González <i>et al.</i> , 2010	Étendue des lésions cutanéomuqueuses	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Kruskal-Wallis	S. O.	< 0,001 < 0,001
Schmidt <i>et al.</i> , 2010	Nombre de lésions cutanéomuqueuses (PDAI ²⁶)	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	NR	< 0,001 < 0,001
Belloni-Fortina <i>et al.</i> , 2009	Nombre de lésions au niveau des muqueuses	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	NR	0,001 0,006
	Étendue des lésions cutanées	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3			0,102 0,009
Daneshpazhooh <i>et al.</i> , 2007	Gravité de l'atteinte cutanée	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Spearman	0,746 0,382	< 0,001 < 0,001
	Nombre d'érosions au niveau oral	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3		- 0,245 0,295	< 0,036 < 0,011
Sharma <i>et al.</i> , 2006	Surface cutanée atteinte avec des vésicules, bulles ou érosions	Anti-Dsg1 Anti-Dsg3	Pearson	0,429 0,217	0,026 0,278
	Nombre d'érosions au niveau oral	Anti-Dsg3	Test d'ANOVA	S. O.	0,039

Abréviations : Dsg : desmogléine; S. O. : sans objet; NR : non rapporté.

Avgerinou et ses collaborateurs [2013] ont rapporté la variation médiane des titres d'antidesmogléine 1 et 3 entre le début du traitement et 12 mois après chez 40 patients atteints de pemphigus vulgaire. Ils ont observé une diminution significative des titres d'antidesmogléine 1 (140,82 à 31,56; $p = 0,003$) et d'antidesmogléine 3 (de 178,08 à 126,43; $p = 0,009$) chez 25 patients qui ont eu une amélioration clinique. Chez les 7 patients qui ont eu une aggravation clinique les titres d'antidesmogléine 1 n'ont pas changé de façon significative alors que l'antidesmogléine 3 est passée de 176,70 à 245,92; $p = 0,028$. Aucun changement n'a été observé chez les 8 patients dont la condition clinique était stable. Les auteurs concluent que les antidesmogléines 1 et 3 peuvent être utiles pour le suivi clinique du pemphigus vulgaire et pour guider la prise en charge thérapeutique.

26. PDAI (pemphigus disease area index) : score 3 : > 3 lésions, score 2 : 2-3 lésions; score 1 : 1 lésion; score 0 : pas de lésion.

Pemphigus foliacé

Deux études ont présenté des résultats divergents (tableau 2). Bien qu'une corrélation entre les taux d'antidesmogléine 1 et l'étendue de l'atteinte cutanée a été rapportée pour un petit nombre de patients (n = 5) dans une étude [Schmidt *et al.*, 2010], l'absence de corrélation a été observée par Herrero-González et ses collaborateurs [2010] qui soulignent que la petite taille de l'échantillon (n = 7) pourrait être en cause.

Tableau 2 Relation entre les titres d'antidesmogléine1 par ELISA et la gravité de la maladie dans le cas du pemphigus foliacé

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITE OU DE L'EXTENSION DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE	COEFFICIENT	VALEUR DE P
Herrero-González <i>et al.</i> , 2010	Étendue des lésions cutanées	Anti-Dsg1	Kruskal-Wallis	S. O.	0,091
Schmidt <i>et al.</i> , 2010	Nombre de lésions cutanées	Anti-Dsg1	Spearman	NR	< 0,001

Abréviations : Dsg : desmogléine; S. O. : sans objet; NR : non rapporté.

Abasq et ses collaborateurs [2009] rapportent une diminution significative du taux d'antidesmogléine 1 de 123,8 U/ml à 76,8 U /ml (p = 0,03) chez les patients atteints de pemphigus foliacé en rémission complète de leurs lésions cutanées, après un traitement initial et un suivi de 90 jours.

Corrélation entre les titres d'anti-BP180 et anti-BP230 par ELISA et la gravité de la pemphigoïde bulleuse

L'anti-BP180 est significativement associé avec l'activité et la gravité de la pemphigoïde bulleuse (tableau 3) et recommandé pour la surveillance de l'évolution de la maladie.

L'anti-BP180 à un titre ≥ 27 UI/ml est un bon indicateur de rechute clinique durant l'année qui suit l'arrêt du traitement, avec une valeur prédictive positive de 90,9 % et une valeur prédictive négative de 51,2 % [Bernard *et al.*, 2009].

Une étude a rapporté des valeurs d'anti-BP180 significativement plus basses durant le suivi des patients sans récives (p = 0,03) [Le Saché-de Peufelhox *et al.*, 2012]. L'intérêt de l'anti-BP230 n'est pas démontré dans les cas typiques de la pemphigoïde bulleuse [Le Saché-de Peufelhox *et al.*, 2012].

Corrélation entre la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et les titres d'antidesmogléines 1 et 3 par ELISA

Van Beek et ses collaborateurs [2012] ont rapporté pour 9 patients (3 cas de pemphigoïde bulleuse; 3 de pemphigus foliacé; 3 de pemphigus vulgaire) une corrélation entre les titres d'anti-BP180 et d'antidesmogléines 1 et 3, mesurés par les deux méthodes (mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et ELISA) et l'activité de la maladie²⁷ durant le

27. Score 4 : > 10 lésions; score 3 : 4 à 10 lésions; score 2 : 1 à 3 lésions; score 1 : rémission clinique sur thérapie immunosuppressive; score 0 : rémission clinique sans thérapie immunosuppressive.

suivi. Les auteurs concluent que, pour la surveillance des titres d'autoanticorps, l'ELISA semble plus appropriée.

Tableau 3 Relation entre les titres d'anti-BP180 et anti-BP230 par méthode ELISA et la gravité de la pemphigoïde bulleuse

ÉTUDE	ÉVALUATION DE LA GRAVITÉ DE LA MALADIE	AUTOANTICORPS	ANALYSE	COEFFICIENT	VALEUR DE P
Lee <i>et al.</i> , 2012	Score d'activité de la maladie*	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,45 0,002	0,002 0,99
	Gravité de la maladie selon score (légère, modérée, grave)	Anti-BP180 Anti-BP230	Wilcoxon rank-sum test	S. O.	0,006 0,54
	Intensité du prurit	Anti-BP180 Anti-BP230			0,04 0,56
Patsatsi <i>et al.</i> , 2012	BPDAI ²⁸ BPDAI (intensité du prurit) ABSIS ²⁹	Anti-BP180	Pearson Spearman Pearson	0,557 0,530 0,570	< 0,0001 0,001 < 0,0001
	BPDAI BPDAI (intensité du prurit) ABSIS	Anti-BP230	Spearman	0,206 0,192 0,245	0,208 0,242 0
Charneux <i>et al.</i> , 2011	Nombre de nouvelles vésicules	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,37 -0,06	< 0,001 0,51
Roussel <i>et al.</i> , 2011	Nombre de nouvelles bulles développées par jour	Anti-BP180 Anti-BP230	Spearman	0,44 0,16	< 0,001 0,03
Tampoia <i>et al.</i> , 2009	Nombre de nouvelles bulles développées sur deux jours consécutifs	Anti-BP180	Non décrit	0,616	0,0042
Feng <i>et al.</i> , 2008	Nombre de bulles, érythème, érosion, % d'atteinte cutanée	Anti-BP180	Spearman	0,609	0,006

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; S. O. : sans objet.

*Score calculé en fonction de l'étendue de la maladie et de l'intensité du traitement.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Des recommandations pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse, publiées en France par Bernard et ses collaborateurs [2011], suggèrent de vérifier l'absence de titres d'anticorps anti-PB180 supérieurs à 27 UI, par ELISA, avant d'arrêter le traitement. Des recommandations pour le diagnostic et la prise en charge du pemphigus, publiées en France par Joly et ses collaborateurs [2011], indiquent que, avant l'arrêt du traitement, il faudrait vérifier l'absence ou la présence d'un taux inférieur à 1/20 d'anticorps circulant par IFI et qu'il est également recommandé de vérifier l'absence de titres élevés

28. Score BPDAI (*BP Disease Area Index*) (de 0 à 120) : nombre et taille des lésions bulleuses, nombre et taille des lésions érythémateuses non bulleuses, nombre et taille des lésions muqueuses. Score BPDAI (intensité du prurit) (de 0 à 30) : évaluation de la sévérité du prurit durant les 24 dernières heures (de 0 à 10), les semaines précédentes (de 0 à 10), le mois passé (de 0 à 10).

29. Score ABSIS (*Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity*) (de 0 à 206) : étendue et qualité des lésions cutanées.

d'antidesmogléine 1 par ELISA. Ces anticorps sont prédictifs de la rechute cutanée [Joly *et al.*, 2011].

5.2 Validité clinique

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (LR)	x		
Courbe ROC	x		
Exactitude			

5.2.1 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte dans le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse et des pemphigus vulgaire et foliacé

Pemphigoïde bulleuse

Quatre   tudes³⁰ récentes ont été repérées (tableaux 4 et 5). La mosaïque BIOCHIP permet la détection du domaine NC16A de la protéine BP180, qui est la cible majoritaire des anticorps présents dans le sérum des patients atteints de pemphigoïde bulleuse, avec une sensibilité de 83,3 à 100 % et une spécificité de 96,5 à 100 %. Pour la détection du domaine globulaire C-terminal du BP230, la mosaïque BIOCHIP a une sensibilité entre 38 et 54,8 % et une spécificité entre 98 et 100 %.

Pemphigus vulgaire

Dans le cas du pemphigus vulgaire, les anticorps sont dirigés contre les desmogléines 1 et 3. Ainsi, les antidesmogléines 1 et 3 permettent de différencier les cas de pemphigus vulgaire et foliacé. Les résultats de la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte le confirment, puisque dans le cas du pemphigus vulgaire, l'antidesmogléine 3 est détectée chez 98,5 % à 100 % des cas avec une spécificité entre 99,6 % et 100 % alors que l'antidesmogléine 1 a une sensibilité entre 33,3 et 52,3 % avec une spécificité entre 98,5 et 100 %.

Pemphigus foliacé

Dans le pemphigus foliacé, la desmogléine 1 est la seule cible des anticorps. Elle est présente dans 90 % cas avec une spécificité de 100 %.

Selon certains auteurs [Tampoia *et al.*, 2012b; Van Beek *et al.*, 2012], la mosaïque BIOCHIP révèle une sensibilité et une spécificité élevées comparables aux résultats publiés par d'autres études utilisant les approches conventionnelles avec ELISA dans le cas de la pemphigoïde bulleuse et du pemphigus vulgaire et foliacé. Ils concluent que la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence présente une bonne performance pour le diagnostic de la maladie cutanée auto-immune bulleuse. Elle est aussi une méthode simple d'exécution et permet d'obtenir des résultats avec plusieurs substrats en une seule incubation. Elle serait également peu coûteuse par rapport à l'ELISA, même si aucune analyse des coûts n'ait été publiée. Toutefois, il est important de souligner que les résultats, quoique similaires à ceux

30. Les auteurs de deux de ces études ont des intérêts dans la compagnie EUROIMMUN [Van Beek *et al.*, 2012 et Damoiseaux *et al.*, 2012].

obtenus par ELISA, présentent une faible sensibilité dans certains cas et qu'ils sont de nature qualitative. Des résultats quantitatifs par ELISA demeurent nécessaires, notamment pour les cas douteux.

Tableau 4 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP (EUROIMMUN) par immunofluorescence indirecte pour la détection de l'anti-BP180 et 230 pour le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse

ÉTUDE	PATIENTS (N)	GROUPE TÉMOIN (N)	AUTOANTICORPS	SE % (N/N)	SP %	RV	
						+	-
Damoiseaux <i>et al.</i> , 2012	60	MAIC (22)* autres MIC (35) †	Anti-BP180 NC16A Anti-BP230gcHEK293	88 (53/60) 38 (23/60)	96,5 98	25,2 22,5	0,12 0,63
Zarian <i>et al.</i> , 2012	18	VS (3) pemphigus vulgaire (2)	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230-gC	83,3 (15/18) 39 (7/18)	100 100	n.d.	n.d.
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	42	VS (100) Autres MCNI (97) ‡	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230-gC	100 (42/42) 54,8 (23/42)	98,2 100	n.d.	n.d.
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	40	VS(40) Autres MC (54) §	Anti-BP180-NC16A Anti-BP230	90 40	100 100	n.d.	n.d.

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; MAIC: maladies auto-immunes cutanées; MC : maladies cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; MIC : maladies inflammatoires cutanées; N : nombre total de patients; n : nombre de patients analysés; n.d. : non disponible; RV : rapport de vraisemblance (*likelihood ratio*); Se : sensibilité; Sp : spécificité; VS : volontaires sains.

*MAIC : *pemphigus vulgaris*/foliacé (8); lupus érythémateux cutané subaigu ou chronique (5); vascularite (4); psoriasis (2); dermatose à IgA (1); dermatite herpétiforme (2).

†MIC (35) : eczéma (11); prurigo (6); érythème (3); autres manifestations cutanées diverses (15).

‡ MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire, le carcinome basocellulaire et le carcinome squameux cellulaire.

§ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

|| Il s'agit de la molécule entière et du domaine C terminal de l'anti-BP230.

Tableau 5 Performance clinique de la mosaïque BIOCHIP (EUROIMMUN) pour la détection des antidesmoglénines 1 et 3 pour le diagnostic du pemphigus vulgaire et foliacé

ÉTUDE	PATIENTS (N)	GROUPE TÉMOIN (N)	AUTOANTICORPS	SE % (N/N)	SP %
Pemphigus vulgaire					
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	65	VS (100) Autres MCNI (97)*	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	52,3 (33/65) 98,5 (64/65)	100 99,6
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	36	VS(40) Autres MC (54)†	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	33,3 100	98,5 100
Pemphigus foliacé					
Van Beek <i>et al.</i> , 2012	50	VS (100) Autres MCNI (97)‡	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	90 (45/50) S. O.	100 99,6

Abréviations : Dsg : desmoglénine; MC : maladies cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; Se : sensibilité; S. O. : sans objet; Sp : spécificité; VS : volontaires.

*MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire, le carcinome basocellulaire et le carcinome squameux cellulaire.

†MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

‡ MCNI : dermatose linéaire à IgA; maladies non inflammatoires de la peau comprenant les ulcères de jambes d'origine vasculaire et le carcinome.

5.2.2 Performance clinique des anti-BP180 et BP230, antidesmoglénines 1 et 3 par immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

Les résultats d'études ayant analysé la performance diagnostique des trousse commerciales ELISA sont présentés au tableau 6 pour les cas de pemphigoïde bulleuse et au tableau 7 pour le pemphigus. La plupart de ces études ont utilisé la méthode conventionnelle, soit l'immunofluorescence indirecte avec un substrat (œsophage de singe ou peau humaine traitée au NaCl). Cette méthode ne permet pas de différencier entre les autoanticorps et le substrat utilisé peut ne pas réagir avec tous les sérums de patients atteints de pemphigoïde bulleuse ou pemphigus. L'analyse quantitative des autoanticorps avec les différentes trousse ELISA complète la démarche diagnostique.

Pemphigoïde bulleuse

La méta-analyse des résultats de 17 études publiées entre 1994 et 2011 [Tampoia *et al.*, 2012a] portant sur la pemphigoïde bulleuse montre que les trousse ELISA utilisant les antigènes BP180 pour la recherche de l'anti-BP180 ont une sensibilité de 87 % (entre 85 et 89 %) et une spécificité de 98 % (entre 98 et 99 %). L'aire sous la courbe est de 0,988. Les auteurs concluent que cette méthode est hautement sensible et spécifique pour la détection d'autoanticorps dans les cas de pemphigoïde bulleuse.

Les résultats de neuf autres études recensées rapportent pour la détection de l'anti-BP180 une meilleure performance clinique avec une sensibilité et une spécificité qui varient entre 80 et 100 % et entre 90 et 100 %, respectivement, comparativement aux résultats de l'immunofluorescence indirecte sur un substrat dont la sensibilité et la spécificité varient entre 50 et 100 % et entre 63 et 100 %, respectivement. Parmi ces études, celle de Damoiseaux et ses collaborateurs [2012] souligne que la spécificité de la trousse anti-BP180

ELISA (EUROIMMUN) pourrait augmenter de 93,0 % à 94,7 %, sans que sa sensibilité soit compromise, pour des valeurs seuil qui varient de 20 à 25 RU/ml selon une analyse de la courbe ROC.

Tampoia et ses collaborateurs [2012b] ont comparé des trousse ELISA de deux compagnies différentes (EUROIMMUN et MBL) et ils ont relevé des concentrations moyennes des anti-BP180 et anti-BP230 statistiquement différentes entre les groupes de patients malades et témoins ($p < 0,0001$ et $p < 0,04$ respectivement). L'aire sous la courbe pour les trousse ELISA (EUROIMMUN) versus ELISA (MBL) est pour l'anti-BP180 de 0,964 (0,907 à 0,990) versus 0,945 (0,882 à 0,981) ($p = 0,610$) et pour l'anti-BP230 de 0,748 (0,617 à 0,853) versus 0,889 (0,779 à 0,956) ($p = 0,058$).

Pour l'anti-BP230, la sensibilité est de 33,3 à 72,3 % avec une spécificité de 82,5 à 100 %. Damoiseaux et ses collaborateurs [2012] soulignent que, selon une analyse de la courbe ROC, une augmentation des valeurs seuil de 20 à 25 RU/ml de l'anti-BP230 ELISA (EUROIMMUN) induirait une sensibilité de 56,7 % et une spécificité de 87,7 %. Ils rapportent également que tous les tests spécifiques de l'antigène BP180 ont un rapport de vraisemblance positif > 10 , ce qui rend les résultats cliniquement significatifs. Toutefois, la significativité est modeste puisque les rapports de vraisemblance négatifs sont compris entre 0,1 et 0,2.

Pemphigus vulgaire

La méta-analyse de 13 études [Tampoia *et al.*, 2012b] portant sur le pemphigus vulgaire et la détection de l'antidesmogléine 3 par ELISA a montré une sensibilité de 97 % et une spécificité de 98 %. L'aire sous la courbe ROC est de 0,995. Les auteurs concluent que les tests ELISA utilisant les antigènes desmogléine 3 recombinants sont hautement sensibles et spécifiques pour la détection d'autoanticorps pour le diagnostic du pemphigus vulgaire.

Pour cinq autres études, les trousse ELISA pour la détection de l'antidesmogléine 3 ont une sensibilité qui varie de 83 à 100 % et une spécificité entre 95 % et 98,5 %.

L'immunofluorescence indirecte sur un substrat a une sensibilité de 68,5 à 100 % et une spécificité de 95,5 % (une seule étude) dans la détection des autoanticorps ant substance intercellulaire typique du pemphigus. L'antidesmogléine 1 par ELISA montrait une sensibilité variant de 25 à 77,8 % et une spécificité entre 95,5 et 100 %. La performance de l'immunofluorescence sur un substrat est aussi basse, entre 42 et 81 %, mais avec une spécificité de 100 % (une seule étude).

Pemphigus foliacé

Deux études montrent une sensibilité de l'antidesmogléine 1 entre 75 et 91 % pour diagnostiquer des cas de pemphigus foliacé et une spécificité de 100 % (une seule étude). La sensibilité de l'immunofluorescence indirecte sur un substrat est entre 42 et 81 % et la spécificité de 100 % (une seule étude). Les mêmes études rapportent des sensibilités très faibles pour l'antidesmogléine 3, soit entre 12 % et 37,5 %, et une spécificité de 100 % (une seule étude) [Cozzani *et al.*, 2013; Cunha *et al.*, 2006]. Cunha et ses collègues [2006] soulignent que, bien que des études antérieures aient associé la présence de l'antidesmogléine 3 au pemphigus vulgaire, il n'y a pas d'essai avec une précision à 100 % pour le diagnostic différentiel des deux formes de pemphigus.

Tableau 6 Performance clinique de l'IFI et de l'ELISA pour le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	Expérimental N	Témoin (N)	IFIC	Se % (n/N)	Sp %	ELISA (Seuil)	Se % (n/N)	Sp. %
Méta-analyse								
Tampoia <i>et al.</i> , 2012a*	1178	VS (2058) ou autres MCNI‡ (1113)	NR			Anti-BP180 (de 5 à 20 U/ml ou OD : entre 0,207 et 0,443)	87	98
Études primaires								
Damoiseaux <i>et al.</i> , 2012	60	MAIC (22) § autres MIC (35)	Anti-ZMB (ŒS) Anti-ZMB (PH NaCl)	95 (57/60) 95 (57/60)	84,2 77,2	Anti-BP180-NC16A (20 RU/ml) ¶ Anti-BP230 (20 RU/ml) ¶	86,7 (52/60) 60 (n.d.)	93 82,5
						Anti-BP180-NC16A (9 U/m) ** Anti- BP230 (9 U/ml) **	80 (48/60) 58,3 (n.d.)	98,2 93
Le Saché-de Peufeilhoux <i>et al.</i> , 2012	74	NR	Anti-ZMB (ŒS) Anti-ZMB (PH NaCl)	93 (69/74) 95 (70/74)		Anti-BP180-NC16A (9 AU) Anti-BP230 (9 AU)	92 (68/74) 58 (43/74)	
Lee <i>et al.</i> , 2012	47	VS (15) EBA (16)	Anti-ZMB (PH NaCl)	100 (47/47)	n.d.	Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 N-terminus (9 U/ml)	97,9 (46/47) 72,3 (34/47)	90,3 100
Patsatsi <i>et al.</i> , 2012	39	NR	NR			Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 (9 U/ml)	100 (39/39) 66,7 (26/39)	n.d.
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	40	VS(40) Autres MC (54) ‡‡	Anti-ZMB (ŒS)	50	100	Anti-BP180† Anti-BP230†	85 33,3	100† 100†
Yang <i>et al.</i> , 2012	62	VS (32); PV (19); PF (11)	Anti-ZMB (PH NaCl)	83,9 (52/62)	100	Anti-BP180-NC16A (> 9 U/ml) Anti-BP230 N-terminus et C- terminus (> 9 U/ml)	87,1 (54/62) 56,5	100 100

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
							(35/62)	
Zarian <i>et al.</i> , 2012	18	VS (3) PV (2)	NR			Anti-BP180-NC16A (9 U/ml)	100 (18/18)	100
Charneux <i>et al.</i> , 2011	138	0 ††	Anti-ZMB (ÆS) Anti-ZMB (PH NaCl)	68 (90/132) 62 (70/113)		Anti-BP180-NC16A (9 U/ml) Anti-BP230 (9U/ml)	86 (119/138) 59 (81/138)	
Roussel <i>et al.</i> , 2011	190	Pemphigus (40) Pemphigoïde cicatriciel (22); EBA (16)	Anti-ZMB (PH)	81 (153/190)	63	Anti-BP180 (9U/ml) Anti-BP230 (9U/ml)	79 (150/190) 61 (115/190)	90 96

Abréviations : AU : *arbitrary unit*; BP : *Bullous Pemphigoid*; EBA : épidermolyse bulleuse acquise; IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; MAIC : maladies auto-immunes cutanées; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; MIC : maladies inflammatoires cutanées; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; n.d. : non disponible; NR : non rapporté; ÆS: oesophage de singe; OD : *optical density*; PH : peau humaine clivée avec NaCl.; RU : *relative unit*; VS : volontaires sains; ZMB : zone de la membrane basale.

* Sur 17 études : ELISA (MBL) pour 11 études et ELISA (maison) pour 6 études. Le nombre total de patients a été calculé à partir du tableau 1 de l'étude en raison de la discordance des chiffres rapportés dans le texte et dans le tableau 1.

‡ Maladies telles que le pemphigus, l'épidermolyse bulleuse.

§ MAIC : pemphigus *vulgaris*/foliacé (8); lupus érythémateux cutané subaigu ou chronique (5); vascularite (4); psoriasis (2); dermatose à IgA (1); dermatite herpétiforme (2).

|| MIC (35) : eczéma (11); prurigo (6); érythème (3); autres manifestations cutanées diverses (15).

¶ ELISA (Euroimmun)

**ELISA (MBL)

†† Les auteurs mentionnent que la spécificité de ces tests sur des échantillons témoins n'a pas été évaluée puisque cela avait déjà été analysé par d'autres études.

‡‡ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

† Les valeurs de sensibilité ont été calculées par les auteurs à partir d'une spécificité fixée à 98,8 % [Tampoia *et al.*, 2012b].

Tableau 7 Résultats sur la performance clinique de la méthode ELISA pour le diagnostic de pemphigus vulgaire et foliacé

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	EXPÉRIMENTAL N	TÉMOIN (N)	IFIC	SE % (N/N)	SP %	ELISA (SEUIL)	SE % (N/N)	SP %
Pemphigus vulgaire								
Méta-analyse								
Tampoia <i>et al.</i> , 2012a*	654	VS (926) ou autres MCNI ‡ (1354)	NR			Anti-Dsg 3 (7 à 20 U/ml)	97	98
Étude primaire								
Avgerinou <i>et al.</i> , 2013	54	NR	Anti-SIC	68,5		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (14 U/ml)	77,8 87	
Cozzani <i>et al.</i> , 2013	12	NR	Anti-SIC (ÆS)	100 (12/12)		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	25 (3/12) 83 (10/12)	
Tampoia <i>et al.</i> , 2012b	36	VS(40) Autres MC (54) §	Anti-SIC (ÆS)	83,3	95,5	Anti-Dsg 1 Anti-Dsg 3	44,4 100	95,5 98,5
Belloni-Fortina <i>et al.</i> , 2009	20	VS (20)	NR			Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	60 (12/20) 90 (18/20)	100 95
Daneshpazhooh <i>et al.</i> , 2007	73	NR	NR			Anti-Dsg 1 (>20 U/ml) Anti-Dsg 3 (>20 U/ml)	76,7 (56/73) 94,5 (69/73)	
Pemphigus foliacé								
Cozzani <i>et al.</i> , 2013	8	NR	Anti-SIC (ÆS)	42 (5/12)		Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	75 (6/8) 37,5 (3/8)	
Cuhna <i>et al.</i> , 2006	32	VS (15)	Anti-SIC (PH NaCl)	81 (26/32)	100	Anti-Dsg 1 (20 U/ml) Anti-Dsg 3 (20 U/ml)	91 (29/32) 12 (4/32)	100 100

Abréviations : Dsg : desmogléine; IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; MCNI : maladies cutanées non inflammatoires; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; NR : non rapporté; ÆS : œsophage de singe; PH : peau humaine; Se : sensibilité; SIC : substance intercellulaire; Sp. : spécificité; VS : volontaires sains.

* Sur 13 études : ELISA (MBL) (9 études), ELISA (EUROIMMUN) (1 étude) et ELISA (méthode maison) (3 études). Le nombre total de patients a été calculé du tableau 1 de l'étude en raison de la discordance des chiffres rapportés dans le texte et dans le tableau 1.

‡ Maladies telles que le pemphigus et l'épidermolyse bulleuse.

§ MC : psoriasis (38), lupus érythémateux discoïde ou lichen plan (16).

|| Les valeurs de sensibilité ont été calculées par les auteurs à partir d'une spécificité fixée à 98,8 % [Tampoia *et al.*, 2012b].

Récidive cutanéomuqueuse

Abasq et ses collaborateurs [2009] ont évalué la sensibilité et la spécificité des antidesmoglénines 1 et 3 pour le diagnostic d'une récidive cutanéomuqueuse du pemphigus vulgaire et foliacé sous traitement. Selon les valeurs seuil proposées par le fabricant (> 20 U/ml pour l'antidesmoglénine 1 et > 14 U/ml pour l'antidesmoglénine 3), la sensibilité et spécificité de l'antidesmoglénine 1 étaient de 86 % et 78 % avec des valeurs prédictives positive et négative de 79 % et 85 % respectivement. L'antidesmoglénine 3 avait une sensibilité de 100 % avec une faible spécificité (23 %) pour le diagnostic de récidive au niveau des muqueuses. L'analyse de la courbe ROC a permis de déterminer que la valeur seuil de l'antidesmoglénine 3 pour obtenir une sensibilité et une spécificité optimales (80 % et 84 % respectivement) était de 130 U/ml. Les auteurs concluent que l'antidesmoglénine 1 a une bonne valeur prédictive d'une récidive cutanée, alors que l'antidesmoglénine 3 ne prédit pas assez bien la récidive muqueuse et ne doit pas être utilisée seule pour une décision thérapeutique en l'absence des symptômes cliniques.

5.2.3 Diagnostic du pemphigus paranéoplasique par détection des anticorps anti-envoplakine et périplakine par ELISA

Les deux études présentées dans le tableau 8 portent sur le pemphigus paranéoplasique. Les tests ELISA utilisant des protéines recombinantes d'envoplakine et de périplakine sont hautement sensibles et spécifiques pour le diagnostic du pemphigus paranéoplasique. Cependant, le nombre de patients disponibles est très faible, et une taille d'échantillon plus importante est nécessaire pour promouvoir la valeur diagnostique des deux trousse ELISA [Huang *et al.*, 2009].

Tableau 8 Résultats sur la performance clinique de la méthode ELISA pour le diagnostic de pemphigus paranéoplasique

ÉTUDE	GROUPE		RÉSULTAT SELON LA MÉTHODE					
	Expérimental N	Témoin (N)	IFIC	Se % (n/N)	Sp %	ELISA (Seuil)	Se % (n/N)	Sp. %
Huang <i>et al.</i> , 2009	16	PV (20) PF (12) PB (20) TC *(2) VS (20)	Vessie de rat			Envoplakine (4,3) Periplakine (6,4)	100 100	100 100
Probst <i>et al.</i> , 2009	31	PV (30) PB (50) VS (140)	ŒS ou Vessie de rat	NR	NR	envoplakine ₁₋₄₈₁ (n.d.)	80,6	98,8
						envoplakine ₁₆₂₆₋₂₀₃₃ (n.d.)	80,6	97,5
						periplakine ₁₋₃₂₄ (n.d.)	74,2	96,3

Abréviations : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle; N : nombre total de patients; n : nombre de patients avec l'autoanticorps; NR : non rapporté; ŒS : œsophage; PV : pemphigus vulgaire; PF : pemphigus foliacé; PB : pemphigoïde bulleuse; Se : sensibilité; Sp. : spécificité; VS : volontaires sains.

*Tumeurs de Castleman sans symptômes de pemphigus paranéoplasique.

Pour Probst et ses collaborateurs [2009], le test ELISA basé sur un fragment N-terminal d'envoplakine montre une précision diagnostique élevée pour détecter les anticorps anti-envoplakine circulants dans le pemphigus paranéoplasique. La sensibilité des envoplakines par méthode ELISA (envoplakine₁₋₄₈₁ et envoplakine₁₆₂₆₋₂₀₃₃) est de 80,6 % et la spécificité est comprise entre 97,5 % et 98,8 %. Pour la périplakine₁₋₃₂₄, la sensibilité est de 74,2 % et la spécificité de 96,3 %. L'exactitude diagnostique des envoplakines est de 93,7 % et celle de la périplakine₁₋₃₂₄ de 92,8 ($p < 0,0001$).

5.3 Validité analytique (ou technique)

PARAMÈTRE	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité			
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique			
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice	x		
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test			

Aucune étude visant la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte ou l'ELISA n'a été repérée concernant la validité technique. Les données de validité analytique des trousse ELISA sont tirées de la monographie du fabricant [EUROIMMUN, 2014] et des avis de décision de la FDA.

Reproductibilité

Les données de reproductibilité des trousse ELISA (EUROIMMUN) sont présentées dans le tableau 9.

Tableau 9 Coefficients de variation intra et interessai observés à différentes valeurs seuil pour la détection des différents autoanticorps (ELISA, EUROIMMUN)

AUTOANTICORPS	INTRAESSAI		INTERESSAI	
	Valeur seuil moyenne (RU/ml)	% CV *	Valeur seuil moyenne (RU/ml)	% CV†
Anti-BP 180	27	3,0	26	4,8
	61	1,2	61	3,1
	119	1,6	119	4,2
	177	2,1	174	2,6
Anti-BP230	24	5,0	23	6,8
	61	4,6	60	3,5
	97	3,4	101	6,1
	114	3,0	111	3,4
Anti-Dsg3	42	4,4	44	6,1
	63	2,6	69	5,3

	155	5,9	163	3,3
Anti-Dsg1	27 73 111	4,0 3,1 3,3	46 70 114	3,7 6,1 6,0
Anti-envoplakine	2,2‡ 2,9‡ 3,4‡	2,9 1,6 2,4	2,2‡ 3,0‡ 3,4‡	3,9 2,8 3,9

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; Dsg : desmoglérine; CV : coefficient de variation; ml : militer; RU : *Relative Unit*

*La variation intraessai a été déterminée par 20 mesures de sérum.

†La variation interessai a été déterminée par 4 mesures sur 6 séries de tests différents.

‡ Valeur moyenne du ratio.

Précision

L'évaluation des trousse ELISA de la compagnie MBL (Medical & Biological Laboratories) montre des coefficients de variation intra et interessai < 5 %) pour l'anti-BP180 et < 10 % pour l'anti-BP230 (tableau 10).

Tableau 10 Coefficients de variation intra et interessai observés à différentes valeurs seuil pour la détection des anti-BP 180 et 230 (ELISA MESACUP)

AUTOANTICORPS	INTRAESSAI				INTERESSAI			
	Valeur seuil moyenne (RU/ml)		% CV *		Valeur seuil moyenne (RU/ml)		% CV†	
Anti-BP180	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
	5,4	5,3	5,8	1,3	8,1	7,7	3,4	4,1
	9,4	10,0	2,9	1,6	11,9	12,1	4,1	4,7
	17,8	18,0	3,1	3,2	23,0	23,2	2,4	2,4
	50,7	52,2	1,1	1,6	46,1	46,7	1,5	1,5
	116,6	117,0	0,6	1,3	89,5	90,3	1,7	1,7
	201,5	191,8	1,2	2,2				
	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
Anti-BP230	5,9	5,2	2,2	4,5	8,2	8,7	5,0	6,9
	11,3	10,6	2,1	3,2	17,2	17,5	1,6	2,1
	16,7	17,0	3,4	2,6	19,1	22,4	9,7	9,1
	20,6	23,5	1,9	3,9	71,3	74,2	7,8	6,7
	66,0	70,3	3,2	1,5	141,3	130,0	4,9	4,2
	139,6	130,9	1,1	3,4				

Abréviations : BP : *Bullous Pemphigoid*; CV : coefficient de variation; ml : militer; RU : *Relative Unit*

*La variabilité intraessai a été testée sur trois échantillons, 8 fois sur trois tests distincts en utilisant deux différents lots.

† La variabilité interessai a été testée sur trois échantillons dans 8 essais répétitifs pendant cinq jours consécutifs.

Linéarité

L'analyse de la capacité des trousse ELISA (EUROIMMUN) à reproduire le résultat attendu pour une série de 4 dilutions de 6 échantillons sériques donne un coefficient de corrélation $R^2 > 0,95$. Les autoanticorps sont linéaires pour au moins des valeurs seuil comprises entre 10 et 199 RU/ml pour l'anti-BP 180, entre 17 et 190 RU/ml pour l'anti-BP230, entre 9 et 197 RU/ml pour l'antidesmogléine 1 et entre 14 et 195 RU/ml pour l'antidesmogléine 3.

Limite de détection

Pour les différentes trousse ELISA (EUROIMMUN), la limite inférieure de la détection est de 0,6 RU/ml (anti-BP 180), de 1,0 RU/ml (l'anti-BP230), de 0,5 RU/ml (antidesmogléine 1), de 0,3 RU/ml (antidesmogléine 3) et de 0,07 (ratio) (envoplakine).

Spécificité analytique

Interférence

Trousses ELISA (EUROIMMUN) anti-BP 180, anti-BP 230, antidesmogléines 1 et 3, envoplakine

Aucune interférence avec des échantillons hémolytiques, lipémiques et ictériques jusqu'à une concentration d'hémoglobine de 10 mg/ml, de triglycérides de 20 mg/ml et de bilirubine de 0,4 mg/ml.

Trousses ELISA (MESACUP, MBL) pour l'anti-BP 180 et l'anti-BP 230

Aucun effet significatif sur les résultats de l'essai n'a été noté par l'addition de substances interférentes (bilirubine C : 39,0 mg/dl, bilirubine F : 37,2 mg/dl, hémoglobine : 440,0 mg/dl, le chyle : 2350 unités) dans trois échantillons de patients (négatif, positivité faible et élevée).

Réactivité croisée

Trousses ELISA (EUROIMMUN) : anti-BP180, anti-BP230, antidesmogléines 1 et 3

Il n'y a pas eu de réaction croisée observée avec d'autres autoanticorps dans les échantillons sériques de patients avec :

- sclérodermie (n = 18) pour la BP 180;
- sclérodermie (n = 12) et pemphigus vulgaire (n = 15) pour la BP 230;
- pemphigoïde bulleuse (n = 20) et dermatose linéaire à IgA (n = 20) pour les desmogléines 1 et 3;
- pemphigoïde bulleuse (n = 30) et le pemphigus vulgaire (n = 20) pour l'envoplakine.

Trousses ELISA (MESACUP, MBL) pour l'anti-BP 180 et l'anti-BP 230

Il n'y avait pas de réaction croisée avec les échantillons sériques de patients avec le virus d'Epstein Barr, *Treponema pallidum*, lupus érythémateux systémique, arthrite rhumatoïde, syndrome de Sjögren's et autres maladies, sauf pour le pemphigus (réaction positive à 7 %) et l'épidermolyse bulleuse acquise (33,3 %) pour la BP 180 et seulement pour le pemphigus (réaction positive à 3,9 %) pour la BP 230.

Effet de matrice (matrix effect)

Trousse ELISA (EUROIMMUN) anti-BP180

L'influence de la nature du prélèvement, soit sérum versus plasma avec différents

anticoagulants (EDTA³¹, héparine, citrate), a été testée par une analyse de régression de Passing-Bablok. L'intervalle de confiance à 95 % de la pente contient la valeur 1,0 et l'intervalle de confiance à 95 % de l'ordonnée à l'origine contient la valeur 0 indiquant une équivalence entre la concentration de sérum et de plasma des matrices correspondantes.

Trousse ELISA (EUROIMMUN)

Le but de l'analyse était de démontrer que la récupération de l'analyte du plasma sur anticoagulants de type héparine de lithium, citrate et EDTA était équivalente à l'analyte récupéré à partir des prélèvements de sérum. Les échantillons provenant du même patient ont été recueillis dans les quatre tubes de prélèvement et testés. L'analyse de régression confirme l'hypothèse et présente pour l'antidesmogléine 1 des coefficients R^2 de 0,994 (héparine de lithium), 0,992 (citrate), 0,988 (EDTA) et pour l'antidesmogléine 3 des coefficients R^2 de 0,994 (héparine de lithium), 0,991 (citrate) et 0,983 (EDTA).

Corrélation des résultats de l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

Pemphigoïde bulleuse

Le Saché-de Peufeilhoux et ses collaborateurs [2012] ont démontré une corrélation significative entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et l'anti-BP230 par ELISA chez 74 patients (tableau 11).

Tableau 11 Résultats de la corrélation entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et la méthode ELISA pour la pemphigoïde bulleuse

MÉTHODE		COEFFICIENT DE CORRÉLATION (SPEARMAN R)	VALEUR DE P
IFIC	ELISA anti-BP180	- 0,12	0,32
IFIC	ELISA anti-BP230	0,75	0,0001

Abréviation : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle

Pemphigus vulgaire

Herrero-González et ses collaborateurs [2010] ont rapporté une corrélation significative entre l'antidesmogléine 3 et l'immunofluorescence indirecte conventionnelle chez 40 patients (tableau 12).

Tableau 12 Résultats de la corrélation entre l'immunofluorescence indirecte conventionnelle et la méthode ELISA pour le pemphigus vulgaire

MÉTHODE		COEFFICIENT DE CORRÉLATION (SPEARMAN RHO)	VALEUR DE P
IFIC	ELISA anti-Dsg3	0,736	< 0,001
IFIC	ELISA anti-Dsg1	0,082	0,650

Abréviation : IFIC : immunofluorescence indirecte conventionnelle.

Concordance

Immunofluorescence indirecte avec mosaïque BIOCHIP versus immunofluorescence indirecte conventionnelle et ELISA

L'étude de Van Beek et ses collaborateurs [2012] (n = 454) est la seule ayant comparé l'immunofluorescence indirecte sur six substrats (mosaïque BIOCHIP) avec

31. EDTA : *Ethylenediaminetetraacetic acid* ou acide éthylène diamine tétraacétique.

l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat œsophage de singe ou peau humaine traitée au NaCl) complétée par la méthode ELISA avec différentes trousse de substrats (antidesmoglénines 1 et 3, anti-BP180 et BP230 et envoplakine).

Une concordance élevée (93,6 %) des résultats des deux méthodes a été observée. Il y a eu concordance pour des sérums positifs ($\kappa = 0,97$) et 322 sérums négatifs sans autoanticorps ($\kappa = 0,88$). Toutefois, pour 21 patients (4,6 %), il n'y avait pas de réaction avec la mosaïque BIOCHIP alors que la méthode conventionnelle a révélé des cas de maladies auto-immunes bulleuses. Chaque résultat discordant a été analysé.

Immunofluorescence indirecte avec mosaïque BIOCHIP et ELISA

La concordance des résultats est élevée entre la mosaïque BIOCHIP et l'ELISA pour :

- la pemphigoïde bulleuse :
 - détection de l'anti-BP180 : entre 79,5 et 93,2 % [Damoiseaux *et al.*, 2012] et 90 % [Tampoia *et al.*, 2012b];
 - détection de l'anti-BP230 : 87,2 % [Damoiseaux *et al.*, 2012].
- le pemphigus vulgaire [Tampoia *et al.*, 2012b] :
 - détection de l'antidesmoglénine 3 : 100 % (κ variant de 0,901 à 1,0).

5.4 Recommandations d'autres organismes

En France, les centres de référence pour le diagnostic et la surveillance du pemphigus et de la pemphigoïde bulleuse recommandent une analyse sérologique par immunofluorescence indirecte sur un substrat et recherche d'anti-BP180-NC16A [Bernard *et al.*, 2011] ou d'antidesmoglénines 1 et 3 [Joly *et al.*, 2011] par ELISA. Dans le cas du pemphigus, l'ELISA est une option recommandée [Joly *et al.*, 2011].

La recherche d'anticorps BP180-NC16A par ELISA est utile en complément de l'immunofluorescence directe devant une éruption urticarienne atypique pendant la grossesse (pemphigoïde de la grossesse). L'intérêt diagnostique de l'ELISA seul reste à préciser [Ingen-Housz-Oro *et al.*, 2011].

Au Royaume-Uni, le guide clinique sur la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse mentionne que la méthode ELISA n'est pas largement disponible, mais qu'elle est utile dans des cas sélectionnés (sans d'autres précisions sur ces cas) et en recherche.

L'immunofluorescence directe et indirecte sur substrat (peau humaine traitée au sel) demeure la méthode de référence pour le diagnostic [Venning *et al.*, 2012].

L'European Autoimmunity Standardisation Initiative (EASI) a également publié un guide de pratique où l'immunofluorescence indirecte sur œsophage de singe et les trousse ELISA représentent la méthode diagnostique du pemphigus et de la pemphigoïde bulleuse [Shoenfeld et Meroni, 2012].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été analysé.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

L'immunofluorescence indirecte sur la mosaïque BIOCHIP et les trousse ELISA permettent la détection de la pemphigoïde bulleuse et le diagnostic différentiel entre les pemphigus vulgaire et foliacé. Les trousse ELISA peuvent être réservées pour les cas douteux et atypiques de la pemphigoïde bulleuse et elles sont appropriées pour la surveillance des titres d'autoanticorps durant l'évolution de la maladie et le suivi des patients. La recherche d'anti-BP230 ne devrait pas être effectuée systématiquement, mais elle pourrait être proposée pour une minorité de patients chez qui l'ELISA est négatif pour l'anti-BP180 ou dans les formes atypiques. L'intérêt de l'antidesmoglénine 1 dans le suivi du pemphigus foliacé n'est pas démontré.

7.2 Validité clinique

La mosaïque BIOCHIP révèle une sensibilité et une spécificité comparables à celles de l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat) et des différentes trousse ELISA. La sensibilité de ces deux méthodes est toutefois de faible à moyenne dans certains cas.

7.3 Validité analytique

Les trousse ELISA évaluées présentent une bonne validité analytique. Des données limitées suggèrent une concordance élevée (93,6 %) entre la mosaïque BIOCHIP par immunofluorescence indirecte et l'immunofluorescence indirecte conventionnelle (sur un substrat) avec les différentes trousse ELISA pour le diagnostic de la pemphigoïde bulleuse et des pemphigus vulgaire et foliacé.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Les guides de pratique disponibles n'abordent pas la méthode avec la mosaïque BIOCHIP, mais ils recommandent les trousse ELISA comme une option ou une méthode complémentaire à l'immunofluorescence indirecte selon la méthode conventionnelle.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Analyse du profil immunosérologique des maladies cutanées auto-immunes

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie : ELISA pour 2 des 6 substrats
- ☒ Innovatrice : BIOCHIP
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Avis de recommandation d'introduction
- ☒ Avis de refus d'introduction de la demande telle que présentée
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Il aurait été préférable de :

- présenter chaque analyse séparément, par marqueur et par maladie, pour en établir la pertinence clinique;
- présenter un algorithme pour les indications de l'analyse;
- mieux définir la valeur pondérée pour chaque analyse;
- définir les valeurs seuil;
- justifier la valeur clinique ajoutée de la BIOCHIP par rapport au test d'immunofluorescence conventionnelle déjà disponible.

RÉFÉRENCES

- Abasq C, Mouquet H, Gilbert D, Tron F, Grassi V, Musette P, Joly P. ELISA testing of anti-desmoglein 1 and 3 antibodies in the management of pemphigus. *Arch Dermatol* 2009;145(5):529-35.
- Atzori L, Deidda S, Aste N. Enzyme-linked immunosorbent assay in autoimmune blistering diseases: Preliminary experience of the Dermatology Department of Cagliari. *G Ital Dermatol Venereol* 2008;143(1):1-8.
- Avgerinou G, Papafragkaki DK, Nasiopoulou A, Markantoni V, Arapaki A, Servitzoglou M, et al. Correlation of antibodies against desmogleins 1 and 3 with indirect immunofluorescence and disease status in a Greek population with pemphigus vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27(4):430-5.
- Belloni-Fortina A, Faggion D, Pigozzi B, Peserico A, Bordignon M, Baldo V, et al. Detection of autoantibodies against recombinant desmoglein 1 and 3 molecules in patients with pemphigus vulgaris: Correlation with disease extent at the time of diagnosis and during follow-up. *Clin Dev Immunol* 2009;2009:Article ID 187864.
- Bernard P, Bedane C, Prost C, Ingen-Housz-Oro S, Joly P. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde bulleuse. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):247-51.
- Bernard P, Reguiai Z, Tancrede-Bohin E, Cordel N, Plantin P, Pauwels C, et al. Risk factors for relapse in patients with bullous pemphigoid in clinical remission: A multicenter, prospective, cohort study. *Arch Dermatol* 2009;145(5):537-42.
- Charneux J, Lorin J, Vitry F, Antonicelli F, Reguiai Z, Barbe C, et al. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: A retrospective study of 138 patients. *Arch Dermatol* 2011;147(3):286-91.
- Cozzani E, Di Zenzo G, Riva S, Calabresi V, Sera F, Drosera M, et al. Are clinical phenotype and autoantibody profile always concordant in pemphigus? A study in a cohort of pemphigus patients. *Eur J Dermatol* 2013;23(1):40-8.
- Cunha PR, Bystryń JC, Medeiros EP, de Oliveira JR. Sensitivity of indirect immunofluorescence and ELISA in detecting intercellular antibodies in endemic pemphigusfoliaceus (Fogo Selvagem). *Int J Dermatol* 2006;45(8):914-8.
- Damoiseaux J, van Rijnsing M, Warnemünde N, Dähnrich C, Fechner K, Tervaert JW. Autoantibody detection in bullous pemphigoid: Clinical evaluation of the EUROPLUS™ Dermatology Mosaic. *J Immunol Methods* 2012;382(1-2):76-80.
- Daneshpazhooh M, Chams-Davatchi C, Khamesipour A, Mansoori P, Taheri A, Firooz A, et al. Desmoglein 1 and 3 enzyme-linked immunosorbent assay in Iranian patients with pemphigus vulgaris: Correlation with phenotype, severity, and disease activity. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007;21(10):1319-24.
- EUROIMMUN. Product catalogue 2014. Lübeck, Allemagne : EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG; 2014. Disponible à : <http://www.euroimmun.de/index.php?id=2095&L=1>.

- Feng S, Wu Q, Jin P, Lin L, Zhou W, Sang H, et al. Serum levels of autoantibodies to BP180 correlate with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *Int J Dermatol* 2008;47(3):225-8.
- Grando SA. Pemphigus autoimmunity: Hypotheses and realities. *Autoimmunity* 2012;45(1):7-35.
- Haute Autorité de Santé (HAS). Maladies bulleuses auto-immunes – Pemphigoïde bulleuse. Protocole national de diagnostic et de soins pour les maladies rares. Saint-Denis La Plaine : HAS; 2011a. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/ald_hors_liste_-_pnds_sur_la_pemphigoide_bulleuse.pdf.
- Haute Autorité de Santé (HAS). Maladies bulleuses auto-immunes – Pemphigus. Protocole national de diagnostic et de soins pour les maladies rares. Saint-Denis La Plaine : HAS; 2011b. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-03/ald_hors_liste_-_pnds_sur_le_pemphigus.pdf.
- Herrero-González JE, Iranzo P, Benítez D, Lozano F, Herrero C, Mascaró JM Jr. Correlation of immunological profile with phenotype and disease outcome in pemphigus. *Acta Derm Venereol* 2010;90(4):401-5.
- Huang Y, Li J, Zhu X. Detection of anti-envoplakin and anti periplakin autoantibodies by ELISA in patients with paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol Res* 2009;301(10):703-9.
- Humbel RL. Autoanticorps et autoantigènes de la peau. *GEAI L'Info* 2003;6:1-5. Disponible à : <http://geai-lesautoanticorps.fr/document.php?fname=docs/documents/GEAlinfo-6-1290698241.pdf>.
- Ingen-Housz-Oro S, Bedane C, Prost C, Joly P, Bernard P. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge de la pemphigoïde de la grossesse. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):264-6.
- Joly P, Bernard P, Bedane C, Prost C, Ingen-Housz-Oro S. Recommandations des centres de référence des maladies bulleuses auto-immunes pour le diagnostic et la prise en charge du pemphigus. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):252-8.
- Joly P et Sin C. Pemphigus : revue de la littérature. *Ann Dermatol Venereol* 2011;138(3):182-200.
- Lee EH, Kim YH, Kim S, Kim SE, Kim SC. Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant BP180 and BP230 for serodiagnosis and monitoring disease activity of bullous pemphigoid. *Ann Dermatol* 2012;24(1):45-55.
- Le Saché-de Peuffelhox L, Ingen-Housz-Oro S, Hue S, Sbidian E, Valeyrie-Allanore L, Ortonne N, et al. The value of BP230 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis and immunological follow-up of bullous pemphigoid. *Dermatology* 2012;224(2):154-9.
- Patsatsi A, Kyriakou A, Pavlitou-Tsiontsi A, Giannakou A, Sotiriadis D. Association of autoantibodies to BP180 with disease activity in Greek patients with bullous pemphigoid. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:Article ID 854795.
- Probst C, Schlumberger W, Stöcker W, Recke A, Schmidt E, Hashimoto T, et al. Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus. *Clin Chim Acta* 2009;410(1-2):13-8.

- Roussel A, Benichou J, Randriamanantany ZA, Gilbert D, Drenovska K, Houivet E, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the combination of bullous pemphigoid antigens 1 and 2 in the diagnosis of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 2011;147(3):293-8.
- Sharma VK, Prasad HR, Khandpur S, Kumar A. Evaluation of desmoglein enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in Indian patients with pemphigus vulgaris. *Int J Dermatol* 2006;45(5):518-22.
- Schmidt E, Della Torre R, Borradori L. Clinical features and practical diagnosis of bullous pemphigoid. *Immunol Allergy Clin North Am* 2012;32(2):217-32.
- Schmidt E, Dähnrich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Saschenbrecker S, et al. Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: Correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. *Exp Dermatol* 2010;19(5):458-63.
- Shoenfeld Y et Meroni PL. The general practice guide to autoimmune diseases. Lengerich, Allemagne : Pabst Science Publishers; 2012.
- Tampoia M, Giavarina D, Di Giorgio C, Bizzaro N. Diagnostic accuracy of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) to detect anti skin autoantibodies in autoimmune blistering skin diseases: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2012a;12(2):121-6.
- Tampoia M, Zucano A, Villalta D, Antico A, Bizzaro N. Anti-skin specific autoantibodies detected by a new immunofluorescence multiplex biochip method in patients with autoimmune bullous diseases. *Dermatology* 2012b;225:37-44.
- Tampoia M, Lattanzi V, Zucano A, Villalta D, Filotico R, Fontana A, et al. Evaluation of a new ELISA assay for detection of BP230 autoantibodies in bullous pemphigoid. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:15-20.
- Van Beek N, Rentzsch K, Probst C, Komorowski L, Kasperkiewicz M, Fechner K, et al. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: Prospective comparison of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:49.
- Venning VA, Taghipour K, Mohd Mustapa MF, Highet AS, Kirtschig G. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of bullous pemphigoid 2012. *Br J Dermatol* 2012;167(6):1200-14.
- Yang B, Wang C, Chen S, Chen X, Lu X, Tian H, et al. Evaluation of the combination of BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assay and BP230 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of bullous pemphigoid. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2012;78(6):722-7.
- Zarian H, Saponeri A, Michelotto A, Zattra E, Belloni-Fortina A, Alaibac M. Biochip technology for the serological diagnosis of bullous pemphigoid. *ISRN Dermatol* 2012;2012:Article ID 237802.

DÉTECTION DES ANEUPLOÏDIES DES CHROMOSOMES 13, 18, 21, X ET Y PAR QF-PCR (RÉFÉRENCE – 2013.03.004)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital de Montréal pour enfants (HME-CUSM)
- 1.2 **Date de transmission de la demande d'examen au MSSS** : 24 septembre 2013
- 1.3 **Date de réception de la demande à l'INESSS** : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Amplification en chaîne par polymérase fluorescente quantitative (*Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction*) (QF-PCR).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La PCR est une technique de génétique moléculaire bien établie qui amplifie, de façon sélective, certaines régions d'ADN génomique en fonction de la liaison d'amorces qui sont propres aux régions en question. La QF-PCR amplifie un segment spécifique du chromosome d'intérêt (13, 18, 21, X et Y) d'un échantillon d'ADN extrait à partir du liquide amniotique obtenu par amniocentèse, des villosités chorales ou d'autres échantillons tissulaires ou sanguins de nouveau-nés ou des adultes. Les amorces marquées par fluorescence se lient à chacune des séquences ciblées et permettent à l'ADN polymérase de répliquer le fragment (brin), synthétisant ainsi un ADN à fragment double. Les produits sont soumis à un système d'électrophorèse capillaire et séparés en fonction de leur taille, de façon que chaque pic soit le produit de l'amplification d'une sonde distincte. La mesure de l'intensité des signaux fluorescents est détectée à l'aide d'un système informatique pour déterminer le nombre de copies de chaque séquence ciblée et, par conséquent, de chaque chromosome [Sparkes *et al.*, 2008]. Les résultats de cette technique sont qualitatifs (changement structurel du chromosome) et quantitatifs (nombre de chromosomes).

2.3 Société ou développeur

Le demandeur utilise la trousse Aneufast™ développée par Molgentix SL (Espagne), coentreprise de la compagnie Genomed, pour la détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant

La trousse Aneufast™ est brevetée aux États-Unis (numéros de brevet 6,008,379; 6,020,481; 6,221,604; et 6,303,775 selon le manuel de l'utilisateur révisé en août 2011).

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse Aneufast™ n'est pas homologuée par Santé Canada. Toutefois, selon le requérant, elle est utilisée par plusieurs laboratoires au Canada (Children Hospital of Eastern Ontario [CHEO] à Ottawa, North York General Hospital et Mont Sinai Hospital à Toronto ainsi qu'à London, Halifax et St. John's).

2.7 Valeur pondérée : 178

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Le test cible les fœtus des femmes enceintes qui présentent un risque élevé d'anomalies chromosomiques, soit en raison du résultat de dépistage prénatal, de leur âge ou de leurs antécédents familiaux [Langlois *et al.*, 2011; Dickinson *et al.*, 2009; Conrad *et al.*, 2005]. Le test est aussi utilisé pour le diagnostic postnatal des aneuploïdies chromosomiques [Saadi *et al.*, 2010].

3.2 Description des maladies visées

Selon l'information disponible dans Orphanet³², la trisomie 13 ou syndrome de Patau (1/10 000 grossesses au Québec) est généralement soupçonnée en cours de grossesse en présence d'anomalies échographiques, et on estime que 95 % des fœtus atteints décèdent avant la naissance. La moitié des enfants nés vivants meurent durant le premier mois et 90 % durant la première année en raison de complications cardiaques, rénales ou neurologiques. Ceux qui survivent jusqu'à l'âge adulte sont généralement atteints d'une trisomie partielle, d'un mosaïcisme ou ils n'ont pas de malformations cérébrales majeures.

La trisomie 18 (1/4000 grossesses au Québec) peut aussi être détectée en cours de grossesse par des signes échographiques ou par des résultats anormaux des marqueurs sériques utilisés pour le dépistage de la trisomie 21³³. Il s'agit également d'une maladie grave, et 95 % des fœtus atteints meurent avant la naissance. Comme c'est le cas pour la trisomie 13, la majorité des enfants atteints décèdent avant l'âge de 1 an et les rares cas qui survivent plus longtemps présentent une trisomie partielle ou un mosaïcisme.

32. Verloes A. Trisomie 13 [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3378.0 (consulté le 20 décembre 2013).

33. Verloes A. Trisomie 18 [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3380.0 (consulté le 20 décembre 2013).

Le Programme québécois de dépistage prénatal de la trisomie 21 (PQDPT21) permet la détection des grossesses à risque élevé à l'aide des marqueurs sériques et échographiques. Lorsqu'un risque élevé est décelé, une amniocentèse est offerte dans le but de confirmer le diagnostic à l'aide d'un caryotype fœtal. La trisomie 21 est une aneuploïdie fréquente (1/700 naissances au Québec) et le risque augmente surtout avec l'âge maternel, mais aussi selon l'histoire familiale. Les enfants atteints ont des traits physiques particuliers, un retard de développement et un déficit intellectuel à des degrés variables ainsi que des malformations diverses³⁴.

Le syndrome de Klinefelter chez les hommes regroupe un ensemble d'anomalies chromosomiques caractérisé par la présence d'un ou de plusieurs chromosomes X supplémentaires dans le caryotype masculin (46,XY) (p. ex. 47,XXY; 48,XXXY, etc.). Dans le cas où le diagnostic n'a pas été confirmé pendant la période prénatale par un test cytogénétique, les enfants sont orientés vers un test cytogénétique postnatal en présence de signes cliniques comme un retard de développement, l'hypospadias, le micropénis ou la cryptorchidie. Les signes cliniques varient selon l'âge de l'enfant et, chez les adultes, le syndrome est généralement diagnostiqué en raison d'un problème de stérilité ou d'un cancer du sein. L'importance de l'effet sur le phénotype physique et cognitif est directement proportionnelle au nombre de chromosomes X supplémentaires³⁵.

La trisomie X (XXX) est une anomalie due à la présence d'un chromosome X supplémentaire dans le caryotype féminin (46,XX). Il s'agit de l'anomalie chromosomique féminine la plus fréquente. Dans 30 % des cas, l'âge maternel est avancé. Si la trisomie X n'est pas diagnostiquée durant la période prénatale, le diagnostic postnatal est guidé par les signes cliniques comme le retard du développement, l'hypotonie, les troubles d'apprentissage, les troubles comportementaux ou l'insuffisance ovarienne primaire³⁶.

Le syndrome de Turner est souvent détecté par échographie durant la grossesse, alors que les formes sans malformations associées sont découvertes à l'occasion d'un caryotype, souvent fait dans le cas d'un âge maternel avancé. Il est caractérisé par l'absence d'un chromosome X (45,X). Toutefois, dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mosaïque (45,X/46,XX) ou d'une anomalie de l'X. La maladie peut se manifester par une insuffisance ovarienne ou des anomalies osseuses, un lymphœdème, la surdité ou des anomalies cardiovasculaires, thyroïdiennes et digestives³⁷.

3.3 Nombre de patients visés

Selon les prévisions du demandeur, le nombre de tests peut varier selon la modalité d'utilisation :

- environ 300 échantillons par année provenant uniquement du RUIS McGill si l'analyse est pratiquée en cas de grossesse à risque très élevé d'aneuploïdie;

34. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Trisomie 21 [site Web]. Disponible à :

<http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/professionnels/index.php?Trisomie-21> (consulté le 20 décembre 2013).

35. Graham JM et Visootsak J. Syndrome de Klinefelter [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=484 (consulté le 7 janvier 2014).

36. Howell S, Sutherland A, Tartaglia N, Wilson CJ, Wilson L, Wilson R. Trisomie X [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3375 (consulté le 7 janvier 2014).

37. Cabrol S. Syndrome de Turner [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=881 (consulté le 7 janvier 2014).

- entre 800 et 900 cas par année pour le RUIS de McGill seulement (3000 et 3500 par année pour toute la province) si cette analyse est pratiquée comme test diagnostique chez les femmes enceintes subissant une amniocentèse aux fins de détection de l'aneuploïdie, avant le caryotype.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Tous les professionnels de la santé travaillant en obstétrique (omnipraticiens en périnatalogie, obstétriciens-gynécologues, sages-femmes, infirmières en périnatalogie), la génétique médicale, la génétique moléculaire, le conseil génétique.

3.5 Modalités d'administration du test

L'analyse est réalisée à partir de l'ADN fœtal extrait des cellules fœtales du liquide amniotique obtenu par amniocentèse ou d'un spécimen obtenu par biopsie chorale. Ces deux techniques sont pratiquées de façon stérile sous guidage échographique³⁸. Un échantillon des cellules buccales maternelles doit également être obtenu et analysé dans certains cas.

En postnatal, l'échantillon provient du sang ou des tissus des nouveau-nés ou des adultes.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : substitutive ou complémentaire.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Au Québec, le PQDPT21 offre à toutes les femmes enceintes qui le souhaitent le dépistage prénatal par test biochimique intégré, avec ou sans échographie de la clarté nucale (selon la disponibilité). Lorsque le risque d'aneuploïdie est élevé en raison des résultats du dépistage, de l'âge de la femme enceinte ou de l'histoire familiale, l'amniocentèse pour le caryotype fœtal est offerte afin de confirmer le diagnostic. La sensibilité et la spécificité sont de près de 100 % pour ce test; les rares erreurs qui peuvent survenir sont attribuables à la qualité de l'échantillon.

Le caryotype est également indiqué dans le cas du diagnostic postnatal de ces anomalies, ou en prénatal lorsqu'on soupçonne un risque d'autres anomalies chromosomiques non détectables par le PQDPT21.

Des tests rapides sont disponibles afin d'obtenir un diagnostic dans un délai plus court que celui du caryotype (2-3 semaines). Ces tests sont la QF-PCR, l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH pour *Fluorescence in situ hybridisation*) et l'amplification multiplex de sonde nucléique dépendant des ligatures (MLPA pour *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). La FISH et la QF-PCR auraient une performance diagnostique équivalente à celle du caryotype (étalon-or). Par contre, contrairement au caryotype, elles peuvent détecter seulement quelques aneuploïdies et ne sont pas recommandées pour les femmes qui présentent des facteurs de risque comme des anomalies structurales à l'échographie ou des antécédents familiaux d'autres anomalies chromosomiques. La QF-PCR est moins coûteuse que la FISH, et à la différence de cette dernière, elle peut être automatisée [Sparkes *et al.*, 2008].

38. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Test diagnostique [site Web]. Disponible à : <http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/professionnels/index.php?Test-diagnostique> (consulté le 20 décembre 2013).

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le délai entre l'exécution de la QF-PCR et le résultat est de 48 à 72 heures comparativement à 2 à 3 semaines pour le caryotype [Langlois *et al.*, 2011]. Ce délai plus court permet de réduire l'anxiété parentale [Langlois *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010] et d'offrir aux parents une consultation génétique qui leur permettra de prendre une décision en cas de présence d'une anomalie chromosomique [Dickinson *et al.*, 2009]. La QF-PCR est une technique simple, automatisable et moins coûteuse que le caryotype ou la FISH, et elle permet également le traitement simultané d'un plus grand nombre de prélèvements que la FISH [Langlois, *et al.*, 2011; Baig *et al.*, 2010; Conrad *et al.*, 2005].

4.4 Coût de la technologie et des options

Bien que l'analyse économique n'ait pas été réalisée, une étude coût-efficacité a été publiée par une équipe québécoise comparant différentes stratégies de dépistage de la trisomie 21. Parmi les stratégies de dépistage de la trisomie 21, la stratégie la plus avantageuse sur le plan coût-efficacité était celle avec la QF-PCR (24 084 \$ par cas de trisomie 21 détecté) comparativement à la technique du caryotype (27 898 \$ par cas détecté [Gekas *et al.*, 2011]).

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Pour la détection ou le diagnostic des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y, la QF-PCR pourrait remplacer la FISH, et elle pourrait ainsi servir comme test de diagnostic avant le caryotype. En cas de résultat négatif, équivoque, incertain ou en cas d'échec de la technique, le caryotype peut confirmer le diagnostic [Papoulidis *et al.*, 2012; Badenas *et al.*, 2010].

5.1.2 Valeur diagnostique

Ce test comporte de grands avantages en raison de la rapidité avec laquelle le résultat indiquant la présence ou non d'aneuploïdie chromosomique peut être connu, soit en moins de 48 à 72 heures plutôt que les 2 à 3 semaines d'attente avec le caryotype. Le diagnostic rapide diminue la durée de l'anxiété de la mère et permet aussi d'avoir un diagnostic à un âge gestationnel beaucoup moins avancé.

Modifications du traitement en raison des résultats du test

Au Québec, les femmes enceintes ou les couples qui reçoivent un résultat confirmant le diagnostic d'une anomalie chromosomique ont la possibilité de recevoir un conseil génétique afin de se préparer adéquatement à la naissance du bébé ou de considérer l'interruption de la grossesse³⁹. En période postnatale, la prise en charge demandera une concertation multidisciplinaire avec les parents.

5.1.3 Effets indésirables

Les effets indésirables liés à la technique de prélèvement de liquide amniotique (amniocentèse) ou de villosités choriales (dans certaines situations) sont présents. Il s'agit d'une technique effractive qui est associée à un risque de perte fœtale. Ce risque varie selon

39. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Test diagnostique [site Web]. Disponible à : <http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/index.php?test-diagnostique> (consulté le 22 janvier 2014).

l'expertise du professionnel ou du centre où le test est effectué, mais il est présent, même dans les meilleurs centres d'expertise (1/200 à 1/400 pour l'amniocentèse du deuxième trimestre et il peut s'élever jusqu'à 5 % avec les prélèvements de villosités choriales au premier trimestre).

En période postnatale ou chez les adultes, les inconvénients liés à la prise de sang ou d'une parcelle de tissu sont minimes.

Cependant, étant donné que la méthode de prélèvement de l'échantillon est la même pour le caryotype ou la FISH, le risque est identique pour les trois analyses.

Un résultat faux négatif du test peut causer une fausse réassurance des parents et la naissance inattendue d'un bébé atteint d'une anomalie chromosomique. Par ailleurs, la conséquence d'un résultat faux positif peut mener à l'interruption de la grossesse lorsqu'un fœtus n'est pas atteint [Baig *et al.*, 2010; Nicolini *et al.*, 2004].

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (LR)		x	
Courbe ROC		x	
Exactitude	x		

Le tableau 1 présente la validité clinique de la QF-PCR. De façon générale, la sensibilité est excellente (> 90 %), sauf dans une étude qui rapporte 75,3 % [Papoulidis *et al.*, 2012]. La spécificité s'approche de 100 % [Moftah *et al.*, 2013; Papoulidis *et al.*, 2012; Cirigliano *et al.*, 2009; Kagan *et al.*, 2007]. L'exactitude aussi s'approche de 100 % dans les mêmes études. Les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) affichent aussi d'excellents résultats en général dans ces mêmes études (VPP de 91 % à 100 % et VPN de 86 % à 99,7 %), à l'exception de l'étude de Papoulidis et ses collègues [2012] qui mentionne une VPP à 75,3 % et une VPN à 99 % (tableau 1).

L'étude ontarienne de Speevak et ses collaborateurs [2011] présente les résultats de la QF-PCR sur 4176 échantillons de liquide amniotique obtenus sur une période d'une année. Le caryotype était la méthode de référence. La QF-PCR a détecté 98,5 % des anomalies qui ont des conséquences cliniques significatives et 94,6 % de l'ensemble des anomalies détectées par le caryotype. Ce taux de détection était similaire à celui indiqué dans d'autres études [Cirigliano *et al.*, 2009; Baig *et al.*, 2010].

Birch et ses collègues [2013] ont publié une affiche sur les résultats de validation clinique de la QF-PCR au Centre universitaire de santé McGill (CUSM). Au total, 142 spécimens de liquide amniotique ont été analysés par QF-PCR et par caryotype. La sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive positive sont de 100 %. La valeur prédictive négative est de 98,5 %.

Le guide de pratique clinique de la Société d'obstétriciens-gynécologues du Canada et du

Collège canadien de généticiens médicaux (SOGC-CCGM) [Langlois *et al.*, 2011] appuie ses recommandations sur une revue de littérature portant sur la performance de la QF-PCR. Les auteurs indiquent que la QF-PCR a obtenu des résultats concluants dans 98,7 % des prélèvements analysés sans aucun résultat faux positif ou faux négatif de triploïdies ou de trisomie 13, 18 ou 21 non mosaïques. En ce qui concerne le diagnostic des chromosomes sexuels, bien qu'aucun diagnostic faux positif n'ait été établi, certaines études ont signalé des résultats faux négatifs; ces résultats seraient moins probables à l'heure actuelle en raison de la mise en œuvre de marqueurs polymorphes additionnels [Langlois *et al.*, 2011].

La QF-PCR ne détecte pas les anomalies causées par la translocation, l'effacement, l'inversion, les marqueurs surnuméraires et les anomalies rares autres que les trisomies 21, 18 et 13 de même que les anomalies X et Y [Speevak *et al.*, 2011; Leung *et al.*, 2008; Speevak *et al.*, 2008; Kagan *et al.*, 2007; Kozlowski *et al.*, 2006; Caine *et al.*, 2005; Ogilvie *et al.*, 2005].

La QF-PCR peut identifier de 20 à 30 % des cas de mosaïcisme, ce qui est comparable au caryotype et à la FISH [Baig *et al.*, 2010, Cirigliano *et al.*, 2009].

Avec la QF-PCR, aucun faux positif n'a été trouvé [Langlois *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Baig *et al.*, 2010; Cirigliano *et al.*, 2009; Nicolini *et al.*, 2004]. En ce qui concerne les faux négatifs, ils étaient plus fréquents avant 2001 alors que l'emploi de la technique était à ses débuts. Ainsi, Nicolini et ses collaborateurs [2004], dans une revue de 13 études totalisant 22 504 échantillons, rapportent une fréquence de 9,5 % pour les chromosomes sexuels et de 0,5 %, 0,9 % et 0 % pour les trisomies autosomiques 21, 18 et 13, respectivement. Dans la revue plus récente de Langlois et ses collègues [2011], sur 11 études totalisant 79 556 échantillons, il n'y a eu aucun faux négatif – à l'exception de deux faux négatifs dans une étude n'ayant analysé que deux marqueurs par chromosome [Kozlowski *et al.*, 2006].

Le risque de manquer des diagnostics cliniquement importants varie entre 0,06 et 0,7 % selon les résultats de 6 études [Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Comas *et al.*, 2010; Hills *et al.*, 2010; Ogilvie *et al.*, 2005].

Tableau 1 Validité clinique de la QF-PCR comparativement à l'analyse cytogénétique

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES	VALIDITÉ CLINIQUE				
		SE % (n/N)	SP % (n/N)	VPP %	VPN %	EXACTITUDE %
Moftah <i>et al.</i> , 2013 Allemagne	163 échantillons : 115 aneuploïdies 13, 18 et 21 5 remaniements non balancés sur les chromosomes 18 et 21 43 témoins avec caryotype normal Chromosomes 13, 18 et 21	94,2 (113/120)	100 (43/43)	100	86	96
Papoulidis <i>et al.</i> , 2012 Grèce	13 500 échantillons entre 2006 et 2010, dans deux centres Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	75,3 (214/284)	99,5 (13180/13250)	75,3	99,5	99
Cirigliano <i>et al.</i> , 2009 Espagne et Italie	43 000 échantillons consécutifs entre 1999 et 2008, dans 2 centres 37 544 LA, 4687 BC; 178 de sang fœtal; 591 de tissu fœtal après avortement Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	92,3 (1608/1741)	99,6 (41019/41178)	91	99,7	99,3
Speevak <i>et al.</i> , 2011 Canada	4176 échantillons de LA pendant une année Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	94,6 331/350	n.d.	100	n.d.	n.d.
Badenas <i>et al.</i> , 2010 Espagne	7679 échantillons entre 2004 et 2008 de 3 hôpitaux 1243 BC 6436 LA Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	98,75
Baig <i>et al.</i> , 2010 Singapour	1000 échantillons dans un seul centre 978 LA /14 BC/ 8 de sang fœtal Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	100 63/63	100	n.d.	n.d.	n.d.
Kagan <i>et al.</i> , 2007 R.-U.	3854 échantillons entre 1998 et 2005 185 trisomies 13, 18 et 21; 4 mosaïcismes; 14 anomalies liées au XY; 17 triploïdies; 17 autres Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	92,4 219/237	100 3617/3617	100	99,5	99,5

Abréviations : BC : biopsie chorale; LA : liquide amniotique; n.d. : non disponible; R.-U. : Royaume-Uni; SE : sensibilité; SP : spécificité; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité			x
Reproductibilité			x
Sensibilité analytique			x
Spécificité analytique			x
Effet de matrice			x
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test	x		

La recherche documentaire n'a pas repéré d'études sur la validation technique classique de la QF-PCR utilisée dans le diagnostic d'aneuploïdies. Par contre, 6 études présentent des résultats sur l'échec de la technique [Mann *et al.*, 2012; Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Baig *et al.*, 2010; Hills *et al.*, 2010; Cirigliano *et al.*, 2009] et rapportent des taux variant entre 0,04 et 5 % pour les échantillons de liquide amniotique. Deux études [Mann *et al.*, 2012; Hills *et al.*, 2010] présentent les taux d'échec de 0,25 et 0,02 % pour les échantillons de biopsie chorale.

Le taux d'échec dans l'étude de validation faite au CUSM était de 0,7 % avant l'implantation et de 0 % après l'implantation de la technique. Le taux de contamination de l'échantillon par des cellules maternelles était de 0,7 % avant l'implantation et de 4,6 % après [Birch *et al.*, 2013].

La concordance de la détection des aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles entre la QF-PCR et la méthode de référence (caryotype) a été extensivement rapportée. Dans un premier temps, la concordance entre les deux techniques peut être évaluée pour tout l'effectif des échantillons (cas d'euploïdie et d'aneuploïdie). En raison du faible taux d'aneuploïdie et de la spécificité clinique à près de 100 %, la concordance globale (c.-à-d. l'exactitude clinique : vrais positifs et vrais négatifs sur tout l'effectif, tableau 1) sera près de 100 % (entre 97,7 % et 100 %) [Papoulidis *et al.*, 2012; Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Baig *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2009; Kagan *et al.*, 2007].

Lorsque la proportion d'aneuploïdies détectée par QF-PCR est comparée à celle diagnostiquée par la méthode traditionnelle du caryotype, la concordance est de près de 90 %, surtout si on considère les anomalies chromosomiques ciblées et cliniquement significatives, mais en tenant compte des limites de la technique. Pour Kagan et ses collègues [2007], la concordance est à 100 % pour les aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles, mais de 92,4 % lorsque les mosaïques manquées sont incluses. Lau et ses collaborateurs [2009] rapportent une concordance de 88,9 % avec les villosités chorales où la fréquence de mosaïcisme est bien connue. La concordance est de 88,0 % dans l'étude de Badenas et ses collaborateurs [2010]. L'équipe ontarienne [Speevak *et al.*, 2011] rapporte une concordance de 94,6 % pour toutes les anomalies et de 98,5 % pour les anomalies chromosomiques cliniquement significatives qui auraient été détectées par le caryotype. Avec la stratégie proposée et si le caryotype est offert en présence des signes d'appel à

l'échographie, alors le taux de concordance serait à 99,2 % et il pourrait atteindre 99,94 % si le risque d'anomalie est < 4 % [Speevak *et al.*, 2011].

La performance de la trousse Aneufast a été comparée à celle d'une autre trousse, la QST-RV2 [Scott *et al.*, 2012]. Les deux trousse ont une performance similaire avec une sensibilité (97,1 %) et une spécificité (100 %) identiques lorsque comparées au caryotype. Il y aurait moins de nécessité de répétitions (*second round of reflex testing*), soit 9,7 % vs 14,1 % avec la QST-RV2, bien que cette trousse performe moins bien qu'Aneufast pour la détection de la trisomie 13.

Il y a peu d'études sur le contrôle de la qualité. En 2012, Susan Hamilton et ses collègues de la NHS Foundation, en Angleterre, rapportent les résultats discordants entre la QF-PCR et le caryotype obtenus lors de deux audits faits dans 11 grands laboratoires du Royaume-Uni (5 ont participé au premier audit et 11 au deuxième) et suggèrent de simples modifications techniques pour améliorer la performance de la QF-PCR [Hamilton et Waters, 2012]. En janvier 2012, l'Association de cytogénétique clinique présente ses lignes directrices des meilleures pratiques de laboratoire pour le diagnostic des aneuploïdies avec la QF-PCR [Association for Clinical Cytogenetics, 2012].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Dans la recommandation de 2011-2014 pour le dépistage prénatal du syndrome de Down, le National Health Service (NHS), au Royaume-Uni, recommande la QF-PCR en tant que test diagnostique pour la confirmation des anomalies fœtales dans son modèle de meilleure pratique [NHS England, 2013].

L'utilisation de la QF-PCR dans le cadre du dépistage systématique des aneuploïdies a été établie en Suède en 2005 [Badenas *et al.*, 2010] et au Royaume-Uni au début des années 2000 [Mann *et al.*, 2012]. Déjà, en 2008, la Société des obstétriciens gynécologues du Canada (SOGC) proposait cette technique [Sparkes *et al.*, 2008], et le recours systématique à ce test devenait une recommandation ferme en 2011 [Langlois *et al.*, 2011]), associée à un conseil génétique prénatal approprié.

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Ogilvie et ses collaborateurs [2005] rapportent les résultats d'un rapport d'évaluation des technologies publié en 2003 au Royaume-Uni, selon lequel 4 personnes (professionnels et techniciens) sont nécessaires pour réaliser 12 000 analyses par QF-PCR, en comparaison avec 30 personnes pour le même nombre de caryotypes.

Aucune analyse n'a été faite dans le contexte québécois pour la préparation du présent avis.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois

Ces calculs reposent sur les chiffres fournis par le requérant :

- diagnostic pour les cas à risque très élevé : 53 400 \$ (300 tests x 178 \$ par test) par année;
- diagnostic pour les cas à risque élevé pour le RUIS de McGill seulement : entre 142 400 \$ et 160 200 \$ par année (entre 800 et 900 tests x 178 \$ par test);

- diagnostic pour les cas à risque élevé pour la province : entre 534 000 \$ et 623 000 \$ par année (178 \$ par test x entre 3000 et 3500 cas);
- d'autres cas s'ajouteraient si le test devait être utilisé pour le diagnostic postnatal.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

Dans le cas du diagnostic prénatal, le facteur temps est très important pour permettre aux femmes enceintes de bénéficier d'une consultation génétique adéquate afin de les rassurer ou de les aider dans la prise de décision difficile concernant la suite de leur grossesse. Le recours à un test rapide et efficace est essentiel [Langlois *et al.*, 2011; Dickinson *et al.*, 2009; Conrad *et al.*, 2005].

La surcharge de travail ainsi que le nombre de personnes nécessaires à l'exécution du test dans les laboratoires de génétique est un autre facteur à considérer. Selon la littérature, la QF-PCR exige moins de temps et de personnel que le caryotype [Sparkes *et al.*, 2008; Conrad *et al.*, 2005; Oglivie *et al.*, 2005b].

Si la QF-PCR est offerte en première ligne aux femmes enceintes ayant reçu un résultat indiquant un risque élevé (échographie anormale, résultats anormaux de dépistage prénatal, âge maternel avancé ou histoire familiale d'anomalie chromosomique), en cas de résultats positifs, le caryotype est exécuté pour la confirmation du diagnostic. Une estimation de la fréquence du caryotype sera entre 13 % [Speevak *et al.*, 2011], 16 % [Kagan *et al.*, 2007] et 22 % [Badenas *et al.*, 2010] avec un taux de détection des anomalies chromosomiques entre 99,92 %, 98 % et 99,95 % respectivement.

Le dépistage prénatal, surtout celui de la trisomie 21, a suscité de nombreux débats dans la communauté, et il implique ultimement la femme enceinte et son conjoint. L'information génétique prénatale se doit d'être complète et impartiale tout en étant compréhensible. Le choix de se soumettre au dépistage systématique offert doit être éclairé et libre. La SOGC [Langlois *et al.*, 2011] insiste sur l'importance du conseil génétique, en particulier avec cette technique, y inclus la formation des conseillers au début de la mise en place systématique de la QF-PCR concernant les avantages et les limites du test. Autant le counseling que le dépistage se doivent d'être accessibles et effectués à la période appropriée de la grossesse. Lorsqu'un diagnostic d'anomalie chromosomique est posé, une équipe spécialisée (et parfois multidisciplinaire) devrait être disponible afin de permettre à la mère ou au couple de faire un choix libre et éclairé quant à la poursuite de la grossesse. En postnatal, lorsque le test est fait après la naissance, l'approche sera souvent multidisciplinaire tout en respectant l'autonomie et les valeurs des parents.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

La QF-PCR est une technique génétique moléculaire bien établie, rapide, robuste, précise et peu coûteuse pour détecter les aneuploïdies les plus fréquentes en cours de grossesse. Parmi les avantages, il y a surtout l'obtention d'un résultat dans les 24 à 48 heures au lieu des 2 à 3 semaines d'attente avec le caryotype. Cela réduit considérablement l'anxiété des parents et leur permet de prendre une décision, le cas échéant, à un moment beaucoup moins avancé de la grossesse. Cependant, ce test nécessite une intervention effractive, l'amniocentèse ou la biopsie des villosités chorionales, qui est associée à un risque de complications qui peut même aller jusqu'à la perte fœtale (1/200-1/400 pour

l'amniocentèse au deuxième trimestre et jusqu'à 3 à 5 % avec la biopsie des villosités choriales au premier trimestre).

7.2 Validité clinique

Ce test présente une sensibilité > 90 %, une spécificité à 100 % avec une exactitude à près de 100 %. Il n'y a pratiquement pas de faux positifs ni négatifs. Ce test ne peut détecter que de 20 à 30 % des mosaïcismes, comme la FISH. Le risque de manquer un diagnostic cliniquement important varie entre 0,06 % et 0,7 % selon les études.

7.3 Validité analytique

Le taux d'échec de la technique est de 0,25 % à 0,02 % selon les études, attribuable surtout à la contamination de l'échantillon par des cellules maternelles. La concordance globale avec le test de référence est de près de 100 %; lorsque les cas pathologiques établis par QF-PCR sont comparés au caryotype, la concordance se situe à plus de 90 %, mais elle se trouve à 98 et 99 % pour les anomalies chromosomiques cliniquement significatives. Le contrôle de la qualité a été mis en œuvre au Royaume-Uni [Hamilton *et al.*, 2012] et par l'Association for Clinical Cytogenetics et la Clinical Molecular Genetics Society [2012], mais peu d'études sont disponibles sur le sujet.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Cette technique est utilisée pour le dépistage des aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles depuis le début des années 2000 au Royaume-Uni, depuis 2005 en Suède et dans d'autres pays d'Europe. Elle a été suggérée en 2008 par la SOGC qui la recommande depuis 2011.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y par QF-PCR

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Analyse très bien établie avec des bénéfices importants escomptés.

NOTE au MSSS

S'assurer de la réduction du nombre des analyses de caryotype de même que du nombre d'heures consacrées à cette technique dans les laboratoires de cytogénétique.

RÉFÉRENCES

- Association for Clinical Cytogenetics and Clinical Molecular Genetics Society. QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy – Best practice guidelines (2012) v3.01. Liverpool, Royaume-Uni : Association for Clinical Cytogenetics (ACC); 2012. Disponible à : http://www.cytogenetics.org.uk/prof_standards/acc.cmgs_qfpcr_bp_jan2012_3.01.pdf.
- Badenas C, Rodriguez-Revenga L, Morales C, Mediano C, Plaja A, Perez-Iribarne MM, et al. Assessment of QF-PCR as the first approach in prenatal diagnosis. *J Mol Diagn* 2010;12(6):828-34.
- Baig S, Ho SS, Ng BL, Chiu L, Koay ES, Leow GH, et al. Development of quantitative-fluorescence polymerase chain reaction for the rapid prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies in 1,000 samples in Singapore. *Singapore Med J* 2010;51(4):343-8.
- Birch A, De Bie I, Agatep R, Ruchon A. Clinical validation and implementation of QF-PCR for detection of chromosomal aneuploidies at the McGill RUIS. Affiche présentée à la réunion annuelle de l'Association des médecins généticiens du Québec, Sherbrooke, Qc, 31 mai 2013.
- Caine A, Maltby AE, Parkin CA, Waters JJ, Crolla JA. Prenatal detection of Down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18, and 21 by FISH or PCR without a full karyotype: A cytogenetic risk assessment. *Lancet* 2005;366(9480):123-8.
- Cirigliano V, Voglino G, Ordonez E, Marongiu A, Paz Canadas M, Ejarque M, et al. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagn* 2009;29(1):40-9.
- Comas C, Echevarria M, Carrera M, Serra B. Rapid aneuploidy testing versus traditional karyotyping in amniocentesis for certain referral indications. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23(9):949-55.
- Conrad B, Bena F, Dahoun-Hadorn S. Le diagnostic prénatal rapide des anomalies chromosomiques : du FISH à la QF-PCR. *Rev Med Suisse* 2005;1(11):785-8.
- Dickinson JE, Harcourt E, Murch A. The selective use of rapid aneuploidy screening in prenatal diagnosis. *Au N Zeal J Obstet Gynaecol* 2009;49(1):28-33.
- Gekas J, van den Berg DG, Durand A, Vallée M, Wildschut HI, Bujold E, et al. Rapid testing versus karyotyping in Down's syndrome screening: Cost-effectiveness and detection of clinically significant chromosome abnormalities. *Eur J Hum Genet* 2011;19(1):3-9.
- Hamilton SJ et Waters JJ. Completely discrepant results between prenatal QF-PCR rapid aneuploidy testing and cultured cell karyotyping obtained from CVS: Lessons from UK audit and re-audit of 22,221 cases. *Prenat Diagn* 2012;32(9):909-11.
- Hills A, Donaghue C, Waters J, Waters K, Sullivan C, Kulkarni A, et al. QF-PCR as a stand-alone test for prenatal samples: The first 2 years' experience in the London region. *Prenat Diagn* 2010;30(6):509-17.

- Kagan KO, Chitty LS, Cicero S, Eleftheriades M, Nicolaides KH. Ultrasound findings before amniocentesis in selecting the method of analysing the sample. *Prenat Diagn* 2007;27(1):34-9.
- Kozlowski P, Grund I, Hickmann G, Stressig R, Knippel AJ. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction versus cytogenetics: risk-related indication and clinical implication of nondetected chromosomal disorders. *Fetal Diagn Ther* 2006;21(2):217-23.
- Langlois S, Duncan A. Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. *J Obstet Gynaecol Can* 2011;33(9):955-60.
- Lau ET, Tang L, Wong C, Yung Hang L, Ghosh A, Leung WC, et al. Assessing discrepant findings between QF-PCR on uncultured prenatal samples and karyotyping on long-term culture. *Prenat Diagn* 2009;29(2):151-5.
- Leung WC, Lau ET, Lau WL, Tang R, Wong SF, Lau TK, et al. Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for advanced maternal age: What would be missed, who should decide? *Hong Kong Med J* 2008;14(1):6-13.
- Mann K, Hills A, Donaghue C, Thomas H, Ogilvie CM. Quantitative fluorescence PCR analysis of >40,000 prenatal samples for the rapid diagnosis of trisomies 13, 18 and 21 and monosomy X. *Prenat Diagn* 2012;32(12):1197-204.
- Moftah R, Marzouk S, El-Kaffash D, Varon R, Bommer C, Karbasiyan M, Neitzel H. QF-PCR as a molecular-based method for autosomal aneuploidies detection. *Advances in Reproductive Sciences* 2013;1(3):21-8.
- NHS England. NHS Down's Syndrome Screening (Trisomy 21) Programme. Public health functions to be exercised by NHS England. Service specification No.16. NHS England : Londres, Angleterre; 2013. Disponible à : https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/256468/17_nhs_fetal_anomaly.pdf.
- Nicolini U, Lalatta F, Natacci F, Curcio C, Bui TH. The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: Time for reconsideration. *Hum Reprod Update* 2004;10(6):541-8.
- Ogilvie CM, Lashwood A, Chitty L, Waters JJ, Scriven PN, Flinter F. The future of prenatal diagnosis: Rapid testing or full karyotype? An audit of chromosome abnormalities and pregnancy outcomes for women referred for Down's Syndrome testing. *Br J Obstet Gynecol* 2005;112(10):1369-75.
- Papoulidis I, Siomou E, Sotiriadis A, Efstathiou G, Psara A, Sevastopoulou E, et al. Dual testing with QF-PCR and karyotype analysis for prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities. Evaluation of 13,500 cases with consideration of using QF-PCR as a stand-alone test according to referral indications. *Prenat Diagn* 2012;32(7):680-5.
- Saadi AV, Kushtagi P, Gopinath PM, Satyamoorthy K. Quantitative fluorescence polymerase chain reaction (QF-PCR) for prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidies. *Int J Hum Genet* 2010;10(1-3):121-9.
- Scott P, Podemski L, Baptista Wyatt K, Walker C, Haase SM, Elyas BG, et al. Toward optimal detection of the common prenatal aneuploidies by quantitative fluorescent-polymerase chain reaction: Comparison of two commercial assays. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;16(8):943-7.

- Sparkes R, Johnson JA, Langlois S, Wilson RD, Allen V, Blight C, et al. New molecular techniques for the prenatal detection of chromosomal aneuploidy. *J Obstet Gynaecol Can* 2008;30(7):617-27.
- Speevak MD, McGowan-Jordan J, Chun K. The detection of chromosome anomalies by QF-PCR and residual risks as compared to G-banded analysis. *Prenat Diagn* 2011;31(5):454-8.
- Speevak MD, Dolling J, Terespolsky D, Blumenthal A, Farrell SA. An algorithm for the prenatal detection of chromosome anomalies by QF-PCR and G-banded analysis. *Prenat Diagn* 2008;28(13):1221-6.

DOSAGE DE LA CALPROTECTINE FÉCALE (RÉFÉRENCE – 2013-03-005)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeurs

- HMR : essai EK-CAL automatisé
- Hôpital Saint-Luc du CHUM- : essai EK-CAL manuel
- CHUS : essai EliA™ Calprotectin⁴⁰

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS

- HMR : 27 août 2013
- Hôpital Saint-Luc du CHUM- : 27 septembre 2013
- CHUS : 7 juillet 2013

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par les demandeurs ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

EK-CAL : essai immuno-enzymatique, en anglais *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), avec substrat chromogène. Automatisé ou manuel.

EliA™ Calprotectin : essai immuno-enzymatique avec substrat fluorogène. Automatisé.

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

La calprotectine est une protéine présente dans certaines cellules immunitaires, principalement les neutrophiles⁴¹ [Dale *et al.*, 1985]. Lorsque qu'il y a inflammation dans le tractus gastro-intestinal (TGI), les neutrophiles s'y accumulent et la calprotectine se retrouve alors dans les selles [Sherwood, 2012]. Ainsi, la calprotectine fécale est un marqueur de l'inflammation gastro-intestinale [Abraham et Kane, 2012].

40. L'essai EliA™ Calprotectin fait l'objet d'une demande de désignation par le CHUS (communication écrite entre le demandeur et le ministère de la Santé et des Services sociaux, 10 juillet 2013).

41. Neutrophiles : cellules les plus abondantes et les plus importantes des réponses immunitaires innées. Dans leurs vésicules intracellulaires, les neutrophiles détruisent une variété de microorganismes en utilisant notamment des enzymes [Murphy *et al.*, 2008].

Que l'on procède à l'essai EK-CAL (automatisé ou manuel) ou à l'essai EliA™ Calprotectin (automatisé), on doit d'abord traiter de 50 à 100 mg de l'échantillon de selles afin d'en extraire⁴² la calprotectine qui se retrouve par la suite en solution. Puis, le dosage proprement dit est fait en des étapes successives d'incubation⁴³ et de lavage. En gros, la solution issue de l'étape d'extraction est déposée dans des puits déjà recouverts d'anticorps monoclonaux qui capturent la calprotectine. Ensuite sont ajoutés d'autres anticorps monoclonaux qui reconnaissent également la calprotectine et qui sont conjugués à une enzyme (différente selon l'essai). Enfin, l'ajout d'un substrat propre à l'enzyme utilisée permet la détection des complexes anticorps-calprotectine, soit par une réaction qui génère de la couleur (EK-CAL), soit par une autre réaction qui provoque l'émission de fluorescence (EliA™ Calprotectin). La détermination de la concentration en calprotectine est donc faite par lecture, soit de l'absorbance (EK-CAL), soit de la fluorescence (EliA™ Calprotectin), à l'aide d'appareils qui comparent les valeurs des échantillons à celles de standards. Le dosage est quantitatif.

2.3 Société ou développeur

L'essai EK-CAL est fabriqué par Bühlmann Laboratories AG.

L'essai EliA™ Calprotectin est fabriqué par Phadia AB (qui fait maintenant partie de Thermo Fisher Scientific).

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

EK-CAL : homologué par Santé Canada (80726) le 22 septembre 2009.

EliA™ Calprotectin : homologué par Santé Canada (67831) le 6 mars 2012.

2.7 Valeur pondérée

EK-CAL automatisé : 31,80

EK-CAL manuel : 34,25

EliA™ Calprotectin : 27,00

Selon les demandeurs, les calculs de la valeur pondérée incluent l'étape d'extraction de la calprotectine des échantillons de selles.

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Selon l'information fournie dans les demandes, le dosage de la calprotectine fécale servira, chez les enfants et les adultes, au :

42. Cette étape préliminaire d'extraction de la calprotectine à partir d'un échantillon de selles s'effectue à l'aide de l'une des troussees prévues à cet effet (c.-à-d. *Smart-Prep*, *ScheBo® Quick-Prep™* et *EliA Stool Extraction Kit*).

43. Pour l'essai EK-CAL en particulier, le temps total d'incubation est assez court pour un ELISA, soit 75 minutes. (ALPCO. Calprotectin ELISA [site Web]. Disponible à : http://www.alpco.com/products/Calprotectin_ELISA.aspx).

- diagnostic différentiel entre 1) une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) comme la colite ulcéreuse⁴⁴ (CU) et la maladie de Crohn (MC) et 2) le syndrome du côlon irritable (SCI);
- suivi de l'évolution d'une MICI;
- suivi postopératoire ou suivi du traitement d'une telle maladie.

Pour le diagnostic différentiel, un résultat négatif indiquerait un SCI (pas d'inflammation) alors qu'un résultat positif évoquerait une inflammation intestinale [NICE, 2013]. Une endoscopie serait alors indiquée afin de confirmer qu'il s'agit d'une MICI, d'une infection ou d'un cancer [Roche *et al.*, 2013].

3.2 Description des maladies visées

Les symptômes gastro-intestinaux (i.e., douleur abdominale, diarrhée, etc.) sont une raison relativement commune de consulter un médecin et ils peuvent être dus à une MICI, au cancer colorectal, à une infection ou au SCI [Sherwood, 2012].

Les MICI sont en augmentation⁴⁵ dans les pays industrialisés [Burri et Beglinger, 2011] et elles surviennent surtout entre 15 et 25 ans [Higuchi et Bousvaros, 2013]. Leurs symptômes peuvent être atypiques chez les enfants [Sidler *et al.*, 2008]. Les MICI sont idiopathiques⁴⁶, durent toute la vie et sont caractérisées par des poussées entrecoupées de périodes de rémission. Ces poussées imprévisibles peuvent affecter fortement la qualité de vie des patients [Foell *et al.*, 2009]. Dans les cas de CU, l'inflammation atteint le côlon; elle touche communément le rectum et s'étend plus ou moins haut vers le caecum sans toutefois atteindre le grêle [Roche *et al.*, 2013]. Le risque de mortalité n'est pas plus élevé chez ces patients que dans le reste de la population, mais entre 20 et 30 % d'entre eux subiront l'exérèse d'une portion du côlon environ 10 ans après l'apparition de la maladie [NICE, 2013]. L'inflammation responsable de la MC peut quant à elle se trouver essentiellement n'importe où dans le TGI, de la bouche à la région péri-anale [Peppercorn, 2013]. La MC engendre des complications intestinales (fistules, cancer colorectal, etc.) [NICE, 2013] et une légère diminution de l'espérance de vie [Baumgart et Sandborn, 2012]. Enfin, les MICI engendrent aussi des manifestations extra-intestinales, dont certaines (p. ex. l'arthrite) sont plus fréquentes avec la MC qu'avec la CU.

Le SCI est un désordre fonctionnel incommodant qui n'est toutefois pas associé à un mauvais pronostic [NICE, 2013]. L'étiologie du SCI n'a pas été établie et le traitement est symptomatique. Ce syndrome afflige approximativement entre 6 % et 22 % de la population générale, selon les études [Drossman *et al.*, 1997].

3.3 Nombre de patients visés

Selon l'information fournie dans les demandes :

- EK-CAL (automatisé) : 2000 analyses par an;
- EK-CAL (manuel) : 500 analyses par an;
- EliATM Calprotectin 1700 à 2500 analyses par an.

44. La colite ulcéreuse est nommée *rectocolite hémorragique* par certains auteurs.

45. Plus précisément, dans les pays occidentaux, l'incidence de la colite ulcéreuse est de 10-20/100 000 personnes et sa prévalence est de 100-200/100 000 personnes. L'incidence de la maladie de Crohn est de 5-10/100 000 personnes et sa prévalence est de 50-100/100 000 personnes [Vaughn *et al.*, 2013].

46. Bien que l'étiologie des maladies inflammatoires de l'intestin soit inconnue, il semblerait qu'une prédisposition génétique ainsi que des facteurs environnementaux et un dysfonctionnement immunitaire aient un rôle à jouer [Ayling, 2012].

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Médecins généralistes, médecins de famille, gastro-entérologues, pédiatres.

3.5 Modalités d'administration du test

Grâce à sa capacité à fixer le calcium, la calprotectine demeure stable dans les selles pendant au moins 5 jours à la température ambiante, de sorte que le patient peut procéder lui-même à l'échantillonnage des selles à la maison, et ce, à l'aide d'un contenant non stérile qu'il transmet par la suite au laboratoire par la poste [Kallel *et al.*, 2011].

Le CHUS prévoit faire l'essai EliA™ Calprotectin 2 fois/semaine; le CHUM-Hôpital Saint-Luc prévoit que le temps de réponse de l'essai EK-CAL manuel sera de 2 semaines et l'HMR prévoit pratiquer l'essai EK-CAL automatisé 1 fois/semaine ou aux 2 semaines.

Tandis qu'une trousse d'essai EK-CAL est conçue pour doser 96 puits, l'essai EliA™ se présente sous forme de matériel et de réactifs vendus séparément et dont un emballage contient 48 puits (4 groupes de 12 puits).

Selon les renseignements fournis dans les demandes, le système DSX™ de DYNEX Technologies Inc. serait utilisé pour l'essai EK-CAL automatisé; un laveur de plaques et un lecteur de plaques seraient employés pour l'essai EK-CAL manuel; et le système Phadia 250 serait utilisé avec l'essai EliA™ Calprotectin (automatisé). Le système DSX™ permet de traiter un maximum de 4 plaques de 96 puits en même temps⁴⁷. Le système automatisé Phadia 250 permet de mener tant des essais EliA™ que des essais ImmunoCAP®⁴⁸ au rythme de 60 analyses/heure⁴⁹.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Le dosage de la calprotectine fécale peut aider à réduire le nombre d'endoscopies, quoique l'endoscopie demeure nécessaire au diagnostic définitif [Judd *et al.*, 2011].

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Le monitoring de l'inflammation revêt une grande importance pour différencier les MICI du SCI, évaluer l'activité des MICI et l'efficacité de leur traitement⁵⁰. Pour ce faire, les cliniciens ont habituellement recours à l'examen clinique, aux examens radiologiques et à l'endoscopie avec biopsie⁵¹ (étalon-or) [Judd *et al.*, 2011]. Une autre analyse, moins courante, est également disponible⁵² [Sherwood, 2012].

47. DYNEX Technologies [site Web]. Disponible à : <http://www.dynextechnologies.com/dsx-elisa-immunoassay-96-well-microplates.php>.

48. Divers essais ImmunoCAP® sont disponibles pour doser, notamment, des immunoglobulines et des enzymes.

49. Thermo Fisher Scientific [site Web]. Disponible à : <http://www.thermoscientific.com/en/about-us/promotions/laboratory-products-and-services-catalog.html>.

50. Le traitement des MICI comprend une bonne hygiène de vie, des médicaments comme l'infliximab, un anticorps monoclonal dirigé contre le facteur de nécrose tumorale-alpha et des interventions chirurgicales afin d'induire et de maintenir une rémission [NICE, 2013].

51. Habituellement, les lésions endoscopiques associées à la maladie de Crohn sont segmentaires, asymétriques et les zones saines alternent avec les zones atteintes. Les biopsies mettent en évidence des pertes de muqueuse, une infiltration de cellules immunitaires et des granulomes très évocateurs de la maladie. Les lésions associées à la colite ulcéreuse sont plutôt homogènes et continues dès la jonction anorectale et elles s'arrêtent assez brusquement. L'analyse histologique révèle des distorsions glandulaires et une déplétion en mucus liée à une diminution de la densité des cryptes [Roche *et al.*, 2013].

52. Il existe une autre analyse reconnue pour le diagnostic de l'inflammation gastro-intestinale, qui est toutefois moins courante que l'endoscopie car elle est impraticable comme test diagnostique de routine. Il s'agit du dosage de l'excrétion fécale de granulocytes marqués à l'indium 111 (¹¹¹In). Les granulocytes sont des cellules qui contiennent des granules cytoplasmiques (i.e. neutrophiles, éosinophiles et

Toutefois, l'endoscopie est un examen relativement coûteux, effractif, inconfortable pour les patients s'il n'est pas réalisé sous anesthésie générale et elle n'est pas sans risque [Roche *et al.*, 2013]. De plus, elle requiert une mobilisation considérable de ressources ainsi qu'une préparation non négligeable de la part du patient. Or, plusieurs études ont montré que plus de 60 % des colonoscopies s'avèrent normales [Waugh *et al.*, 2013]. Ainsi, il est important de disposer d'une analyse qui puisse distinguer entre une MICI et le SCI afin d'accélérer le diagnostic et de réduire les listes d'attente pour une endoscopie.

Dès lors, la calprotectine est devenue le marqueur fécal le plus étudié relativement aux MICI [Kallel *et al.*, 2011]. Par ailleurs, la méta-analyse de Van Rheenen et ses collaborateurs [2010] montre, à juste titre, que la calprotectine fécale est un outil utile qui permet de mieux cibler les patients qui ont réellement besoin d'une endoscopie.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le dosage de la calprotectine fécale est non effractif et il ne nécessite qu'une petite quantité de matière fécale, dans laquelle, par ailleurs, elle résiste à la dégradation bactérienne, elle est distribuée uniformément et elle se trouve en quantité proportionnelle à l'inflammation [Abraham et Kane, 2012].

La calprotectine fécale traduit l'ensemble de l'atteinte digestive alors que les biopsies ne permettent pas une analyse globale d'un organe et ne peuvent pas être pratiquées dans des zones difficilement accessibles par endoscopie. Il s'agit d'un marqueur plus fiable que les marqueurs systémiques et non spécifiques de l'inflammation comme la protéine C réactive et la vitesse de sédimentation [Roche *et al.*, 2013].

Dans une méta-analyse de 13 études, Van Rheenen et ses collaborateurs [2010] ont montré que le dosage de la calprotectine fécale a engendré une diminution significative du nombre de patients qui devaient subir une colonoscopie (67 % pour les adultes et 35 % pour les enfants) et qu'elle a entraîné un retard du diagnostic dans moins de 10 % des cas.

Selon l'étude de Yang et ses collègues [2014] menée aux États-Unis, le dosage de la calprotectine fécale comme modalité d'investigation avant l'endoscopie avec biopsie chez les nouveaux patients (enfants et adultes) qui ont des symptômes de MICI représente une stratégie valable sur le plan coût-efficacité. Par ailleurs, la valeur seuil de 50 µg/g réduit les faux négatifs sans trop augmenter les coûts.

Une étude suédoise montre que la demande estimée de colonoscopies a été réduite de 50 % par l'utilisation du dosage de la calprotectine fécale (valeur seuil de 50 µg/g) chez les patients que l'on soupçonne d'être atteints d'une MICI, ce qui correspond à un coût évité d'environ 1,57 million d'euros [Mindemark et Larsson, 2012].

4.4 Coût de la technologie et des options

Entre le 1^{er} avril 2012 et le 31 mars 2013, 35 analyses de calprotectine fécale ont été envoyées hors Québec aux Mayo Medical Laboratories (coût unitaire de 172 \$ ou 198 \$, soit un total de 6870 \$⁵³).

5 DONNÉES PROBANTES

basophiles) [Delves *et al.*, 2011]. Cette analyse nécessite la collecte du sang du patient, le marquage *in vitro* de ses granulocytes avec l'isotope ¹¹¹In, l'injection du sang dans le patient et la mesure de l'isotope en question dans les selles (étape qui s'échelonne sur plusieurs jours) [Sherwood, 2012].

53. Information fournie par le ministère de la Santé et des Services sociaux.

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Le dosage de la calprotectine fécale ne remplacerait aucune analyse inscrite au Répertoire.

5.1.2 Valeur diagnostique

Pour les fins d'un récent rapport sur le diagnostic différentiel fait à l'aide du dosage de la calprotectine fécale [Waugh *et al.*, 2013], le National Institute for Health Research (NIHR) a fait une revue systématique de la littérature scientifique (voir les résultats dans la section 5.2) et une évaluation économique⁵⁴. Tant les tests ELISA avec substrat chromogène que ceux avec substrat fluorogène (essai EliA™ Calprotectin) faisaient l'objet du rapport, mais aucune donnée relative à ces derniers n'a été trouvée. Le NIHR conclut, à partir des études originales sur l'efficacité clinique, que le dosage de la calprotectine fécale est utile pour distinguer les MICI des affections non inflammatoires et qu'aucune méthode de dosage n'est préférable à une autre [Waugh *et al.*, 2013]. Des publications d'autres types (rapport, revue systématique, etc.) ont aussi été considérées par les auteurs du rapport, et les plus récentes parutions⁵⁵ concluent également que le dosage de la calprotectine fécale est un outil diagnostique très utile [Waugh *et al.*, 2013].

5.1.3 Valeur pronostique et valeur thérapeutique

Le dosage de la calprotectine fécale prédit l'évolution de la maladie au fil des ans et peut aider au suivi et aux stratégies de traitement des patients (voir les résultats dans la section 5.2).

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (RV)	x		
Courbe ROC	x		
Exactitude	x		

Dans leur revue systématique de la littérature, les auteurs du rapport du NIHR révèlent les résultats d'études originales qu'ils ont regroupées selon des comparaisons de troubles intestinaux (MICI vs SCI, maladie organique⁵⁶ vs SCI, etc.) [Waugh *et al.*, 2013]. Le tableau 1 en annexe en montre un résumé. Les études ont pu être regroupées au sein de ces groupes

54. Il ressort notamment de cette évaluation économique que le dosage de la calprotectine fécale par ELISA engendre des économies.

D'une part, dans un contexte de soins primaires, le dosage permet une épargne moyenne estimée à 82 £ par patient (en comparaison avec une pratique qui n'inclut pas ce dosage). Le résultat est attribuable à la réduction du nombre d'endoscopies. D'autre part, dans un contexte de soins secondaires, le dosage permet une épargne moyenne estimée à 205 £ par patient (en comparaison avec une pratique dans laquelle tous les cas sont directement adressés au service approprié pour une colonoscopie) [Waugh *et al.*, 2013].

55. Il s'agit d'un rapport du York Health Economics Consortium (YHEC) [2010], de la revue systématique de Jellema et ses collègues [2011] et de celle de Henderson et ses collaborateurs [2013].

56. La maladie organique était autrefois définie comme étant une condition dans laquelle il y a un processus de maladie observable et mesurable (comme l'inflammation). Le terme *maladie organique* inclut les MICI [NICE, 2013].

de comparaison et fournir ainsi des données globales (sensibilité, spécificité et aire sous la courbe) somme toute élevées. Pour chaque étude considérée dans la revue systématique, les auteurs montrent également des données de VPP, de VPN, de RV et d'exactitude, mais aucune donnée globale pour ces paramètres. L'interprétation de ces données, qui varient considérablement, est donc difficile. Pour un paramètre donné, l'écart entre les résultats peut s'expliquer par : les différences entre les études, par exemple dans la population (enfants ou adultes ou les deux); la prévalence et la classification des maladies (MICI, organique, etc.); et les sous-groupes créés en fonction de certaines manifestations cliniques (p. ex. adénomes).

Schoepfer et ses collègues [2010] ont montré que, parmi plusieurs marqueurs (dont la protéine C réactive), la calprotectine fécale était la seule à pouvoir discriminer la MC inactive de la MC légère, modérée ou à haute activité endoscopique. Dans une étude prospective multicentrique, Jensen et ses collaborateurs [2011] montrent que le dosage de la calprotectine fécale avec la trousse EK-CAL est aussi sensible dans les cas de MC restreinte au grêle (92 %) que dans les cas de MC restreinte au côlon (94 %), et ce, dans une population de 83 patients âgés de 16 à 71 ans.

Dans un dépliant, le fabricant de l'essai EliA™ Calprotectin indique une sensibilité de 97,7 %; une spécificité de 89,8 %; une VPP de 96 %; une VPN de 95 %; un RV positif de 9,58; et un RV négatif de 0,03⁵⁷.

Les trois études repérées qui ont trait à la valeur pronostique ou thérapeutique du dosage de la calprotectine sont présentées dans le tableau 2 en annexe. Il en ressort que le dosage de la calprotectine fécale prédit l'évolution de la maladie au fil des ans et qu'il peut aider au suivi et à l'établissement des stratégies de traitement des patients.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité		x	
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice		x	
Concordance		x	
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test	x		

Les trois études qui ont fourni des données sur la validité analytique sont présentées dans le tableau 3 en annexe. Elles concernent des ELISA avec substrat chromogène, et aucune sur l'EliA™ Calprotectin n'a été répertoriée. Il est connu que le dosage de la calprotectine fécale corrèle bien en général avec les résultats endoscopiques et histologiques au regard de l'inflammation [Sipponen *et al.*, 2008; Roseth *et al.*, 1997], et les nouveaux résultats (tableau 3) le confirment à nouveau en plus de montrer que la variabilité de ce dosage, jour après jour, est faible chez les patients en rémission de MC. Cette analyse peut donc être

57. Phadia AB [site Web]. Disponible à : <http://www.phadia.com/PageFiles/29347/Product%20information%20EliA%20Calprotectin.pdf>.

utilisée avec confiance comme outil prédictif et pour prendre des décisions cliniques relatives à cette population. Selon une étude faite sur trois essais avec substrat chromogène, l'essai EK-CAL affiche la meilleure précision intraessai tandis que la précision intraessai est similaire et adéquate. Les auteurs sont d'avis qu'une validation (*standardisation*) des essais est nécessaire [Whitehead *et al.*, 2013].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Au Royaume-Uni, dans ses plus récentes lignes directrices sur le sujet, qui sont basées sur le rapport du NIHR [Waugh *et al.*, 2013], le National Institute for Health and Care Excellence (NICE) recommande, sous conditions⁵⁸, le dosage de la calprotectine fécale comme option pour aider les cliniciens à établir le diagnostic différentiel des MICI et du SCI chez les adultes et les enfants [NICE, 2013]. Le dosage de la calprotectine fécale y représente par ailleurs une utilisation coût-efficace des ressources du système de santé (le National Health System) pour faire la distinction entre une MICI et un SCI chez les adultes dans les soins primaires [NICE, 2013].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été évalué.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été évaluées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été évalués.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique et validité clinique

Selon le NIHR (sur la base d'une revue systématique d'études originales), le dosage de la calprotectine fécale est une méthode de diagnostic utile pour différencier les MICI des affections non inflammatoires, et aucune méthode de dosage n'est préférable à une autre. De surcroît, selon une étude, la calprotectine fécale est le seul marqueur à pouvoir discriminer la MC inactive de la MC légère, modérée ou à haute activité endoscopique. De plus, selon trois études, cette analyse prédit l'évolution de la maladie au fil des ans et peut aider au suivi et à l'élaboration des stratégies de traitement des patients. L'analyse corrèle bien avec les résultats endoscopiques et histologiques. Elle peut être utilisée avec confiance comme outil prédictif et pour prendre des décisions cliniques concernant des patients atteints de la MC.

7.2 Validité analytique

La trousse EK-CAL a montré au cours d'une étude la meilleure précision intraessai, tandis qu'elle a offert une précision intraessai qui était adéquate et similaire à celle d'autres essais. Selon les auteurs de cette étude, une validation des essais (en l'occurrence les essais enzymatiques avec substrat chromogène) est toutefois nécessaire.

58. Un cancer n'est pas suspecté et un accès aux soins est déterminé localement. Des processus appropriés d'assurance de la qualité sont en place pour cette analyse [NICE, 2013].

7.3 Recommandations d'autres organismes

Le NICE recommande le dosage de la calprotectine fécale comme option pour aider les cliniciens à établir le diagnostic différentiel des MICI et du SCI chez les adultes présentant des symptômes gastro-intestinaux récents et pour lesquels une consultation avec un spécialiste est envisagée si un cancer n'est pas suspecté. Chez les enfants qui ont été orientés vers un spécialiste pour évaluation, le dosage de la calprotectine est recommandé comme option pour aider les cliniciens à établir le diagnostic différentiel des MICI et non MICI (y inclus le SCI). Autant chez les enfants que chez les adultes, le NICE recommande qu'un processus approprié d'assurance de la qualité et des algorithmes cliniques soient mis en place.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de la calprotectine fécale

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction conditionnelle
 - À la production d'un algorithme pour les indications cliniques;
 - Au suivi étroit des prescriptions et des résultats;
 - À un contrôle de la qualité interne et externe.
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Il y a peu de données disponibles concernant la technique EliA Calprotectin.

Attention à la surprescription de cette analyse : elle ne devrait pas être prescrite aux adultes pour lesquels on n'envisage pas une orientation vers un spécialiste, ni aux patients avec un diagnostic possible de cancer, ni aux enfants avec suspicion de maladie inflammatoire de l'intestin qui ne sont pas orientés vers un spécialiste.

Le MSSS doit faire un suivi afin de s'assurer que l'usage de cette analyse permettra une diminution du nombre de colonoscopies.

RÉFÉRENCES

- Abraham BP et Kane S. Fecal markers: Calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol Clin North Am* 2012;41(2):483-95.
- Ayling RM. New faecal tests in gastroenterology. *Ann Clin Biochem* 2012;49(Pt 1):44-54.
- Baumgart DC et Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012;380(9853):1590-605.
- Burri E et Beglinger C. Faecal calprotectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Biochem Med (Zagreb)* 2011;21(3):245-53.
- Dale I, Brandtzaeg P, Fagerhol MK, Scott H. Distribution of a new myelomonocytic antigen (L1) in human peripheral blood leukocytes. Immunofluorescence and immunoperoxidase staining features in comparison with lysozyme and lactoferrin. *Am J Clin Pathol* 1985;84(1):24-34.
- Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's essential immunology. 12^e éd. Chichester, Royaume-Uni : Wiley-Blackwell; 2011.
- Drossman DA, Whitehead WE, Camilleri M. Irritable bowel syndrome: A technical review for practice guideline development. *Gastroenterology* 1997;112(6):2120-37.
- Foell D, Wittkowski H, Roth J. Monitoring disease activity by stool analyses: From occult blood to molecular markers of intestinal inflammation and damage. *Gut* 2009;58(6):859-68.
- Henderson P, Anderson NH, Wilson DC. The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013 [Epub ahead of print].
- Higuchi LM et Bousvaros A. Clinical features and diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Jellema P, van Tulder MW, van der Horst HE, Florie J, Mulder CJ, van der Windt DA. Inflammatory bowel disease: A systematic review on the value of diagnostic testing in primary care. *Colorectal Dis* 2011;13(3):239-54.
- Jensen MD, Kjeldsen J, Nathan T. Fecal calprotectin is equally sensitive in Crohn's disease affecting the small bowel and colon. *Scand J Gastroenterol* 2011;46(6):694-700.
- Judd TA, Day AS, Lemberg DA, Turner D, Leach ST. Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26(10):1493-9.
- Kallel L, Fekih M, Boubaker J, Filali A. Place de la calprotectine fécale au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin : mise au point. *Tunis Med* 2011;89(5):425-9.
- Lasson A, Simren M, Stotzer PO, Isaksson S, Ohman L, Strid H. Fecal calprotectin levels predict the clinical course in patients with new onset of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19(3):576-81.
- Mao R, Xiao YL, Gao X, Chen BL, He Y, Yang L, et al. Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: A meta-analysis of prospective studies. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(10):1894-9.

- Mindemark M et Larsson A. Ruling out IBD: Estimation of the possible economic effects of pre-endoscopic screening with F-calprotectin. *Clin Biochem* 2012;45(7-8):552-5.
- Molander P, af Björkesten CG, Mustonen H, Haapamäki J, Vauhkonen M, Kolho KL, et al. Fecal calprotectin concentration predicts outcome in inflammatory bowel disease after induction therapy with TNFalpha blocking agents. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(11):2011-7.
- Murphy KP, Travers P, Walport M, Janeway C. Janeway's immunobiology. 7^e éd. New York, NY : Garland Science; 2008.
- Naismith GD, Smith LA, Barry SJ, Munro JJ, Laird S, Rankin K, et al. A prospective single-centre evaluation of the intra-individual variability of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;37(6):613-21.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Faecal calprotectin diagnosis tests for inflammatory diseases of the bowel. NICE diagnostics guidance 11. Londres, Angleterre : NICE; 2013. Disponible à : <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/14285/65337/65337.pdf>.
- Peppercorn M. Clinical manifestations, diagnosis and prognosis of Crohn disease in adults. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Roche C, Mallaret C, Moalic J-L, Coton T, Oliver M. Intérêt de la calprotectine dans le diagnostic et le suivi des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Feuilles de Biologie* 2013;54(312):5-10.
- Roseth AG, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion* 1997;58(2):176-80.
- Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummel M, Vavricka SR, Bruegger LE, Seibold F. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010;105(1):162-9.
- Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *J Clin Pathol* 2012;65(11):981-5.
- Sidler MA, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14(3):359-66.
- Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Farkkila M. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: Correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14(1):40-6.
- Van Rhee PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: Diagnostic meta-analysis. *BMJ* 2010;341:c3369.
- Wagh N, Cummins E, Royle P, Kandala N-B, Shyangdan D, Arasaradnam R, et al. Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: Systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2013;17(55):1-211.
- Whitehead SJ, French J, Brookes MJ, Ford C, Gama R. Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Ann Clin Biochem* 2013;50(Pt 1):53-61.

Yang Z, Clark N, Park KT. Effectiveness and cost-effectiveness of measuring fecal calprotectin in diagnosis of inflammatory bowel disease in adults and children. Clin Gastroenterol Hepatol 2014;12(2):253-62.e2.

York Health Economics Consortium (YHEC). Economic report: Value of calprotectin in screening out irritable bowel syndrome. CEP09041. York, Royaume-Uni : YHEC; 2010. Disponible à : www.alphalabs.co.uk/asp/db/documents/cep09026_Calprotectin%20Economic_Jan10.pdf.

ANNEXE A

Tableau A1 Valeur diagnostique. Résultats de la revue systématique présentée dans le rapport de Waugh *et al.*, [2013] sur le diagnostic différentiel effectué majoritairement dans un contexte de soins secondaires et avec une méthode endoscopique comme comparateur

ÉTUDE	SENSIBILITÉ (IC à 95 %)	SPÉCIFICITÉ (IC à 95 %)	AIRE SOUS LA COURBE (IC à 95 %)
Diagnostic : MICI vs SCI			
6 études regroupées	0,93 (de 0,83 à 0,97)	0,94 (de 0,73 à 0,99)	0,97 (de 0,95 à 0,98)
Diagnostic : MICI vs non MICI			
6 études regroupées	0,99 (de 0,95 à 1,00)	0,74 (de 0,59 à 0,86)	0,99 (de 0,98 à 1,00)
Diagnostic : maladie organique vs SCI			
4 études distinctes	Varie entre 0,63 (de 0,44 à 0,80) et 0,90 (de 0,70 à 0,99)	Varie entre 0,60 (de 0,50 à 0,70) et 0,93 (de 0,68 à 1,00)	n.d.
Diagnostic : maladie organique vs maladie non organique			
7 études distinctes	Varie entre 0,43 (de 0,35 à 0,52) et 0,89 (de 0,85 à 0,92)	Varie entre 0,47 (de 0,41 à 0,53) et 0,98 (de 0,96 à 1,00)	n.d.

Abréviations : IC : intervalle de confiance; MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin; n : nombre total de patients dans l'étude; n.d. : non disponible.

Notes

Relativement à la sensibilité et à la spécificité issues des études distinctes, la plus faible valeur trouvée parmi les études de même que la plus élevée sont présentées dans le tableau.

Les dosages de la calprotectine fécale ont été faits à l'aide de divers essais ELISA avec substrat chromogène (dont l'essai EK-CAL). Les résultats présentés sont relatifs à une valeur seuil de 50 µg/g (car il s'agit de celle préconisée par le NIHR) [Waugh *et al.*, 2013].

Tableau A2 Valeur pronostique. Résultats des études sur l'utilisation du dosage de la calprotectine fécale comme outil de prédiction de rechute de la maladie

ÉTUDE				POPULATION		PARAMÈTRES					
ÉTUDE	PLAN	TYPE D'ESSAI	VALEUR SEUIL µg/g	NOMBRE ET ÂGE	MALADIE STADE	Se % (IC à 95 %)	Sp % (IC à 95 %)	VPP %	VPN %	RV	ASC (IC à 95 %)
Lasson <i>et al.</i> , 2013	Étude prospective	Bühlmann Laboratories AG	262	n = 69 de 18 à 74 ans	CU, après traitement initial de 3 mois	1 an : 64,4 2 ans : 51,1 3 ans : 52,2	1 an : 70,8 2 ans : 81,8 3 ans : 85,7	1 an : 80,6 2 ans : 85,2 3 ans : 88,9	1 an : 51,5 2 ans : 45,0 3 ans : 45,0	n.d.	1 an : 0,69 (de 0,56 à 0,82) 3 ans : 0,70 (de 0,57 à 0,83)
Mao <i>et al.</i> , 2012	M-A de 6 études prospectives	Eurospital (essai Calprest) ou ELISA maison dans 1 étude	120-340	n = 672 (de 15 à 80 ans)	MICI (CU et MC), en rémission	MICI : 78 (de 72 à 83) CU : 77 (de 67 à 85) MC : 75 (de 64 à 84)	MICI : 73 (de 68 à 77) CU : 71 (de 64 à 77) MC : 71 (de 64 à 76)	ND	ND	Positif : MICI : 2,81 (de 2,09 à 3,78) CU : 2,47 (de 1,92 à 3,19) MC : 2,37 (de 1,56 à 3,61) Négatif : MICI : 0,31 (de 0,20 à 0,47) CU : 0,36 (de 0,24 à 0,53) MC : 0,41 (de 0,27 à 0,61)	MICI : 0,83 ± 0,05 CU : 0,78 ± 0,04 MC : 0,79 ± 0,05
Molander <i>et al.</i> , 2012	Étude prospective	Calpro (essai PhiCal)	139	n = 60 (de 19 à 52 ans)	MICI, sous traitement	1 an : 72	1 an : 80	n.d.	n.d.	n.d.	1 an : 0,838 (de 0,724 à 0,951)

Abréviations : ASC : aire sous la courbe ROC; CU : colite ulcéreuse; ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; IC : intervalle de confiance; M-A : méta-analyse; MC : maladie de Crohn; MICI : maladie inflammatoire de l'intestin; n : nombre total de patients; n.d. : non disponible; RV : rapport de vraisemblance; Se : sensibilité; Sp : spécificité; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

Tableau A3 Validité analytique. Résultats des études portant sur la maladie de Crohn

		POPULATION	PARAMÈTRES								
ÉTUDE	TYPE D'ESSAI	NOMBRE ÂGE STADE	PRÉCISION		REPRODUCTI- BILITÉ Coefficient Kappa (IC à 95 %)	Se (µg/g)	Sp (µg/g)	CORRÉLATION		RÉCUPÉ- RATION (% moyen ± ET)	LINÉARITÉ DE DILUTION (% moyen de déviation)
			INTERESSAI (%)	INTRAESSAI (%)				INTRA- CLASSE* (IC à 95 %)	SPEARMAN		
Naismith <i>et al.</i> , 2013	Bühlmann Laboratories AG (essai EK-CAL)	n = 143 47 ans (moyenne) En rémission	n.d.	n.d.	0,648 (de 0,511 à 0,769)	n.d.	n.d.	0,84 (de 0,79 à 0,89)	n.d.	n.d.	n.d.
Whitehead <i>et al.</i> , 2013	Bühlmann Laboratories AG (essai EK-CAL automatisé)	n.d.	5,3-8,2	5,2-10,3	n.d.	9,0	3,8	n.d.	n.d.	96 ± 8	0
	Immunodiagnostik (essai Phi-Cal automatisé)	n.d.	7,0	8,1-11,6	n.d.	3,0	1,2	n.d.	n.d.	97 ± 16	+ 17
	Eurospital (essai Calprest® automatisé)	n.d.	7,1-8,2	4,8-8,6	n.d.	2,0	0,3	n.d.	n.d.	103 ± 6	+ 12
Schoepfer <i>et al.</i> , 2010	Calpro (essai PhiCal)	n = 165 19-83 ans n.d., mais diagnostic de plus de 3 mois	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	r = 0,75	n.d.	n.d.

Abréviations : ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; ET : écart-type; n : nombre total de patients dans l'étude; n.d. : non disponible; Se : sensibilité, c'est-à-dire la plus faible limite de détection; Sp : spécificité, c'est-à-dire la limite de détection du blanc.

* La corrélation intraclasse, calculée à partir des valeurs de calprotectine fécale transformées en logarithme, mesure la proportion de la variabilité totale (parmi les échantillons de tous les patients) attribuable aux variations entre les patients [Naismith *et al.*, 2013].

Note : Les études étaient toutes prospectives et relatives à une valeur seuil de 50 µg/g. Des échantillons témoin étaient le comparateur, sauf dans l'étude de Schoepfer *et al.*, [2010] dans laquelle c'était l'endoscopie (*Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*).

DOSAGE DE L'ACIDE VALPROÏQUE LIBRE (RÉFÉRENCE – 2013.03.006)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- 1.2 **Date de transmission de la demande d'examen au MSSS** : 1^{er} mai 2013
- 1.3 **Date de réception de la demande à l'INESSS** : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Ultrafiltration préalable au dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (*chemiluminescent microparticle immunoassay* – CMIA).

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

Le requérant utilise une ultrafiltration du sérum pour purifier l'échantillon avant la quantification de l'acide valproïque sous sa forme libre par dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

L'ultrafiltration a pour but de purifier l'échantillon en gardant uniquement la fraction libre⁵⁹ de l'acide valproïque, c'est-à-dire la forme non liée aux protéines [Liu *et al.*, 1992; Cramer *et al.*, 1983]. La méthode du requérant consiste d'abord à préparer le sérum par une centrifugation initiale. Ensuite, une aliquote est filtrée à travers une membrane filtrante de pores de très petit diamètre⁶⁰ à l'aide d'une seconde centrifugation afin d'obtenir un ultrafiltrat sans les protéines (information fournie par le requérant).

Le CMIA est un dosage immunologique pour la mesure quantitative de l'acide valproïque dans le sérum ou le plasma humain. Des microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-acide valproïque se lient à l'acide valproïque présent dans l'échantillon et au conjugué d'acide valproïque marqué à l'acridinium. Après lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées⁶¹. La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL) par l'analyseur [Abbott Laboratories, 2009]. La relation entre la quantité d'analyte (acide valproïque de l'échantillon) et les URL est inverse. Autrement dit, plus il y a d'analyte, moins intense est le signal lumineux.

59. Plus de 90 % de l'acide valproïque est lié aux protéines plasmatiques (principalement l'albumine) [APC, 2013].

60. La membrane filtrante est intégrée dans un tube prévu à cette fin.

61. Ces solutions servent à activer le chromophore, soit l'acridinium.

Les valeurs de référence retenues par le laboratoire du requérant sont de 35 à 70 µmol/l pour la fraction libre et de 347 à 693 µmol/l pour l'acide valproïque total.

2.3 Société ou développeur

Méthode maison pour l'ultrafiltration; trousse de réactifs de la compagnie Abbott Laboratories pour le CMIA.

2.4 Licences : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse de réactifs, ARCHITECT /Valproic Acid^{MC}, est homologuée par Santé Canada (n° 1199, 21 mai 2009) et par la FDA (n° K090358, 7 août 2009).

2.7 Valeur pondérée : 38,0

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Patients traités à l'acide valproïque, qui présentent des signes et des symptômes de toxicité malgré des concentrations normales d'acide valproïque total ou qui ont besoin d'un suivi de la thérapie en cas d'hypoprotéïnémie (y inclus l'hypoalbuminémie), d'insuffisance rénale ou hépatique, d'hépatite ou pour les patients traités à l'acide valproïque en pédiatrie.

3.2 Description de la maladie visée

L'épilepsie et son traitement

L'épilepsie est la maladie neurologique la plus fréquente, après la migraine. Sa prévalence estimée varie entre 0,5 % et 1 % dans la population occidentale [Forsgren *et al.*, 2005]. Elle se caractérise par des crises récurrentes causées par une activité cérébrale excessive.

L'acide valproïque est un médicament anticonvulsif indiqué pour le traitement des absences épileptiques simples ou complexes⁶², en monothérapie ou en combinaison avec d'autres anticonvulsivants. Il est également utile pour traiter des crises convulsives généralisées d'emblée avec manifestations tonico-cloniques [APC, 2013], des troubles polaires et dans la prophylaxie de la migraine [DeVane, 2003; Warner *et al.*, 1998]. Ce médicament a été utilisé en clinique la première fois en 1964 [Liu *et al.*, 1992]. Il est disponible en France depuis 1967 et aux États-Unis depuis 1978 [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010]. Au Québec, il est inscrit à la liste des médicaments et couvert par le régime public d'assurance médicaments depuis au moins 1998⁶³.

62. L'absence épileptique simple se définit comme une très brève obnubilation ou perte de conscience (habituellement 2 à 15 secondes), accompagnée de décharge épileptique généralisée sans autre signe clinique observable. Le terme « absence épileptique complexe » est utilisé lorsque d'autres signes cliniques sont présents [APC, 2013].

63. Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Extrait d'avis au Ministre : Acide valproïque [site Web]. Évaluation publiée le 1 juillet 1998. Disponible à : <https://www.inesss.qc.ca/activites/evaluation-des-medicaments/evaluation-des-medicaments/extrait-davis-au-ministre/toutes-les-marques-1.html>.

L'innocuité et l'efficacité de l'acide valproïque dans le traitement de l'épilepsie et de la manie n'ont pas été étudiées chez les personnes âgées de 65 ans ou plus. Chez les enfants de moins de 2 ans, ce médicament doit être utilisé avec une prudence extrême et uniquement en monothérapie. L'administration de l'acide valproïque est contre-indiquée chez les patients atteints d'une maladie hépatique ou d'insuffisance hépatique significative, en présence de troubles connus du cycle de l'urée ou en présence d'hypersensibilité connue au médicament. Des précautions importantes peuvent également être prises à cause du risque d'hépatotoxicité, de tératogenèse⁶⁴ et de pancréatite. Les effets indésirables les plus fréquents de l'acide valproïque sont d'ordre gastro-intestinal (nausées, vomissements, indigestion) ou ils se traduisent par une somnolence et des tremblements [APC, 2013].

La pharmacocinétique et le dosage du médicament

L'acide valproïque est rapidement absorbé après administration orale. La prise de nourriture ne compromet pas l'absorption totale. Le pic de concentration sérique est atteint environ 1 à 4 heures après l'administration orale [APC, 2013]. L'état d'équilibre est atteint en 2 à 4 jours [Warner *et al.*, 1998]. Ce médicament est fortement lié (90 %) aux protéines plasmatiques (principalement l'albumine). Cette liaison aux protéines plasmatiques étant saturable, la relation entre la dose et la concentration de valproate⁶⁵ est non linéaire, c'est-à-dire que la concentration n'augmente pas proportionnellement à la dose, mais un peu moins. Toutefois, la cinétique de la forme libre de ce médicament (non liée aux protéines) est linéaire. La biotransformation du valproate est presque entièrement hépatique. L'acide valproïque et ses dérivés sont éliminés surtout dans l'urine. Très peu de la molécule mère inchangée se retrouve dans l'urine. La demi-vie⁶⁶ sérique varie entre 6 et 16 heures [APC, 2013].

Diverses interactions médicamenteuses peuvent influencer sur la pharmacocinétique de l'acide valproïque, et *vice versa* [APC, 2013]. Par exemple, les antibiotiques carbapénèmes peuvent abaisser le taux sérique d'acide valproïque sous le seuil thérapeutique [APC, 2013; Bentué-Ferrer *et al.*, 2010]. L'augmentation de la dose d'acide valproïque pourrait ne pas être suffisante pour compenser cette interaction. Une surveillance quotidienne du taux sérique d'acide valproïque doit alors être faite si la coadministration est essentielle [APC, 2013].

L'insuffisance rénale est associée à une augmentation de la fraction libre du valproate. La surveillance de la concentration totale chez les patients atteints d'insuffisance rénale peut être trompeuse puisqu'elle peut être normale même si la concentration de la fraction libre est substantiellement plus élevée [APC, 2013]. Le dosage de cette dernière pourrait donc être utile, voire essentiel pour certains patients.

L'analyse de l'acide valproïque sous sa forme libre pourrait être utilisée dans le suivi thérapeutique des patients épileptiques traités avec ce médicament dans des situations cliniques particulières, notamment : lorsqu'il y a présence de signes et de symptômes de toxicité malgré des concentrations normales d'acide valproïque total ou dans le cas d'un suivi de la thérapie en présence d'hypoprotéïnémie (y inclus l'hypoalbuminémie), d'insuffisance rénale ou hépatique, d'hépatite et en pédiatrie (information fournie par le requérant).

64. L'administration de l'acide valproïque à une femme enceinte ou en âge de procréer impose une évaluation comparée des avantages escomptés et du risque de lésions fœtales [APC, 2013].

65. Le valproate est un sel de l'acide valproïque.

66. Une étude mentionne que la demi-vie d'élimination est comprise entre 11 et 20 heures [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010].

3.3 Nombre de patients visés

Environ 100 analyses par année sont prévues pour les 3 prochaines années (information fournie par le requérant).

Dans le Répertoire, l'analyse n° 30 601 pour l'acide valproïque n'est pas spécifique à la forme libre. Sa valeur pondérée est de 4,6 sans mention de la technologie utilisée. Au cours de l'année 2012-2013, 70 500 analyses d'acide valproïque ont été effectuées. Pour l'exercice financier de 2013-2014 (jusqu'au 21 septembre 2013), 35 015 analyses ont été faites (information fournie par le MSSS).

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Neurologie, biochimie, hépatologie, néphrologie, pédiatrie.

3.5 Modalités d'administration du test

Échantillon de sérum par prélèvement sanguin aux modalités habituelles pour ce type d'échantillon. Les tubes de prélèvement contenant des anticoagulants de citrate et d'oxalate sont à éviter lors du dosage de l'acide valproïque sous forme libre ou total, car ils diminuent substantiellement la concentration totale d'acide valproïque [Warner *et al.*, 1998]. La répétition du dosage doit être faite à une même période de la journée à cause de l'effet du rythme circadien [Warner *et al.*, 1998]. Il n'y a aucune spécification quant au lieu du prélèvement.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

L'ultrafiltration est souvent utilisée comme méthode de préparation de l'échantillon afin d'isoler la forme libre de l'acide valproïque avant sa quantification [Pham *et al.*, 2012; Falahat-Pisheh *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 1992; Abadin *et al.*, 1991; Haidukewych, 1985; Cramer *et al.*, 1983]. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour doser l'acide valproïque libre, notamment : la chromatographie gazeuse (GC⁶⁷) [Falahat-Pisheh *et al.*, 2007], la chromatographie liquide à haute performance (HPLC⁶⁸) [Liu *et al.*, 1992], l'électrophorèse capillaire avec une détection de conductivité sans contact⁶⁹ [Pham *et al.*, 2012], l'immunoessai par polarisation de fluorescence (FPIA⁷⁰) [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Haidukewych, 1985], l'immunoessai enzymatique (EIA⁷¹) (dont l'EMIT⁷²) [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 1992; Haidukewych, 1985], l'immunoessai par chimiluminescence [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010] ou d'autres méthodes immunologiques [Inamdar *et al.*, 2004].

Plusieurs trousse employant des méthodes immunologiques variées (p. ex. FPIA, CMIA, EMIT, CEDIA, immunochimie ou autre) sont homologuées par Santé Canada (voir l'annexe). Ces trousse sont vendues par au moins six fabricants différents et utilisables sur des analyseurs différents.

67. GC : *gas chromatography*.

68. HPLC : *high performance liquid chromatography*.

69. *Capillary electrophoresis with contactless conductivity detection*.

70. FPIA : *fluorescence polarization immunoassay*.

71. EIA : *enzyme immunoassay*.

72. EMIT : *enzyme multiplied immunoassay test*.

La méthode à l'étude nécessite une ultrafiltration préalable au dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA). Elle fait appel à la compétition entre l'analyte recherché et sa forme conjuguée marquée d'un chromophore.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

L'étape de préparation de l'échantillon par ultrafiltration nécessite beaucoup moins de temps que d'autres techniques comme l'extraction en phase solide, par exemple.

L'utilisation de la trousse de réactifs de CMIA permet de réduire le temps d'analyse comparativement à une analyse par HPLC⁷³ qui prend davantage de temps.

Le laboratoire du requérant participe à un programme interne de contrôle de la qualité ainsi qu'à un programme externe de contrôle de la qualité, celui du College of American Pathologists (CAP) *Z-A Therapeutic Drug Monitoring*.

4.4 Coût de la technologie et des options

La trousse de réactifs s'utilise sur l'analyseur Architect i2000SR System^{MC} de Abbott Laboratories. Celui-ci possède une fonction pour le traitement prioritaire des échantillons « urgents ». Il permet également de doser d'autres types d'analytes par CMIA avec les mêmes solutions tampons ou d'activation ainsi que d'analyser simultanément des tests réguliers de biochimie [Abbott Laboratories, 2014 et 2009].

Outre l'achat des réactifs et de l'appareillage pour le dosage immunologique, le matériel nécessaire à l'ultrafiltration, étape préalable à l'analyse, est également à prévoir.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Valeur diagnostique ou pronostique

Aucune étude n'a démontré le lien entre la mesure sérique ou plasmique de l'acide valproïque sous sa forme libre et la mortalité, la morbidité ou la qualité de vie.

5.1.2 Valeur thérapeutique

Bien que la corrélation nette n'ait pas été établie entre la dose quotidienne, le taux sérique de valproate total et l'effet thérapeutique, chez la plupart des personnes épileptiques, les concentrations sériques thérapeutiques⁷⁴ sont comprises entre 50 et 100 µg/ml de valproate total [APC, 2013]. Cet intervalle thérapeutique correspond à des concentrations molaires de 346 à 693 µmol/l [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Parent *et al.*, 1993].

Le dosage de l'acide valproïque libre est plus efficace que celui de l'acide valproïque total pour l'ajustement posologique [Gomez Bellver *et al.*, 1993; Abadin *et al.*, 1991, Levy, 1980], en particulier lorsque des doses élevées sont administrées [Gomez Bellver *et al.*, 1993], car la concentration totale peut mener à des interprétations erronées. En effet, l'acide valproïque a une grande capacité de liaison avec les protéines plasmatiques qui peuvent devenir saturées aux concentrations plasmatiques d'une dose normale. Il est donc caractérisé par une relation dose-concentration non linéaire [Levy, 1980], c'est-à-dire que la

73. Une analyse par HPLC nécessite également une étape de préparation de l'échantillon comme l'extraction, l'évaporation du solvant ou la dérivatisation à l'aide d'un réactif fluorescent étiqueté [Liu *et al.*, 1992]. La dérivatisation est une technique utilisée en chimie, qui transforme un composé en un produit de structure chimique similaire appelé « dérivé ».

74. Une étude rapporte un intervalle thérapeutique sérique entre 50 et 120 µg/ml, soit 347 à 833 µmol/l [Warner *et al.*, 1998]. Une autre étude rapporte des concentrations plasmatiques thérapeutiques comprises entre 50 et 100 µg/ml de valproate total [Haidukewych et Rodin, 1982].

liaison avec les protéines plasmatiques n'est pas linéaire [DeVane, 2003] et la fraction libre n'est pas constante dans l'intervalle de dose administrée [Gomez Bellver *et al.*, 1993]. Or, la clairance plasmatique dépend de la liaison protéinique⁷⁵ [Haroldson *et al.*, 2000; Gomez Bellver *et al.*, 1993]. Seulement la fraction libre est métabolisée [Warner *et al.*, 1998]. Une toxicité médicamenteuse peut alors en résulter [Dasgupta, 2002].

Aucune étude récente ne permet de savoir si le suivi thérapeutique de l'acide valproïque libre est pratiqué de façon routinière. Des études plus anciennes (de plus de 10 ans) mentionnent que ce n'était pas le cas [Dasgupta, 2002; Warner *et al.*, 1998; Haidukewych et Rodin, 1982].

La littérature portant sur les valeurs de référence pour la fraction libre de l'acide valproïque sérique est rare. Une étude rapporte un intervalle thérapeutique de 5 à 15 µg/ml⁷⁶; cet intervalle correspond à celui de la concentration totale, soit de 50 à 100 µg/ml [De Maat *et al.*, 2011]. Les valeurs de référence retenues par le laboratoire du requérant sont de 35 à 70 µmol/l (ou de 5 à 10 µg/ml⁷⁷) pour l'acide valproïque libre.

Le suivi thérapeutique pharmacologique de l'acide valproïque libre a été étudié par quelques auteurs [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Haidukewych et Rodin, 1982; Levy, 1980]. Aucune des études ne présente de données sur l'utilité clinique, bien que toutes concluent à l'intérêt du monitoring, mais dans des situations cliniques particulières. La Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique recommande le suivi thérapeutique pharmacologique de l'acide valproïque (valproate) dans des conditions physiologiques particulières (grossesse, enfance), en multithérapie, en cas d'inefficacité, de suspicion d'effets indésirables ou en cas de défaut d'observance [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010]. Cependant, le suivi systématique n'est pas encouragé. L'article ne précise toutefois pas si cette recommandation s'applique à la forme libre du médicament. L'étude de Haidukewych et Rodin [1982] conclut que le dosage de la forme libre chez les patients présentant des effets indésirables est utile. Quant à l'étude de Levy [1980], elle suggère un monitoring de la forme libre dans des situations cliniques où il y a suspicion de la variabilité intra ou interindividuelle de la liaison protéinique, rendant ainsi inadéquat le suivi de la concentration totale de l'acide valproïque.

Une revue systématique de la Collaboration Cochrane, publiée en 2007 et mise à jour en 2010, a rapporté les résultats d'une seule étude randomisée répondant aux critères d'inclusion de la revue. Cette étude ne permettait pas d'isoler l'effet de chaque antiépileptique. Les auteurs de la revue concluent à l'absence de preuves claires soutenant l'utilisation routinière du suivi thérapeutique pharmacologique des médicaments antiépileptiques. Cependant, cela n'exclut pas l'utilité clinique que ce suivi peut avoir dans certains cas de polythérapie ou dans des situations particulières, malgré l'absence de preuve [Tomson *et al.*, 2007].

5.2 Validité clinique : aucune étude portant sur la validité clinique n'a été repérée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

La validité analytique du dosage immunologique par CMIA est présentée dans la monographie de la trousse ARCHITECT Valproic Acid^{MC} [Abbott Laboratories, 2009]. Les données présentées sont indicatives, les résultats obtenus pouvant varier d'un

75. La clairance est limitée par la concentration d'acide valproïque libre dans le sang [Haroldson *et al.*, 2000].

76. Par calcul manuel, ces valeurs correspondent à des concentrations molaires de 35 à 104 µmol/l.

77. Valeurs obtenues par calcul manuel avec une masse molaire de 144,2114 g/mol pour l'acide valproïque.

laboratoire à l'autre. Aucune autre étude de validation de cette trousse n'a été répertoriée. Une méthode de préparation de l'échantillon comme l'ultrafiltration est nécessaire et préalable à l'utilisation de cette trousse afin de doser uniquement la fraction libre de l'acide valproïque. La même trousse permet le dosage de l'acide valproïque total.

5.3.1 Répétabilité et reproductibilité

Répétabilité des mesures (intrasérie, n = 80) : coefficient de variation < 5 % pour des concentrations comprises entre 20 et 150 µg/ml.

Reproductibilité de la mesure : coefficient de variation ≤ 5 % pour des concentrations comprises entre 20 et 150 µg/ml. Des contrôles de 3 niveaux ainsi que 4 panels de sérum ont été analysés en double, sur 3 analyseurs, en utilisant 3 lots de réactifs, 2 fois par jour pendant 20 jours.

5.3.2 Sensibilité analytique et linéarité

La sensibilité analytique est définie comme la limite inférieure de détection. Elle est de 0,51 µg/ml. Cependant, la trousse est conçue pour une limite de 2 µg/ml. L'intervalle de mesure de la trousse est compris entre 2 et 150 µg/ml selon des études de linéarité. Une plage thérapeutique de 50 à 100 µg/ml a été suggérée pour l'acide valproïque.

5.3.3 Spécificité analytique, interférence et récupération

Le taux de récupération moyen dans le sérum est compris entre 94 % et 105 %. Dans le plasma, il varie entre 98 % et 103 %. La spécificité de la trousse a été déterminée en analysant la réactivité croisée entre des composés dont la structure chimique ou l'utilisation simultanée sont susceptibles d'interférer. Une réactivité croisée (≥ 6 %) a été observée dans des échantillons sériques présentant des concentrations d'acide valproïque comprises entre 50 et 100 µg/ml avec les composés suivants : 4-ène-acide valproïque, acide 2-propyl-4-pentanoïque, acide 3-céto valproïque et acide 2-propyl-2-pentanoïque. D'autres substances interfèrent avec le taux de récupération (ou de recouvrement) : acétylcystéine, acide acétylsalicylique et ibuprofène. Les triglycérides, l'hémoglobine, la bilirubine et des protéines constituent d'autres substances potentiellement interférentes. Bien sûr, ces listes ne sont pas exhaustives, et de plus amples renseignements peuvent être obtenus auprès du fabricant.

5.3.4 Corrélation entre le test et le comparateur

Une comparaison des méthodes est faite entre la trousse d'immunoessai par polarisation de fluorescence (FPIA) (AxSYM Valproic Acid^{MC} du même fabricant) et la trousse d'immunoessai par CMIA. Une régression de Passing-Bablok donne un coefficient de corrélation de 0,986. Cela indique que les deux méthodes offrent des résultats similaires.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Aucun rapport d'évaluation ou guide de pratique clinique n'a été répertorié relativement aux recommandations de monitoring de la forme libre de l'acide valproïque dans le traitement de l'épilepsie.

Les guides de pratique clinique du National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) et du Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) recommandent de ne pas réaliser de suivi thérapeutique des antiépileptiques de façon systématique [NICE 2013; SIGN, 2005 et 2003]. Ce suivi peut être indiqué en cas de non-observance au médicament et lorsqu'on soupçonne une toxicité [SIGN, 2003] ou une interaction médicamenteuse et dans des conditions cliniques particulières comme l'état de mal épileptique, la défaillance des organes et certaines situations associées à la grossesse [NICE, 2013]. Toutefois, ces guides ne traitent pas de façon spécifique du monitoring de l'acide valproïque libre.

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

L'étape préalable d'ultrafiltration de l'échantillon et l'utilisation de la trousse de réactifs de CMIA devraient avoir des répercussions négligeables sur les ressources matérielles et humaines étant donné le volume annuel attendu (environ 100 analyses par année).

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Le dosage de l'acide valproïque libre serait utile pour l'ajustement posologique afin d'éviter une toxicité médicamenteuse, car la concentration sérique totale du médicament peut mener à des interprétations erronées dans des situations cliniques particulières. Toutefois, peu d'études présentent l'intervalle thérapeutique pour la forme libre et prouvent cette utilité.

7.2 Validité clinique : aucune étude portant sur la validité clinique n'a été repérée.

7.3 Validité analytique

La validité analytique de la technique est fournie par la monographie de la trousse du dosage immunologique par CMIA. Aucune autre étude de validation de cette trousse n'a été répertoriée.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Aucun organisme répertorié ne fait des recommandations sur le dosage de l'acide valproïque libre pour le suivi thérapeutique du médicament chez les patients épileptiques.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de l'acide valproïque libre

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Avis de recommandation d'introduction
- ☒ Avis de refus d'introduction

L'utilité clinique n'est pas démontrée et aucune donnée sur la validité clinique n'a été repérée.

Peu de corrélation entre la concentration mesurée et l'état clinique

- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES CITÉES

- Abadin JA, Duran JA, Sanchez A, Serrano JS. Total and free valproic acid: Plasma level/dose ratio in monotherapy. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1991;13(3):221-5.
- Abbott Laboratories. ARCHITECT i2000SR System [site web]. Abbott Diagnostics; 2014. Disponible à : http://international.abbottdiagnostics.com/Products/Instruments_by_Platform/systests.cfm?sys_id=79.
- Abbott Laboratories. iValproic Acid (1P35). ARCHITECT System. Wiesbaden, Allemagne : Abbott Laboratories Diagnostics Division; 2009. Disponible à : http://www.illexmedical.com/files/PDF/ValproicAcid_ARC.pdf.
- Association des pharmaciens du Canada (APC). CPS 2013 : Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques. Ottawa, ON : APC; 2013.
- Bentué-Ferrer D, Tribut O, Verdier MC. Suivi thérapeutique pharmacologique du valproate. *Thérapie* 2010;65(3):233-40.
- Cramer JA, Bennett DM, Mattson RH. Free and bound valproic acid separated by two methods of ultrafiltration. *Clin Chem* 1983;29(7):1441-2.
- Dasgupta A. Clinical utility of free drug monitoring. *Clin Chem Lab Med* 2002;40(10):986-93.
- De Maat MMR, Van Leeuwen HJ, Edelbroek PM. High unbound fraction of valproic acid in a hypoalbuminemic critically ill patient on renal replacement therapy. *Ann Pharmacother* 2011;45(3):e18.
- DeVane CL. Pharmacokinetics, drug interactions, and tolerability of valproate. *Psychopharmacol Bull* 2003;37(Suppl 2):25-42.
- Falahat-Pisheh HR, Neyestani TR, Bigdeli M. Simple and rapid gas-chromatographic method for quantitation of total and free valproic acid in human serum. *Acta Medica Iranica* 2007;45(2):85-90.
- Forsgren L, Beghi E, Oun A, Sillanpaa M. The epidemiology of epilepsy in Europe – a systematic review. *Eur J Neurol* 2005;12(4):245-53.
- Gomez Bellver MJ, Garcia Sanchez MJ, Alonso Gonzalez AC, Santos Buelga D, Dominguez-Gil A. Plasma protein binding kinetics of valproic acid over a broad dosage range: Therapeutic implications. *J Clin Pharm Ther* 1993;18(3):191-7.
- Haidukewych D. Fluorescence polarization immunoassay and enzyme immunoassay compared for free valproic acid in serum ultrafiltrates from epileptic patients. *Clin Chem* 1985;31(1):156.
- Haidukewych D et Rodin EA. Monitoring free valproic acid in epilepsy patients medicated with coanticonvulsants. *Ther Drug Monit* 1982;4(2):209-12.
- Haroldson JA, Kramer LE, Wolff DL, Lake KD. Elevated free fractions of valproic acid in a heart transplant patient with hypoalbuminemia. *Ann Pharmacother* 2000;34(2):183-7.

- Inamdar KV, Zajechowski J, Feldkamp CS. Analytical evaluation and validation of ADVIA Centaur competitive immunoassay for measurement of free Valproic Acid, Carbamazepine and Phenytoin levels. Clin Chem 2004;50(6 Suppl S, Part 2):A129.
- Levy RH. Monitoring of free valproic acid levels? Ther Drug Monit 1980;2(2):199-201.
- Liu H, Montoya JL, Forman LJ, Eggers CM, Barham CF, Delgado M. Determination of free valproic acid: Evaluation of the Centrifree system and comparison between high-performance liquid chromatography and enzyme immunoassay. Ther Drug Monit 1992;14(6):513-21.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). The epilepsies: The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care. NICE clinical guideline 137. Londres, Angleterre : NICE; 2012 [Mis à jour en 2013]. Disponible à : <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/13635/57779/57779.pdf>.
- Parent X, Marzullo C, Gutbub AM. Acide valproïque : estimation simple de la concentration sérique libre. Ann Biol Clin (Paris) 1993;51(6):649-50.
- Pham TT, See HH, Morand R, Krahenbuhl S, Hauser PC. Determination of free and total valproic acid in human plasma by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2012;907:74-8.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Diagnosis and management of epilepsies in children and young people. A national clinical guidelines. Édimbourg, Écosse; SIGN; 2005. Disponible à : <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign81.pdf>.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Diagnosis and management of epilepsy in adults. A national clinical guidelines. Édimbourg, Écosse; SIGN; 2003. Disponible à : <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign70.pdf>.
- Tomson T, Dahl ML, Kimland E. Therapeutic monitoring of antiepileptic drugs for epilepsy. Cochrane Database Syst Rev 2007;(1):CD002216.
- Warner A, Privitera M, Bates D. Standards of laboratory practice: Antiepileptic drug monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. Clin Chem 1998;44(5):1085-95.

RÉFÉRENCES CONSULTÉES

- Itoh H, Suzuki Y, Fujisaki K, Sato Y, Takeyama M. Correlation between plasma ammonia level and serum trough concentration of free valproic acid in patients with epilepsy. Biol Pharm Bull 2012;35(6):971-4.
- Jansen AJ, Hunfeld NG, van Bommel J, Koch BC, van Gelder T. Therapeutic drug monitoring of free fraction valproic acid in patients with hypoalbuminaemia. Neth J Med 2012;70(7):329.

ANNEXE A

Liste des trousse employant des méthodes immunologiques homologuées par Santé Canada
(base des données MDALL⁷⁸)

Mot clé : valpro

Dernière date de consultation : 20 janvier 2014, à 12 h 45

Tableau A1 Résultats trouvés (28 items)

NOM DE LA TROUSSE	NUMÉRO D'HOMOLOGATION	FABRICANT
ADVIA 1200 CHEMISTRY SYSTEM - VALPROIC ACID (VPA) ASSAY	67070	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA 1200 CHEMISTRY SYSTEM - VALPROIC ACID 2 (VPA 2) ASSAY	67070	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA CENTAUR CP SYSTEM - VALPROIC ACID (VALP)ASSAY	69989	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA CENTAUR SYSTEM - VALPROIC	10057	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA CENTAUR XP SYSTEM - VALPROIC ACID (VALP)ASSAY	72572	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA CENTAUR SYSTEM - VALPROIC 2 (VPA 2)ASSAY	234	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ADVIA CHEMISTRY SYSTEM - VALPROIC ACID (VPA) ASSAY	234	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
ARCHITECT I SYSTEM - VALPROIC ACID ASSAY	1199	ABBOTT LABORATORIES DIAGNOSTIC DIVISION
AXSYM SYSTEM - VALPROIC ACID ASSAY	63184	ABBOTT LABORATORIES DIAGNOSTIC DIVISION
CEDIA TDM ASSAY - VALPROIC ACID	62390	MICROGENICS CORPORATION
COBAS INTEGRA VALPROIC ACID (VALP)	76865	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
COBAS INTEGRA VALPROIC ACID FOR COBAS C SYSTEMS	76865	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
DIMENSION CLINICAL CHEMISTRY SYSTEM - VALPROIC ACID FLEX REAGENT CARTRIDGE	2232	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
DIMENSION EXL SYSTEM - VALPROIC ACID (VALP) ASSAY	78489	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
DIMENSION VISTA SYSTEM - VALPROIC ACID	73261	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
DIMENSION XPAND SYSTEM - VALPROIC ACID (VALP) ASSAY	30615	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
EMIT VALPROIC ACID ASSAY	7927	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.
HITACHI ONLINE TDM VALPROIC ACID	76865	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
HITACHI ONLINE TDM VALPROIC ACID (HIT.911, 912, 917 AND MOD. P)	76865	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH

78. Disponible à : <http://webprod5.hc-sc.gc.ca/mdll-limh/prepareSearch-preparerRecherche.do?type=active&lang=fra>.

NOM DE LA TROUSSE	NUMÉRO D'HOMOLOGATION	FABRICANT
IMAGE IMMUNOCHEMISTRY SYSTEMS VALPROIC ACID (VPA) REAGENT	7323	BECKMAN COULTER, INC.
IMMULITE 1000 SYSTEM - VALPROIC ASSAY ACID	63176	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS LIMITED
IMMULITE 2000 SYSTEM - VALPROIC ACID ASSAY	29184	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS LIMITED
IMMULITE SYSTEM - VALPROIC ACID ASSAY	922	SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS PRODUCTS LIMITED
MULTIGENT AEROSET/C8000 VALPROIC ACID ASSAY	64481	MICROGENICS CORPORATION
ROCHE HITACHI - VALPROIC ACID	712	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
SYNCHRON SYSTEMS VALPROIC ACID (VPA) REAGENT	10355	BECKMAN COULTER, INC.
VALP2 (ONLINE VALPROIC ACID) FOR COBAS C SYSTEMS	76865	ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
VALPROIC ACID IMMUNOASSAY FOR HITACHI 717	65016	RANDEX LABORATORIES LTD.

DOSAGE DE L'ACTIVITÉ DIRECTE ANTI-XA DU RIVAROXABAN (RÉFÉRENCE – 2013.03.007)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHUM
- 1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 17 décembre 2012
- 1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Le demandeur utilise la trousse commerciale Biophen DiXal (Direct Xa Inhibitors) standardisée pour l'étalonnage et la mesure.

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

Rivaroxaban est un anticoagulant oral inhibiteur du facteur Xa (FXa) hautement spécifique [APC, 2013]. Le FXa a un rôle central dans la cascade de la coagulation, puisqu'il transforme directement la prothrombine en thrombine, soit l'étape précédant la formation de fibrine et l'activation des plaquettes [APC, 2013]. Le rivaroxaban est indiqué pour la prévention de la thromboembolie veineuse après l'arthroplastie totale de la hanche ou du genou, le traitement de la thromboembolie veineuse, la prévention des thromboembolies récurrentes et la prévention de l'accident vasculaire cérébral et de l'embolie systémique chez les personnes atteintes d'une fibrillation auriculaire [APC, 2013]. Contrairement à la warfarine, le rivaroxaban ne requiert pas de surveillance biologique régulière et il n'impose pas de restrictions alimentaires.

La trousse Biophen DiXal permet le dosage quantitatif *in vitro* des inhibiteurs directs du FXa (DiXal) au moyen d'une technique chromogène anti-Xa automatisable [HYPHEN BioMed, 2013a]. Le dosage avec la trousse se fait en deux temps. On effectue d'abord l'inhibition d'une quantité constante et en excès de FXa exogène, par le DiXal à doser. Une réaction d'hydrolyse est ensuite provoquée en ajoutant un substrat chromogène spécifique du FXa au FXa résiduel. Ce dernier libère le chromophore (paranitra-aniline ou pNa) du substrat (oligopeptides de 3 à 4 acides aminés) colorant en jaune le milieu réactionnel. La quantité de pNa libérée (mesurée par l'absorbance à 405 nm) est fonction directe de la quantité de FXa résiduel. Elle est inversement proportionnelle à la concentration de DiXal présent dans le milieu réactionnel.

Des plasmas de calibration avec des concentrations croissantes en rivaroxaban doivent être utilisés pour étalonner la méthode de dosage (trousse Biophen Rivaroxaban® Plasma Calibrator) [HYPHEN BioMed, 2013b]. L'utilisation de plasmas témoins adaptés, titrés en DiXal à doser, permet de valider la courbe d'étalonnage et la réactivité homogène du dosage dans les différentes séries, pour un même lot de réactifs (trousse Biophen Rivaroxaban Control Plasma) [HYPHEN BioMed, 2013c].

2.3 Société ou développeur : Hyphen BioMed, Neuville-sur-Oise (France).

2.4 Licences : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse Biophen DiXal est approuvée pour usage diagnostique *in vitro* en Europe. La trousse n'est pas encore approuvée pour le diagnostic *in vitro* aux États-Unis ou au Canada. Elle est indiquée « pour recherche seulement » dans ces deux pays.

Par contre, les trousses Biophen Rivaroxaban® Plasma Calibrator (numéro 88035) et Biophen Rivaroxaban Control Plasma (numéro 88034) sont homologuées au Canada depuis le 12 janvier 2012.

2.7 Valeur pondérée : 18,0

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés sont ceux sous traitement anticoagulant avec rivaroxaban présentant un saignement grave tel qu'un saignement intracérébral ou ceux pour qui une chirurgie urgente est envisagée.

3.2 Description de la maladie visée

L'analyse à l'étude ne vise pas une maladie spécifique, mais le suivi thérapeutique du rivaroxaban chez des patients qui répondent aux critères énoncés en 3.1.

La pharmacocinétique et la pharmacodynamique prévisibles du rivaroxaban font de ce médicament une solution de rechange à la warfarine. Cependant, la rareté des preuves sur la méthode d'intervention à privilégier pour gérer un saignement majeur ou cliniquement important chez une personne sous rivaroxaban et l'absence d'antidote spécifique pour renverser son effet anticoagulant rendent plusieurs médecins réticents à le prescrire [Fawole *et al.*, 2013; Miyares et Davis, 2012].

3.3 Nombre de patients visés

Le requérant anticipait en décembre 2012 un volume provincial attendu d'environ 200 tests pour les 3 prochaines années. Ce nombre pourrait augmenter avec la croissance prévue de la prescription du rivaroxaban. D'après des analyses réalisées à l'INESSS, le nombre d'utilisateurs distincts de rivaroxaban chez les personnes assurées par le régime public d'assurance médicaments était de 3 160, et de 6 714 respectivement en 2011 et en 2012 (résultats non publiés). Ce nombre atteint 17 515 pour les 10 premiers mois de 2013. Le nombre d'analyses réalisées pourrait être plus élevé que celui envisagé par le requérant en raison de l'augmentation de la prescription du rivaroxaban et du fait que l'usage pourrait

ne pas être limité à des situations spécifiques comme un saignement grave ou lorsqu'une chirurgie urgente est envisagée.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Les principales spécialités médicales concernées seront l'hématologie, la chirurgie, la médecine d'urgence et la médecine de famille. Les chirurgiens-dentistes et les pharmaciens prescriront vraisemblablement aussi le dosage quantitatif du rivaroxaban.

3.5 Modalités d'administration du test

Le sang (9 volumes) doit être collecté, en tube de plastique ou en verre siliconé contenant du citrate trisodique 0,109 mol/L (1 volume), par ponction veineuse franche, en évitant toute activation [HYPHEN BioMed, 2013a]. Rejeter les premières gouttes de sang. Centrifuger le prélèvement, dans les 4 heures suivantes, pendant 15 minutes à 2500g⁷⁹, à température ambiante (18 à 22 °C). Le plasma citraté doit être décanté dans un tube de plastique. Les échantillons de plasma se conservent durant 4 heures à température ambiante (18 à 25 °C), 1 mois congelé à – 20 °C ou moins (avant utilisation, décongeler le plasma pendant 15 minutes dans un bain-marie à 37 °C).

La trousse Biophen DiXal est utilisée en méthode cinétique automatisée, et elle peut également être employée en méthode manuelle, en « point final ». Les adaptations sur automates sont disponibles sur demande. Le test est réalisé à 37 °C et l'intensité de la coloration est évaluée à 405 nm. L'étalonnage doit être réalisé dans l'heure suivante pour une performance optimale du dosage. La calibration est acceptable si le coefficient de détermination (r^2) est $\geq 0,98$ et que les valeurs mesurées pour les contrôles sont conformes. Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être effectuée à chaque changement de lot de réactifs, après toute maintenance importante de l'analyseur et lorsque les résultats des contrôles de qualité ne sont pas dans les valeurs annoncées pour la méthode. Chaque laboratoire peut établir son propre domaine d'acceptation en fonction des protocoles et des instruments utilisés.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : unique.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

La pharmacocinétique et la pharmacodynamie prévisibles du rivaroxaban rendent généralement inutile la surveillance biologique régulière de cet anticoagulant [Garcia *et al.*, 2013; Mueck *et al.*, 2008b]. Il peut cependant être utile d'évaluer l'activité anticoagulante du rivaroxaban chez des personnes faisant une hémorragie aiguë ou qui ont besoin d'une chirurgie urgente [Garcia *et al.*, 2013; Samama *et al.*, 2013; Tripodi, 2013]. Le rivaroxaban modifie des tests de coagulation courants comme le temps de prothrombine (TP), le temps de céphaline (TCA) et le HepTest [APC, 2013; Garcia *et al.*, 2013; Helin *et al.*, 2013; Samama *et al.*, 2013; Tripodi, 2013; Douxfils *et al.*, 2012; Samama *et al.*, 2010c]. Aucun de ces tests n'est assez juste (valide et précis) pour évaluer quantitativement l'activité anticoagulante du rivaroxaban dans des conditions habituelles. Le TP permet néanmoins de déterminer si l'activité anticoagulante est excessive (estimation qualitative), puisqu'il varie de façon

79. L'accélération obtenue, notée g , est fonction de la vitesse angulaire de rotation et de la distance à l'axe de rotation. Elle est donnée par la formule suivante : $g = w^2 r = 1,119 \times 10^{-5} \times r \times n^2$ avec w : vitesse angulaire (rad/s); r : distance à l'axe de rotation n : nombre de rotations par minute (rpm).

proportionnelle à la dose de rivaroxaban si le réactif Neoplastin est utilisé [APC, 2013]. La chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un spectromètre de masse en tandem (HPLC-MS/MS) est la méthode de choix pour la détection et la quantification du rivaroxaban, mais elle est peu disponible. La technique chromogène anti-Xa utilisant un étalonnage et un contrôle spécifique au rivaroxaban est une option permettant d'estimer avec justesse la concentration du rivaroxaban de façon indirecte [Doux fils *et al.*, 2013b; Doux fils *et al.*, 2013c; Rathbun *et al.*, 2013; Asmis *et al.*, 2012]. Différentes trousse utilisant la technique chromogène avec étalonnage et contrôle pour le rivaroxaban sont maintenant disponibles (STA®-Liquid anti-Xa, Stago; TechnoChrom®, Technoclone, Vienna, Austria; Biophen DiXal, HYPHEN BioMed, Neuville-sur-Oise, France) [Garcia *et al.*, 2013]. Quoi qu'il en soit, le PT calibré a un coût moins élevé par rapport à la technique chromogène et il a été suggéré pour dépister des concentrations dépassant un seuil convenu [Doux fils *et al.*, 2012]. Le Biophen DiXal couplé à l'usage de plasmas d'étalonnage et témoins serait réservé aux cas précédemment dépistés [Doux fils *et al.*, 2012].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La nouvelle analyse permet le dosage du rivaroxaban en situation d'urgence comme une chirurgie urgente ou dans le cas d'une hémorragie afin de déterminer la quantité résiduelle du rivaroxaban.

Le laps de temps entre l'administration du rivaroxaban et le prélèvement du sang pour le dosage est important, puisque le début et l'arrêt de l'action des nouveaux anticoagulants oraux sont relativement rapides [Garcia *et al.*, 2013; Tripodi, 2013]. Par conséquent, les cliniciens doivent être prudents dans leur interprétation des résultats de laboratoire, puisque ces données peuvent ne pas représenter parfaitement la situation *in vivo* [Garcia *et al.*, 2013; Tripodi, 2013].

Les situations urgentes telles qu'une hémorragie ou une thrombose laissent néanmoins peu de choix quant au moment propice pour la prise de l'échantillon de sang et le dosage du rivaroxaban [Tripodi, 2013]. Les cliniciens auront besoin à la fois d'une formation sur le moment où le dosage du rivaroxaban devrait être effectué et sur la manière d'interpréter correctement les résultats de ces analyses de laboratoire [Garcia *et al.*, 2013].

4.4 Coût de la technologie et des options : n'a pas été analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

La technique chromogène anti-Xa est utilisée dans les tests courants de dosage de l'héparine présentement disponibles. Ces tests ne conviennent pas pour le dosage du rivaroxaban parce qu'ils sont conçus pour les inhibiteurs indirects du facteur Xa nécessitant l'antithrombine pour assurer leur activité. De plus, la cinétique et le mécanisme des inhibiteurs directs du facteur Xa sont complètement différents; ils imposent l'usage de plasmas d'étalonnage et témoins spécifiques au rivaroxaban [HYPHEN BioMed, 2013d; Samama *et al.*, 2010a; Samama *et al.*, 2010b].

5.1.2 Valeur thérapeutique

Le dosage du rivaroxaban chez une personne asymptomatique, stable en thérapie

chronique, n'est pas sans risque si le clinicien décide de dévier de la posologie reconnue comme efficace [Garcia *et al.*, 2013]. En effet, un clinicien pourrait surestimer l'importance d'une mesure légèrement supérieure ou inférieure par rapport à l'écart normal défini en laboratoire. Même si les études pharmacocinétiques ont indiqué un intervalle attendu de concentration de rivaroxaban, cet intervalle ne définit pas nécessairement la limite au-delà de laquelle le risque de saignement ou de thrombose augmente significativement pour une personne. Contrairement à la warfarine pour laquelle la relation entre le rapport international normalisé (RIN) et les concentrations en dehors des intervalles thérapeutiques est mieux comprise, l'importance clinique du résultat d'un test de coagulation en dehors de l'intervalle dit thérapeutique n'est pas connue pour le rivaroxaban. De plus, l'interprétation des résultats de laboratoire pour le rivaroxaban doit être faite en considérant le moment du prélèvement, ce qui n'est pas un enjeu pour le RIN des personnes qui prennent la warfarine comme anticoagulant. Ainsi, même si l'on disposait d'une stratégie d'ajustement posologique basée sur des données probantes, le potentiel d'interprétation erronée (ou d'action potentiellement défavorable) à la suite d'une seule mesure serait important [Garcia *et al.*, 2013].

5.2 Validité clinique

Aucune étude sur la validité clinique du dosage du rivaroxaban n'a été repérée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique		x	
Effet de matrice		x	
Concordance		x	
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test		x	

Précision

Dans une zone de mesure de 0 à 500 ng/ml de rivaroxaban, le fabricant de la trousse Biophen DiXal estime la variabilité intraessai inférieure à 3 % et la variabilité interessai inférieure à 10 % ou à 15 % selon la mesure du coefficient de variation (coefficient de variation (CV) = écart-type / moyenne * 100) [HYPHEN BioMed, 2013a]. Le CV intra et interessai était respectivement de 3,4 % et de 3,9 % lorsque 10 mesures de 5 concentrations ont été considérées (0, 22, 110, 218 et 436 ng/ml) [Doux fils *et al.*, 2012]. Le CV moyen correspondait à la somme des 5 CV divisée par 5. Pour la variabilité interessai, les mesures étaient prises une fois par jour durant 10 jours avec le même lot de réactifs.

Coefficient de variation (CV)

Doux fils et ses collaborateurs [2012] ont estimé la reproductibilité des résultats de la trousse Biophen DiXal en effectuant 3 mesures pour 7 concentrations différentes de plasma enrichi de rivaroxaban variant de 11 à 1 090 ng/ml. La reproductibilité rapportée en CV était en moyenne de 1,3 % pour les 7 concentrations [Doux fils *et al.*, 2012].

La justesse de la technique chromogène anti-Xa étalonnée avec le rivaroxaban a aussi été évaluée [Asmis *et al.*, 2012]. Des échantillons plasmatiques ont été prélevés chez 20 volontaires en santé de 2 à 3 heures suivant une dose de 10 mg de rivaroxaban. Ces échantillons ont ensuite été analysés par 9 laboratoires dont 7 en double aveugle. La concentration moyenne de rivaroxaban obtenue au moyen de la technique chromogène était de 114 ± 43 ng/ml. Les mêmes mesures effectuées avec la technique HPLC-MS/MS, considérée comme la mesure la plus juste possible, indiquaient 100 ± 26 ng/ml. La validité et la précision des mesures sur des échantillons plasmatiques enrichis étaient respectivement de 7,0 % et 8,8 %. La validité a été obtenue en divisant la différence entre la moyenne des résultats des dosages par la technique chromogène et la moyenne calculée avec la HPLC-MS/MS par cette dernière moyenne. Ce quotient était ensuite multiplié par 100. La précision entre les laboratoires (*inter-laboratory precision*) des mesures *in vitro* a été estimée en divisant l'écart-type des 7 laboratoires en double aveugle par la moyenne correspondante puis en multipliant par 100.

Sensibilité analytique

La sensibilité du dosage quantitatif du rivaroxaban au moyen du Biophen DiXal est de 9 ng/ml [Doux fils *et al.*, 2013c; 2012]. Cette sensibilité est inférieure à celle obtenue avec HPLC-MS/MS (3 ng/ml), mais supérieure à celle du PT (66 à 258 ng/ml) ou du TCA (208 à 420 ng/ml) [Doux fils *et al.*, 2013a; 2012]. La limite de détection est d'environ 50 ng/ml de rivaroxaban selon le fabricant du Biophen DiXal, dans une zone de mesure de 0 à 500 ng/ml en plasma [HYPHEN BioMed, 2013a]. La sensibilité et le seuil de détection sont définis différemment⁸⁰, respectivement par Doux fils et dans la monographie du Biophen DiXal, d'où l'inégalité observée entre les deux valeurs.

Les concentrations plasmatiques obtenues avec les deux principales posologies de rivaroxaban permettent de mettre en perspective les sensibilités observées selon la technique de dosage utilisée. Ainsi, à une posologie de 10 mg/jour de rivaroxaban prescrit en prévention de la thromboembolie veineuse après l'arthroplastie totale de la hanche ou du genou, on obtient une médiane de concentration maximale de cet anticoagulant de 125 ng/ml (5^e au 95^e percentile : 91 à 196 ng/ml) et une médiane de concentration minimale (C_{trough}) juste avant la dose suivante de 9 ng/ml (5^e au 95^e percentile : 1 à 38 ng/ml) [Doux fils *et al.*, 2012; Mueck *et al.*, 2008a]. À une posologie de 20 mg/jour utilisée en prévention de l'accident vasculaire cérébral et de l'embolie systémique chez les personnes atteintes d'une fibrillation auriculaire, la concentration maximale est approximativement de 290 ng/ml (5^e et 95^e percentile : environ 177 à 409 ng/ml) [Doux fils *et al.*, 2012]. La concentration mesurée juste avant la dose suivante (C_{trough}) est approximativement de 32 ng/ml (5^e à 95^e percentile : environ 5 à 155 ng/ml) [Doux fils *et al.*, 2012; Mueck *et al.*, 2011].

Interférence

Le test Biophen DiXal utilisé selon les recommandations du fabricant n'interfère pas avec les inhibiteurs indirects du FXa tels que le fondaparinux, les héparines et les héparines de faible poids moléculaire [Doux fils *et al.*, 2012; HYPHEN BioMed, 2012].

Méthode de Bland-Altman

L'écart moyen entre deux valeurs obtenues pour la même mesure calculée selon la

80. Doux fils définit ainsi la sensibilité : « the final concentration in rivaroxaban needed to double (or halve) the analytical parameter; (2xCT [CT=Clotting Time]; Cmax IC50* [The inhibitor concentration reducing the Cmax of 50%] and 2 x OD/min* [The concentration needed to halve the change in the optical density reported by minute]) ». Dans la monographie du Biophen DiXal, la limite de détection est déterminée en mesurant sur la courbe d'étalonnage, le « taux apparent » de DiXal correspondant à la densité optique moyenne obtenue pour un taux réactionnel sans DiXal (tampon seul) de moins de trois écarts-types.

méthode de Bland et Altman était de - 16 ng/ml avec un écart-type de 25 ng/ml et un intervalle de confiance à 95 % de - 65 à 32 ng/ml. La trousse Biophen DiXal est peu tributaire de la variabilité interindividuelle [Doux fils *et al.*, 2013c].

Corrélation entre le test et le comparateur

Le test Biophen DiXal a été comparé à la HPLC-MS/MS, la mesure étalon [Doux fils *et al.*, 2013c]. La concentration plasmatique de rivaroxaban de 52 prélèvements provenant de personnes traitées avec cet anticoagulant, mesurée par HPLC-MS/MS, était de 0 à 485 ng/ml. Le Biophen DiXal et la HPLC-MS/MS étaient hautement corrélés avec un coefficient de corrélation de Pearson (r) de 0,95 (IC à 95 % de 0,91 à 0,97).

Régression linéaire

La relation entre la concentration plasmatique du rivaroxaban et la mesure de densité optique par minute telle que mesurée lors du dosage au moyen du Biophen DiXal (quantité de pNA libérée mesurée par l'absorbance à 405 nm) est linéaire jusqu'à une concentration de 545 ng/ml, avec toutefois une baisse de la sensibilité [Doux fils *et al.*, 2012]. Le coefficient de détermination (r^2) de la droite de régression est de 0,99 dans l'intervalle du 5^e au 95^e percentile de concentrations simulées d'une population recevant 20 mg par jour de rivaroxaban [Doux fils *et al.*, 2012]. La relation entre les deux variables n'est plus linéaire à des concentrations supérieures à 545 ng/ml [HYPHEN BioMed, 2013a; Doux fils *et al.*, 2012]. Une dilution supérieure des échantillons (initialement dilués à 1/50) est requise lorsque l'on doit doser des échantillons à des concentrations supérieures à 545 ng/ml [Doux fils *et al.*, 2012].

5.4 Recommandations d'autres organismes

En février 2012, l'American College of Chest Physicians publiait la neuvième édition de son guide sur l'anticoagulothérapie orale [Ageno *et al.*, 2012]. Les auteurs statuaient sur l'absence d'analyse biologique validée pour mesurer l'activité anticoagulante du rivaroxaban ou de recommandations pour l'ajustement posologique basées sur les résultats d'analyses de laboratoire [Ageno *et al.*, 2012]. Le gouvernement australien publiait un rapport d'évaluation du rivaroxaban en 2012. Dans la partie sur l'effet du rivaroxaban sur les tests de laboratoire, les auteurs du rapport australien spécifient que, lorsqu'un dosage du rivaroxaban est nécessaire, par exemple en cas de surdosage ou en situation d'urgence, à la fois le PT et la technique chromogène anti-Xa étalonnée et calibrée pour le rivaroxaban ont le potentiel pour évaluer la concentration plasmatique de cet anticoagulant [TGA, 2012]. Les plus récentes recommandations sur la mesure de l'activité anticoagulante du rivaroxaban endossées par l'International Society on Thrombosis and Haemostasis indiquent que l'intensité de l'activité anticoagulante du rivaroxaban peut être estimée au moyen du PT (avec un réactif spécifique au rivaroxaban) en situation d'urgence seulement [Baglin *et al.*, 2013]. Toujours selon ces recommandations, chaque laboratoire devrait connaître la sensibilité de son PT au rivaroxaban. L'usage de plasmas d'étalonnage spécifiques disponibles commercialement permet de connaître cette sensibilité. Enfin, la technique chromogène anti-Xa (sans antithrombine exogène) correctement étalonnée peut être utilisée avec le PT spécifique pour déterminer la concentration du rivaroxaban [Baglin *et al.*, 2013].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été analysé.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Le test est valide et précis depuis la mise en marché de plasmas d'étalonnage et de plasmas de contrôle standardisés pour le rivaroxaban. Ce test est conçu pour le dosage quantitatif du rivaroxaban en milieu clinique.

7.2 Validité clinique : aucune étude disponible à notre connaissance.

7.3 Validité analytique : très bonne.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Le gouvernement australien et l'International Society on Thrombosis and Haemostasis privilégient l'usage du TP et de la technique chromogène anti-Xa couplée à un étalon et un contrôle spécifique au rivaroxaban pour estimer la concentration plasmatique du rivaroxaban lorsqu'une situation urgente le justifie.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage de l'activité directe anti-Xa du rivaroxaban

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction

La présomption d'utilité clinique et la pertinence de cette analyse sont importantes; on est dans le contexte d'un patient en situation d'hémorragie ou à risque d'hémorragie en raison d'une chirurgie urgente.

La production des données cliniques prendra du temps. Le besoin de contrôler les effets secondaires graves du ribaroxaban est impératif.

L'introduction de l'analyse est recommandée, malgré l'absence des données de validité clinique, en raison de la gravité du problème et des risques associés à l'utilisation du médicament.

- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☒ Production d'indicateurs de suivi des résultats et production (ou publication) des protocoles d'utilisation

RÉFÉRENCES

- Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest 2012;141(2 Suppl):e44S-88S.
- Asmis LM, Alberio L, Angelillo-Scherrer A, Korte W, Mendez A, Reber G, et al. Rivaroxaban: Quantification by anti-FXa assay and influence on coagulation tests: A study in 9 Swiss laboratories. Thromb Res 2012;129(4):492-8.
- Association des pharmaciens du Canada (APC). Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques (e-CPS). Monographie du Xarelto, 2013. Disponible à : <http://www.e-therapeutics.ca/welcome.action;jsessionid=CD5D5FF2BF3143EFDB653D9FAD7D0064?language=fr> (consulté le 17 décembre 2013).
- Baglin T, Hillarp A, Tripodi A, Elalamy I, Buller H, Ageno W. Measuring Oral Direct Inhibitors (ODIs) of thrombin and factor Xa: A recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. J Thromb Haemost 2013;11(4):756-60.
- Doux fils J, Classen JF, Baudar J, Walbrecq S, Chatelain C, Chatelain B, et al. Comparison of calibrated automated thrombogram and chronometric or chromogenic assays for the monitoring of DOACs in patients with non-valvular atrial fibrillation. J Thromb Haemost 2013a;11(Suppl 2):571 [abstract PB 1.52-1].
- Doux fils J, Classen JF, Baudar J, Walbrecq S, Chatelain C, Chatelain B, et al. Dilute Russell Viper Venom Time: A useful assay for the monitoring of direct oral anticoagulants in patients? J Thromb Haemost 2013b;11(Suppl 2):965 [abstract PB 4.52-1].
- Doux fils J, Tamigniau A, Classen JF, Baudar J, Walbrecq S, Chatelain C, et al. Comparison of Biophen DiXal, prothrombin time with a reference HPLC-MS/MS method to monitor patients receiving rivaroxaban. J Thromb Haemost 2013c;11(Suppl 2):575 [abstract PB 1.53-5].
- Doux fils J, Mullier F, Loosen C, Chatelain C, Chatelain B, Dogne JM. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: Laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature. Thromb Res 2012;130(6):956-66.
- Fawole A, Daw HA, Crowther MA. Practical management of bleeding due to the anticoagulants dabigatran, rivaroxaban, and apixaban. Cleve Clin J Med 2013;80(7):443-51.
- Garcia D, Barrett YC, Ramacciotti E, Weitz JI. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants. J Thromb Haemost 2013;11(2):245-52.
- Helin TA, Pakkanen A, Lassila R, Joutsu-Korhonen L. Laboratory assessment of novel oral anticoagulants: Method suitability and variability between coagulation laboratories. Clin Chem 2013;59(5):807-14.
- HYPHEN BioMed. Biophen DiXal. West Chester, OH : Aniara; 2013a. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/INS-A221030.pdf> (consulté le 13 décembre 2013).

- HYPHEN BioMed. Bliophen Rivaroxaban Plasma Calibrator. West Chester, OH : Aniara; 2013b. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/INS-A222701.pdf> (consulté le 13 décembre 2013).
- HYPHEN BioMed. Biophen Rivaroxaban Control Plasma. West Chester, OH : Aniara; 2013c. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/INS-A224501.pdf> (consulté le 13 décembre 2013).
- HYPHEN BioMed. Biophen Heparin 6. West Chester, OH : Aniara; 2013d. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/INS-A221006CE.pdf> (consulté le 17 janvier 2014).
- HYPHEN BioMed. BIOPHEN DiXal for the quantitative determination of Direct Factor Xa Inhibitors in plasma. West Chester, OH : Aniara; 2012. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/SS-ANIARA-Biophen-DiXal-vs-1-4.pdf> (consulté le 18 décembre 2013).
- Miyares MA et Davis K. Newer oral anticoagulants: A review of laboratory monitoring options and reversal agents in the hemorrhagic patient. *Am J Health Syst Pharm* 2012;69(17):1473-84.
- Mueck W, Lensing AW, Agnelli G, Decousus H, Prandoni P, Misselwitz F. Rivaroxaban: Population pharmacokinetic analyses in patients treated for acute deep-vein thrombosis and exposure simulations in patients with atrial fibrillation treated for stroke prevention. *Clin Pharmacokinet* 2011;50(10):675-86.
- Mueck W, Borris LC, Dahl OE, Haas S, Huisman MV, Kakkar AK, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of once- and twice-daily rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism in patients undergoing total hip replacement. *Thromb Haemost* 2008a;100(3):453-61.
- Mueck W, Eriksson BI, Bauer KA, Borris L, Dahl OE, Fisher WD, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban — an oral, direct factor Xa inhibitor — in patients undergoing major orthopaedic surgery. *Clinical Pharmacokinet* 2008b;47(3):203-16.
- Rathbun S, Tafur AJ, Mauer K, Gausman J, Marlar RA. Validation of rivaroxaban anti-Xa activity measurement. *J Thromb Haemost* 2013;11(Suppl 2):964-5 [abstract PB 4.51-6].
- Samama MM, Guinet C, Le Flem L, Debue JM. Measurement of dabigatran and rivaroxaban in primary prevention of venous thromboembolism in 106 patients, who have undergone major orthopedic surgery: An observational study. *J Thromb Thrombolysis* 2013;35(2):140-6.
- Samama MM, Amiral J, Guinet C, Perzborn E, Depasse F. Specific and rapid measurement of rivaroxaban in plasma using a new, dedicated, chromogenic assay. Aniara; 2010a. Disponible à : <http://www.aniara.com/pdf/SS-ANIARA-Rivaroxaban-A221030.pdf> (consulté le 17 janvier 2014).
- Samama MM, Amiral J, Guinet C, Perzborn E, Depasse F. An optimised, rapid chromogenic assay, specific for measuring direct factor Xa inhibitors (rivaroxaban) in plasma. *Thromb Haemost* 2010b;104(5):1078-9.
- Samama MM, Martinoli JL, LeFlem L, Guinet C, Plu-Bureau G, Depasse F, Perzborn E. Assessment of laboratory assays to measure rivaroxaban — an oral, direct factor Xa inhibitor. *Thromb Haemost* 2010c;103(4):815-25.

Therapeutic Goods Administration (TGA). Australian public assessment report for rivaroxaban. Australian Government Department of Health and Ageing; 2012. Disponible à : <http://www.tga.gov.au/pdf/auspar/auspar-rivaroxaban-120913.pdf> (consulté le 16 décembre 2013).

Tripodi A. The laboratory and the new oral anticoagulants. Clin Chem 2013;59(2):353-62.

RECHERCHE D'ADÉNOVIRUS PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS RÉEL CHEZ LES PATIENTS IMMUNOSUPPRIMÉS (RÉFÉRENCE – 2013.03.008)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demandeur** : CHU Sainte-Justine
- 1.2 **Date de transmission de la demande d'examen au MSSS** : 21 janvier 2013
- 1.3 **Date de réception de la demande à l'INESSS** : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Réaction en chaîne par polymérase (*Polymerase chain reaction* ou PCR) quantitative en temps réel pour la recherche d'adénovirus (AdV) sur des spécimens de sang, respiratoires, d'urine, de matière fécale ou de liquide céphalo-rachidien (LCR).

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

L'objectif de cette technique est de quantifier le nombre de copies de particules virales par la mesure du nombre de copies de génomes des AdV pouvant être présents dans le sang ou d'autres spécimens biologiques définis. L'ADN est mesuré par PCR quantitative utilisant une courbe standard intégrée faite à partir de contrôles quantifiés commerciaux. Il s'agit d'un essai avec sondes d'hydrolyse (TaqMan® MGB), effectué en triplicata sur chaque échantillon clinique dans des plaques de 96 puits avec un appareil ABI 7500. Cet essai cible une séquence unique conservée du gène Hexon et il permet la détection de 51 sérotypes, couvrant 7 espèces (A à G) d'AdV.

La PCR en temps réel utilisée par le demandeur est basée sur celle décrite par Heim et ses collègues [2003]. Le protocole a été adapté quant au mélange réactionnel (*mastermix*) et par l'ajout d'un contrôle interne (*spike*). Le mélange réactionnel utilisé par Heim (trousse FastStart Hybridization de Roche Diagnostics) a été remplacé par celui de QIAgen, plus performant. Le protocole du demandeur est similaire à celui utilisé au laboratoire Viracor (Lee's Summit, Montana, É.-U.).

L'analyse par PCR en temps réel permet l'identification et la quantification des 6 sous-groupes (A à F) et de 51 sérotypes d'AdV.

2.3 Société ou développeur : protocole de PCR maison, développé et validé à l'interne.

- 2.4 Licences :** ne s'applique pas.
- 2.5 Brevet, le cas échéant :** ne s'applique pas.
- 2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) :** ne s'applique pas. Protocole maison.
- 2.7 Valeur pondérée :** 67,0

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Patients immunosupprimés ayant reçu une allogreffe de cellules hématopoïétiques ou une greffe d'organe solide, ou souffrant d'un cancer hématologique, d'un cancer solide ou d'un déficit immunitaire primaire ou secondaire, afin de détecter et de surveiller les infections disséminées à adénovirus. La plupart des patients ciblés sont des enfants, mais l'analyse peut également être pratiquée sur un certain nombre d'adultes. Selon le demandeur, elle peut aussi être utilisée dans le contexte d'investigation d'une encéphalite ou d'une myocardite.

3.2 Description de la maladie visée

Les patients qui reçoivent une allogreffe de cellules hématopoïétiques ou une greffe d'organe solide sont à risque de contracter différentes infections bactériennes, virales ou parasitaires, selon leur degré d'immunosuppression. Les agents pathogènes spécifiques qui causent ces infections peuvent être différents selon qu'elles surviennent avant la greffe, immédiatement après la greffe (3 semaines à 3 mois) ou plus tard (au-delà de 3 mois) [Anaissie, 2010]. Les adénovirus comptent parmi les agents pathogènes responsables des infections dans la période suivant immédiatement la greffe. Il peut s'agir d'une infection primaire ou de la réactivation d'une infection précédente. La réactivation survient généralement dans les 30 jours après la transplantation chez les enfants et plus de 90 jours après chez les adultes. Plus de 80 % des patients recevant une transplantation autologue et allogreffe présentent une réactivation d'une infection à adénovirus, mais la maladie est grave dans moins de 2 % des cas. L'infection adénovirale se manifeste par une pneumonite, une néphrite, de la diarrhée et une colite hémorragique ou une cystite hémorragique. L'infection peut se généraliser et provoquer la défaillance de plusieurs organes [Anaissie, 2010].

Selon l'information fournie par le demandeur, l'infection à adénovirus a une incidence élevée chez les enfants avec allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (entre 20 % et 26 %) ou avec greffe solide. Entre 1 % et 7 % de ces infections peuvent évoluer vers un syndrome disséminé et causer le décès dans 8 % à 26 % des cas. Une revue de littérature récente indique une incidence entre 8 % et 50 % chez les enfants ayant reçu une greffe de cellules souches et un taux de mortalité entre 3,2 % et 6 %. L'incidence est plus basse chez les adultes (entre 2 % et 5 %) avec un taux de mortalité de 1 % ou moins [Ganzenmueller et Heim, 2012].

3.3 Nombre de patients visés

Le demandeur estime à approximativement 1000 par année au Québec le nombre de recherches d'adénovirus par PCR quantitative sur sang. Il s'agit majoritairement de patients venant du programme de détection d'adénovirus chez les enfants avec allogreffe de cellules hématopoïétiques.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Microbiologie, pédiatrie, hémato-oncologie, diagnostic moléculaire.

3.5 Modalités d'administration du test

Cette analyse peut être réalisée sur des échantillons de sang total, de la gorge, d'urine, de lavage broncho-alvéolaire (LBA), de liquide céphalo-rachidien (LCR) ou d'autres liquides normalement stériles. Les modalités de prélèvement dépendent du type d'échantillon.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

La technologie est unique, aucune analyse faite au Québec ne permet l'identification des adénovirus dans le sang. Elle éviterait les envois hors Québec.

Deux analyses concernant les adénovirus sont inscrites au Répertoire :

- 41202 Adénovirus (détection rapide sur spécimen clinique) (par immunofluorescence). Micro-Viro. Analyse Suprarégionale; VP : 29,0.

Il s'agit d'un test qualitatif de faible sensibilité et ne pouvant être utilisé sur des échantillons sanguins.

- 41203 Adénovirus (TAAN sur spécimen clinique). Micro-Moléculaire. Analyse suprarégionale; VP : 40,0.

C'est une PCR conventionnelle qualitative ne permettant pas le suivi adéquat des patients immunosupprimés.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Actuellement, l'analyse est envoyée hors Québec, soit en Ontario (The Hospital for Sick Children, Toronto) ou aux États-Unis (laboratoire Viracor, Lee's Summit, Montana) pour les cas d'exception. Les données recueillies par le MSSS indiquent que 80 analyses de détection d'adénovirus par PCR ont été effectuées dans ces centres entre le 1^{er} avril 2012 et le 31 mars 2013, à un coût moyen par analyse de presque 200 \$ CAN.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

L'analyse faite au Québec permettrait de réduire les coûts et les délais engendrés par les envois à l'extérieur. Les résultats, disponibles en moins de quatre jours ouvrables, permettraient de commencer le traitement plus rapidement, de faire un meilleur suivi et de diminuer ainsi la mortalité liée à l'infection.

4.4 Coût de la technologie et des options : n'a pas été analysé.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test : non, mais remplacerait les envois hors Québec.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Plusieurs études rétrospectives ont étudié la valeur pronostique de la charge virale sur le développement d'une infection généralisée et le décès. Certaines d'entre elles sont présentées dans le tableau 1.

Une revue de la littérature récente sur les techniques et l'application du diagnostic de la charge virale d'AdV par PCR quantitative conclut que la charge virale $> 10^4$ copies/ml dans le sang prédit la maladie AdV disséminée, quoique la valeur du seuil ne soit pas encore bien établie. L'évaluation de la charge virale est en train de s'implanter comme méthode de suivi de l'infection par AdV chez les patients immunosupprimés après une allogreffe de cellules souches, afin d'obtenir un diagnostic précoce, d'instaurer rapidement un traitement avant le début des symptômes et de monitorer la thérapie antivirale. Des études sont nécessaires afin d'établir la valeur du seuil de charge virale [Ganzenmueller et Heim, 2012]. À défaut d'une valeur absolue corrélant la charge virale et le pronostic, il est recommandé de monitorer les cinétiques virales durant certaines périodes critiques plutôt que d'agir sur une valeur absolue.

Les études repérées ont analysé le lien entre la charge virale et les résultats cliniques, mais elles ne présentent pas de résultats relatifs aux avantages du test quant à la réduction de la mortalité ou de la morbidité, aux bénéfices de survie ou à la qualité de vie. Par ailleurs, aucun effet indésirable lié au test ou au fait de tester n'a été rapporté.

Disponibilité d'un traitement et modifications du traitement en raison des résultats du test

Différents médicaments antiviraux ont été proposés pour le traitement des infections par AdV chez les patients immunosupprimés. Parmi ces médicaments, on trouve notamment le cidofovir, le ganciclovir et la rivabirine. D'autres traitements sont proposés.

Lindemans et ses collaborateurs [2010] ont publié un guide de traitement des infections adénovirales chez les patients immunosupprimés. Un algorithme de traitement avec cidofovir est proposé, soit en prévention (ou proactif, en anglais *preemptive*) ou secondaire. L'algorithme tient compte du risque d'infection chez le patient et de la charge virale détectée par PCR quantitative [Lindemans *et al.*, 2010].

Plus récemment, Ip et Qasim [2013] ont publié une revue sur la gestion clinique des enfants après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Un algorithme est également proposé, de même qu'une définition du groupe à risque élevé avec un seuil de 10^3 copies/ml et différentes modalités de suivi et de traitement en fonction du risque et de la charge virale [Ip et Qasim, 2013].

Le cidofovir n'est pas sur la liste des médicaments au Québec. Il est accessible à travers le programme d'accès spécial (PAS) de Santé Canada.

Tableau 1 Charge virale détectée par PCR quantitative et lien avec les résultats cliniques

ÉTUDE	N ^{BRE} PATIENTS	ÉCHANTILLON	CHARGE VIRALE (copies/ml)		ISSUE CLINIQUE	TEMPS DE LA DÉTECTION
			SEUIL	RESULTAT		
Ganzenmueller <i>et al.</i> , 2011	38 A et E	Sang périphérique	$1,0 \times 10^4$	$> 1,0 \times 10^4$ Entre $4,0 \times 10^4$ et $5,2 \times 10^6$ Entre $1,6 \times 10^4$ et $5,2 \times 10^7$ Entre $2,0 \times 10^7$ et $1,8 \times 10^9$	27/38 9/27 survivants 11/27 décès sans lien avec AdV 7/27 décès maladie AdV	
Lion <i>et al.</i> , 2010	153 E	Sang périphérique Matière fécale	n.d.	51 cas + en matière fécale 29 : $\leq 1 \times 10^6$ copies/g 22 : $> 1 \times 10^6$ copies/g 87 cas -	1 cas d'infection intestinale 5/29 décès, aucun en lien avec AdV 14/22 Virémie 8/22 Maladie AdV disséminée 8/8 décès associés à AdV Virémie ou maladie AdV : 0	
Engelmann <i>et al.</i> , 2009	21 E*		n.d.	$< 10^4$ 1×10^4 Entre $9,9 \times 10^3$ et $4,2 \times 10^8$	8 cas + 6/8 asymptomatiques 1 cas de diarrhée 1 cas d'hépatite et sepsie	2 semaines postgreffe Prégreffe et 4 semaines postgreffe
Erard <i>et al.</i> , 2007	62	668 Plasma	n.d.	Entre 0 et $1,05 \times 10^9$ Entre 0 et $1,74 \times 10^8$ Entre 0 et $4,03 \times 10^1$	Gr 1 : maladie AdV confirmée (24) Gr 2 : infection AdV (19) Gr 3 : non infectés (1/19 patient avait 40,3 copies/ml)	Délai entre la détection et le diagnostic : 15 jours (entre 2 et 48 jours) (Gr 1)
Claas <i>et al.</i> , 2005	48 E			$> 10^6$ à 10^7	12/48 ont eu une PCR + 6/12 ont eu une infection disséminée (au moins 2 PCR + consécutives). 3/6 décès, dont 2 associés à AdV Risque de complications graves	
Leruez-Ville <i>et al.</i> , 2004	44 A et E	127 Plasma Autres	n.d.	Entre $1,0 \times 10^3$ et $1,0 \times 10^8$	8/44 (38 échantillons plasma) + 8 Maladie AdV disséminée 3/8 décès associés à AdV	Entre 19 et 300 jours après greffe

Abréviations : A : adultes; AdV : adénovirus; E : enfants; Gr : groupe; n.d. : non disponible

*Transplantation hépatique

5.1.3 Valeur thérapeutique

La charge virale détectée par l'analyse est utilisée dans les algorithmes de traitement, soit préventif ou secondaire.

5.2 Validité clinique

Plusieurs méthodes de détection des adénovirus ont été développées pour des applications diagnostiques : la culture virale, la détection par des approches immunospécifiques et la microscopie électronique. Toutefois, ces approches analytiques sont déficientes pour faire la recherche d'adénovirus dans le sang de patients immunosupprimés en raison de leur faible sensibilité, des délais associés à la technique et des difficultés intrinsèques liées à la nature de l'échantillon sanguin. Une revue de littérature récente indique que les essais basés sur la PCR sont l'outil à privilégier pour détecter les AdV de façon quantitative, rapide, sensible et spécifique sur tous les types de spécimens chez les patients immunosupprimés après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Le dépistage par PCR chez les patients à risque élevé est requis [Matthes-Martin *et al.*, 2013].

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)			
Valeur prédictive négative (VPN)			
Rapport de vraisemblance (LR)			
Courbe ROC			
Exactitude			

Tableau 2 Performance diagnostique du test

ÉTUDE	N ^{BRE} PATIENTS	OBJECTIF	CHARGE VIRALE (copies/ml)	Se	Sp
Ganzenmueller <i>et al.</i> , 2011	38 A et E	Identification des patients avec issue létale	Seuil : $1,3 \times 10^7$ sang périphérique	100	95
Erard <i>et al.</i> , 2007	62 A et E	Détection d'adenovirémie*	Toutes Soutenue et en augmentation† $\geq 10^3$ copies/ml	87,5 83,3 87,5	86,8 89,4 89,4

Abréviations : A : adultes; E : enfants; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

* Il s'agit de cas prouvés avec culture AdV positive.

† Au moins deux échantillons consécutifs de plasma confirmés positifs pour l'ADN adénoviral.

5.3 Validité analytique (ou technique)

Le demandeur effectue le test de PCR quantitative AdV de routine depuis décembre 2012. Son protocole a fait l'objet d'une validation interne par comparaison avec d'autres protocoles en usage au Royaume-Uni, avec la trousse commerciale R-Gene [Jeulin *et al.*, 2010] et avec la culture cellulaire maison. Le demandeur nous informe également que la

méthode a passé trois séries de tests de validation externe du CAP depuis son implantation en 2012.

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice			
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test			

Précision/Concordance

Comparaison entre une méthode maison telle que décrite par Heim et ses collaborateurs [2003] et la trousse Adenovirus R-Gene (Argene Inc, NT) : 141/150 résultats concordants [Jeulin *et al.*, 2010].

Comparaison entre une méthode PCR maison et culture virale : 92,1 % résultats concordants (139/151). Douze résultats étaient discordants : 8 spécimens respiratoires et 4 spécimens de matière fécale ont eu un résultat négatif à la culture et positif à la PCR [Damen *et al.*, 2008].

Comparaison entre le protocole du demandeur (méthode Heim modifiée) et la culture virale (données du demandeur) : 93,3 % de résultats concordants (121/127); 6 résultats discordants : 4 négatifs en virologie et indéterminés par leur méthode et 2 positifs en virologie et négatifs par PCR.

Répétabilité et reproductibilité

Variabilité intraessai : 2,7 % pour $1,5 \times 10^5$ copies/passage⁸¹ et 1,1 % pour $1,5 \times 10^4$ copies/passage.

Sensibilité analytique

LOD : 8 copies dans l'échantillon, avec une positivité de 50 % (6/12 passages), soit 400 copies/ml. Dans le contrôle interne, 16 copies ont été détectées, avec une positivité de 42 % (5/12 passages), soit une limite de détection de 10^3 copies/ml [Damen *et al.*, 2008].

Entre 50 et 250 copies/ml [Claas *et al.*, 2005].

LLOD : charge virale $\geq 1E + 3$ particules/ml ou gramme. Sur matériel cellulaire : 10 particules par $1E + 6$ cellules [Ebner *et al.*, 2005].

Les résultats de l'étude de validation de la méthode de Heim et ses collaborateurs [2003] montrent une très bonne sensibilité analytique qui se décrit comme suit :

- $1,5 \times 10^1$ copies détectées de façon fiable;
- $1,5 \times 10^0$ copies détectées occasionnellement;
- plus fortes dilutions : négatives;

⁸¹ Passage : run.

- contrôles négatifs : ont eu un résultat négatif.

Spécificité analytique

Sur 61 échantillons témoins contenant différents virus, 4 (3 EBV⁸² et 1 BK virus) ont eu un résultat positif pour l'AdV [Damen *et al.*, 2008].

Aucun signal n'a été obtenu lorsqu'on a utilisé comme cible le CMV⁸³, l'EVB, le virus de l'herpès, le parvovirus, le virus de l'hépatite B et C, le VIH⁸⁴ et le virus BK (polyomavirus) [Claas *et al.*, 2005].

Réactivité croisée marginale entre la détection des sous-groupes ACF et BDE. Concordance complète sur plus de 200 spécimens testés en parallèle par RQ-PCR en duplicata et RQ-PCR espèce-spécifique (5 réactions), et aucun faux positif [Ebner *et al.*, 2005].

Régression linéaire

Domaine de linéarité (*linear dynamic range*) : entre 5×10^3 et 5×10^8 , coefficient de régression : 0,991 (contrôle interne : 10^4 copies; dilution : 12 séries de 10 x) [Damen *et al.*, 2008].

Dans l'étude de Heim et ses collaborateurs [2003], la zone de linéarité de la droite se situe entre $1,5 \times 10^1$ et $1,5 \times 10^8$ copies. La pente de $-3,50 \pm 0,075$ signale une efficacité de la réaction d'amplification de plus de 93 % [Heim *et al.*, 2003].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Les directives cliniques sur le diagnostic et le traitement des infections adénovirales chez les patients immunosupprimés, issues de la quatrième Conférence européenne sur les infections et la leucémie (*4th European Conference of Infections in Leukemia* [ECIL-4]), indiquent que la technique recommandée pour le monitoring des patients à risque élevé est la PCR quantitative [Matthes-Martin *et al.*, 2012]. Les recommandations de ces lignes directrices concernant le monitoring de l'infection par AdV font l'objet d'une gradation. Les grades sont indiqués entre parenthèses et l'explication des grades est présentée en annexe.

Patients recevant une allogreffe de cellules souches :

- le monitoring systématique de la charge virale n'est pas recommandé chez les patients à bas risque, comme ceux recevant une greffe de la fratrie HLA-identique (B II);
- le monitoring de la charge virale en sang périphérique avec PCR quantitative est recommandé sur une base hebdomadaire chez les patients qui ont au moins un facteur de risque (A II pour les enfants; B III pour les adultes);
- la durée du monitoring doit être adaptée à la durée du risque selon le degré de reconstitution de l'immunité (B III enfants; C III adultes).

Transplantation autologue des cellules souches :

- le monitoring de routine n'est pas recommandé (C II);
- la PCR quantitative doit être effectuée en cas de suspicion clinique d'infection ou de maladie par AdV (C II).

L'ECIL-4 indique également que les données des dernières années montrent que la PCR quantitative est plus sensible et prédictive de la maladie adénovirale que la culture ou l'immunofluorescence directe.

82. EBV : virus d'Epstein-Barr.

83. CMV : cytomégalovirus.

84. VIH : virus de l'immunodéficience humaine.

Dans un guide de pratique clinique sur la prévention des complications infectieuses chez les patients recevant une transplantation de cellules hématopoïétiques, publié en 2009, l'Infectious Diseases Society of America (IDSA) énonçait que, pour les patients à très haut risque d'infection par adénovirus⁸⁵, on pouvait considérer le monitoring hebdomadaire d'infection adénovirale active par PCR, soit durant les six premiers mois après la transplantation ou pour la durée de l'immunosuppression/lymphopénie sévère. L'IDSA qualifiait la recommandation d'« optionnelle » (CII). Par ailleurs, elle recommandait le test par PCR quantitative pour monitorer la progression de l'infection et la réponse au traitement (*BII ou Should generally be offered*) [Tomblyn et al., 2009].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

- 6.1 **Effet sur les ressources matérielles et humaines** : n'a pas été analysé.
- 6.2 **Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois** : n'ont pas été analysées.
- 6.3 **Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)** : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Il s'agit d'un test utile pour la détection des AdV chez les patients immunosupprimés. Cette infection est mortelle chez une forte proportion de ces patients. Le test permet la détection précoce et donne la possibilité d'offrir un traitement aux patients.

7.2 Validité clinique

Peu d'études repérées rapportent de l'information sur la validité clinique du test en termes de sensibilité et de spécificité. Lorsque ces données sont présentes, elles indiquent une bonne performance du test. On peut observer un lien entre la charge virale et les résultats cliniques, quoiqu'il n'y ait pas de seuil de charge virale clairement établi.

7.3 Validité analytique

La validité analytique a été bien étudiée et les résultats présentés, tirés des différentes études et de la validation menée par le demandeur, indiquent une bonne performance.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Au moins deux lignes directrices repérées recommandent le monitoring de la charge virale en sang périphérique avec PCR quantitative selon différents schémas en fonction de la condition clinique du patient.

85. Patients à très haut risque d'infection adénovirale : réaction greffon contre l'hôte (GvHD) réfractaire, transplantation des cellules du cordon ombilical, transplantation haploidentique, greffe des cellules souches avec déplétion T-cell >2-3 log₁₀, utilisation d'anticorps anti-T cell (ex. : globuline antithymocite, alemtuzumab).

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Recherche d'adénovirus par PCR quantitative en temps réel chez les patients immunosupprimés

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☒ Décision de production d'un guide d'usage optimal pour enfants et adultes
- ☒ Favoriser la collecte des données de résultats cliniques

NOTE

Suggestion pour le Répertoire :

- discipline : microbiologie;
- sous-section : diagnostic moléculaire.

RÉFÉRENCES

- Anaissie E. Overview of infections following hematopoietic cell transplantation. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2010. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Claas ECJ, Schilham MW, de Brouwer CS, Hubacek P, Echavarria M, Lankester AC, et al. Internally controlled real-time PCR monitoring of adenovirus DNA load in serum or plasma of transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2005;43(4):1738-44.
- Damen M, Minnaar R, Glasius P, van der Ham A, Koen G, Wertheim P, et al. Real-time PCR with an internal control for detection of all known human adenovirus serotypes. *J Clin Microbiol* 2008;46(12):3997-4003.
- Ebner K, Suda M, Watzinger F, Lion T. Molecular detection and quantitative analysis of the entire spectrum of human adenoviruses by a two-reaction real-time PCR assay. *J. Clin Microbiol* 2005;43(7):3049-53.
- Engelmann G, Heim A, Greil J, Schmitt CP, Flechtenmacher C, Daum E, et al. Adenovirus infection and treatment with cidofovir in children after liver transplantation. *Pediatr Transplant* 2009;13(4):421-8.
- Erard V, Huang ML, Ferrenberg J, Nguy L, Stevens-Ayers TL, Hackman RC, Corey L, Boeckh M. Quantitative real-time polymerase chain reaction for detection of adenovirus after T cell-replete hematopoietic cell transplantation: Viral load as a marker for invasive disease. *Clin Infect Dis* 2007;45(8):958-65.
- Ganzenmueller T et Heim A. Adenoviral load diagnostics by quantitative polymerase chain reaction: Techniques and application. *Rev Med Virol* 2012;22(3):194-208.
- Ganzenmueller T, Buchholz S, Harste G, Dammann E, Trenchel R, Heim A. High lethality of human adenovirus disease in adult allogeneic stem cell transplant recipients with high adenoviral blood load. *J Clin Virol* 2011;52(1):55-9.
- Heim A, Ebnet C, Harste G, Pring-Akerblom P. Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol* 2003;70(2):228-39.
- Ip W et Qasim W. Management of adenovirus in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Adv Hematol* 2013;2013:Article ID 176418.
- Jeulin H, Salmon A, Bordigoni P, Venard V. Comparison of in-house real-time quantitative PCR to the Adenovirus R-Gene kit for determination of adenovirus load in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2010;48(9):3132-37.
- Leruez-Ville M, Minard V, Lacaille F, Buzyn A, Abachin E, Blanche S, et al. Real-time blood plasma polymerase chain reaction for management of disseminated adenovirus infection. *Clin Infect Dis* 2004;38(1):45-52.
- Lindemans CA, Leen AM, Boelens JJ. How I treat adenovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood* 2010;116(25):5476-85.
- Lion T, Kosulin K, Landlinger C, Rauch M, Preuner S, Jugovic D, et al. Monitoring of adenovirus load in stool by real-time PCR permits early detection of impending invasive infection in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 2010;24(4):706-14.

- Matthes-Martin S, Boztug H, Lion T. Diagnosis and treatment of adenovirus infection in immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11(10):1017-28.
- Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, Engelhard D, Hirsch HH, Cordonnier C; Fourth European Conference on Infections in Leukemia. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: Summary of ECIL-4 (2011). *Transpl Infect Dis* 2012;14(6):555-63
- Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: A global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15(10):1143-238.

ANNEXE

ÉCHELLE DE GRADATION DE LA PREUVE ET DES RECOMMANDATIONS UTILISÉE PAR ECIL-4
[Matthes-Martin *et al.*, 2012].

Quality of evidence

I Evidence from ≥ 1 properly randomized, controlled trial

II Evidence from ≥ 1 well-designed clinical trial, without randomization; from cohort or case-controlled analytic studies (preferably from >1 center); from multiple time-series; or from dramatic results from uncontrolled experiments

III Evidence from opinions of respected authorities, based on clinical experience, descriptive studies, or reports of expert committees

Strength of recommendation

A. Good evidence to support a recommendation for use

B. Moderate evidence to support a recommendation for use

C. Poor evidence to support a recommendation

DÉTECTION DE L'INFLIXIMAB ET DES ANTICORPS ANTI-INFLIXIMAB AVEC ELISA OU AVEC CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (RÉFÉRENCE – 2013.03.009)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur

- Hôpital Maisonneuve Rosemont (HMR)
- Hôpital Saint-Luc du CHUM

1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS

- HMR : 24 juillet 2013
- Hôpital Saint-Luc du CHUM : 28 septembre 2013

1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013

1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par les demandeurs ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Essai immuno-enzymatique de type ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) avec résultat quantitatif pour l'infiximab (IFX), et résultat semi-quantitatif pour la détection des anticorps anti-IFX.

Mesure quantitative par chromatographie liquide à haute performance (*high performance liquid chromatography* - HPLC) par essai « *homogeneous mobility shift assay* – HMSA » pour la détection de l'IFX et des anticorps anti-IFX.

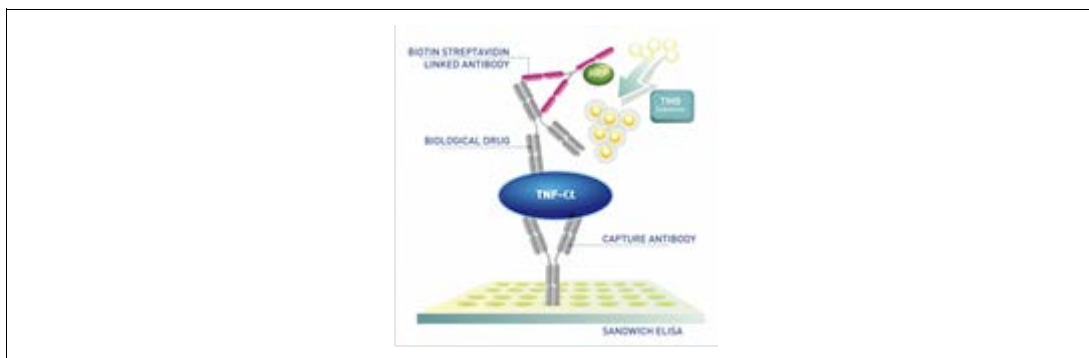
2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

Deux tests distincts sont utilisés pour évaluer l'efficacité du traitement avec l'IFX : l'évaluation des niveaux sériques d'IFX et celle des anticorps anti-IFX. Les demandeurs ont proposé deux approches techniques différentes.

ELISA

La mesure quantitative du niveau sérique d'IFX présent dans l'échantillon est réalisée avec la trousse Promonitor®-IFX (Proteomika S. L., filiale de Progenika Biopharma S.A., Espagne). Il s'agit d'un essai ELISA (sur support solide) qui consiste à permettre l'hybridation de l'IFX libre présent dans le sérum au TNF α (*tumor necrosis factor alpha*) fixé sur un support solide (micropuits) par l'intermédiaire d'un anticorps. La quantification est effectuée après l'hybridation d'un deuxième anticorps monoclonal, couplé à l'enzyme HRP et dirigé contre la portion IFX des complexes IFX/TNF α fixés sur le support. Une réaction enzymatique utilisant un chromogène (TMB⁸⁶) permet alors la quantification du nombre de complexes TNF α /IFX en évaluant l'intensité de la réaction colorimétrique par spectrophotométrie et à l'aide d'une courbe de calibration. Le signal obtenu est proportionnel à la quantité d'IFX dans l'échantillon du patient.

Figure 1 Illustration des complexes immuno-enzymatiques formés lors de l'essai ELISA



Source : tirée de http://www.proteomika.com/index.php?option=com_content&task=view&lang=en&id=318&Itemid=293.
Figure reproduite avec l'autorisation de Progenika Biopharma S.A.

La mesure semi-quantitative des anticorps anti-IFX est réalisée avec la trousse Promonitor®-anti-IFX. Ce test ELISA permet de quantifier les taux d'anticorps anti-IFX. La procédure est similaire à la précédente, à la différence que le signal obtenu est proportionnel à la quantité d'anticorps dirigés contre l'IFX dans l'échantillon du patient.

Pour des raisons d'efficience, ces analyses seront automatisées sur le DSX System de la compagnie Dynex Magellan Biosciences (plateforme analytique permettant l'automatisation des immuno-essais de type ELISA).

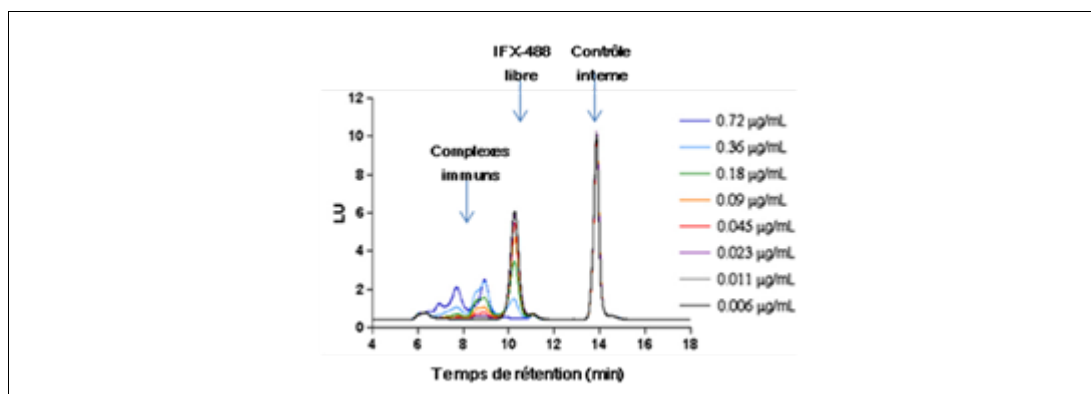
Un programme de contrôle externe sera mis en place au début de 2014.

HPLC-HMSA

Les deux analyses utilisent cette technique avec une approche similaire. L'essai utilise des molécules d'IFX (pour la quantification des anti-IFX) ou de TNF α (pour la quantification de l'IFX) couplées à l'Alexa fluor 488. En fonction de l'analyse désirée, l'une ou l'autre des molécules est incubée avec le sérum de patients traités. La formation et la quantification de complexes TNF α -488/IFX ou IFX-488/anti-IFX est alors évaluée par HPLC. Les complexes formés apparaissent sous la forme de pics tardifs en comparaison avec le pic du substrat seul. Le calcul des proportions d'IFX ou TNF α libres versus ce qui est séquestré sous la forme de complexes permet la quantification d'IFX ou des anticorps anti-IFX.

86. TMB : 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine.

Figure 2 Profil de résolution de l'électrophorèse HPLC illustrant le temps de rétention des complexes anti-IFX/IFX-488 versus IFX-488 libre



Source : adapté de Wang *et al.*, 2012. Figure reproduite avec l'autorisation de l'auteur.

Wang et ses collaborateurs [2012] rapportent que leur procédure, qui inclut une étape de dissociation acide entre l'IFX et les anti-IFX potentiellement présents dans le sérum des patients, réduit les interférences et permet d'effectuer l'analyse sans tenir compte du moment de la dernière prise de médicament, contrairement aux essais ELISA qui seraient sujets aux interférences causées par l'IFX libre. La présence de ce dernier pourrait causer une réaction croisée empêchant la détection optimale des anti-IFX.

Selon le demandeur, il n'existe pas de programme de contrôle externe pour ce test.

2.3 Société ou développeur

La méthode ELISA a été décrite par Engvall et Perlmann [1971]. Plusieurs trousse ELISA sont disponibles pour ce test.

La méthode HPLC-HMSA a été décrite par Wang et ses collaborateurs [2012].

2.4 Licences : ne s'applique pas (ELISA et HPLC-HMSA).

2.5 Brevet, le cas échéant

ELISA : ne s'applique pas.

HPLC-HMSA : la méthode décrite par Wang et ses collaborateurs [2012] est probablement semblable à celle utilisée par Prometheus Therapeutics and Diagnostics (États-Unis) pour le test Anser®-IFX. Cette compagnie a déposé un brevet pour ce test.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

ELISA : l'analyse ne repose pas sur des trousse homologuées par Santé Canada. Les trousse sont homologuées par l'Union européenne (CE Mark).

HPLC-HMSA : utilise la trousse Alexa Fluor d'Invitrogen (Frederick, CA) employée comme fluorochrome sur plusieurs anticorps déjà homologués par Santé Canada.

2.7 Valeur pondérée

ELISA : 155,10 (estimée en 2013).

HPLC-HMSA : 65,33 (estimée en 2013).

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

L'IFX est un médicament d'exception au Québec, spécifiquement indiqué pour les maladies de gravité modérée et sévère suivantes : maladie de Crohn, polyarthrite rhumatoïde, arthrite idiopathique juvénile et spondylite psoriasique. Il est aussi indiqué pour une forme grave de psoriasis en plaques chroniques [RAMQ, 2013]. Les patients ciblés par les analyses à l'étude sont ceux qui présentent une résistance primaire ou secondaire à l'IFX et ceux présentant une réponse sous-optimale. En effet, 30 % des patients ne répondent pas à une thérapie anti-TNF α . De plus, entre 20 et 60 % de ceux qui présentent une réponse primaire développent une résistance secondaire [Nanda *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2012].

3.2 Description des maladies visées

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire de l'intestin, idiopathique, qui peut affecter l'ensemble du tractus gastro-intestinal [Peppercorn, 2013]. Les manifestations cliniques sont variables et peuvent inclure la fatigue, la diarrhée prolongée avec des douleurs abdominales, la perte de poids, la fièvre et la rectorragie. La maladie est caractérisée par des exacerbations intermittentes suivies de périodes de rémission [Peppercorn, 2013]. Une étude sur l'épidémiologie de la maladie de Crohn au Québec a rapporté une prévalence normalisée pour l'âge et le sexe de 189,7 cas pour 100 000 personnes entre 1993 et 2002, et une incidence normalisée pour l'âge et le sexe de 20,2 cas/100 000 personnes-années pour la période 1998-2000 [Lowe, 2009].

L'arthrite rhumatoïde (AR) est une maladie chronique, systémique et inflammatoire d'étiologie inconnue, qui affecte principalement les articulations. Bien qu'elle puisse guérir, l'AR peut entraîner la destruction des articulations et des déformations si elle n'est pas contrôlée. Chez les patients qui ne répondent pas au traitement, une incapacité importante peut se manifester dans les 10 à 20 ans après le diagnostic [Venables et Maini, 2012]. L'AR a un effet important sur la capacité fonctionnelle du patient et sur sa qualité de vie, et elle est associée à une mortalité accrue [Tarride *et al.*, 2013; Venables et Maini, 2013]. La prévalence de l'AR au Canada est autour de 1 % de la population [Tarride *et al.*, 2013; Alliance de l'arthrite du Canada, 2011; Badley et Desmeules, 2003].

La spondylarthrite ankylosante (SA) est une maladie inflammatoire chronique progressive caractérisée par la douleur, la raideur des articulations et une perte progressive de la mobilité rachidienne qui peut entraîner de graves limitations fonctionnelles [Kobelt *et al.*, 2006]. Il existe une corrélation entre la prévalence de l'antigène HLA-B27 et la prévalence de la SA [Yu, 2012]. La prévalence et l'incidence sont difficiles à estimer et elles sont variables en fonction de la communauté ou de la région (par exemple, on rapporte des prévalences allant de 1,1 % à 7,5 % dans diverses communautés américaines, et l'incidence pourrait varier de 1,5 par 100 000 à 10 par 100 000 personnes-années dans différents pays

européens) [Yu, 2012].

Le psoriasis est une maladie chronique systémique, auto-immune et inflammatoire, qui affecte environ 1 million de Canadiens. Environ un tiers sont considérés comme des cas de modérés à graves [Wasel *et al.*, 2009]. Le psoriasis peut avoir un effet important sur la qualité de vie, il est associé à un risque accru de comorbidités (p. ex. l'obésité, le diabète de type 2) et il a des conséquences psychologiques, financières et sociales négatives [Wasel *et al.*, 2009].

Le facteur de nécrose tumoral alpha (TNF α) joue un rôle central dans la pathogenèse de ces maladies [Kopylov *et al.*, 2012; Suryaprasad et Prindiville, 2003]. Les molécules protéiques telles que l'IFX (un anticorps monoclonal chimérique humain-murin) qui bloquent le TNF α , sont efficaces pour réduire l'activité de la maladie inflammatoire [Tracey *et al.*, 2008]. Toutefois, dans un grand nombre de cas, on observe une perte de réponse dont la raison n'est pas toujours connue, quoique la formation d'anticorps anti-IFX semble jouer un rôle important. La formation de ces anticorps principalement dirigés contre la portion murine de l'IFX est rapportée par jusqu'à 60 % des patients. Ils peuvent apparaître dès la première dose et peuvent persister jusqu'à 4,5 ans après l'interruption de la thérapie. Il a été rapporté que ces anticorps augmentaient la clairance du médicament ou le neutralisaient. Un certain nombre d'études associent de faibles niveaux d'IFX à une perte de réponse clinique, une diminution de la qualité de vie et une augmentation des coûts reliés aux soins de santé.

3.3 Nombre de patients visés

Selon les données de la RAMQ, le nombre de patients sous traitement avec infliximab au Québec a augmenté de 98 en 2002 à 2992 en 2013. Pas moins de 80 de ces cas (< 3 %) sont pédiatriques (17 ans et moins). Du nombre total, 58 % de patients étaient atteints de la maladie de Crohn, 18 % d'AR, 10 % de SA et 8 % de psoriasis. Le diagnostic des 6 % résiduels était inconnu. En considérant l'augmentation annuelle moyenne observée dans le nombre de patients prenant l'infliximab au cours des trois dernières années (10,2 %), et en supposant qu'aucune nouvelle indication ne sera ajoutée pour ce traitement, le nombre attendu de patients qui prennent ce médicament pourrait être de 3297 en 2014, de 3633 en 2015 et de 4004 en 2016. Selon le demandeur, le nombre prévu de tests pour le Québec sera d'environ 280 par an.

Une revue de 16 études sur la maladie de Crohn, comprenant 2236 patients qui ont représenté 6284 années de suivi, a estimé que 37 % des patients ont eu une perte de réponse à l'IFX pendant la période de traitement observée et que le risque de perte de la réponse à l'IFX est de 13 % par patient-an [Gisbert et Panés, 2009]. Le pourcentage de patients traités par infliximab et qui sont testés varie d'un centre à l'autre; globalement, 20 % des patients seraient testés chaque année⁸⁷. Cela impliquerait 598 essais en 2013. Toutefois, ce pourcentage pourrait augmenter si le test est inclus dans le Répertoire. Selon l'information fournie par le MSSS, 236 tests ont été envoyés à Prometheus Therapeutics and Diagnostics entre le 1^{er} avril 2012 et le 31 décembre 2013⁸⁸.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Rhumatologues, dermatologues, gastro-entérologues, immunologues.

87. Communication personnelle avec le Dr Raymond Lahaie (Hôpital Saint-Luc du CHUM); le 13 janvier 2014.

88. Information fournie par le MSSS, Québec, le 12 novembre 2013.

3.5 Modalités d'administration du test

Le prélèvement est effectué à l'hôpital, à l'aide d'une ponction veineuse.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique

Il s'agit d'analyses qui remplaceront les envois hors Québec.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Les résultats du test, ainsi que les résultats cliniques (activité de la maladie), servent à évaluer l'efficacité du traitement avec l'IFX, à prédire les réactions liées au traitement et à évaluer la perte de réponse clinique au traitement.

Actuellement, les analyses sont réalisées hors Québec.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Les effets secondaires liés à la médication, l'absence de réponse primaire ou la pharmacorésistance secondaire sont des problèmes fréquemment rencontrés avec les agents anti-TNF, et qui compromettent l'optimisation du traitement [Martin du Pain *et al.*, 2009]. Ces problématiques ont des répercussions importantes sur l'état de santé des patients et elles engendrent des coûts supplémentaires pour le système de santé. Les tests proposés permettraient d'améliorer le traitement (p. ex. augmenter la dose, changer le médicament) et la gestion clinique des maladies, de réduire le recours à d'autres services de santé (p. ex. visites à l'urgence, hospitalisations, visites chez le médecin) ainsi que d'améliorer l'aspect coût-efficacité du traitement [Adisen *et al.*, 2010; Afif *et al.*, 2010].

Bien que l'utilité clinique et l'avantage de performance relative de l'ELISA versus la HPLC-HMSA n'aient pas été clairement démontrés, il existe un avantage technique avec la HPLC-HMSA en ce qu'elle peut être administrée à n'importe quel moment pendant le cycle de traitement du patient, tandis que la mesure des niveaux creux de IFX avec ELISA requiert un prélèvement juste avant la prochaine dose.

4.4 Coût de la technologie et des options

Selon l'information fournie par les demandeurs, la valeur pondérée du test ELISA est de 155,10, et celle du test HPLC-HMSA est de 65,33.

Le laboratoire du demandeur du test ELISA possède déjà l'équipement nécessaire et le personnel qualifié pour faire ces analyses. Aucun programme commercial de contrôle de la qualité n'est disponible pour les analyses ELISA dont il est question dans cet avis. Toutefois, le demandeur a mis en place un programme d'échange d'échantillons avec le laboratoire GD Diagnostics spécialisés, qui commencera au premier trimestre de 2014. Chaque laboratoire assumera donc le coût de 8 analyses supplémentaires par année.

Pour le test HPLC-HSMA, le laboratoire du demandeur possède déjà l'équipement nécessaire et le personnel qualifié pour effectuer l'analyse, mais la valeur pondérée n'inclut pas le coût d'un programme de contrôle externe puisqu'il n'a pas encore été mis en place par le demandeur.

Présentement, les tests sont envoyés à l'extérieur du Québec, principalement à Prometheus

Therapeutics and Diagnostics aux États-Unis. Selon l'information fournie par le MSSS, le coût total des 236 essais réalisés entre le 1^{er} avril 2012 et le 31 décembre 2013 était de 261 888 \$⁸⁹. La majeure partie de ce coût correspond à 108 essais Anser®IFX (206 275 \$) et le reste (55 613 \$) est attribué à 128 tests ELISA. Le coût unitaire de l'essai Anser®IFX varie entre 1400 \$ et 2500 \$, et celui de l'ELISA varie entre 225 \$ et 400 \$.

Si on tient compte de la valeur pondérée du test effectué localement, environ 1700 analyses ELISA et 4000 analyses HPLC-HMSA peuvent être faites localement pour la somme allouée aux 236 analyses faites hors Québec.

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Il existe d'autres méthodes décrites dans la littérature scientifique pour mesurer l'IFX et l'anti-IFX : essai radio-immunologique en phase liquide, essai du gène rapporteur et essai immuno-enzymatique [Steenholdt *et al.*, 2013]. Aucune de ces méthodes n'est incluse dans le Répertoire.

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Une méta-analyse de 7 études sur la maladie de Crohn (au total 11 études incluses) montre un risque élevé de « perte de la réponse » en présence d'anticorps anti-IFX chez les patients atteints de maladie de Crohn (RR : 3,2, IC à 95 % : 1,9 à 5,5; $p < 0,0001$). Les études étaient hétérogènes ($I^2 : 73 \%$). En combinant les résultats de 3 études, on observe une différence significative dans les niveaux minimaux d'IFX sérique (creux de la concentration sérique observable juste avant l'administration d'une dose) entre les patients qui avaient des anticorps positifs et ceux qui avaient des anticorps négatifs anti-IFX (différence moyenne standardisée : - 0,8, IC à 95 % : - 1,2 à - 0,4; $p < 0,0001$). Par ailleurs, 8 des 11 études ont utilisé le test ELISA, 2 ont employé un dosage radio-immunologique, et la technique n'est pas mentionnée dans une étude [Nanda *et al.*, 2013]. Une revue systématique de 13 études sur l'utilité clinique de tester les niveaux d'anticorps contre les anti-TNF α dans la maladie de Crohn [Chaparro *et al.*, 2012] a rapporté une relation étroite entre la concentration d'anti-TNF α et le maintien de la réponse thérapeutique. Les auteurs ont indiqué que le rôle des anticorps dans la perte de la réponse semble être limité à leur effet favorisant la clairance du médicament. Le risque de réactions d'injection, mais pas de réactions d'hypersensibilité retardée, est plus élevé chez les patients présentant des anticorps contre l'anti-TNF α . Les auteurs ont conclu que le dosage d'anti-TNF α et des anticorps semble utile pour le monitoring thérapeutique de l'IFX dans le but d'optimiser le traitement et d'améliorer la gestion clinique des patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin. Sur les 13 études incluses, 10 ont mesuré les taux sériques d'anticorps et leurs effets sur l'efficacité. Toutefois, les méthodes utilisées pour mesurer les anticorps dans les études n'ont pas été précisées.

La relation entre la présence d'anticorps anti-IFX et la perte de la réponse thérapeutique a été évaluée dans une étude pilote de 15 patients atteints de psoriasis [Adisen *et al.*, 2010]. Une trousse ELISA a été utilisée pour analyser la présence d'anticorps, et l'efficacité clinique

89. Information fournie par le MSSS, Québec, le 12 novembre 2013.

a été évaluée avec le *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI⁹⁰). La durée totale du suivi n'était pas claire. Parmi les patients dont les anticorps étaient négatifs, 10 avaient reçu, en moyenne, $5,9 \pm 3,2$ perfusions d'IFX comparativement à $9,0 \pm 5,2$ perfusions d'IFX chez les 5 patients ayant des anticorps positifs. Les scores PASI étaient significativement plus faibles dans le groupe « anticorps négatifs » à la fin du suivi ($5,3 \pm 2,4$ versus $10,0 \pm 4,9$, $p = 0,02$).

Une étude prospective a évalué la relation entre les taux sériques de TNF α et la réponse clinique chez 55 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde traités par IFX [Edrees *et al.*, 2005]. L'activité clinique de la maladie a été évaluée avec le score de Ritchie⁹¹. Les anticorps IFX ont été mesurés en utilisant un test ELISA de compétition immédiatement avant et de 9 à 11 jours après avoir reçu l'IFX. Les taux sériques moyens de TNF α après la perfusion ont été plus élevés dans le groupe avec maladie active (score de Ritchie > 10) par rapport au groupe avec maladie inactive (score de Ritchie ≤ 10) ($76,6 \pm 93,4$ ng/ml vs $26,4 \pm 7,9$ ng/ml, $p < 0,01$).

Une étude rétrospective de 51 patients consécutifs atteints d'AR a évalué la relation entre les anticorps anti-IFX et la réponse clinique [Haraoui *et al.*, 2006]. Les concentrations d'IFX ont été mesurées en utilisant la méthode ELISA. La durée totale de suivi n'était pas claire. Les patients ont été séparés en deux groupes : le groupe 1 ($n = 19$) incluait ceux qui ont atteint et maintenu une réponse clinique à l'infliximab à une dose de 3 mg/kg administrée toutes les 8 semaines, et le groupe 2 ($n = 32$) comprenait ceux qui ont eu besoin de doses plus élevées. Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives dans les données de base ou les caractéristiques cliniques entre les groupes. Des anticorps anti-IFX étaient présents chez 47 % des patients du groupe 2 contre 27 % des patients du groupe 1, avec des concentrations moyennes d'anticorps anti-IFX plus élevées dans le groupe 2 ($18,3 \pm 8,9$ g/ml vs $7,5 \pm 4,8$ g/ml, $p = 0,02$).

Les concentrations sériques résiduelles d'IFX et la réponse clinique au traitement IFX ont été évaluées de façon prospective sur une cohorte de 105 patients atteints d'AR [Wolbink *et al.*, 2005] à l'aide de la méthode ELISA. La réponse clinique a été mesurée par le score d'activité de 28 articulations (DAS28) et les critères de réponse EULAR. Après 14 semaines, 77 patients avaient satisfait aux critères de réponse. Les non-répondeurs avaient des niveaux inférieurs de creux sériques de IFX que les répondeurs – médiane (intervalle interquartile) : 0,5 mg/l (0,2 à 2,2 mg/l) vs 3,6 mg/l (1,4 à 8,2 mg/l), $p = 0,01$.

Aucun article pertinent sur la spondylarthrite n'a été repéré.

5.1.3 Valeur thérapeutique

Les résultats du test aideront à déterminer l'efficacité du traitement avec l'IFX et à évaluer si une modification de traitement (changement de dose, ajout d'un autre anti-TNF, etc.) est nécessaire afin d'optimiser les réponses thérapeutiques (morbidité, invalidité, qualité de vie et survie), et ce, pour plusieurs maladies.

90. L'indice *Psoriasis Area and Severity* (PASI) [Fredriksson et Petersson, 1978] est utilisé en dermatologie pour surveiller la progression du psoriasis et l'efficacité des traitements. Le score PASI est basé sur le nombre de zones affectées (exemple : tête, bras, tronc, jambes), le pourcentage de la surface de la peau affectée et la gravité des lésions. Le score final varie de 0 (absence de psoriasis) à 72 (psoriasis grave).

91. L'indice articulaire de Ritchie (RAI) est une mesure pour l'évaluation de la douleur articulaire chez les patients souffrant de la polyarthrite rhumatoïde. C'est la somme des degrés de sensibilité de chaque articulation (0 = pas de douleur, 1 = douleur à la palpation, 2 = douleur et sursaut, et 3 = sursaut et retrait) provoquée par une pression ferme sur la périphérie de l'articulation de 53 joints articulaires (par exemple les épaules, coudes, poignets, hanches).

Une étude rétrospective a été réalisée sur 155 patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin, qui avaient des anticorps anti-IFX. Les concentrations d'IFX mesurées au cours de leur suivi indiquaient que, sur les 177 tests qui ont été réalisés dans ce groupe de patients, les résultats ont eu un effet sur les décisions de traitement dans 73 % des cas, en particulier à l'égard des décisions de modifier le traitement ou d'augmenter la dose [Afif *et al.*, 2010].

Une étude de surveillance de la concentration d'IFX pour contrôler l'activité de l'AR chez 24 patients [Mulleman *et al.*, 2009] a comparé les décisions de traitement prises en utilisant l'outil DAS28 (nombre d'articulations gonflées et douloureuses, appréciation globale de l'état de santé par le patient et vitesse de sédimentation ou protéine C réactive) avec celles prises en utilisant des mesures d'anticorps anti-IFX (ELISA) ainsi que les résultats cliniques. Les patients ont été suivis pendant quatre visites consécutives. La décision thérapeutique à l'occasion de la deuxième visite diffère de celle prise au moment de l'évaluation initiale chez 12 patients (50 %). Les 6 patients qui avaient diminué la dose sont revenus au dosage initial, 4 des 13 patients qui avaient maintenu le dosage ont eu une augmentation de la dose et 2 des 5 patients qui avaient eu une augmentation de la dose sont revenus au dosage initial.

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)		x	
Valeur prédictive négative (VPN)		x	
Rapport de vraisemblance (LR)		x	
Courbe ROC	x		
Exactitude		x	

HMSA

Les valeurs moyennes des anticorps IFX dans les échantillons de sérum de patients ont été significativement plus élevées que celles dans le groupe témoin qui était sans médicament et en bonne santé (moyenne $\pm$ ET = $9,57 \pm 11,43$ vs $0,73 \pm 0,29$ $\mu\text{g/ml}$, $p < 0,0001$). L'analyse de la courbe ROC a montré que l'aire sous la courbe était de $0,986 \pm 0,007$ (IC à 95 % : de 0,973 à 0,999, $p < 0,0001$), la sensibilité était de 95 % (IC à 95 % : de 88,72 % à 98,36 %), et le rapport des cotes (probabilité d'obtenir un résultat positif pour une personne malade plutôt que pour une personne non malade) était de 47,50 avec un seuil de positivité de 1,19 $\mu\text{g/ml}$ [Wang *et al.*, 2012].

Une communication présentant les résultats de l'étude de Feagan et ses collaborateurs [2012] dans le cadre du congrès *Digestive Disease Week* (San Diego, Californie) rapportait que l'utilisation de l'approche HMSA sur 1487 échantillons a permis de corrélérer les niveaux de creux sérique d'IFX et les niveaux d'anticorps anti-IFX chez 483 patients en thérapie de maintien avec le niveau d'activité de la maladie de Crohn. Les auteurs rapportent que 64 % des patients présentaient des niveaux de creux sériques supérieurs à 3 $\mu\text{g/ml}$ d'IFX et 24 % portaient des anticorps anti-IFX. Les auteurs ont observé qu'en l'absence d'anticorps anti-

IFX la détection d'un niveau seuil de 3 µg/ml d'IFX au creux sérique corrélait avec de faibles niveaux de protéine C réactive (CRP), un marqueur de l'activité de la maladie. À l'inverse, la présence d'anticorps anti-IFX corrélait avec une augmentation de l'activité de la protéine C réactive, et ce, indépendamment du niveau sérique d'IFX.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité		x	
Reproductibilité		x	
Sensibilité analytique		x	
Spécificité analytique		x	
Effet de matrice		x	
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test	x		

La monographie de la trousse Promonitor® IFX [Proteomika, 2013; MyAssays, 2012] a fourni des données sur la validité analytique par rapport à un test ELISA commun. Les données ont été basées sur quatre études rapportées dans la littérature. Sur la base de 277 échantillons :

- coefficient de corrélation : 0,961 ($p = 1 \times 10^{-6}$)
- concordance : 97,8 %

La corrélation entre trois essais ELISA pour mesurer l'IFX et les anticorps anti-IFX a été évaluée en utilisant 62 échantillons de sérum et échantillons témoins enrichis [Vande Castele *et al.*, 2012]. Tous les essais d'IFX et anticorps IFX ont montré une corrélation quantitative linéaire (r de Pearson), et les essais de l'anticorps IFX ont montré une concordance entre 0,59 et 0,91 (coefficient de corrélation intraclass) (tableau 1).

Tableau 1 Corrélation et concordance entre trois essais ELISA [Vande Castele *et al.*, 2012]

	CORRÉLATION (R)	P	CONCORDANCE	IC 95 %	P
Essais IFX					
A contre B	0,91	< 0,0001	0,91	0,86-0,95	< 0,0001
B contre C	0,73	< 0,0001	0,59	0,39-0,73	< 0,0001
A contre C	0,83	< 0,0001	0,73	0,58-0,83	< 0,0001
Essais anticorps anti-IFX					
A contre B	0,95	< 0,0001	Ne pouvait pas être calculé parce que les tests ont rapporté différentes mesures des résultats (UA/ml, µg/L)		
B contre C	0,97	< 0,0001			
A contre C	0,99	< 0,0001			

UA : unité arbitraire

Une étude a comparé quatre techniques (radio-immuno-essai de phase fluide [RIA], ELISA, immuno-essai du gène rapporteur [RGA], et immuno-essai enzymatique [EIA]) pour le suivi d'IFX et d'anticorps anti-IFX dans la maladie de Crohn, en utilisant des échantillons provenant de 13 patients [Steenholdt *et al.*, 2013]. Pour la mesure de la concentration d'IFX, les coefficients de variation étaient $\leq 20\%$ pour des concentrations d'IFX entre 1 et 9 $\mu\text{g/ml}$. Tous les tests, pris deux par deux, ont montré des corrélations linéaires ($R^2 = 0,97$ à $0,99$). On observe une discordance statistiquement significative entre les trois essais lorsqu'on teste différentes concentrations sériques d'IFX le même jour, différents jours et sur différents individus. La différence maximale observée pour chaque paire d'essais est de 1,55 $\mu\text{g/ml}$ pour RIA et RGA, 1,41 $\mu\text{g/ml}$ pour ELISA et RIA, et 0,48 $\mu\text{g/ml}$ pour ELISA et RGA ($p < 0,05$).

Limite inférieure de détection : 0,07 $\mu\text{g/ml}$ pour RIA; 0,13 $\mu\text{g/ml}$ pour RGA et 0,26 $\mu\text{g/ml}$ pour ELISA.

Lors de la mesure d'anticorps anti-IFX, le RGA a donné des résultats reproductibles ($\text{CV} \leq 7\%$) par rapport aux autres techniques (entre 24 % et 26 %). Sur les 6 paires d'essais, 4 ont des corrélations linéaires ($R^2 = 0,71$ à $0,93$), sauf ELISA versus RGA et EIA. La concordance sur les titres d'anticorps anti-IFX avait une différence moyenne de - 500 (-900 à - 100) dans le RGA et l'EIA, 1600 (- 1800 à 5100) dans ELISA et EIA, 2100 (- 1600 à 5800) dans ELISA et RGA, 2400 (- 5000 à 200) dans ELISA et RIA, 4000 (500 à 7600) dans RIA et EIA, et 4500 (600 à 8400) dans l'RIA et l'RGA. Les auteurs ont indiqué qu'un facteur contribuant à ces différences était l'incapacité d'ELISA à détecter les anticorps IgG4 anti-IFX.

Une seule étude publiée par les chercheurs qui ont développé l'analyse fournit de l'information sur la validité analytique de HPLC-HMSA [Wang *et al.*, 2012].

Pour la détection d'IFX :

- limite inférieure de quantification de 0,039 $\mu\text{g/ml}$ dans le sérum;
- précision intraessai : $\text{CV} < 6\%$; exactitude : % erreur < 10 ;
- précision interessai : $\text{CV} < 15\%$; exactitude : % erreur < 21 .

Pour la détection d'anticorps IFX :

- limite inférieure de quantification de 0,012 $\mu\text{g/ml}$ dans le sérum;
- précision intraessai : $\text{CV} < 4\%$; exactitude : % erreur < 12 ;
- précision interessai : $\text{CV} < 15\%$; exactitude : % erreur < 21 .

De plus, cette étude a corrélié les valeurs d'anticorps anti-IFX obtenus par HPLC-HMSA et l'ELISA de pontage en utilisant 100 échantillons provenant de patients atteints de la maladie de Crohn, et rapporté une corrélation de $r = 0,39$ (IC à 95 % : 0,2 à 0,55, $p < 0,0001$). Après de nouveaux essais, l'HPLC-HMSA a pu déterminer que cinq échantillons considérés comme positifs par le test ELISA (basée sur l'approche décrite par Baert et ses collègues [2003, cité dans Wang *et al.*, 2012]) étaient des faux positifs.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Le London Position Statement, issu du *World Congress on Biological Therapy for IBD* avec l'European Crohn's and Colitis Organization, a publié une prise de position en 2010, qui établit que de fortes concentrations résiduelles de IFX ont été associées au maintien de la

réponse clinique, et que de faibles concentrations aux creux sériques sont associées à une perte de réponse potentielle (niveau de preuve 2b, échelle de l'Oxford Centre for Evidence Based Medicine) [D'Haens *et al.*, 2010].

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines : n'a pas été analysé.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois

L'introduction de ce test dans le Répertoire résultera en un coût moindre par test comparativement aux envois à des laboratoires hors Québec. Cependant, une augmentation de la fréquence des tests pourrait être observée.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Il existe plusieurs études dans trois indications d'intérêt, qui montrent la valeur de la mesure des niveaux IFX et des anticorps anti-IFX pour le suivi et la gestion clinique des patients traités avec IFX. La plupart de ces études ont utilisé la méthode ELISA ou d'autres méthodes, et peu d'entre elles ont utilisé la HPLC-HMSA.

7.2 Validité clinique

Peu de données, probablement en raison de la difficulté à définir la perte de réponse pour les différentes indications.

7.3 Validité analytique

L'information disponible indique une bonne précision pour les deux tests. Un expert consulté confirme cette information.

7.4 Recommandations d'autres organismes

L'association entre les concentrations d'IFX et la perte de la réponse dans la maladie de Crohn est reconnue par les organisations internationales.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Détection de l'infliximab et de l'anticorps anti-infliximab avec ELISA ou avec chromatographie liquide à haute performance

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie : ELISA
- ☒ Innovatrice : HPLC-HMSA
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Peu de données disponibles pour la technique HPLC-HMSA, bien qu'elle semble supérieure à l'ELISA.

Bien que nous recommandions l'introduction de cette analyse, l'information disponible ne nous permet pas de prioriser l'une ou l'autre des deux méthodes.

RÉFÉRENCES

- Adisen E, Aral A, Aybay C, Gurer MA. Anti-infliximab antibody status and its relation to clinical response in psoriatic patients: A pilot study. *J Dermatol* 2010;37(8):708-13.
- Afif W, Loftus EV, Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson KA, Sandborn WJ. Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105(5):1133-9.
- Alliance de l'arthrite du Canada. L'impact de l'arthrite au Canada : aujourd'hui et au cours des 30 prochaines années. Toronto, ON : 2011. Disponible à : http://www.coa-aco.org/images/stories/library/Limpact_de_larthrite_au_Canada.pdf.
- Badley E et Desmeules M. Introduction. Dans : *Arthritis in Canada. An ongoing challenge*. Ottawa, ON : Santé Canada; 2003 : 1-7.
- Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, G DH, Carbonez A, Rutgeerts P. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *New Engl J Med* 2003;348(7):601-8 [cité dans Wang *et al.*, 2012].
- Chaparro M, Guerra I, Munoz-Linares P, Gisbert JP. Systematic review: Antibodies and anti-TNF- α levels in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(9):971-86.
- D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PDR, Vermeire S, Gassull, Chowders Y, et al. The London Position Statement of the World Congress on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organization: When to start, when to stop, which drug to choose, and how to predict response? *Am J Gastroenterol* 2011;106(2):199-212.
- Edrees AF, Misra SN, Abdou NI. Anti-tumor necrosis factor (TNF) therapy in rheumatoid arthritis: Correlation of TNF-alpha serum level with clinical response and benefit from changing dose or frequency of infliximab infusions. *Clin Exp Rheumatol* 2005;23(4):469-74.
- Engvall E et Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 1971;8(9):871-4.
- Feagan BG, Singh S, Lockton S, Hauenstein S, Ohrmund L, Croner LJ et al. Novel infliximab (IFX) and antibody-to-infliximab (ATI) assays are predictive of disease activity in patients with Crohn's disease (CD). *Gastroenterology* 2012;142(5 Suppl 1):S-114 [abstract 565]. (Résumé présenté à Digestive Disease Week, 19-22 mai 2012; San Diego, Californie).
- Fredriksson T et Pettersson U. Severe psoriasis—Oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978;157(4):238-44.
- Gisbert JP et Panés J. Loss of response and requirement of infliximab dose intensification in Crohn's disease: A review. *Am J Gastroenterol* 2009;104(3):760-7.
- Haraoui B, Cameron L, Ouellet M, White B. Anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis who require higher doses of infliximab to achieve or maintain clinical response. *J Rheumatol* 2006;33(1):31-6.
- Kobelt G, Andlin-Sobocki P, Maksymowych WP. Costs and quality of life with ankylosing spondylitis in Canada. *J Rheumatol* 2006;33(2):289-95.

- Kopylov U, Mazor Y, Yavzori M, Fudim E, Katz L, Coscas D, et al. Clinical utility of antihuman lambda chain-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) versus double antigen ELISA for the detection of anti-infliximab antibodies. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(9):1628-33.
- Lowe AM, Roy PO, Poulin MB, Michel P, Bitton A, St-Onge L, Brassard P. Epidemiology of Crohn's disease in Québec, Canada. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(3):429-35.
- Martin du Pain S, Dehler S, Ciurea A, Ziswiler HR, Gabay C, Finckh A. Comparison of drug retention rates and causes of drug discontinuation between anti-tumour necrosis factor agents in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61(5):560-8.
- Mulleman D, Méric JC, Paintaud G, Ducourau E, Magdelaine-Beuzelin C, Valat JP, et al. Infliximab concentration monitoring improves the control of disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11(6):R178.
- MyAssays. Promonitor®-IFX Ref. 5060230000. Quantitative measure of infliximab. 2012. Disponible à : <http://www.myassays.com/promonitor-ifx-5060230000.assay>.
- MyAssays. Promonitor®-IFX Ref. 5070230000. Quantitative measure of anti-infliximab antibodies. 2012. Disponible à : <http://www.myassays.com/promonitor-anti-ifx-5070230000.assay>.
- Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcome and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): A meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013;108(1):40-7.
- Peppercorn MA. Clinical manifestations, diagnosis, and prognosis of Crohn disease in adults. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Proteomika. Promonitor® Kits [site Web]. Derio, Espagne : Proteomika; 2013. Disponible à : http://www.proteomika.com/index.php?option=com_content&task=view&id=320&Itemid=295.
- Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ). Liste des médicaments (dernière mise à jour le 18 décembre 2013) Québec, Qc : RAMQ; 2013. Disponible à : https://www.prod.ramq.gouv.qc.ca/DPI/PO/Commun/PDF/Liste_Med/Liste_Med/liste_med_mod1_2013_12_18_fr.pdf.
- Ritchie DM, Boyle JA, McInnes JM, Jasani MK, Dalakos TG, Grieveson P, et al. Clinical studies with an articular index for the assessment of joint tenderness in patients with rheumatoid arthritis. *Q J Med* 1968;37(147):393-406.
- Steenholdt C, Ainsworth MA, Tovey M, Klausen TW, Thomsen OO, Brynskov J, et al. Comparison of techniques for monitoring infliximab and antibodies against infliximab in Crohn's disease. *The Drug Monit* 2013;35(4):530-8.
- Suryaprasad AG et Prindiville T. The biology of TNF blockade. *Autoimmun Rev* 2003;2(6):346-57.
- Tarride JE, Haq M, Nakahai-Pour HR, O'Reilly DJ, Xie F, Dolovich L, et al. The excess burden of rheumatoid arthritis in Ontario, Canada. *Clin Exp Rheumatol* 2013;31(1):18-24.
- Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacol Ther* 2008;117(2):244-79.

- Vande Casteele N, Buurman DJ, Stukenboom MGG, Kleibeuker JH, Vermeire S, Rispen T, et al. Detection of infliximab levels and anti-infliximab antibodies: A comparison of three different assays. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;36(8):765-71.
- Venables PJW et Maini RN. Disease outcome and functional capacity in rheumatoid arthritis. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2013. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Venables PJW et Maini RN. Clinical features of rheumatoid arthritis. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2012. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.
- Wang SL, Ohrmund L, Hauenstein S, Salbato J, Reddy R, Monk P, et al. Development and validation of a homogeneous mobility shift assay for the measurement of infliximab and antibodies-to-infliximab levels in patient serum. *J Immunol Methods* 2012;382(1-2):177-88.
- Wasel N, Poulin Y, Andrew R, Chan D, Fraquelli E, Papp K. A Canadian self-administered online survey to evaluate the impact of moderate-to-severe psoriasis among patients. *J Cutaneous Med Surg* 2009;13(6):294-302.
- Wolbink GJ, Voskuyl AE, Lems WF, de Groot E, Nurmohamed MT, Tak PP, et al. Relationship between serum trough infliximab levels, pretreatment C reactive protein levels, and clinical response to infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64(5):704-7.
- Yu DT. Clinical manifestations of ankylosing spondylitis in adults. Waltham, MA : Wolters Kluwer Health; 2012. Disponible à : <http://www.uptodate.com>.

DOSAGE QUANTITATIF DU TOPIRAMATE PAR LC-MS/MS (RÉFÉRENCE – 2013.03.010)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur : CHUM
- 1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS : 30 septembre 2013
- 1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS : 1^{er} novembre 2013
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre : 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (*liquid chromatography-tandem mass spectrometry* ou LC-MS/MS).

2.2 Description brève des technologies et précisions techniques et cliniques

La technique comporte trois étapes :

- 1) la préparation de l'échantillon;
- 2) la chromatographie en phase liquide (LC);
- 3) l'analyse par spectrométrie de masse (MS).

La préparation de l'échantillon a pour but de purifier celui-ci en enlevant les protéines et d'autres substances avant de l'analyser. Elle peut être faite selon plusieurs méthodes dont les trois plus communes sont : l'extraction en phase solide (SPE), l'extraction liquide - liquide (ELL) et la précipitation des protéines (PP) [Adaway et Keevil, 2012]. La méthode PP est celle utilisée par le requérant.

La LC est une méthode qui permet de séparer les molécules d'un mélange complexe (sérum ou plasma) selon leurs propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, hydrophobicité ou autre). Le principe de la LC fait intervenir une phase mobile liquide et une phase solide stationnaire (sur colonne ou sur couche mince). La composition des phases liquides et solides varie en fonction du type de molécule à purifier. Dans le cas présent, la phase stationnaire est hydrophobe et la phase mobile est hydrophile.

La MS vise à déterminer la masse des molécules présentes dans l'échantillon à traiter.

La mesure de la masse repose sur la déviation des molécules préalablement ionisées par un

champ électrique ou magnétique, pour lesquelles les trajectoires sont proportionnelles à leur masse et à leur charge.

Le spectromètre de masse est composé :

- 1) d'une source d'ionisation pour modifier la charge des molécules et les faire passer en phase gazeuse (p. ex. ionisation électro-spray (ESI), ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) ou autre);
- 2) d'un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction du rapport masse sur charge (m/z).

Les analyseurs peuvent être couplés de façon séquentielle. Il s'agit de la spectrométrie de masse à plusieurs dimensions (en tandem dans le cas présent, donc MS/MS). Un premier analyseur sélectionne les ions selon un certain m/z (purification). L'ion purifié est ensuite fragmenté dans une chambre de collision. Un deuxième analyseur mesure le m/z des fragments [Adaway et Keevil, 2012; Grebe et Singh, 2011].

2.3 Société ou développeur : méthode maison.

2.4 Licences : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant : ne s'applique pas.

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Ne s'applique pas. Le requérant utilise une méthode maison pour l'analyse avec un contrôle de qualité interne (UTAK) et un contrôle de qualité externe (Arvecon).

2.7 Valeur pondérée : 51,0⁹²

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Suivi thérapeutique des patients souffrant d'épilepsie pour l'optimisation des dosages de topiramate ou pour ceux ayant des situations cliniques particulières (p. ex. insuffisance rénale, coadministration d'autres anticonvulsivants⁹³).

3.2 Description de la maladie visée

L'épilepsie et son traitement

L'épilepsie est la maladie neurologique la plus fréquente après la migraine. Sa prévalence estimée varie entre 0,5 % et 1 % dans la population occidentale [Forsgren *et al.*, 2005]. Elle se caractérise par la récurrence de crises causées par une activité cérébrale excessive.

Il est fréquent d'utiliser en polythérapie plusieurs anticonvulsivants afin de contrôler la survenue des crises. En raison de la variation interindividuelle dans la manifestation clinique des crises d'épilepsie, le suivi thérapeutique des médicaments peut permettre de déterminer les doses optimales tout en réduisant les effets indésirables [Collins et Janis, 2012].

92. Selon le requérant, l'analyse peut être faite en simultané avec le dosage du lévétiracétam (un autre antiépileptique); le coût par analyse serait alors inférieur à cette valeur.

93. Information fournie par le requérant, communication électronique du 20 décembre 2013.

Le topiramate, un antiépileptique dit de nouvelle génération⁹⁴, est utilisé en monothérapie pour le traitement des patients⁹⁵ atteints d'une épilepsie récemment diagnostiquée. Il est également indiqué en tant que traitement adjuvant chez les patients épileptiques⁹⁶ dont « l'état n'est pas maîtrisé de façon satisfaisante avec le traitement classique » [APC, 2013]. Par ailleurs, le topiramate peut être utilisé dans la prophylaxie de la migraine.

L'efficacité et l'innocuité chez les enfants de moins de 2 ans n'ont pas été établies dans le cadre d'un traitement adjuvant. Il y a peu d'information relative à l'emploi du topiramate chez les personnes âgées de 65 ans et plus, mais la possibilité d'anomalies de la fonction rénale liées à l'âge doit être envisagée. De plus, une mise en garde doit être faite aux patients relativement au risque potentiellement important d'acidose métabolique. Le topiramate est contre-indiqué en cas de grossesse ou chez les femmes en mesure de procréer qui n'emploient pas une méthode efficace de contraception, en raison du risque de foetotoxicité [APC, 2013]. Les bienfaits ou les risques du topiramate sont donc à considérer lorsque celui-ci est employé pour traiter ces catégories de patients.

La plupart des effets indésirables sont de gravité légère à modérée et ils sont liés à la dose. Les plus communs⁹⁷ sont : la paresthésie, les céphalées, la fatigue, la somnolence, les étourdissements, la dépression, l'anorexie, les nausées et les infections des voies respiratoires supérieures [APC, 2013]. Les effets indésirables ayant le plus haut taux d'incidence sont fréquemment reliés au système nerveux central [APC, 2013; Goswami *et al.*, 2009].

Au Québec, le topiramate est inscrit à la liste des médicaments et couvert par le régime public d'assurance médicaments depuis 1997⁹⁸. Au Royaume-Uni, aux États-Unis, en France et en Allemagne, ce médicament est disponible depuis 1995, 1996, 1997 et 1999 respectivement [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Froscher *et al.*, 2005; Privitera, 1997].

La pharmacocinétique et le dosage du médicament

Le topiramate est rapidement absorbé. La prise de nourriture n'a pas d'effet cliniquement significatif sur sa biodisponibilité. Le pic de concentration sérique est atteint environ 1 à 4 heures après l'administration orale [Johannessen et Tomson, 2006]. Les concentrations plasmatiques du topiramate présentent une faible variabilité interindividuelle. Elles augmentent de façon proportionnelle à la dose [APC, 2013]. L'élimination se fait principalement par voie urinaire et la demi-vie plasmatique est d'environ 19 à 25 heures [APC, 2013; Goswami *et al.*, 2009]. L'état d'équilibre est atteint en 4 à 8 jours chez des patients présentant une fonction rénale normale [APC, 2013].

Chez les enfants⁹⁹, la clairance moyenne du topiramate est d'environ 50 % plus élevée que chez les adultes. Ainsi, pour une même dose par kilo de poids corporel, les concentrations plasmatiques attendues seraient d'environ 33 % plus faibles chez les enfants [APC, 2013].

94. Au cours des deux dernières décennies, des antiépileptiques dits de nouvelle génération ont été introduits sur le marché. Comparativement à ceux de la première génération, ces antiépileptiques ont un plus large spectre et ils sont associés à moins d'effets indésirables [Krasowski, 2010]. Le topiramate (TPM, 2,3,4,5-bis-O-(1-méthylethylidène)-b-D-fructopyranose sulfamate) est un médicament antiépileptique de seconde génération [Patsalos et Perucca, 2003] à large spectre avec de multiples mécanismes d'action [Goswami *et al.*, 2009].

95. Adultes et enfants âgés de 6 ans ou plus [APC, 2013].

96. Adultes et enfants âgés de 2 ans ou plus [APC, 2013].

97. Effets indésirables chez les adultes et les enfants âgés de 6 à 16 ans [APC, 2013].

98. Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Extrait d'avis au Ministre : Topamax [site Web]. Évaluation publiée le 1 juillet 1997. Disponible à : <http://www.inesss.qc.ca/activites/evaluation-des-medicaments/evaluation-des-medicaments/extrait-davis-au-ministre/topamax.html>.

99. Enfants épileptiques âgés de 4 à 7 ans.

La phénytoïne et la carbamazépine diminuent les concentrations plasmatiques du topiramate. Par conséquent, dans le cas d'un ajout ou d'un retrait de ces antiépileptiques pendant un traitement en association avec le topiramate, il peut être nécessaire d'ajuster la dose du topiramate jusqu'à l'obtention de l'effet clinique attendu [APC, 2013].

Étant donné la nature imprévisible des crises épileptiques et les difficultés associées à l'évaluation des paramètres cliniques, l'ajustement posologique des anticonvulsivants basé sur l'évaluation clinique est souvent complexe. Un dosage de la concentration du médicament permet de baser l'ajustement posologique sur une donnée tangible plutôt que de procéder par essai-erreur¹⁰⁰.

3.3 Nombre de patients visés

De 20 à 30 analyses par année sont prévues. Le dosage du topiramate peut être effectué en simultané avec celui du lévétiracétam¹⁰¹.

Au cours de l'année financière 2012-2013, 12 analyses ont été envoyées hors Québec au Hospital In-Common Laboratory (Ontario), au prix unitaire de 28,00 \$¹⁰².

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés : neurologie, biochimie.

3.5 Modalités d'administration du test

Échantillon de plasma ou de sérum par prélèvement sanguin selon les modalités habituelles pour ce type d'échantillon. Il n'y a aucune spécification quant au lieu de prélèvement.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : analyse « unique ».

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Différentes méthodes analytiques peuvent être utilisées pour doser le topiramate dans le plasma ou le sérum : la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC¹⁰³) avec détection par UV¹⁰⁴ ou par fluorescence, l'immunoessai par polarisation de fluorescence (FPIA¹⁰⁵), des méthodes immunologiques, la chromatographie gazeuse (GC), la chromatographie gazeuse capillaire, la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) ou à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) [Popov *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2011; Krasowski, 2010; Neels *et al.*, 2004; Britzi *et al.*, 2003; Johannessen *et al.*, 2003 Perucca, 2000]. La littérature ne mentionne pas de méthode de référence pour cette analyse.

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

La méthode de purification par précipitation des protéines (PP) est la plus simple et elle peut être automatisée, mais elle pourrait être moins sensible que les deux autres méthodes (EPS et ELL) parce que l'échantillon qui en résulte est moins propre et qu'il peut être dilué par les solvants utilisés pour la précipitation [Adaway et Keevil, 2012].

100. Information fournie par le requérant, communication électronique du 7 janvier 2014.

101. Information fournie par le requérant.

102. Information fournie par le MSSS.

103. HPLC : *high performance liquid chromatography*.

104. Détection par des rayons ultraviolets. Pourtant, le topiramate n'a pas de spectre d'absorbance en UV visible et il n'est pas fluorescent [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Subramanian *et al.*, 2008].

105. FPIA : *fluorescence polarization immunoassay*.

La LC-MS/MS est une méthode plus rapide et plus simple comparativement aux autres méthodes de quantification pour le monitoring des médicaments antiépileptiques [Kim *et al.*, 2011]. Les essais immunologiques sont restreints à la détection d'un seul médicament et ils sont sujets à des réactions croisées entre les métabolites des médicaments [Shibata *et al.*, 2012]. De plus, le topiramate et ses métabolites sont sujets à la décomposition thermique durant l'analyse en chromatographie gazeuse; c'est pourquoi la LC-MS est la méthode préférée [Christensen *et al.*, 2002].

4.4 Coût de la technologie et des options

La LC-MS/MS nécessite des équipements coûteux, mais comparativement à d'autres techniques chromatographiques (p. ex. HPLC ou GC), elle permet d'utiliser des échantillons de faible volume (50 à 200 µl) [Adaway et Keevil, 2012]. Avec peu de manipulations, la durée d'exécution est courte, la spécificité est meilleure et il est possible de détecter plusieurs anticonvulsivants dans un même échantillon [Collins et Janis, 2012; Kim *et al.*, 2011; Tai *et al.*, 2011; Subramanian *et al.*, 2008].

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

L'analyse remplacerait les envois hors Québec (Hospital In-Common Laboratory, Ontario).

5.1.2 Valeur diagnostique ou pronostique

Aucune étude n'a montré de lien entre la mesure sérique ou plasmatique du topiramate et la mortalité, la morbidité, la qualité de vie ou les résultats cliniques. Une étude n'a pas pu démontrer une relation directe entre de hautes concentrations sériques de topiramate (dosage) et l'efficacité (contrôle des crises) ou la tolérabilité (survenue des effets indésirables) [Zanotta *et al.*, 2006]. Les résultats d'une autre étude sur le topiramate indiquent que la corrélation entre la survenue d'effets indésirables et la posologie ainsi que la corrélation entre de tels effets et les concentrations sériques du topiramate sont comparables [Froscher *et al.*, 2005].

5.1.3 Valeur thérapeutique

Les valeurs de référence utilisées par le requérant sont de 5 à 20 µg/ml¹⁰⁶ dans le plasma ou le sérum. Elles correspondent à celles mentionnées dans la littérature pour l'intervalle de concentration thérapeutique du topiramate [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Subramanian *et al.*, 2008; Johannessen et Tomson, 2006].

L'utilité du suivi thérapeutique pharmacologique du topiramate a été étudiée par plusieurs auteurs [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Patsalos *et al.*, 2008; Johannessen et Tomson, 2006; Zanotta *et al.*, 2006; Neels *et al.*, 2004; Johannessen *et al.*, 2003; Perucca, 2000; Tomson et Johannessen, 2000]. Les données ne sont pas suffisantes pour soutenir une recommandation d'analyse de cet antiépileptique dans le cadre d'un suivi thérapeutique pharmacologique.

D'abord, il y a une relation linéaire entre la dose de topiramate (posologie) et la concentration sérique ou plasmatique chez les adultes et les enfants [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Johannessen et Tomson, 2006]. La pharmacocinétique est donc prévisible, puisqu'il y

106. Ces valeurs correspondent à des concentrations molaires de 15 à 60 µmol/l [Bentué-Ferrer *et al.*, 2010; Johannessen *et al.*, 2003].

a une faible variabilité interindividuelle. Ensuite, un large intervalle de doses et de concentrations sériques a été associé à une réponse clinique optimale [Johannessen et Tomson, 2006].

Les niveaux sériques de topiramate seraient utiles pour guider le dosage, en particulier chez les jeunes enfants qui, souvent, requièrent des doses quotidiennes plus élevées [Schwabe et Wheless, 2001] en raison de leur métabolisme d'élimination plus rapide [Krasowski, 2010]. Cela reste une opinion d'auteurs, puisque aucune donnée n'est présentée à cette fin.

Selon le requérant, un dosage de la concentration du médicament permet un ajustement posologique plus précis qu'en se basant sur les paramètres cliniques à cause de la nature imprévisible des crises épileptiques et des difficultés associées à l'évaluation de ces paramètres cliniques (p. ex. le recours à l'EEG¹⁰⁷).

5.2 Validité clinique : aucune étude portant sur la validité clinique n'a été repérée.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité	x		
Reproductibilité	x		
Sensibilité analytique	x		
Spécificité analytique	x		
Effet de matrice	x		
Concordance		x	
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test		x	

Les 9 études de validation de la LC-MS/MS répertoriées sont présentées au tableau 1. Elles utilisent différentes méthodes de purification et d'ionisation.

5.3.1 Sensibilité analytique

Peu d'études indiquent la limite de détection de la méthode (tableau 1). Chez celles qui le mentionnent, elle est de l'ordre de 0,2 pg (picogrammes) à 0,01 µg/ml. Quant à la limite inférieure de quantification, elle varie entre 0,01 à 0,8 µg/ml.

Les courbes de calibration montrent une linéarité élevée avec des coefficients s'approchant ou atteignant la valeur de 1.

107. EEG : électroencéphalogramme.

Tableau 1 Études de validation du dosage du topiramate avec la LC-MS/MS

Étude	Type d'échantillon	Nombre de spécimens	Volume (µl)	Analyse par LC-MS/MS						
				Méthode de purification	Contrôle interne	Ionisation	LOD (µg/ml)	LLOQ (µg/ml)	Linéarité (µg/ml)	Coefficient de linéarité
Britzi <i>et al.</i> , 2003	Plasma	12 spécimens (un même patient)	10	EPS	Topiramate-d ₁₂	ESI (ion positif)	n.d.	0,625	0,625 – 40	r ² = 0,9960
Christensen <i>et al.</i> , 2002	Plasma	37 patients	10	PP	Isomère structurel du topiramate†	APCI	n.d.	n.d.	20 – 20 000	r ² = 0,9998
Goswami <i>et al.</i> , 2009	Plasma	16 patients Indiens	10	EPS couplée à une centrifugation	Amlodipine	ESI en mode MRM (ion négatif)	0,010	0,0104	0,0104 – 2,045	r = 0,998
Kim <i>et al.</i> , 2011	Plasma	n.d.	5	PP	Acide valproïque-d ₆	EIS en mode SRM (ion négatif)	n.d.	0,8	0,8 – 40	r = 0,9992
Matar, 2010	Plasma	n.d.	10	n.d.	Topiramate-d ₁₂	EIS en mode MRM	n.d.	0,5	0,5 – 30	n.d.
Park <i>et al.</i> , 2008	Plasma	24 patients coréens	5	ELL	Prednisone‡	ESI en mode MRM (ion négatif)	n.d.	0,020	0,020 – 5	r ² = 1,0
Popov <i>et al.</i> , 2013	Plasma	n.d.	50	EPS	Topiramate-d ₁₂	EIS en mode SRM	n.d.	0,010	0,010 – 2	n.d.
Subramanian <i>et al.</i> , 2008	Plasma	n.d.	20	EPS	² H ₁₂ -topiramate	APCI-MS en mode SIM	0,00047 (0,47 ng/ml)	n.d.	0,375 – 30*	r ² = 0,9998
Tai <i>et al.</i> , 2011	Sérum	n.d.	1 – 2	EPS	Topiramate-d ₁₂	EIS en mode MRM (ion négatif)	0,2 pg	n.d.	44 – 47 µg/g	n.d.

Abréviations : APCI : *atmospheric pressure chemical ionization*; APCI-MS : *atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*; ELL : *extraction liquide-liquide*; EPS : *extraction en phase solide*; ESI : *electrospray ionisation*; FPIA : *immuno-essai par polarisation de fluorescence*; IMS : *positive- and negative-ion mode switching*; LLOQ : *limite inférieure de la quantification (lower limit of quantification)*; µg/ml : *microgramme par millilitre*; MRM : *multiple reaction monitoring*; n.d. : *non disponible*; PP : *précipitation de protéines*; pg : *picogramme*; SIM : *selected-ion monitoring*; SRM : *selected reaction monitoring*.

* Unité non précisée dans l'article (peut-être en ng/ml)

† Il s'agit du 1,2:3,4-bis-o-(1-methylethylidene- α -D-galactopyranose sulfamate).

‡ 1,4-pregnadiene-17- α ,21-diol-3,11,20-trione

5.3.2 Répétabilité et reproductibilité

Les données sur la répétabilité et la reproductibilité de la LC-MS/MS à doser le topiramate sont présentées aux tableaux 2 et 3. Le coefficient de variation est de l'ordre de 0,2 % à 14 % pour la répétabilité et de 0,7 % à 10,5 % pour la reproductibilité. L'exactitude varie entre 92,4 % et 116,63 %.

5.3.3 Spécificité analytique, effet de matrice (*matrix effect*) et interférences

Toutes les études répertoriées présentent un taux de recouvrement supérieur à 84 %, à l'exception de l'étude de Goswami et ses collaborateurs [2009] dont les valeurs se situent entre 55,2 % et 58,5 % (tableaux 2 et 3).

Pour l'ensemble des études, l'effet de matrice se chiffre entre 96,5 % et 111,96 %. Aucune interférence significative n'a été observée quant au temps de rétention du topiramate (tableau 4).

5.3.4 Corrélation entre le test et le comparateur

Une seule étude a comparé la LC-MS/MS avec une autre méthode, soit le FPIA, sur des échantillons de plasma [Christensen *et al.*, 2002]. La régression des moindres carrés donne $r^2 = 0,9965$ ($p < 0,001$), ce qui indique que les deux techniques présentent des résultats semblables.

5.4 Recommandations d'autres organismes

Aucun organisme répertorié ne recommande le dosage du topiramate pour le suivi thérapeutique du médicament chez les patients épileptiques.

Les guides de pratique clinique du National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) et du Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) recommandent de ne pas réaliser de suivi thérapeutique des antiépileptiques de façon systématique [NICE 2013; SIGN, 2005 et 2003]. Ce suivi peut être indiqué en cas de non-observance au médicament et lorsqu'on soupçonne une toxicité [SIGN, 2003] ou une interaction médicamenteuse et dans des conditions cliniques particulières comme l'état de mal épileptique, la défaillance des organes et certaines situations associées à la grossesse [NICE, 2013]. Toutefois, aucun des guides ne traite de façon spécifique du monitoring du topiramate.

Tableau 2 Répétabilité (intraessai) et reproductibilité (interessai) de la LC-MS/MS à doser le topiramate

Étude	Nombre de spécimens	Concentration nominale* (µg/ml)	Intraessai			Interessai			Exactitude totale (%)
			CV (%)	Écart-type relatif (%)	Exactitude ou biais (%)	CV (%)	Écart-type relatif (%)	Exactitude ou biais (%)	
Christensen <i>et al.</i> , 2002	N/D	0,04	14,0			10,5			107
		0,4	1,4			2,6			100
		4,0	2,5			1,7			100
		16,0	1,8			0,9			101
Matar, 2010	7 (intraessai) 15 (interessai pour ch. conc. en 4 sem.)	2,0		2,71	- 10,0		7,76	1,0	
		12,0		0,69	- 5,3		2,97	2,1	
		25,0		0,81	- 5,8		3,52	- 0,3	
Subramanian <i>et al.</i> , 2008	15 (triplicatas sur 5 jours)	0,625	8,3			6,4			99,4
		2,5	6,5			7,1			101,5
		25	6,9			7,8			101,1
Tai <i>et al.</i> , 2011	3	6,86†	0,2 – 0,6			0,8			
	3	19,0†	0,3 – 1,0			0,7			

Abréviations : ch. conc. : chaque concentration; CV : coefficient de variation

*Une conversion des unités présentées dans les études est faite aux fins d'uniformité.

†Concentration moyenne (ng/g)

Tableau 3 Reproductibilité (*intra-day* et *inter-day*) de la LC-MS/MS à doser le topiramate

Étude	Nombre de spécimen	Concentration nominale* (µg/ml)	<i>Intra-day</i>			<i>Inter-day</i>		
			CV (%)	Écart-type relatif (%)	Exactitude† (%)	CV (%)	Écart-type relatif (%)	Exactitude† (%)
Britzi <i>et al.</i> , 2003	6 (3 jours différents)	0,625				6		103
		1,25				8		99
		10				10		106
		20				9		104
Goswami <i>et al.</i> , 2009	6 (<i>intra-day</i>) 18 (<i>inter-day</i>)	0,0271	4,3		98,6	4,1		99,9
		0,7731	3,9		106,2	6,4		104,3
		1,5463	2,4		107	5,5		106,4
Kim <i>et al.</i> , 2011	6 (<i>intra-day</i>) 6 (<i>inter-day</i>)	0,8		2,1	112		11	105
		1,0		2,3	109		5,8	108
		6,0		3,4	94,3		7,1	92,4
		30,0		9,6	97,7		7,8	96,4
Park <i>et al.</i> , 2008	5 (3 jours différents)	0,02	6,2		112,7	5,2		106,1
		0,1	4,1		116,6	4,2		108,7
		0,5	5,6		99,2	1,9		93,4
		2,0	2,2		101,4	1,8		96,3
		5,0	1,1		99,3	2,9		98,0
Popov <i>et al.</i> , 2013	8 (<i>intra-day</i>) 21 (<i>inter-day</i>)	0,01	4,5		107,4	7,1		111,4
		0,03	4,5		97,0	4,4		95,7
		0,25	1,6		96,2	3,5		96,4
		1,75	2,3		95,9	3,2		92,9

Abréviations : CV : coefficient de variation; sem : semaine

*Une conversion des unités présentées dans les études est faite aux fins d'uniformité.

† Concentration moyenne mesurée/concentration nominale* 100

Tableau 4 Recouvrement, effet de matrice du topiramate et interférences

Étude	N	Concentration nominale (µg/ml)	Recouvrement (%)	Effet de matrice (%)	Interférence endogène
Christensen <i>et al.</i> , 2002	n.d.	2000	104	n.d.	n.d.
Goswami <i>et al.</i> , 2009	6	0,0271	58,5	96,5 Facteur de matrice non observé	Aucune interférence significative
	6	0,7731	55,2	n.d.	n.d.
	6	1,5463	56,4	107,8	n.d.
Kim <i>et al.</i> , 2011	n.d.	1	97,1	106	Aucune interférence.
		30	95,7	105	
Matar, 2010	6	2,0	89,9	111,96	Aucune interférence avec les composés endogènes
		12,0	86,2	103,0	
		25,0	84,1	97,1	
Park <i>et al.</i> , 2008	n.d.	n.d.	n.d.	Aucune donnée relative au recouvrement	Aucune interférence significative Aucun pic de substances endogènes
Popov <i>et al.</i> , 2013	8	0,030	103,0 – 105,5	Effet de matrice trouvé dans 1 des 8 échantillons de plasma Facteur de matrice du topiramate de 0,669	Aucun pic trouvé
		0,250			
		1,750			
Subramanian <i>et al.</i> , 2008	3	2,5	86,3	n.d.	n.d.
Tai <i>et al.</i> , 2011	4	2 µg/g	99,5	n.d.	Aucune interférence
		9 µg/g	100,1		
		25 µg/g	99,0		

Abréviations : N : nombre de spécimens; n.d.: non disponible

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

L'analyse est réalisée avec du matériel et un appareil déjà présents dans plusieurs centres hospitaliers. Elle peut être faite en simultané avec le dosage d'autres antiépileptiques. La disponibilité du personnel qualifié est à prendre en considération.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois : n'ont pas été analysées.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique) : n'ont pas été analysés.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

Aucune étude répertoriée ne démontre l'effet du suivi thérapeutique du topiramate sur les résultats cliniques. De plus, les données sont insuffisantes pour soutenir une recommandation d'analyse de cet antiépileptique dans le cadre d'un suivi thérapeutique pharmacologique.

7.2 Validité clinique : aucune étude d'évaluation de la validité clinique n'a été repérée.

7.3 Validité analytique

Plusieurs études de validation de la LC-MS/MS sont disponibles. La méthode est relativement sélective, sensible, précise et reproductible.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Aucune recommandation appuyant le suivi thérapeutique du topiramate chez les patients épileptiques n'a été repérée.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Dosage quantitatif du Topiramate par LC-MS/MS

Le statut de la technologie diagnostique

- ☐ Établie
- ☒ Innovatrice pour l'indication demandée
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Avis de recommandation d'introduction
- ☒ Avis de refus d'introduction
L'utilité clinique et la pertinence sont peu documentées.
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

On encourage le demandeur à soumettre une nouvelle demande avec une documentation plus approfondie et un algorithme d'utilisation clinique.

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES CITÉES

- Adaway JE et Keevil BG. Therapeutic drug monitoring and LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2012;883-884:33-49.
- Association des pharmaciens du Canada (APC). CPS 2013 : Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques. Ottawa, ON : APC; 2013.
- Bentué-Ferrer D, Tribut O, Verdier MC. Suivi thérapeutique pharmacologique du topiramate. *Thérapie* 2010;65(1):17-22.
- Britzi M, Soback S, Isoherranen N, Levy RH, Perucca E, Dooze DR, et al. Analysis of topiramate and its metabolites in plasma and urine of healthy subjects and patients with epilepsy by use of a novel liquid chromatography-mass spectrometry assay. *Ther Drug Monit* 2003;25(3):314-22.
- Christensen J, Hojskov CS, Poulsen JH. Liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for topiramate analysis in plasma and cerebrospinal fluid: Validation and comparison with fluorescence-polarization immunoassay. *Ther Drug Monit* 2002;24(5):658-64.
- Collins JA et Janis GC. Analysis of selected anticonvulsants by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2012;902:201-9.
- Froscher W, Schier KR, Hoffmann M, Meyer A, May TW, Rambeck B, Rosche J. Topiramate: A prospective study on the relationship between concentration, dosage and adverse events in epileptic patients on combination therapy. *Epileptic Disord* 2005;7(3):237-48.
- Forsgren L, Beghi E, Oun A, Sillanpaa M. The epidemiology of epilepsy in Europe – a systematic review. *Eur J Neurol* 2005;12(4):245-53.
- Goswami D, Kumar A, Khuroo AH, Monif T, Rab S. Bioanalytical LC-MS/MS method validation for plasma determination of topiramate in healthy Indian volunteers. *Biomed Chromatogr* 2009;23(11):1227-41.
- Grebe SK et Singh RJ. LC-MS/MS in the clinical laboratory—Where to from here? *Clin Biochem Rev* 2011;32(1):5-31.
- Johannessen SI et Tomson T. Pharmacokinetic variability of newer antiepileptic drugs: When is monitoring needed? *Clin Pharmacokinet* 2006;45(11):1061-75.
- Johannessen SI, Battino D, Berry DJ, Bialer M, Kramer G, Tomson T, Patsalos PN. Therapeutic drug monitoring of the newer antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit* 2003;25(3):347-63.
- Kim KB, Seo KA, Kim SE, Bae SK, Kim DH, Shin JG. Simple and accurate quantitative analysis of ten antiepileptic drugs in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2011;56(4):771-7.
- Krasowski MD. Therapeutic drug monitoring of the newer anti-epilepsy medications. *Pharmaceuticals (Basel)* 2010;3(6):1909-35.
- Matar KM. Therapeutic drug monitoring of topiramate by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2010;411(9-10):729-34.

- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). The epilepsies: The diagnosis and management of the epilepsies in adults and children in primary and secondary care. NICE clinical guideline 137. Londres, Angleterre : NICE; 2012 [Mis à jour en 2013]. Disponible à : <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/13635/57779/57779.pdf>.
- Neels HM, Sierens AC, Naelaerts K, Scharpe SL, Hatfield GM, Lambert WE. Therapeutic drug monitoring of old and newer anti-epileptic drugs. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(11):1228-55.
- Park JH, Park YS, Lee MH, Rhim SY, Song JC, Lee SJ, et al. Determination of plasma topiramate concentration using LC-MS/MS for pharmacokinetic and bioequivalence studies in healthy Korean volunteers. *Biomed Chromatogr* 2008;22(8):822-9.
- Patsalos PN et Perucca E. Clinically important drug interactions in epilepsy: General features and interactions between antiepileptic drugs. *Lancet Neurol* 2003;2(6):347-56.
- Patsalos PN, Berry DJ, Bourgeois BFD, Cloyd JC, Glauser TA, Johannessen SI, et al. Antiepileptic drugs—Best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2008;49(7):1239-76.
- Perucca E. Is there a role for therapeutic drug monitoring of new anticonvulsants? *Clin Pharmacokinet* 2000;38(3):191-204.
- Popov TV, Maricic LC, Prosen H, Voncina DB. Determination of topiramate in human plasma using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Acta Chim Slov* 2013;60(1):144-50.
- Privitera MD. Topiramate: A new antiepileptic drug. *Ann Pharmacother* 1997;31(10):1164-73.
- Schwabe MJ et Wheless JW. Clinical experience with topiramate dosing and serum levels in children 12 years or under with epilepsy. *J Child Neurol* 2001;16(11):806-8.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Diagnosis and management of epilepsies in children and young people. A national clinical guidelines. Édimbourg, Écosse; SIGN; 2005. Disponible à : <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign81.pdf>.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Diagnosis and management of epilepsy in adults. A national clinical guidelines. Édimbourg, Écosse; SIGN; 2003. Disponible à : <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign70.pdf>.
- Shibata M, Hashi S, Nakanishi H, Masuda S, Katsura T, Yano I. Detection of 22 antiepileptic drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applicable to routine therapeutic drug monitoring. *Biomed Chromatogr* 2012;26(12):1519-28.
- Subramanian M, Birnbaum AK, Rimmel RP. High-speed simultaneous determination of nine antiepileptic drugs using liquid chromatography-mass spectrometry. *Ther Drug Monit* 2008;30(3):347-56.
- Tai SS, Yeh CY, Phinney KW. Development and validation of a reference measurement procedure for certification of phenytoin, phenobarbital, lamotrigine, and topiramate in human serum using isotope-dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2011;401(6):1915-22.

Tomson T et Johannessen SI. Therapeutic monitoring of the new antiepileptic drugs. Eur J Clin Pharmacol 2000;55(10):697-705.

Zanotta N, Raggi ME, Radice L, Degrate A, Bresolin N, Zucca C. Clinical experience with topiramate dosing and serum levels in patients with epilepsy. Seizure 2006;15(2):86-92.

RÉFÉRENCES CONSULTÉES

Ormrod D et McClellan K. Topiramate. A review of its use in childhood epilepsy. Paediatr Drugs 2001;3(4):293-319.

Tomson T, Dahl M, Kimland E. Therapeutic monitoring of antiepileptic drugs for epilepsy. Cochrane Database Syst Rev 2010;(5).