

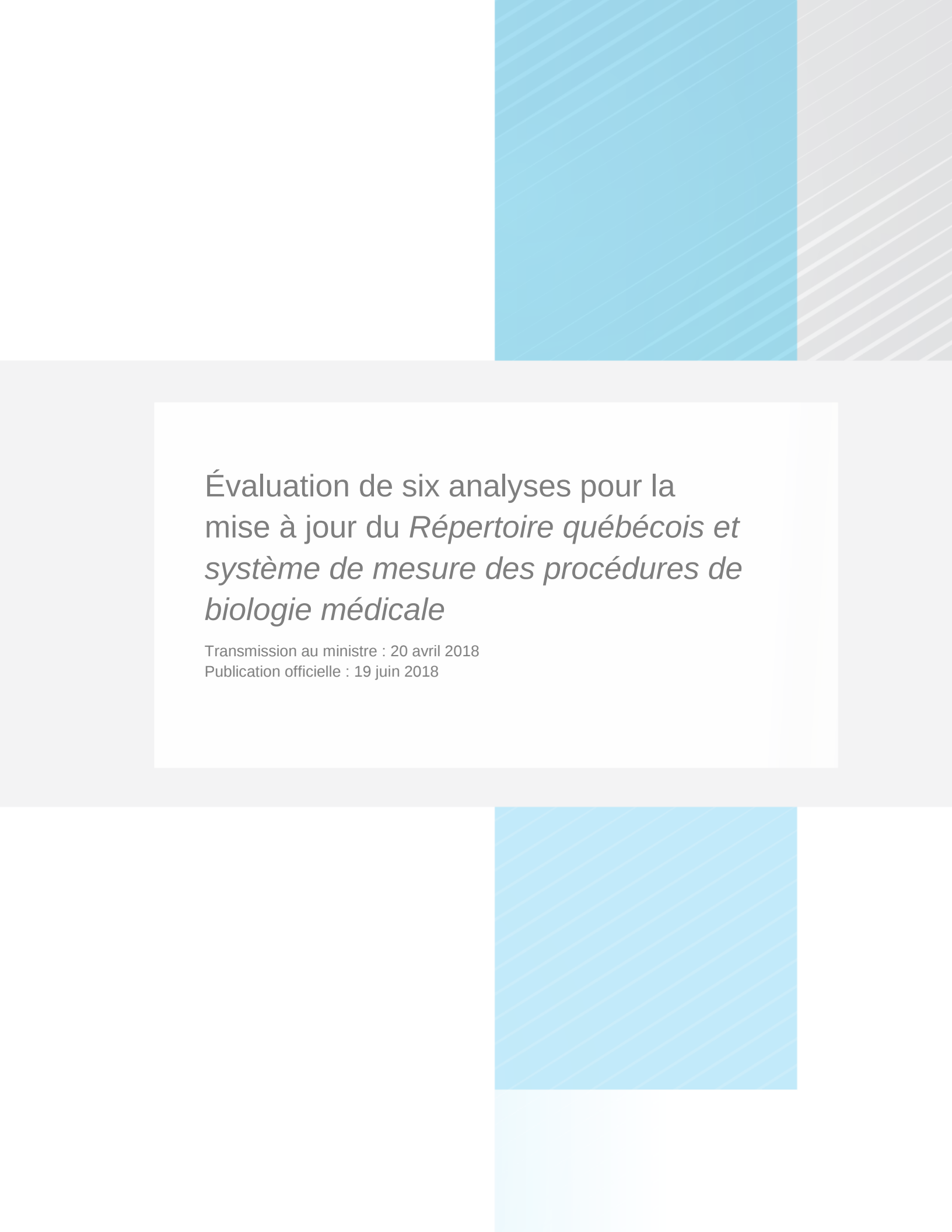
AVIS

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

Transmission au ministre : 20 avril 2018

Publication officielle : 19 juin 2018

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



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

Transmission au ministre : 20 avril 2018

Publication officielle : 19 juin 2018

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 valeur diagnostique;
- la valeur pronostique;
- 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*.

Membres de l'équipe projet

Direction

Michel LeBrun MBA, Ph. D.

Coordonnateur scientifique

Éric Potvin, Ph. D.

Professionnels scientifiques

Simon Bélanger, M. Sc., MBA

Anne Bergeron, Ph.D.

Frédéric Breton, B. Sc.

Annie Dubé, Ph. D.

Andrée Fortin, Ph. D.

Catherine Gravel, M. Sc.

Phuong Hua, M. Sc.

Éléna Morarescu, M. Sc.

Geneviève Morrow, Ph. D.

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

Repérage d'information scientifique et soutien documentaire

Caroline Dion, M.B.S.I., *biobl.prof.*

Mathieu Plamondon, M.S.I.

Soutien administratif

Annabelle Suire

Équipe de l'édition

Patricia Labelle

Denis Santerre

Hélène St-Hilaire

Sous la coordination de

Renée Latulippe, M.A.

Avec la collaboration de

Josée De Angelis, révision linguistique

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2018

Bibliothèque et Archives Canada, 2018

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)

ISBN 978-2-550-81498-6 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2018

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 six analyses pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Québec, Qc : INESSS; 2018. 180 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 d'intérêts

Tous les membres du comité scientifique ont rempli un formulaire de déclaration d'intérêts. Les conflits potentiels sont indiqués à la section 1 *Information générale* de chacun des avis (encadré).

COMITÉ SCIENTIFIQUE – ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Président

François Rousseau, M.D., M. Sc.
FRCPC

- Médecin biochimiste, CHU de Québec - Université Laval

Vice-président

Lambert Busque, M.D., FRCPC

- Hématologue, CIUSSS de l'Est-de-l'Île-de-Montréal

Membres

Lorraine Caron, Ph. D.

- Consultante en éthique

Guy Fink, Ph. D.

- Biochimiste clinique, CIUSSS de l'Estrie – CHUS

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

- Anatomo-pathologiste, Centre hospitalier de l'Université de Montréal

David Rosenblatt, M.D., FRCPC

- Pédiatre, généticien, Centre universitaire de santé McGill

Cédric Yansouni, MD, FRCPC,
DTM&H

- Microbiologiste infectiologue, Centre universitaire de santé McGill

Membre citoyen

Suzanne K. Bédard

LISTE DES ANALYSES

DOSAGE DE L'ACIDE 3-HYDROXYGLUTARIQUE PAR GC-MS (RÉFÉRENCE – 2017.03.002)...	1
DOSAGE DU COMPLÉMENT SC5B-9 (RÉFÉRENCE – 2017.01.012R).....	31
TEMPS DE COAGULATION PAR L'ÉCARINE (2017.03.001)	66
DOSAGE QUANTITATIF DE L'ÉCULIZUMAB PLASMATIQUE PAR MÉTHODE ELISA (2017.01.011R).....	90
MESURE DE L'ACTIVITÉ DE LA L-ASPARAGINASE (RÉFÉRENCE – 2017.02.005)	122
EXPRESSION DE LA PROTÉINE PD-L1 PAR IMMUNOHISTOCHEMIE DANS LE CANCER DU POUMON NON À PETITES CELLULES (RÉFÉRENCE – 2016.03.002V)	174

DOSAGE DE L'ACIDE 3-HYDROXYGLUTARIQUE PAR GC-MS (RÉFÉRENCE–2017.03.002)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CIUSSS de l'Estrie-CHUS

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 avril 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 19 juin 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r Guy Fink et M^{me} Suzanne Bédard n'ont pas participé aux délibérations et se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, l'experte consultée est :

- D^{re} Catherine Brunel-Guitton, génétique médicale, CHU Sainte-Justine

2 RÉSUMÉ

Contexte et avantages du test. Cette analyse permet le dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique (3HG) urinaire, le biomarqueur primordial de l'acidurie glutarique de type 1 (GA-1). Les indications principales sont :

- la confirmation d'un diagnostic de GA-1 chez les nouveau-nés;
- l'investigation diagnostique des patients présentant des symptômes ou signes pouvant conduire à une suspicion clinique de GA-1.

Selon le demandeur, les avantages de l'analyse proposée sont :

- meilleure sensibilité, spécificité et exactitude pour le dosage de l'acide 3HG, en comparaison avec sa « quantification » dans le cadre de l'analyse d'un profil des acides organiques urinaires;
- dans le contexte du suivi du dépistage néonatal, une méthode suffisamment sensible et spécifique est nécessaire pour être en mesure de réfuter avec confiance un diagnostic de GA-1 chez les nouveau-nés non atteints;
- clarifier le diagnostic différentiel des aciduries glutariques;
- éviter les envois hors Québec, ce qui devrait optimiser le temps de réponse et diminuer les coûts d'analyse;
- répond à un nouveau besoin clinique causé par l'introduction imminente du dépistage néonatal sanguin pour la GA-1 au Québec, soit la confirmation des résultats positifs au dépistage.

Valeur diagnostique. Des études de cas démontrant que l'acide 3HG peut être détecté par GC-MS dans un contexte clinique pour le diagnostic de la GA-1 ont été analysées. Dans ces études, le dosage de l'acide 3HG permet un diagnostic sans équivoque de tous les patients atteints de la GA-1, peu importe la quantité d'acide glutarique urinaire excrété. Aussi, le diagnostic différentiel entre la GA-1 et la GA-2 ne pose habituellement pas de problème puisque cette méthode permet de distinguer l'acide 3HG de l'acide 2HG.

Valeur analytique. Les coefficients de variation sont inférieurs à 6 % et varient de 6 % à 18 % pour la précision intra-essai et inter-essai respectivement. La limite de détection et la limite inférieure de quantification sont respectivement d'au moins 3,2 $\mu\text{mol/l}$ et 0,34 $\mu\text{mol/l}$. Le coefficient de corrélation R^2 est supérieur à 0,99 pour la linéarité. Le recouvrement varie entre 47 % et 97 %.

Impacts budgétaires et positions d'organisations d'intérêt. L'analyse économique a permis de constater que l'ajout de l'analyse au *Répertoire* pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 3 600 \$ pour les trois premières années. L'expertise et la disponibilité de la technologie sont présentes au Québec.

La présente analyse fait partie du protocole de confirmation diagnostique de la GA-1 dont l'implantation est prévue pour juin 2018. Ceci constitue un enjeu d'accessibilité au test et d'arrimage avec le Programme québécois de dépistage néonatal sanguin (PQDNS). Un comité d'experts internationaux recommande le dosage quantitatif de l'acide 3HG dans l'évaluation d'un nouveau-né dont le résultat au dépistage néonatal est positif ainsi que dans le cas d'un patient avec une suspicion clinique de GA-1.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Cette analyse permet le dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique (3HG) urinaire, le biomarqueur¹ primordial de l'acidurie glutarique de type 1 (GA-1). L'analyse inclut aussi un dosage de l'acide glutarique² et de l'acide 2-hydroxyglutarique³ (2HG). Les indications principales sont :

- la confirmation (ou réfutation) biochimique d'un diagnostic de GA-1 chez les nouveau-nés référés par le Programme québécois du dépistage néonatal sanguin (PQDNS);
- l'investigation diagnostique des patients présentant des symptômes ou signes pouvant conduire à une suspicion clinique de GA-1.

3.2 Description de la méthode

Les acides 3HG, 2HG et glutarique sont dosés par une chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) en utilisant une technique d'extraction liquide-liquide suivie d'une dérivation chimique. La méthode repose sur les principes de dilution à l'isotope stable⁴.

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode qui permet de séparer les molécules d'une substance selon ses propriétés physico-chimiques. L'échantillon est injecté et vaporisé dans une colonne chromatographique. Les différentes molécules de l'échantillon sont ensuite transportées par un gaz vecteur (phase mobile) les entraînant à se séparer les unes des autres en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire (liquide ou solide). Ces composantes sont ensuite détectées en sortie de colonne par un spectromètre de masse [Christou *et al.*, 2014].

¹ Un diagnostic sans équivoque peut être fait par la quantification de l'acide 3-hydroxyglutarique chez tous les patients atteints de GA-1, peu importe la quantité d'acide glutarique urinaire excrété [Baric *et al.*, 1999].

² L'acide glutarique est un autre marqueur de GA-1, mais normal chez certains patients GA-1.

³ L'acide 2HG n'est pas un marqueur de GA-1, mais sa concentration est augmentée dans d'autres désordres incluant l'acidurie glutarique de type 2 (GA-2).

⁴ L'échantillon est mélangé à des standards internes : l'acide glutarique-d₄ et l'acide 3-hydroxyglutarique-d₅. Information tirée du protocole opératoire normalisé, CHUS, fourni par le demandeur.

La spectrométrie de masse permet de 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; 2) d'un analyseur qui permet de séparer les ions en fonction du rapport masse sur charge (m/z) [Grebe et Singh, 2011]. Le traitement des résultats d'analyse est effectué avec un logiciel.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

La collecte d'un spécimen urinaire d'au moins 3 ml est effectuée dans un établissement du réseau. L'échantillon est expédié congelé au laboratoire d'analyse par le centre demandeur. Le temps de réponse prévu est de 5 à 10 jours ouvrables. Cependant, dans une situation critique (état clinique aigu et forte suspicion clinique de GA-1), l'analyse peut être offerte en priorité (1 ou 2 jours ouvrables).

D'après le demandeur, il n'y a pas d'algorithme spécifique pour restreindre l'accès à ce test. Il est peu probable que ce test spécialisé soit prescrit, excepté par un spécialiste approprié dans un contexte particulier. Les renseignements cliniques demandés sont soit les cas issus du dépistage néonatal sanguin, soit les patients symptomatiques sous investigation diagnostique. Cependant, lorsqu'il s'agit d'une demande provenant d'une source inhabituelle, une communication entre un responsable du laboratoire et l'expéditeur est prévue afin de clarifier le contexte.

Par ailleurs, un algorithme clinique est présentement en élaboration par le Comité consultatif sur le dépistage néonatal sanguin et urinaire du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Il inclut la quantification de l'acide 3HG (présente analyse), le profil des acides organiques et le profil des acylcarnitines.

3.4 Société ou concepteur

Analyse « maison ».

3.5 Homologation

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la Food and Drug Administration (FDA).

3.6 Valeur pondérée : 118,88

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

- Les nouveau-nés ayant un résultat positif au dépistage néonatal de la GA-1;
- Les patients ayant des signes ou des symptômes pouvant orienter vers la GA-1.

4.2 Description de la maladie visée

L'acidurie glutarique de type 1 (GA-1) est une maladie métabolique héréditaire rare (autosomique récessive) causée par un déficit en glutaryl-CoA déshydrogénase dans le métabolisme de la lysine, de l'hydroxylysine et du tryptophane. Cela mène à une accumulation d'acide glutarique, d'acide 3-hydroxyglutarique, d'acide glutaconique et de glutarylcarnitine dans les tissus et les fluides corporels [Boy *et al.*, 2017; Hoffmann, 2013; Baric *et al.*, 1999]. L'incidence mondiale est estimée à 1 sur 110 000 [Boy *et al.*, 2017]. L'incidence et la prévalence de la maladie au Québec ne sont pas connues ni documentées. D'après le demandeur, il y a actuellement environ 12 patients atteints de GA-1 connus et suivis au Québec. La présentation clinique typique inclut des crises aiguës d'encéphalopathies (hypotonie, perte des capacités motrices et convulsions) provoquant des lésions striatales bilatérales, une dyskinésie et une dystonie [Boy *et al.*, 2017; Gordon, 2006; Baric *et al.*, 1999]. Parfois, une hémorragie rétinienne ou sous-durale peut être présente et être confondue avec le syndrome du bébé secoué. Les crises encéphalopathiques aiguës surviennent souvent durant les premiers 3 à 36 mois, parfois jusqu'à la 6^e année de vie⁵. La morbidité et la mortalité sont considérables [Boy *et al.*, 2017; Tsai *et al.*, 2017; Hoffmann, 2013; Lindner *et al.*, 2006; Baric *et al.*, 1999].

La GA-1 est une maladie grave mais traitable si elle est diagnostiquée tôt. Le pronostic dépend du moment du diagnostic, de la prise en charge et du traitement de la maladie [Boy *et al.*, 2017; Hoffmann, 2013]. S'ils sont traités tôt, plusieurs enfants atteints de GA-1 peuvent mener une vie en bonne santé avec des développements intellectuels et moteurs normaux ou presque normaux [Vernon, 2015; Afroze et Yunus, 2014]. Le traitement quotidien comprend une diète réduite en lysine et en tryptophane et une supplémentation en L-carnitine et en riboflavine. Un traitement d'urgence peut être donné en cas de crise aiguë par l'augmentation de l'apport énergétique, la suppression des protéines naturelles (pendant 24 h à 48 h) et leur réintroduction graduelle, le doublement de la supplémentation en L-carnitine IV ou *per os*, le maintien de l'équilibre des fluides et des électrolytes ainsi que la surveillance de la glycémie, de l'urée, de la créatinine, du bilan acido-basique et de la fonction hépatique [Boy *et al.*, 2017; Hoffmann, 2013].

⁵ Ces crises sont souvent précipitées par une maladie fébrile intercurrente (maladie infectieuse), une vaccination ou une intervention chirurgicale.

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Approximativement 3 tests par année sont prévus pour le RUIS du CIUSSS-CHUS. Pour le Québec, le nombre d'analyses attendues est de 25 à 30 tests par année. Cette estimation englobe :

- le nombre de cas référés par le PQDNS. Une simulation initiale prévoit 12 nouveau-nés référés pour un résultat positif au GA-1 annuellement;
- environ 10 tests par année pour une suspicion clinique. Une légère augmentation est plausible avec la disponibilité de l'analyse au Québec.

4.4 Situation actuelle

En présence d'un patient avec des symptômes ou des signes compatibles avec une GA-1, les médecins prescrivent des analyses de profil des acides organiques (incluant l'acide 3HG, voir annexe A) et des acylcarnitines. Si les résultats sont négatifs ou à la limite des valeurs de référence, mais qu'il subsiste une suspicion clinique, l'envoi d'un échantillon hors du Québec pour un test plus approfondi est considéré (ex. : dosage de l'acide 3HG)⁶. Le diagnostic final repose sur une analyse génétique et pour les cas se soldant en l'identification d'un variant de signification inconnue ou d'une seule mutation, une analyse enzymatique est alors réalisée en complément.

Selon le demandeur, approximativement 10 échantillons par année sont envoyés pour un test comparable à Denver Genetics Laboratories (États-Unis)⁷ notamment en raison d'une suspicion clinique de GA-1.

L'analyse fait partie d'une ébauche d'un protocole de confirmation diagnostique discuté au Comité consultatif sur le dépistage néonatal sanguin et urinaire⁸. Elle serait réalisée en parallèle avec l'analyse des acides organiques urinaires et du profil des acylcarnitines sanguins. Une confirmation du diagnostic serait faite par une analyse génétique du gène de la glutaryl-CoA déshydrogénase (*GCDH*) et, si nécessaire, un dosage enzymatique.

4.5 Données médico-administratives

Dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*), il existe deux analyses utilisées pour le diagnostic de l'acidurie glutarique. L'analyse quantitative des acides organiques urinaires par CG-MS (50415) est effectuée par le CHUS et le CHU Sainte-Justine alors que l'analyse du profil des acylcarnitines sériques par LC-MS/MS (50417) est réalisée par le CHUS et le Centre universitaire de santé McGill. Le tableau 1 présente les données du MSSS relativement au volume d'activités et aux coûts des analyses. Toutefois, ce n'est pas la totalité de ces analyses qui sont réalisées pour diagnostiquer la GA-1.

⁶ Information fournie par le demandeur, communication électronique du 30 novembre 2017.

⁷ Basé sur des informations fournies au demandeur par le laboratoire de génétique biochimique du CHU Sainte-Justine.

⁸ Réunion du comité tenue le 16 juin 2017, information fournie par le demandeur.

Tableau 1 Nombre d'analyses en lien avec le dosage de l'acide 3HG pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	VALEUR PONDÉRÉE	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT ANNUEL (\$)
Acides organiques urinaires – quantitatif (50415)			
2014 – 2015	80	2 431	194 480
2015 – 2016	77	2 844	218 988
Acylcarnitines sériques – profil (MS/MS) (50417)			
2014 – 2015	127	1 263	160 401
2015 – 2016	105	1 730	181 650

Source : données du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS).

Au cours de l'année 2014-2015, 9 échantillons ont été envoyés au Children's Hospital Colorado (États-Unis) pour un dosage de l'acide 3HG. Au cours des 4 dernières années, des analyses génétiques du gène *GCDH* ont également été effectuées. Le tableau 2 présente les données du MSSS relativement au volume d'activités et aux coûts des analyses envoyées hors Québec pour l'investigation diagnostique de la GA-1.

Tableau 2 Envois hors Québec des analyses relatives à l'investigation diagnostique de la GA-1 au cours des années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

ANNÉES	COÛT UNITAIRE MOYEN (\$)	NOMBRE D'ANALYSES	COÛT ANNUEL (\$)
Dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique			
2013 – 2014	-	0	-
2014 – 2015	228 – 457	9*	2 510
2015 – 2016	-	0	-
Analyses génétiques du gène <i>GCDH</i>			
2013 – 2014	1 275	1	1 275
2014 – 2015	660 – 4 554	10†	12 828
2015 – 2016	352 – 576	13	7 040

Source : données du MSSS.

* Données incluant le dosage urinaire (4 demandes), le dosage sérique (2 demandes), le dosage sur des spécimens non précisés (2 demandes) et le dosage conjoint des spécimens urinaire et sérique (1 demande).

† Données incluant des analyses de séquençage *GCDH* (7 demandes), de délétion et de duplication dans le gène *GCDH* (3 demandes).

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, les avantages de l'analyse proposée sont les suivants :

- La présente analyse fournit une meilleure sensibilité, spécificité et exactitude pour le dosage de l'acide 3HG, en comparaison avec sa « quantification » dans le cadre de l'analyse d'un profil des acides organiques urinaires. Bien que celui-ci soit adéquat pour identifier les patients ayant une forme de GA-1 biochimiquement classique (fortes augmentations des acides glutarique et 3HG), il pourrait manquer des cas « d'excréteurs faibles »⁹. La sévérité clinique (le risque des dommages neurologiques) est similaire entre les « excréteurs faibles » et les « excréteurs élevés ». De plus, l'analyse du profil des acides organiques utilise deux standards internes « génériques », qui ne reflètent pas parfaitement le profil de chacun des 60 acides évalués, diminuant ainsi la sensibilité pour chacun des analytes. Or, l'analyse proposée inclut un standard interne spécifique pour l'acide 3HG ainsi que des paramètres d'extraction et d'instrumentation optimisés pour cette molécule, ce qui permet de surmonter ces difficultés.
- Répond à un nouveau besoin clinique causé par l'introduction imminente du dépistage néonatal sanguin pour la GA-1 au Québec (début prévu en juin 2018). Chaque cas positif dépisté pour GA-1, basé sur une augmentation de glutarylcarnitine (C5DC) dans un sang séché, devra être confirmé ou réfuté, dans un délai raisonnable. Cette nouvelle analyse ferait partie de l'algorithme de confirmation.
- Dans le contexte du dépistage néonatal, une méthode suffisamment sensible et spécifique est nécessaire pour être en mesure de réfuter avec confiance un diagnostic de GA-1 chez les nouveau-nés non atteints. La présente analyse répond à ce besoin.
- Ce test pourrait aussi être utile pour clarifier le diagnostic différentiel des aciduries glutariques (GA-1, GA-2 ou GA-3) par rapport aux autres causes secondaires (génétiques ou acquises) d'augmentation d'acide glutarique urinaire.
- L'introduction de ce test au *Répertoire* permet d'éviter les envois hors Québec, ce qui devrait optimiser le temps de réponse et diminuer les coûts d'analyse.

⁹ En référence aux patients qui excrètent de faibles concentrations d'acide glutarique urinaire (< 100 mmol/mol créatinine) [Baric *et al.*, 1999].

4.7 Assurance qualité

L'utilisation de contrôles internes « maison » est prévue. Ceux-ci sont préparés à partir d'échantillons urinaires de patients sains fortifiés à partir de solutions commerciales ayant des concentrations connues d'acides 3HG, 2HG et d'acide glutarique.

La reproductibilité et la précision du test sont évaluées pour chaque série d'analyses en comparant les valeurs obtenues pour ces contrôles avec leurs valeurs cibles et les écarts acceptables prédéterminés.

Le demandeur participe au programme de contrôle de la qualité externe ERNDIM¹⁰ « Quantitative Organic Acids in Urine ». Ce programme inclut la quantification des acides 3HG, 2HG et glutarique. À cet effet, le laboratoire du centre demandeur reçoit 8 échantillons par année et est en mesure de les analyser avec la présente méthode.

5 DONNÉES PUBLIÉES

La recherche documentaire s'est étendue entre les années 1999 et 2018 inclusivement afin de repérer les publications traitant de la valeur diagnostique et de la validité analytique du test.

5.1 Valeur diagnostique

Deux études de cas et une étude de validation de méthode ont été retenues [Lisyova *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2011; Baric *et al.*, 1999]. Elles démontrent que l'acide 3HG peut être détecté par GC-MS dans un contexte clinique pour le diagnostic de la GA-1.

Détection de l'acide 3HG par GC-MS comme test diagnostique

Yang et ses collaborateurs [2011] ont décrit des cas cliniques de 5 patients atteints de GA-1, dont 2 ont été diagnostiqués par dépistage néonatal et 3 par analyse de patients à haut risque. Le test de dépistage s'est fait en se fiant au résultat du glutarylcarbitine (C5DC) sérique par MS/MS. Le diagnostic de GA-1 était basé sur l'analyse de l'acide glutarique et l'acide 3HG urinaires détectés par GC-MS ainsi que par l'imagerie par résonance magnétique du cerveau (IRM). Le tableau 3 présente un sommaire des résultats cliniques des cas à l'étude.

Détection de l'acide 3HG provenant d'échantillons de cas cliniques, dont un « excréteur faible »

Lisyova et ses collaborateurs [2016] présentent deux cas cliniques de patients diagnostiqués de la GA-1, en Slovaquie. Chez le premier patient, une macrocéphalie était présente à la naissance et a nécessité un suivi en neurologie dès l'âge de 2 mois pour une suspicion de trouble de démyélinisation. À partir de la

¹⁰ ERNDIM : European Research Network for Evaluation and Improvement of Screening, Diagnosis and Treatment of Inherited Disorders of Metabolism.

troisième année de vie, une investigation a été entreprise à la suite des états de conscience altérés intermittents et de crises dystoniques durant une gastroentérite aiguë à rotavirus. Une analyse des acides organiques urinaires, réalisée par GC-MS, a permis de détecter une quantité augmentée de l'acide glutarique et de l'acide 3HG. Dès lors, une thérapie diététique et une supplémentation ont été entreprises. Une analyse génétique a confirmé le diagnostic de la GA-1.

Le second patient a été identifié grâce au dépistage néonatal de la GA-1 à la suite d'un résultat positif à la glutarylcarnitine (C5DC). Une analyse, effectuée par GC-MS, a présenté des quantités augmentées d'acide glutarique et d'acide 3HG urinaires et ainsi a confirmé le diagnostic de GA-1. Un traitement précoce a été prodigué au patient asymptomatique avant que le diagnostic ne soit confirmé par une analyse génétique.

Les phénotypes biochimiques des deux patients étaient caractérisés par une excrétion anormale d'acide glutarique, mais avec une ampleur d'excrétion différente. Chez le premier patient, les niveaux d'acide glutarique étaient souvent extrêmement élevés, même durant les périodes de compensation et n'ont jamais été dans l'intervalle des valeurs physiologiques. La maladie s'est donc manifestée à la manière typique d'un « excréteur élevé ». À l'opposé, chez le deuxième patient, l'excrétion de l'acide glutarique était légèrement augmentée au moment du diagnostic. Après la supplémentation, la quantité de ce métabolite était dans les valeurs normales. Les auteurs de l'étude considèrent que ce patient pouvait être catégorisé comme étant un « excréteur faible ». Or, ce type d'excréteur peut être détecté par le dosage de l'acide 3HG qui est considéré comme étant le biomarqueur diagnostique le plus fiable, puisqu'il est présent en quantité augmentée même lorsque les niveaux de C5DC ou d'acide glutarique sont normaux. Le tableau 3 présente un sommaire des résultats cliniques des cas à l'étude.

Tableau 3 Sommaire des résultats cliniques des patients diagnostiqués de la GA-1

PARAMÈTRES	DÉPISTAGE	CARNITINE LIBRE* ($\mu\text{mol/l}$)	C5DC* ($\mu\text{mol/l}$)	ACIDE 3HG (mmol/mol cr)	ACIDE GLUTARIQUE (mmol/mol cr)	AUTRES TESTS (IMAGERIE DU CERVEAU, ANALYSE GÉNÉTIQUE)	TRAITEMENT	ISSUES CLINIQUES
LISYOVA ET AL., 2016								
VALEURS DE RÉFÉRENCE		22,2 à 52,2	0 à 0,3	< 3	< 5			
PATIENT 1	Sélectif	3,3 Après traitement : 34,2 à 82		Augmentation	818 à 5 300 Après traitement : 176 à 298	Lésions (IRM) Mutation dans l'exon 11 du gène <i>GCDH</i> (homozygote)	Diète ou supplémentation	Développements physique et cognitif normaux: métabolisme bien compensé sans dystonie ni de mouvements athétosiques, pleinement mobile, bégaiement en situation stressante
PATIENT 2	Néonatal	6,9	2,12	19,4	203	Normal (USG) Mutations dans les exons 11 et 12 du gène <i>GCDH</i> (hétérozygote)	Diète et supplémentation	Bonne condition (asymptomatique)
YANG ET AL., 2011								
VALEURS DE RÉFÉRENCE			0,03 à 0,14	0	0 à 4			
PATIENT 1	À haut risque		0,42	21,98	1 934	Anomalies (imagerie du cerveau)	Observance faible	Développements physique et cognitif normaux à 28 mois

PARAMÈTRES	DÉPISTAGE	CARNITINE LIBRE* (μmol/l)	C5DC* (μmol/l)	ACIDE 3HG (mmol/mol cr)	ACIDE GLUTARIQUE (mmol/mol cr)	AUTRES TESTS (IMAGERIE DU CERVEAU, ANALYSE GÉNÉTIQUE)	TRAITEMENT	ISSUES CLINIQUES
PATIENT 2	À haut risque		1,15	13,12	4 329	Anomalies (imagerie du cerveau)	Traitement intensif (condition d'urgence)	Développement physique normal à 32 mois
PATIENT 3	À haut risque		0,78	26,31	2 461	Anomalies (imagerie du cerveau)	Traitement intensif faible en protéine	Retard de développement cognitif à 30 mois
PATIENT 4	Néonatal		0,34 et 1,53	11,01	154	Anomalies (imagerie du cerveau)	Traitement précoce refusé par les parents; traitement entrepris après une dyskinésie	Retard de développement cognitif à 8 mois
PATIENT 5	Néonatal		0,86 et 2,7	Augmentation	Augmentation	Imagerie du cerveau refusée par les parents	Traitement standard	Bon développement à 3 mois

Abréviations : C5DC : glutarylcarnitine; IRM : imagerie par résonance magnétique; mg/g cr : milligramme par gramme de créatinine; mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine; USG : ultrasonographie; μmol/l : micromole par litre

* Concentration sérique

† Concentration urinaire

Détection de l'acide 3HG comme analyse différentielle

Baric et ses collaborateurs [1999] ont réalisé une étude de validation de méthode permettant de distinguer les patients atteints de la GA-1 (profil « excréteur faible » et profil « excréteur élevé ») des sujets sains. La quantification de l'acide 3HG a été mise au point par une analyse de GC-MS avec une dilution à l'isotope stable. Chez tous les patients, le diagnostic de la GA-1 a été confirmé par une analyse enzymatique. Le tableau 4 présente les analyses effectuées sur les différents échantillons urinaires prélevés. Chez les patients atteints de GA-1 qui ont le profil « excréteur élevé », la quantité élevée d'acide glutarique était facilement détectable. À l'opposé, il y avait un chevauchement entre les valeurs des concentrations d'acide glutarique des patients au profil « excréteur faible » et celles des sujets sains. Le dosage de l'acide 3HG a permis de différencier clairement ces deux groupes.

Par ailleurs, la fiabilité de la méthode a été illustrée par la réfutation du diagnostic de la GA-1 dans cinq cas. Chez trois patients (non atteints de la GA-1), l'activité enzymatique était normale malgré des observations cliniques suggérant une déficience de la GCDH. Les concentrations d'acide 3HG étaient dans les valeurs normales et des analyses moléculaires, réalisées subséquemment, ont écarté le diagnostic de cette maladie. Chez deux autres patients, les concentrations d'acide 3HG étaient dans les valeurs normales malgré la présence de métabolites à des niveaux pathologiques (dont l'acide glutarique pour l'un des cas). Ils ont été diagnostiqués atteints de l'acidurie glutarique de type 2 (GA-2), grâce à la présence d'une quantité élevée d'acide 2-hydroxyglutarique (2HG) détecté par la méthode étudiée.

Tableau 4 Analyses effectuées sur les différents échantillons à l'étude

ÉCHANTILLONS	NOMBRE DE SPÉCIMENS	CONCENTRATION URINAIRE (mmol/mol cr)		ANALYSE DE CONFIRMATION
		ACIDE 3HG	ACIDE GLUTARIQUE	
GA-1 « Excréteurs élevés »	13	37 – 480	526 – 31950	Analyse enzymatique
GA-1 « Excréteurs faibles »	12	13 – 175	22 – 280	Analyse enzymatique
Sujets sains	45	2,6 – 11,7	4,1 – 32	-
Non GA-1	3	7,5; 2,7; 6,9	129; 7,9; 8,8	Analyse enzymatique : normale Analyse génétique : aucune mutation
GA-2	2	2,3; 3	18,2; 12630	Observation : quantité élevée d'acide 2HG

Abréviations : GA-1 : acidurie glutarique de type 1; GA-2 : acidurie glutarique de type 2; mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine

En bref, le dosage de l'acide 3HG permet un diagnostic sans équivoque de tous les patients atteints de la GA-1, peu importe la quantité d'acide glutarique urinaire excrété. Aussi, le diagnostic différentiel entre la GA-1 et la GA-2 ne pose habituellement pas de problème puisque cette méthode permet de distinguer l'acide 3HG de l'acide 2HG.

5.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

5.3 Valeur thérapeutique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif de permettre le choix ou la modification d'un traitement.

5.4 Validité analytique

Quatre études portant sur la validité analytique de la méthode GC-MS à doser l'acide 3-hydroxyglutarique urinaire ont été retenues [Naccarato *et al.*, 2014; Shigematsu *et al.*, 2005; Schor *et al.*, 2002; Baric *et al.*, 1999]. Les caractéristiques de ces études sont présentées au tableau 5.

Tableau 5 Caractéristiques des études retenues portant sur le dosage urinaire de l'acide 3-hydroxyglutarique par GC-MS

ÉTUDE	MÉTHODE	TYPE DE COLONNE	SPECTROMÉTRIE DE MASSE		
			SPECTROMÈTRE DE MASSE	MÉTHODE DE PRÉPARATION	IONISATION ET DÉTECTION
Baric <i>et al.</i> , 1999	GC-MS	Colonne capillaire	Détecteur de masse sélectif	Dilution à l'isotope stable	EI en mode SIM
Naccarato <i>et al.</i> , 2014	GC-QqQ-MS	Colonne capillaire	Spectomètre de masse triple quadripôle	Microextraction en phase solide	EI en mode SRM
Schor <i>et al.</i> , 2002	GC-MS	Colonne capillaire	Spectomètre de masse	Dilution à l'isotope stable Extraction en phase solide Dérivatisation	ECNCl en mode SIM
Shigematsu <i>et al.</i> , 2005	GC-MS	Colonne capillaire	Spectomètre de masse en une étape	Dilution à l'isotope stable	EI positive en mode SIM

Abréviations : 3HG : 3-hydroxyglutarique; ECNCl : *electron capture negative chemical ionization*; EI : *electron ionization* ou *electron-impact ionization*; GC-MS/MS : chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse; GC-QqQ-MS : chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse triple quadripôle; SIM : *selected ion monitoring*; SRM : *selected reaction monitoring*

Les critères de performance de la méthode GC-MS sont présentés aux tableaux 6 et 7. Les coefficients de variation sont inférieurs à 6 % pour la précision intra-essai et varient entre 6 % à 18 % pour la précision inter-essai. La limite de détection et la limite inférieure de quantification ont été présentées sous différentes unités par les études retenues. Elles sont respectivement d'au moins 3,2 µmol/l et 0,34 µmol/l. Le coefficient de corrélation R^2 est supérieur à 0,99 pour la linéarité. Le recouvrement varie entre 47 % et 97 %.

Tableau 6 Répétabilité et reproductibilité du dosage de l'acide 3HG par la GC-MS

ÉTUDE	CONCENTRATION D'ACIDE 3HG (µmol/l)	PRÉCISION			
		N	INTRA-ESSAI CV (%)	N	INTER-ESSAI CV (%)
Naccarato <i>et al.</i> , 2014‡	33,8			5	18*
	202,5			5	7
	540,1			5	12
Schor <i>et al.</i> , 2002	2,6	5	4	8	6†
Shigematsu <i>et al.</i> , 2005	21 et 22 mmol/mol cr	6	5,6	6	7,1

Abréviations : CV : coefficient de variation; GC-MS : chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse; mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine; N : nombre d'échantillons; µmol/l : micromole par litre

* Essai étalé sur 2 jours

† Essai étalé sur 6 jours

‡ Les unités ont été converties (en µmol/l) pour uniformiser les données du tableau, dans la mesure du possible.

Tableau 7 Sensibilité et spécificité du dosage de l'acide 3HG par la GC-MS

ÉTUDE	LINÉARITÉ		LOD	LLOQ	RECOUVREMENT (%)
	CONCENTRATION D'ACIDE 3HG (µmol/l)	COEFFICIENT DE CORRÉLATION R ²			
Baric <i>et al.</i> , 1999	Faible : 0 – 10 nmol Élevée : 0 – 500 nmol	0,999*	20 mmol/mol cr	0,2 nmol	86
Naccarato <i>et al.</i> , 2014‡	6,8 – 675,2	0,9961	3,2 µmol/l	5,7 µmol/l	69 – 97
Schor <i>et al.</i> , 2002				0,04 mmol/mol cr	
Shigematsu <i>et al.</i> , 2005‡	0,34 – 270	0,999		0,34 µmol/l	47 – 51†

Abréviations : CV : coefficient de variation; GC-MS : chromatographie gazeuse couplée à une spectrométrie de masse; LLOQ : limite inférieure de la quantification; LOD : limite de la détection; mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine; nmol : nanomole; µmol/l : micromole par litre

* Le type de coefficient de corrélation n'est pas précisé (R ou R²).

† Pour des concentrations entre 0,68 et 2,7 µmol/l.

‡ Les unités ont été converties (en µmol/l) pour uniformiser les données du tableau, dans la mesure du possible.

5.5 Données fournies par le demandeur

Les données de la validation de méthode du demandeur sont présentées au tableau 8. Elles incluent le dosage des acides 3HG, 2HG et glutarique.

Tableau 8 Données de validation technique du dosage des acides 3HG, 2HG et glutarique dans l'urine par GC-MS

ANALYSE	ACIDE 3HG	ACIDE 2HG	ACIDE GLUTARIQUE
LINÉARITÉ (plage, µmol/l)	R ² = 0,999 (1,0 – 100)	R ² = 0,999 (2,5 – 400)	R ² = 0,999 (2,5 – 400)
LIMITE DE QUANTIFICATION (µmol/l)	0,30	0,55	0,40
RECOUVREMENT (%) Basse concentration Haute concentration	2 µM : 90,1 100 µM : 95,3	5 µM : 99,8 200 µM : 103,6	5 µM : 83,6 200 µM : 82,0
PRÉCISION INTRA-ESSAI (CV %) Basse concentration (n = 5) Haute concentration (n = 5)	3,0 1,0	9,3 3,1	0,8 1,0
PRÉCISION INTER-ESSAI (CV %) Basse concentration (n = 5) Haute concentration (n = 5) Contrôle de qualité interne (n = 9)	8,6 4,5 11,1	9,8 14,0 8,5	8,0 6,7 4,8
STABILITÉ (%) (48 h à 23 °C)	-5,9	-2,4	5,0

Abréviations : acide 2HG : acide 2-hydroxyglutarique; acide 3HG : acide 3-hydroxyglutarique; CV : coefficient de variation; GC-MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse; µM : micromolaire (1 µM = 1 µmol/l)

Les valeurs de références ont été établies par l'analyse de 186 échantillons provenant d'individus sains sans suspicion clinique de GA-1. Ces données sont présentées au tableau 9.

Tableau 9 Valeurs de références établies pour le dosage des acides 3HG, 2HG et glutarique dans l'urine par GC-MS

STRATE D'ÂGE	NOMBRE DE SPÉCIMENS	VALEURS DE RÉFÉRENCE (mmol/mol cr)		
		ACIDE 3HG	ACIDE 2HG	ACIDE GLUTARIQUE
Enfant 0 – 2 mois	101	7	54	13
Enfant 3 mois – 2 ans	85	7	30	15

Abréviations : mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine

Source : Informations fournies par le demandeur, le 13 février 2018.

Pendant le développement et la validation de la méthode, le demandeur a utilisé des contrôles commerciaux ayant des concentrations connues d'acides 3HG, 2HG et glutarique. Des échantillons urinaires congelés de cas confirmés (GA-1 « excréteur faible », GA-1 « excréteur élevé », GA-2 et GA-3) ont également été utilisés comme contrôles positifs aux fins de la validation clinique. Le tableau 10 présente les résultats pour cinq patients diagnostiqués de la GA-1 (dont 3 « excréteurs élevés » et 2 « excréteurs faibles ») ainsi qu'un cas de GA-2 et un cas de GA-3. Les profils sont comme attendus :

- la quantité d'acide 3HG est augmentée dans tous les cas de GA-1;
- la quantité d'acide glutarique est augmentée chez les « excréteurs élevés » mais pas chez les « excréteurs faibles »;
- la quantité d'acide 3HG n'est pas augmentée dans les échantillons des cas de GA-2 ou de GA-3.

Tableau 10 Concentration urinaire des acides 3HG, 2HG et glutarique des cas cliniques confirmés lors de la validation clinique

DIAGNOSTIC CONNU		CONCENTRATION URINAIRE* (mmol/mol cr)		
		ACIDE 3HG	ACIDE 2HG	ACIDE GLUTARIQUE
Cas 1	GA-1 « excréteur élevé »	127	10	1827
Cas 2	GA-1 « excréteur élevé »	862	65	3908
Cas 3	GA-1 « excréteur élevé »	93	11	163
Cas 4	GA-1 « excréteur faible »	86	24	14
Cas 5	GA-1 « excréteur faible »	13	11	1
Cas 6	GA-2	6	43	11
Cas 7	GA-3	3	11	93

Abréviations : mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine

* Les concentrations qui sont au-dessus des valeurs de références sont indiquées en caractère gras.

D'après les observations du demandeur, la présente méthode a démontré une meilleure exactitude que la méthode générale pour l'analyse du profil des acides organiques, surtout aux concentrations d'acide 3HG qui sont relativement basses (valeurs typiques des individus non atteints).

Le contrôle commercial utilisé¹¹ contient une concentration connue (à un niveau physiologique « normal ») d'acide 3HG. Selon la monographie du produit, sa valeur cible est de 4 µmol/l, avec un intervalle de confiance à 95 %, soit entre 2 µmol/l et 6 µmol/l.

En analysant ce contrôle commercial dans chaque série effectuée à l'aide de la présente méthode (n = 20 échantillons), la valeur moyenne obtenue était de 4,5 µmol/l avec un CV inter-essai de 14 %. Tous les résultats se trouvaient entre 2,8 µmol/l et 5,5 µmol/l. À l'opposé, en utilisant le même contrôle avec la méthode habituelle, soit l'analyse du profil des acides organiques, cette valeur d'acide 3HG n'est pas détectable.

De plus, dans l'analyse routinière des échantillons de patients pour les acides organiques, l'acide 3HG n'est pas détectable dans la grande majorité des cas. Par contre, en établissant les valeurs de référence pour la méthode proposée, le niveau d'acide 3HG est détectable (au moins de 1 mmol/mol cr.) dans tous les échantillons contrôles (n = 186).

¹¹ SKML – organic acids, 2016-007, information fournie par le demandeur.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique par GC-MS. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de trois ans selon la perspective du MSSS. L'analyse repose sur des données épidémiologiques ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 11. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée ciblerait les nouveau-nés ayant un résultat positif au dépistage néonatal de la GA-1 ainsi que les patients ayant des symptômes ou des signes cliniques pouvant orienter vers cette pathologie.
- L'analyse proposée a fait l'objet de 9 envois hors Québec au cours de l'année 2014-2015 au coût de 228 \$ par test. Le rapatriement de ces envois hors Québec est prévu dès la première année suivant l'ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- En 2017, le demandeur estimait que 12 nouveau-nés auraient un résultat positif au dépistage de la GA-1 effectué par l'intermédiaire PQDNS.
- Ainsi, en considérant les patients ayant des symptômes ou des signes cliniques pouvant orienter vers la GA-1 et advenant une légère augmentation du nombre d'analyses en raison de sa disponibilité au Québec, il est anticipé que 25, 27 et 30 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 118,88.
- Bien que cette analyse puisse permettre une prise en charge précoce et adaptée des patients atteints de la GA-1, les coûts liés à celle-ci sont considérés comme négligeables étant donné la faible incidence de cette pathologie.

Tableau 11 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique par GC-MS

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout du dosage de l'acide 3HG par GC-MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	9	9	9	27
Coûts	2 052 \$	2 052 \$	2 052 \$	6 156 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout du dosage de l'acide 3HG par GC-MS au <i>Répertoire</i>				
Analyses de l'acide 3HG	25	27	30	82
Coûts	2 972 \$	3 210 \$	3 566 \$	9 748 \$
Impact net	920 \$	1 158 \$	1 514 \$	3 592 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			798 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			6 328 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage de l'acide 3HG par GC-MS pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 3 600 \$ pour le total des trois premières années.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La présente analyse fait partie du protocole de confirmation diagnostique de la GA-1 élaboré par le Comité consultatif sur le dépistage néonatal sanguin et urinaire. L'implantation de ce protocole est prévue pour juin 2018. Ceci constitue donc un enjeu d'accessibilité au test et d'arrimage avec le PQDNS.

Toutefois, l'expertise et la disponibilité de la technologie sont présentes puisque les analyses reliées au diagnostic de GA-1 (acides organiques et acylcarnitines) sont actuellement effectuées par le CHUS et deux autres établissements. De plus, le CHUS est mandaté par le MSSS comme laboratoire de confirmation des maladies dépistées par MS/MS au PQDNS, incluant la GA-1.

8 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

La GA-1 est une maladie incluse ou recommandée dans des programmes de dépistage néonatal dans divers pays¹² à travers le monde, dont les États-Unis [GARD, 2017; INESSS, 2013; Pfeil *et al.*, 2013]. Au Canada, le dépistage néonatal de la GA-1 est effectué notamment dans les provinces de l'Alberta, du Manitoba et de l'Ontario [NSO, 2018; AHS, 2013; Cadham Provincial Laboratory, 2011]. Au Québec, deux rapports de l'INESSS¹³ ont évalué la pertinence du dépistage néonatal de la GA-1 et ont recommandé son introduction dans le PQDNS [INESSS, 2013; AETMIS, 2009].

Un comité d'experts¹⁴ internationaux a élaboré des lignes directrices, relativement au diagnostic et à la prise en charge des patients atteints de GA-1 [Boy *et al.*, 2017]. Il recommande qu'un résultat positif au dépistage néonatal et des symptômes cliniques, biochimiques ou neuroradiologiques évocateurs d'un GA-1 soient confirmés par une investigation diagnostique qui inclut une analyse quantitative des acides 3HG et glutarique ainsi qu'une analyse génétique (gène *GCDH*) ou enzymatique. L'algorithme diagnostique de la GA-1 proposée par ce comité est présenté à l'annexe B.

Par ailleurs, le dosage de l'acide 3HG urinaire pour le suivi d'un patient traité n'est pas recommandé, puisque les concentrations urinaires de 3HG et d'acide glutarique ne démontrent pas de corrélation directe avec les paramètres cliniques [Boy *et al.*, 2017].

¹² Par exemple : l'Autriche, la Région de Flandre (Belgique), la République tchèque, le Danemark, l'Allemagne, la Hongrie, l'Islande, les Pays-Bas, le Portugal et l'Espagne.

¹³ L'INESSS a été créé en 2011 et a succédé à l'Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS) et au Conseil du médicament.

¹⁴ Comité composé de 15 experts spécialisés en médecine métabolique, en neuropédiatrie, en biochimie clinique, en nutrition, en neuroradiologie et en psychologie provenant de l'Allemagne, du Royaume-Uni, du Canada, des États-Unis et de l'Autriche. Ces recommandations mettent à jour les précédentes publications [Kölker *et al.*, 2011; Kölker *et al.*, 2007].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage de l'acide 3-hydroxyglutarique par GC-MS

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

ANNEXE A

Comparaison entre les protocoles d'analyse de l'acide 3-hydroxyglutarique

Analyse	Acides organiques (profil)	Acide 3-hydroxyglutarique (quantitatif)
Répertoire	50415	Demande d'ajout (présente analyse)
Utilisation	Dépistage néonatal	Test de confirmation du dépistage néonatal ou investigation diagnostique
Spécimen	Échantillon typiquement urinaire; dans certains contextes cliniques, échantillon sérique, liquide céphalorachidien, liquide amniotique	Échantillon urinaire
Technique	GC-MS	GC-MS
Extraction	Extraction liquide-liquide suivie d'une dérivation chimique	Extraction liquide-liquide suivie d'une dérivation chimique
Quantité requise	1 ml d'urine	1 ml d'urine; 3 ml est demandé (duplicata et dosage de la créatinine urinaire)
Standards internes	DMPA (<i>homoveratric acid</i>); Oxocaproïque (<i>2-ketohexanoic acid</i>)	Acide 3-hydroxyglutarique d5 (standard interne); Acide 3-hydroxyglutarique (standard de calibration)
Valeurs de référence (3HG urinaire)*	Enfant 0-5 mois : 10 µmol/mol cr Enfant 5-24 mois : 7 µmol/mol cr Enfant 2-12 ans : 4 µmol/mol cr Adulte : 5 µmol/mol cr	Enfant 0-2 mois : 7 mmol/mol cr Enfant 3mois-2 ans : 7 mmol/mol cr

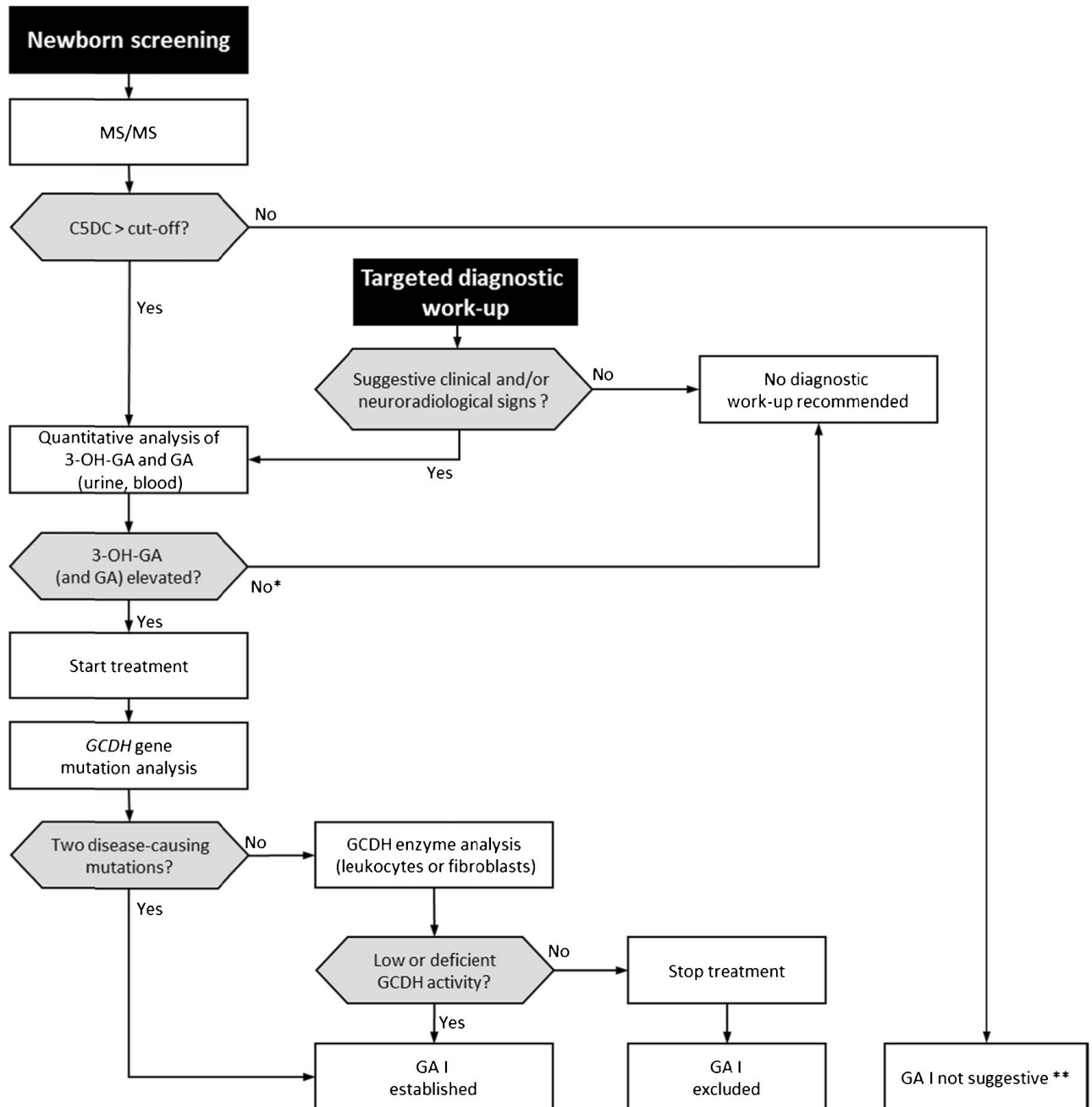
Abréviations : mmol/mol cr : millimole par mole de créatinine; µmol/mol cr : micromole par mole de créatinine

* Valeur au 95^e percentile pour l'acide 3-hydroxyglutarique (urinaire).

Source : Protocoles d'analyse fournis par le CHUS, le 8 et 30 novembre 2017 et informations transmises par courriel le 13 février 2018.

ANNEXE B

Algorithme diagnostique



Source : Boy *et al.*, 2017.

RÉFÉRENCES

- Afroze B et Yunus ZM. Glutaric aciduria type 1—Importance of early diagnosis and treatment. *J Pak Med Assoc* 2014;64(5):593-5.
- Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (AETMIS). La pertinence du dépistage néonatal urinaire des erreurs innées du métabolisme réalisé au Québec. *ETMIS* 2009;5(1):1-103.
- Alberta Health Services (AHS). Glutaric Acidemia Type 1 (GA-1) (metabolic condition: organic acid disorder). Edmonton, AB : AHS; 2013. Disponible à : <https://www.albertahealthservices.ca/assets/info/hp/nms/if-hp-nms-ga1.pdf>.
- Baric I, Wagner L, Feyh P, Liesert M, Buckel W, Hoffmann GF. Sensitivity and specificity of free and total glutaric acid and 3-hydroxyglutaric acid measurements by stable-isotope dilution assays for the diagnosis of glutaric aciduria type I. *J Inherit Metab Dis* 1999;22(8):867-81.
- Boy N, Muhlhausen C, Maier EM, Heringer J, Assmann B, Burgard P, et al. Proposed recommendations for diagnosing and managing individuals with glutaric aciduria type I: Second revision. *J Inherit Metab Dis* 2017;40(1):75-101.
- Cadham Provincial Laboratory. Newborn screening in Manitoba: Information for health care providers. Winnipeg, MB : Manitoba Health; 2011. Disponible à : https://www.gov.mb.ca/health/publichealth/cpl/docs/newborn_screening.pdf.
- Christou C, Gika HG, Raikos N, Theodoridis G. GC-MS analysis of organic acids in human urine in clinical settings: A study of derivatization and other analytical parameters. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014;964:195-201.
- Genetic and Rare Diseases Information Center (GARD). Glutaric acidemia type 1 [site Web]. Gaithersburg, MD : GARD ; National Institutes of Health (NIH); 2017. Disponible à : <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/6522/glutaric-acidemia-type-i>.
- Gordon N. Glutaric aciduria types I and II. *Brain Dev* 2006;28(3):136-40.
- Grebe SK et Singh RJ. LC-MS/MS in the clinical laboratory – Where to from here? *Clin Biochem Rev* 2011;32(1):5-31.
- Hoffmann G. Déficit en glutaryl-CoA déshydrogénase [site Web]. Paris, France : Orphanet; 2013. Disponible à : https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=25.
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Pertinence d'élargir le programme de dépistage néonatal sanguin au Québec. Rapport rédigé par Brigitte Côté et Cathy Gosselin. *ETMIS* 2013;9(7):1-51. Disponible à : http://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Rapports/Genetique/INESSS_Depistage_neonatal_sanguin.pdf.
- Kölker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Boneh A, Burlina AB, et al. Diagnosis and management of glutaric aciduria type I – Revised recommendations. *J Inherit Metab Dis* 2011;34(3):677-94.

- Kölker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Burlina AB, Burlina AP, et al. Guideline for the diagnosis and management of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency (glutaric aciduria type I). *J Inherit Metab Dis* 2007;30(1):5-22.
- Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffmann GF, Kölker S. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: Strategies to proceed. *J Inherit Metab Dis* 2006;29(2-3):378-82.
- Lisyova J, Petrovic R, Jurickova K, Brennerova K, Urbanova D, Behulova D, et al. GAI - distinct genotype and phenotype characteristics in reported Slovak patients. *Bratisl Lek Listy* 2016;117(11):631-8.
- Naccarato A, Gionfriddo E, Elliani R, Sindona G, Tagarelli A. A fast and simple solid phase microextraction coupled with gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method for the assay of urinary markers of glutaric acidemias. *J Chromatogr A* 2014;1372C:253-9.
- Newborn Screening Ontario (NSO). Glutaric acidemia type 1 (GA-1) [site Web]. Ottawa, ON : Children's Hospital of Eastern Ontario (CHEO); 2018. Disponible à : <https://www.newbornscreening.on.ca/en/disease/glutaric-acidemia-type-1-ga1>.
- Pfeil J, Listl S, Hoffmann GF, Kölker S, Lindner M, Burgard P. Newborn screening by tandem mass spectrometry for glutaric aciduria type 1: A cost-effectiveness analysis. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:167.
- Schor DS, Verhoeven NM, Struys EA, ten Brink HJ, Jakobs C. Quantification of 3-hydroxyglutaric acid in urine, plasma, cerebrospinal fluid and amniotic fluid by stable-isotope dilution negative chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;780(1):199-204.
- Shigematsu Y, Hata I, Tanaka Y, Tajima G, Sakura N, Naito E, Yorifuji T. Stable-isotope dilution gas chromatography-mass spectrometric measurement of 3-hydroxyglutaric acid, glutaric acid and related metabolites in body fluids of patients with glutaric aciduria type 1 found in newborn screening. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005;823(1):7-12.
- Tsai FC, Lee HJ, Wang AG, Hsieh SC, Lu YH, Lee MC, et al. Experiences during newborn screening for glutaric aciduria type 1: Diagnosis, treatment, genotype, phenotype, and outcomes. *J Chin Med Assoc* 2017;80(4):253-61.
- Vernon HJ. Inborn errors of metabolism: Advances in diagnosis and therapy. *JAMA Pediatr* 2015;169(8):778-82.
- Yang L, Yin H, Yang R, Huang X. Diagnosis, treatment and outcome of glutaric aciduria type I in Zhejiang Province, China. *Med Sci Monit* 2011;17(7):PH55-9.

DOSAGE DU COMPLÉMENT SC5B-9 (RÉFÉRENCE-2017.01.012R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 avril 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 19 juin 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Paul Isenring, interniste et néphrologue, CHU de Québec - Université Laval;
- D^r Guillaume Bollée, néphrologue, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

Le D^r Guillaume Bollée a déclaré une collaboration de recherche avec le centre demandeur sur un projet qui vise à étudier l'activation du complément chez les patients avec glomérulonéphrite. Il a aussi déclaré avoir participé à des activités de consultation par la compagnie Alexion Pharmaceuticals.

Avis de réévaluation

Le présent document est une réévaluation de l'avis transmis au ministre le 3 août 2017. L'avis initial suggérait un refus d'introduction en raison du manque de données publiées. De plus, les organisations d'intérêt consultées lors de l'évaluation ne recommandaient pas l'utilisation de cette analyse.

2 RÉSUMÉ

La microangiopathie thrombotique (MAT) est une maladie qui se caractérise par une anémie hémolytique, une thrombopénie périphérique et une insuffisance d'organe (dont souvent une insuffisance rénale). Le syndrome hémolytique urémique atypique (SHUa) est une forme de MAT dont l'incidence est estimée à environ 2 par million en Amérique du Nord. Certaines MAT, incluant le SHUa, et la glomérulopathie à C3 (GC3) ont été associées à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément. Le dosage du sC5b-9 proposé pourrait servir à préciser le diagnostic de MAT complément-dépendant.

Les études suggèrent que le niveau de sC5b-9 est augmenté chez les patients en phase aiguë d'un SHUa et se normalise en période de rémission. Une élévation de la concentration du sC5b-9 est également observée chez des patients souffrant d'une MAT associée à la greffe de cellules souches hématopoïétiques ou à l'hypertension sévère et chez des patients présentant une glomérulonéphrite à C3. Deux études repérées dans la littérature ont montré que les patients avec un SHUa secondaire à une autre condition et un titre élevé en sC5b-9 au diagnostic présentaient un risque augmenté de mortalité.

Des données ont montré que la concentration en sC5b-9 était significativement réduite chez des patients atteints d'un SHUa ou d'une GC3 suivant un traitement à l'éculizumab. Cependant, un niveau élevé de sC5b-9 était observé chez certains patients avec un SHUa et avec une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. Une étude a montré que, chez les patients ayant développé une MAT suivant une greffe de cellules souches hématopoïétiques, plus le niveau en sC5b-9 au début du traitement à l'éculizumab était élevé, plus le temps de normalisation du sC5b-9 et le temps de réponse clinique étaient longs.

Le demandeur propose d'utiliser la trousse ELISA MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel. Le demandeur a fourni des coefficients de variation intra-essai de 4 % et inter-essai de 6 % et de 3 % (pour les contrôles à basse concentration et à concentration élevée) comme données de validation.

L'ajout de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 46 350 \$ pour le total des trois premières années.

Selon le groupe du *Kidney Disease Improving Global Outcomes* [Goodship *et al.*, 2017], la clinique Mayo [Go *et al.*, 2016] et le groupe SHU International [Loirat *et al.*, 2016], il n'existe pas suffisamment de données permettant d'appuyer la fiabilité du dosage du sC5b-9 comme marqueur du SHUa et de la GC3. Les experts ne recommandent pas le dosage du sC5b-9 comme outil pour le suivi des patients traités à l'éculizumab. Parmi les objectifs thérapeutiques recommandés par le groupe KDIGO pour le suivi du traitement à l'éculizumab, on retrouve une activité du complément sérique CH50 réduite (< 10 % de la valeur normale), une activité hémolytique de la voie alterne du complément AH50 réduite (< 10 % de la valeur normale) et le dosage d'éculizumab (concentration de 50 à 100 µg/ml).

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le dosage du complexe terminal du complément soluble C5b-9 par ELISA (de l'anglais *enzyme-linked immunosorbent assay*) a pour but d'en déterminer la concentration dans un échantillon de plasma.

Dans le cadre de l'évaluation initiale, le demandeur avait souligné que l'analyse s'inscrivait dans une série de tests visant à identifier la cause d'un déficit acquis de régulation de l'activation du complément à l'origine d'un syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa). Selon le demandeur un résultat positif au test ELISA devait permettre de préciser le diagnostic du SHUa complément-dépendant et de justifier un traitement à l'écuzumab.

Dans sa demande de réévaluation, le demandeur précise que le dosage du complément sC5b-9 est un outil important dans l'élaboration d'un diagnostic large de microangiopathies thrombotiques (MAT) complément-dépendantes.

Le dosage du complément sC5b-9 sert à mettre en évidence une activation excessive du complément pour certaines MAT négatives pour la Shigatoxine avec une activité ADAMTS-13 normale (de l'anglais, *ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 13*) ce qui élimine un diagnostic de purpura thrombotique thrombocytopénique¹⁵. Il est utilisé en combinaison avec d'autres tests pour déterminer la possibilité d'un SHUa devant une maladie rénale d'étiologie obscure (ex. avec une évidence de MAT en histologie sans consommation hématologique évidente)¹⁶, néanmoins suggestive de cette maladie (ex. : LDH élevés, C3 anormal, etc.)^{15, 16}. L'ensemble du tableau biologique sert alors de guide pour déterminer l'utilité d'une biopsie rénale (un test plus invasif)¹⁶. Le dosage du sC5b-9 sert également à identifier les patients avec une glomérulonéphrite à C3 considérés pour un traitement à l'écuzumab parce qu'ils présentent des signes d'inflammation importante en biopsie et un niveau élevé de sC5b-9 circulant à l'évaluation initiale¹⁵.

3.2 Description de la méthode

La mesure de la concentration en sC5b-9 présent dans l'échantillon sanguin du patient sera réalisée par une méthode semi-automatique à l'aide de la trousse MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel [2017]. Il s'agit d'un ELISA de type *sandwich* par lequel le sC5b-9 présent dans l'échantillon est lié par un anticorps monoclonal, dirigé contre l'anneau C9 du sC5b-9, préalablement fixé aux puits d'une microplaque. Un second anticorps couplé à la peroxydase spécifique aux antigènes du sC5b-9 est ajouté et se lie à son tour au complexe. Ces interactions sont mises en évidence par l'ajout d'un substrat de la peroxydase, le

¹⁵ Information transmise par Dre Anne Laure Lapeyraque, spécialiste en néphrologie, CHU Sainte-Justine (6 février 2018).

¹⁶ Information transmise par Dr Paul Isenring, spécialiste en médecine interne et néphrologie, CHU de Québec - Université Laval (6 février 2018).

tétraméthylbenzidine (TMB), qui cause une réaction colorimétrique. Suite à l'ajout d'une solution d'arrêt, l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm. Cette mesure est proportionnelle à la quantité de sC5b-9 présent dans l'échantillon et peut être déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie à partir des standards fournis avec la trousse.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins sur citrate de sodium¹⁷ effectués dans un établissement du réseau ou hors Québec seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine.

Selon le demandeur, le niveau de sC5b-9 peut être mesuré au moment du diagnostic ou d'une récurrence de MAT.

Un délai de deux semaines est prévu par le demandeur pour cette analyse.

3.4 Société ou concepteur

Trousse commerciale ELISA MicroVue^{MC} Complement sC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel.

3.5 Homologation

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la FDA. La trousse a reçu la conformité européenne (CE).

3.6 Valeur pondérée : 111,00

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par l'analyse sont ceux qui présentent des manifestations cliniques de MAT et une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 %. Les MAT regroupent des maladies d'étiologies variées mais présentant des manifestations cliniques similaires qui sont une anémie hémolytique et une thrombocytopénie [Go *et al.*, 2016].

¹⁷ Selon le demandeur, l'anticoagulant à utiliser est le citrate de sodium 3,2 % (0,109 M) standardisé afin d'obtenir un ratio citrate de sodium : sang total de 1 : 9. Source : Procédure opératoire normalisée PON-COAG-0083v2 (en vigueur le 1er mai 2017).

4.2 Description de la maladie visée

4.2.1 Le syndrome hémolytique et urémique (SHU)

Le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) est un type de MAT caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombocytopénie et une insuffisance rénale [Caprioli *et al.*, 2006]. On distingue le SHUa de la forme typique de SHU chez les enfants, une forme qui est causée par une infection avec certaines souches d'*Escherichia coli* produisant la Shigatoxine (STEC-HUS, de l'anglais *Shiga-toxin Escherichia coli associated hemolytic uremic syndrome*) [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007]. Il s'agit d'une maladie rare, constituant 10 % des SHU [Soudabeh *et al.*, 2014] et dont l'incidence annuelle est estimée à environ 2 par million en Amérique du Nord [Constantinescu *et al.*, 2004]. Le SHUa peut survenir à tous les âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Chez les enfants, 70 % ont un premier épisode de la maladie avant l'âge de deux ans [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007].

Le SHUa dit primaire (ou idiopathique) est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément (figure 1) menant à un état procoagulant avec formation de microthrombi dans la vascularisation rénale. Dans environ la moitié des cas, ce sont des mutations des gènes régulateurs du complément notamment le facteur H, le facteur I et MCP (de l'anglais, *membrane cofactor protein*) qui mènent au développement du SHUa [Soudabeh *et al.*, 2014]. Par ailleurs, chez plusieurs patients présentant une prédisposition génétique, une condition initiatrice est requise afin que le SHUa se manifeste (SHUa secondaire), dont la greffe d'un tissu allogénique, une grossesse, le développement de certaines infections, conditions auto-immunes ou métaboliques, la prise de certains médicaments, etc. [Kavanagh *et al.*, 2013; Caprioli *et al.*, 2006]. Chez la majorité des patients, une insuffisance rénale terminale se développe dans les deux ans suivant la présentation [Goodship *et al.*, 2017].

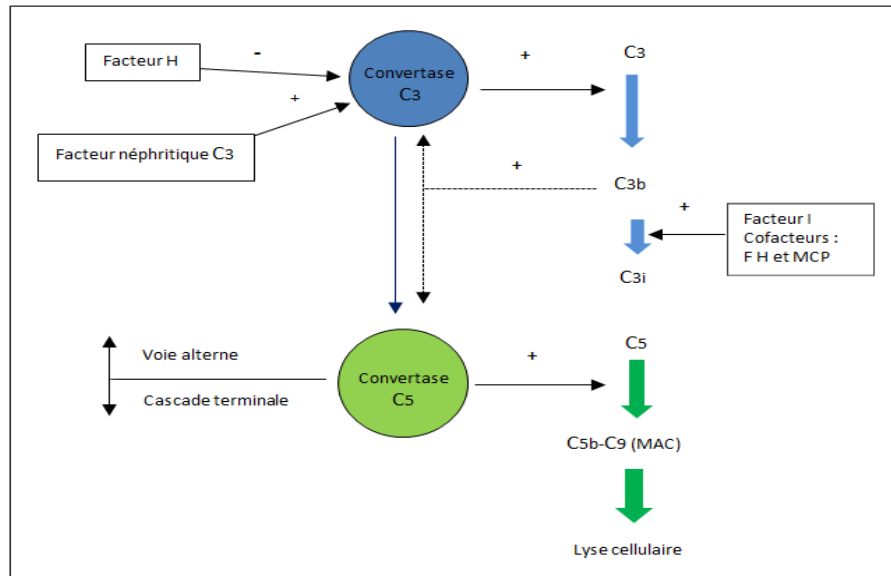


Figure 1 Voie alterne d'activation du complément

La convertase C3 clive le C3 en fragments C3a et C3b, ce dernier jouant un rôle d'amplification. Ce processus est régulé par le facteur H (qui inhibe la convertase C3) et par le facteur I (qui convertit le C3b en sa forme inactive et ralentit la cascade). Lorsqu'elle n'est pas inhibée, la convertase C3 permet la formation de la convertase C5 en liant davantage de C3b. La convertase C5 clive le C5 en C5a et C5b. La liaison du C5b aux protéines C6 à C9 forme le complexe d'attaque membranaire (MAC ou C5b-C9) qui induit la lyse cellulaire.

Source : figure adaptée de De Lorenzo et ses collaborateurs [2014].

Abréviations : FH : facteur H; MAC : complexe d'attaque membranaire (de l'anglais, *membrane attack complex*); MCP : cofacteur membranaire (de l'anglais, *membrane cofactor protein*)

Un défaut de régulation impliquant le complément a été rapporté pour le SHUa de même que pour le STEC-HUS. Une augmentation de la concentration du facteur Bb et du facteur soluble C5b-9 a été observée chez les patients atteints de STEC-HUS [Ferraris *et al.*, 2015; Thurman *et al.*, 2009]. De plus, des mutations dans des gènes associés au complément ou la présence d'autoanticorps du facteur H sont signalées chez 60 % à 70 % des patients souffrant d'un SHUa [Loirat *et al.*, 2016].

4.2.2 La glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3)

Cette pathologie rénale, résultant d'une activation incontrôlée de la cascade du complément, mène au dépôt de la protéine C3 dans les glomérules rénaux. Ce dérèglement causé par des anomalies génétiques ou acquises, implique la C3 convertase de la voie alterne d'activation du complément. On distingue deux sous-types de GC3 : la maladie des dépôts denses (MDD) et la glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3) qui sont identifiés selon leurs caractéristiques spécifiques au moyen d'une biopsie rénale. Il s'agit d'une maladie rare dont l'incidence annuelle est estimée à 1 par million [Goodship *et al.*, 2017].

Contrairement à la présentation aiguë du SHUa, chez la majorité des patients atteints de GNC3, la maladie est de nature chronique avec une activation constante de la voie alterne du complément résultant en une survie rénale à 10 ans d'environ 50 % [Servais *et al.*, 2012].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Le demandeur prévoit traiter des demandes hors Québec et estime à 100 le nombre de tests effectués par année, et ce, pour les 3 prochaines années.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Jusqu'au moment de l'avis initial de l'analyse du dosage du sC5b-9, le centre demandeur offrait l'analyse à des fins de recherche. Au cours de l'année 2015, le demandeur a effectué 183 analyses dont environ 20 % des demandes provenaient de l'extérieur du Québec¹⁸.

Selon les experts consultés, le dosage du complément sC5b-9 interviendrait dans la prise de décision diagnostique et thérapeutique^{19,20}.

Le demandeur a fourni l'algorithme diagnostique de MAT du *Cincinnati Children's Hospital* (annexe A).

¹⁸ Information transmise par M. Arnaud Bonnefoy, spécialiste clinique en biologie médicale, CHU Sainte-Justine (16 juin 2017).

¹⁹ Information transmise par D^r Paul Isenring, spécialiste en médecine interne et néphrologie, CHU de Québec - Université Laval (6 février 2018).

²⁰ Information transmise par D^{re} Anne Laure Lapeyraque, spécialiste en néphrologie, CHU Sainte-Justine (6 février 2018).

4.5 Données médico-administratives

La titration du sC5b-9 n'est pas inscrite dans le *Répertoire*. Entre 2013 et 2016, 21 analyses ont été envoyées hors Québec, dont :

- 6 au Cincinnati Children's Hospital Medical Center;
- 2 au National Jewish Health;
- 5 au University of Iowa Molecular Laboratory;
- 5 au Universitäts Klinikum Heidelberg;
- 3 à l'Institute for Immunology.

Tableau 1 Envois hors Québec des analyses du complément pour les années 2013-2014, 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	2013–2014		2014–2015		2015–2016	
	NOMBRE	COÛT TOTAL (\$)	NOMBRE	COÛT TOTAL (\$)	NOMBRE	COÛT TOTAL (\$)
Titration du sC5b-9	4	492	4	894	13	2 199
Anti-facteur H	28	4 932	32	1 931	19	1 931
Analyse moléculaire du complément	6	19 400	10	29 384	8	30 508

Source : données du Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS).

Tableau 2 Volumétrie des analyses en lien avec le complément pour les années 2014-2015 et 2015-2016

ANALYSE	2014–2015		2015–2016	
	NOMBRE	COÛT TOTAL (\$)	NOMBRE	COÛT TOTAL (\$)
Facteur H (antigène)	35	2 240	34	2 142
Composants du complément	364	30 491	929	65 030
Complément sérique total (CH50)	1 735	57 988	990	39 900
Complément C3 (antigène)	40 832	191 895	41 126	193 292
Complément C4 (antigène)	40 776	193 454	41 796	196 441
Complément facteur B (antigène)	2	216	6	636
Activation du complément (ELISA)	5 943	95 088	6 596	104 876

Source : données du Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS).

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, le dosage du sC5b-9 pourrait servir à :

- confirmer la présence d'une MAT complément-dépendante quand la Shigatoxine est négative, l'activité l'ADAMTS-13 > 10 % et quand le tableau clinique n'est pas typique;
- orienter les étapes diagnostiques subséquentes;
- préciser le diagnostic d'une MAT complément-dépendante qui pourrait bénéficier d'un traitement à l'éculizumab;
- confirmer la disparition de la MAT complément-dépendante.

4.7 Assurance qualité

Le laboratoire demandeur prévoit l'envoi de deux échantillons (un échantillon pathologique et un échantillon normal) une à deux fois par année au Centre national de référence en microangiopathie thrombotique (CNR-MAT) pour comparer les résultats.

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

Lors de la première évaluation de l'analyse du dosage du complément sC5b-9, sept études rapportant des mesures de titres du complément soluble C5b-9 en relation avec des MAT avaient été repérées dans la littérature [Farkas *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Volokhina *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Jodele *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014].

Dans le cadre de cette réévaluation, quatre nouvelles études portant sur des maladies associées à une activation anormale du complément ont été retenues [Puissant-Lubrano *et al.*, 2017; Qi *et al.*, 2017; Timmermans *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2014]. Les critères d'inclusions des différentes études sont présentés à l'annexe B.

5.1.1 Dosage du sC5b-9 dans le SHUa

Volokhina et ses collaborateurs [2015] ont analysé l'état d'activation de la voie alterne du complément chez les patients en phase aiguë d'un SHUa²¹ (n = 6) et en rémission pour plus d'un an (n = 11). La phase aiguë était définie par la présence d'une anémie hémolytique, une thrombopénie et une insuffisance rénale terminale. Un titre élevé du sC5b-9 a été constaté chez tous les patients en phase aiguë (7,79 UA²²/ml ± 4,6 UA/ml) comparativement au groupe témoin²³ (p < 0,0001). Aucune différence n'a été observée entre le titre chez les patients en rémission et celui du groupe témoin. Les auteurs ont conclu qu'une activation du complément

²¹ Patients âgés de 7 mois à 12 ans.

²² Unités arbitraires.

²³ Sujets sains adultes.

peut être démontrée dans le sang des patients en phase aiguë, mais que les niveaux des marqueurs d'activation du complément se normalisent en période de rémission.

Song et ses collaborateurs [2017] ont évalué les paramètres cliniques et les composants du complément circulant chez une cohorte pédiatrique de 33 patients atteints du SHUa avec des anticorps anti-facteur H. Le niveau du sC5b-9 plasmatique était significativement plus élevé chez les patients que chez les témoins (876,55 ng/ml [EIQ : 550,24 à 1 326,52] contre à 267,16 ng/ml [EIQ : 139,50 à 448,06]; $p < 0,001$). Le niveau du sC5b-9 était significativement réduit en période de rémission comparativement au niveau en phase aiguë ($135,75 \text{ ng/ml} \pm 71,16 \text{ ng/ml}$ et $1 023,53 \text{ ng/ml} \pm 522,12 \text{ ng/ml}$; $p = 0,001$). En période de rémission, les auteurs ont observé un retour à la normale des niveaux plasmatiques de C3a, C5a et sC5b-9. Ils ont suggéré que les protéines du complément C3a, C5a et le sC5b-9 pourraient servir de marqueurs pronostics d'activité d'un SHUa et d'efficacité de traitement.

Cataland et ses collaborateurs [2014] ont analysé des biomarqueurs de l'activation terminale du complément dans le but d'identifier un marqueur diagnostique de SHUa qui permettrait de prédire une réponse à une inhibition du complément tôt dans le traitement. Ils ont également observé une augmentation du niveau du sC5b-9 chez tous les patients atteints d'un SHUa. Ils ont ensuite comparé le titre des 19 patients atteints d'un SHUa à celui d'une cohorte de 38 patients²⁴ ayant reçu un diagnostic de PTT et ils ont noté qu'il était significativement plus élevé chez les patients souffrant du SHUa (tableau 3). Toutefois, dû au chevauchement des titres, les auteurs ont été incapables d'établir un seuil de sC5b-9 permettant de différencier les patients atteints d'un SHUa de ceux atteints de PTT. Les auteurs de cette étude n'ont pas comparé la concentration en sC5b-9 chez les patients en phase active et en rémission.

Tableau 3 Titre du sC5b-9 chez des patients atteints de SHUa et PTT en phase aiguë

DIAGNOSTIC (n)	TITRE (ng/ml)
SHUa (19)	1 098 (422 à 4 840)
PTT (38)	585 (210 à 1 924)
Valeur p	< 0,0001

Source : adapté de Cataland et ses collaborateurs [2014].

Abréviations : PTT : purpura thrombotique thrombocytopénique; SHUa : syndrome hémolytique et urémique.

* Valeurs normales de 33,9 ng/ml à 238,2 ng/ml.

Noris et ses collaborateurs [2014] ont analysé 44 patients ayant reçu un diagnostic de SHUa afin d'évaluer différentes méthodes d'analyses de l'activation du complément et d'identifier un biomarqueur pour le dosage de l'écilizumab. Le dosage du sC5b-9 a montré que 53 % (10/19) des patients en phase aiguë

²⁴ Provenant d'une autre étude [Wu et al., 2013].

avaient un titre supérieur à la normale. De plus, le niveau de sC5b-9 demeurait élevé chez 64 % (23/36) des patients en rémission. Les auteurs ont également observé un niveau inchangé du sC5b-9 chez huit patients suivant un traitement à l'éculizumab. À la suite de ces observations, les auteurs ont conclu que le titre du sC5b-9 ne constitue pas un bon marqueur de l'activation du complément pour le SHUa.

5.1.2 Valeur clinique du dosage du sC5b-9 dans le SHUa

L'objectif de Bu et ses collaborateurs [2015] était de mesurer le niveau du sC5b-9 dans une cohorte de patients en phase active (n = 55) et inactive (n = 29) de SHUa afin d'expliquer les résultats divergents des études de Volokhina [2015], de Cataland [2014] et de Noris [2014]. Les critères d'inclusion de l'étude de Bu et ses collaborateurs [2015] étaient la présence d'une anémie hémolytique, une numération plaquettaire inférieure à 150 000/ μ l et une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % (annexe B). Les auteurs ont observé un niveau élevé du sC5b-9 chez 24 de 55 cas actifs et 3 de 29 cas inactifs (p = 0,003). Le titre moyen de sC5b-9 était de 289 ng/ml $\pm$ 120 ng/ml chez les patients en phase active de la maladie comparativement à 191 ng/ml $\pm$ 122 ng/ml en phase inactive (p < 0,001). Selon ces auteurs, un niveau augmenté de sC5b-9 est indicatif d'un SHUa actif, mais le résultat du dosage (valeur prédictive positive de 89 % et négative de 46 %) devrait être intégré au contexte clinique et à l'historique du patient.

Les auteurs ont souligné que les critères d'inclusion ou d'exclusion des études (numération plaquettaire, créatinine sérique et activité ADAMTS-13, annexe B), la méthode de prélèvement et de traitement des échantillons (préparation du plasma, temps d'entreposage, cycles de gel/dégel) et la méthode de dosage du sC5b-9 étaient probablement à l'origine de cette disparité entre les résultats. Selon ces auteurs, la valeur du sC5b-9 comme biomarqueur du SHUa actif demeure non résolue pour les cliniciens.

5.1.3 Dosage du sC5b-9 dans les microangiopathies thrombotiques secondaires

Valeur clinique du sC5b-9 dans les MAT secondaires aux greffes de cellules souches allogéniques

Jodele et ses collaborateurs [2014] ont analysé une cohorte prospective de patients ayant reçu une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (GCSH) afin d'évaluer, entre autres, l'incidence de MAT dans ce groupe. Ils ont constaté qu'un plus grand nombre de patients démontrant une MAT avaient un titre élevé du sC5b-9 au diagnostic comparativement aux 20 greffés sans MAT analysés 30 jours après la greffe qui correspondait au temps médian pour le diagnostic de MAT (32 jours [EIQ : 17 à 43]). Par ailleurs, le titre du sC5b-9 chez les patients GCSH avec MAT était plus élevé (tableau 4).

Tableau 4 Niveau de sC5b-9 chez les patients ayant reçu une GCSH

sC5b-9	AVEC MAT	SANS MAT	VALEUR p
Proportion des patients avec un titre élevé* (n)	26/39 (67 %)	4/20 (20 %)	< 0,01
Titre médian (ng/ml)	332,9 (EIQ : 274,45 à 445,05)	201,4 (EIQ : 171,7 à 273,9)	0,03

Source : adapté de Jodele et ses collaborateurs [2014].

Abréviations : EIQ : écart interquartile; MAT : microangiopathie thrombotique

*Valeur normale entre 72 ng/ml et 244 ng/ml

Dans une étude de cohorte prospective, non présentée dans l'avis initial, Qi et ses collaborateurs [2017] ont comparé le niveau de marqueurs d'activation du complément chez 20 patients ayant développé une MAT suite à une GCSH à celui de 54 patients avec d'autres complications liées et la greffe (20 patients avec une réaction du greffon contre l'hôte de grade 3 ou 4, 20 patients avec une infection sévère et 14 patients avec une maladie veino-occlusive) et 20 patients sans complication.

Les échantillons de plasma ont été prélevés avant le conditionnement et à l'initiation des complications. Les échantillons ont été collectés 100 jours suivant la greffe chez les patients n'ayant pas développé de complication. Lorsque comparé au niveau mesuré avant le conditionnement (ou le niveau chez les patients sans complication), le niveau plasmatique de C3b, du sC5b-9 et le dosage du complément hémolytique CH50 était augmenté chez les patients avec une MAT-GSCH (tableau 5). Aucune augmentation significative de la concentration du sC5b-9 n'a été observée chez les patients ayant développé une complication autre que la MAT.

Tableau 5 Marqueurs d'activation du complément chez les patients ayant reçu une greffe allogénique de cellules souches avec ou sans MAT

Marqueur d'activation du complément	Avant MAT	Après MAT
sC5b-9 (ng/ml)	673 ± 150	1 058 ± 276*
C3b (ng/ml)	166 ± 98	455 ± 224*
CH50 (U/l)	61,8 ± 23,0	128,4 ± 37,3†

Source : adapté de Qi et ses collaborateurs [2017].

* p < 0,001

† p < 0,01

Selon Qi et ses collaborateurs [2017], ces résultats suggèrent notamment que le niveau de sC5b-9 plasmatique pourrait servir de marqueur de MAT associée à la transplantation suivant une greffe allogénique de cellules souches. De plus, un traitement contre le complément pourrait être bénéfique chez les patients avec une MAT-GSCH.

Dosage du sC5b-9 dans les microangiopathies thrombotiques secondaires d'étiologies variées

Farkas et ses collaborateurs [2017] se sont intéressés, entre autres, à l'activation du complexe terminal du complément et au pronostic des patients atteints d'une MAT secondaire à une autre condition médicale (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide, opération à cœur ouvert). Suite à une analyse du complément, ils ont observé un titre plus élevé du sC5b-9 chez 76 % des patients atteints de MAT secondaires par rapport aux sujets sains ($p = 0,0004$). Cependant, 58 % des patients souffrant d'une maladie similaire au premier groupe²⁵ mais ne présentant pas la complication microangiopathique présentaient aussi des niveaux élevés de sC5b-9.

Ainsi, le niveau de sC5b-9 n'a pas permis de distinguer les patients souffrant d'une MAT secondaire à une maladie des patients du groupe contrôle pour ces maladies ($p = 0,37$).

Dosage du sC5b-9 dans la microangiopathie thrombotique associée à l'hypertension sévère

Le rôle du complément chez une cohorte prospective de neuf patients présentant une MAT attribuée à une hypertension sévère a été évalué par Timmermans et ses collaborateurs [2016]. Les caractéristiques cliniques et les données démographiques des patients inclus dans l'étude sont présentées en annexe (annexe C).

Un échantillon de plasma et de sérum de chacun des patients a été prélevé au moment de la biopsie rénale de confirmation de la MAT. Les essais fonctionnels hémolytiques du complément à partir du sérum des patients démontrent une activité normale de la voie classique (CH50 supérieure à 75 %) et de la voie alterne (AP50 supérieure à 40 %). Cependant, la concentration du sC5b-9 était élevée chez chacun des patients.

Parmi les neuf patients, huit ont progressé vers une insuffisance rénale malgré un traitement agressif de l'hypertension et une normalisation de la pression artérielle. Un traitement à l'éculizumab a été initié chez un patient qui était sous dialyse suite à l'identification d'une mutation au niveau du gène du facteur I du complément. Une résolution des fonctions rénales (taux de filtration glomérulaire de 38 ml/min) a été observée dans les 12 mois de traitement chez ce patient.

Timmermans et ses collaborateurs [2016] ont conclu que les patients présentant une MAT associée à l'hypertension sévère s'inscrivent dans le cadre des MAT médiées par le complément, tel qu'indiqué par un niveau élevé de sC5b-9 dans le plasma et le dépôt de C3c et de sC5b-9 au niveau de la surface des cellules endothéliales sur biopsies rénales.

²⁵ Des patients avec un cancer, une maladie auto-immune, une sepsie, une greffe d'organe solide ou ayant subi une opération à cœur ouvert.

5.1.4 Activation de la voie alterne du complément dans la glomérulopathie à C3 (GC3)

L'étude de cohorte rétrospective de Zhang et ses collaborateurs [2014] visait à valider l'implication d'un dérèglement du complément dans la glomérulopathie à dépôts de C3 et à déterminer si certaines anomalies de la voie d'activation du complément pourraient servir à définir la maladie.

Trente-quatre patients ont participé à cette étude. Dans cette cohorte, 17 patients ont reçu un diagnostic de glomérulonéphrite à C3 (GNC3) et 17 de la maladie à dépôts denses (MDD). Le groupe contrôle était formé de 100 individus sains. Un total de 19 biomarqueurs, incluant des marqueurs de la voie terminale du complément, ont été analysés. Parmi les anomalies de la voie terminale observées, on note une augmentation significative du sC5b-9 des patients avec une GNC3 comparativement à celui des contrôles (0,63 mg/l contre 0,14 mg/l; $p < 0,001$) (tableau 6).

Tableau 6 Niveau des composants de la voie terminale du complément dans la GNC3 et la MDD

COMPOSANTS DU COMPLÉMENT	CONTRÔLES	GNC3	MDD (EIQ)
C5	91 mg/l (76 – 102)	65 mg/l (54 – 79)*	70 mg/l (59 – 77)*
C5a	8,8 mg/l (4,3 – 9,9)	12,9 µg/l (7,9 – 16,9) [†]	9,6 µg/l (6,0 – 14,2)
C7	83 mg/l (73 – 93)	69 mg/l (55 – 78) [‡]	79 mg/l (65 -103)
sC5-9	0,14 mg/l (0,05 – 0,19)	0,63 mg/l (0,19 – 0,92) [*]	0,18 mg/l (0,13 – 0,18)

Source : adapté de Zhang et ses collaborateurs [2014].

Abréviations : EIQ : écart interquartile; GNC3 : glomérulonéphrite à C3; MDD : maladie à dépôts denses

* $p < 0,001$ avec le groupe contrôle

[†] $p < 0,05$ avec le groupe contrôle

[‡] $p < 0,01$ avec le groupe contrôle

^{||} $p < 0,05$ entre le groupe GNC3 et le groupe MDD

Selon Zhang et ses collaborateurs [2014], l'évaluation des composants de la voie du complément dans la GC3 aurait une valeur clinique puisque : 1) il n'y a pas de traitement spécifique efficace pour la GC3, 2) l'utilisation de l'éculizumab pourrait représenter un traitement utile dans le cas où le niveau de sC5b-9 est élevé, et 3) il existe plusieurs inhibiteurs du complément en développement qui pourraient éventuellement être bénéfiques pour le traitement de la GC3.

5.2 Valeur pronostique

Lors de l'évaluation initiale de l'analyse, deux études associant un mauvais pronostic à une MAT secondaire avec un titre élevé du sC5b-9 avaient été repérées dans la littérature [Farkas *et al.*, 2017; Jodele *et al.*, 2014]. Aucune autre étude n'a été ajoutée à cette section.

5.2.1 La concentration du sC5b-9 comme facteur associé à un risque accru de mortalité chez les patients ayant reçu un diagnostic de MAT secondaire

L'objectif de l'étude de Jodele et ses collaborateurs [2014] était d'identifier les facteurs associés à un risque plus élevé de mortalité chez les patients ayant reçu un diagnostic de MAT suite à une GCSH. Des 90 patients ayant reçu une greffe allogénique, 39 répondaient aux critères cliniques de MAT (annexe B). De ceux-ci, 18 (46,2 %) sont décédés dans l'année suivant la greffe comparativement à 5 de 51 (9,8 %) patients avec une GCSH sans MAT ($p < 0,01$). Les patients avec une MAT et GCSH présentaient un risque accru de décès à un an suivant la greffe ($43,6 \% \pm 8 \%$ contre $7,8 \% \pm 3,8 \%$; $p < 0,0001$).

Des 39 patients avec une MAT, 28 avaient une concentration élevée en sC5b-9. Dans ce groupe, 17 décès sont survenus comparativement à un seul dans le groupe avec un titre normal en sC5b-9 ($60,7 \%$ contre 9% ; $p = 0,004$). Les patients avec une MAT qui sont décédés avaient un titre médian de 498,2 ng/ml (EIQ : 304,8 à 713,2) comparativement à 289 ng/ml (EIQ : 143,8 à 360,4; $p < 0,001$) chez les survivants avec une MAT à 1 an.

Afin d'identifier les facteurs associés à la mortalité à un an suivant la greffe, les auteurs ont comparé des paramètres cliniques mesurés dans une période de trois jours précédant ou suivant le diagnostic de la MAT entre les patients décédés et vivants à un an. Les patients qui avaient une protéinurie supérieure ou égale à 30 mg/dl ou un niveau élevé de sC5b-9 (supérieur à 244 ng/ml) au diagnostic de la MAT avaient un taux de survie à 1 an suivant la greffe réduit ($26,7 \%$ et $39,3 \%$) comparativement aux patients qui avaient des valeurs normales pour ces 2 paramètres ($70,8 \%$ et 91% ; $p < 0,001$). Les patients avec une protéinurie ou un niveau élevé de sC5b-9 au diagnostic de la MAT avaient un rapport des risques instantanés (RRI) de décès significativement augmenté ($4,06$ [IC95 % : $1,56$ à $10,55$]; $p = 0,02$ ou $9,5$ [IC95 % : $1,2$ à $71,8$]; $p = 0,0074$, respectivement) comparativement aux patients normaux pour chacun de ces paramètres. Les patients avec une protéinurie et une concentration élevée de sC5b-9 au diagnostic avaient une survie réduite à 1 an ($16,7 \% \pm 10,8 \%$) alors que les patients sans protéinurie et sans un niveau élevé de sC5b-9 avaient une survie de 100% ($p < 0,01$). Ainsi, les auteurs ont conclu que les patients avec une MAT secondaire à une GCSH avec une protéinurie et une concentration sérique élevée de sC5b-9 présentaient un risque augmenté de mortalité et devraient être considérés pour des interventions rapides.

Farkas et ses collaborateurs [2017] se sont intéressés, entre autres, à la relation entre l'activation du complément et l'inflammation sur le pronostic des patients souffrant d'une MAT secondaire. Cette étude portait sur 3 groupes, un groupe de 53 patients atteints d'une MAT secondaire à une autre condition (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert)²⁶, un groupe de 41 patients avec une condition similaire au premier groupe sans MAT²⁷

²⁶ Âge moyen de 49 ans $\pm$ 20 ans (2 à 82).

²⁷ Âge moyen de 41 ans $\pm$ 21 ans (1 à 79).

et 34 sujets sains²⁸. Le taux de mortalité à 30 jours était de 53 % chez les patients avec une complication de MAT.

Les auteurs ont identifié des facteurs de risques pour la mortalité à 30 jours d'hospitalisation chez les patients avec une MAT secondaire. En utilisant un modèle multivarié de Cox, les auteurs ont déterminé qu'un titre en sC5b-9 supérieur à 421 ng/ml est associé à une augmentation significative du risque de décès à 30 jours, et ce, indépendamment de l'âge, du sexe et de la concentration de créatinine sérique (RRI : 3,08 [IC95 % : 1,25 à 7,58]). Les auteurs ont conclu que le mauvais pronostic associé à la MAT secondaire était caractérisé par un déficit partiel d'ADAMTS-13, l'inflammation et une activation des voies classique et alterne du complément.

5.3 Valeur thérapeutique

Deux études ayant analysé la concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de MAT avaient été repérées dans la documentation lors de l'évaluation initiale du dosage du sC5b-9 [Wehling *et al.*, 2017; Jodele *et al.*, 2016]. L'étude de Puissant-Lubrano [2017] a été ajoutée dans le cadre de cette réévaluation.

5.3.1 Concentration en sC5b-9 chez des patients atteints de SHUa primaire et de GC3 traités à l'éculizumab

Wehling et ses collaborateurs [2017] se sont intéressés aux marqueurs de l'activation du complément et les bénéfices du dosage à l'éculizumab chez des patients atteints du SHUa (n = 12) et de GC3 (n = 9). L'activation du complément a été analysée, entre autres, par un essai hémolytique de la voie classique (CH50) et de la voie alterne (APH50), et par un dosage en sC5b-9 avant le traitement et à 3 et 6 mois suivant le début du traitement (figure 2). Une inhibition significative du complément a été observée à trois et six mois suivant l'initiation du traitement comme démontré par une réduction de l'activité CH50 chez les patients avec un SHUa et une GC3. Une inhibition de l'activité APH50 a également été démontrée pour le SHUa. Une baisse significative de la concentration en sC5b-9 a été constatée suivant le traitement chez les patients atteints du SHUa (à trois mois seulement) et de GC3. Cependant, un niveau élevé du sC5b-9 a été constaté chez 10 des 22 patients avec un SHUa et 4 des 17 patients avec une GC3 malgré un traitement à l'éculizumab. De même, 3 de 9 patients avec une GC3 ont eu une récurrence et 3 autres sont demeurés en rémission partielle. Les auteurs ont suggéré que des études supplémentaires étaient nécessaires afin d'évaluer la pertinence clinique à mesurer l'activité du complément résiduelle observée même chez des patients montrant des niveaux d'éculizumab augmentés de 5 et 10 fois. Les auteurs ont conclu qu'une analyse exhaustive du complément accompagnée d'un dosage d'éculizumab est nécessaire pour distinguer le mode d'activation du complément et l'efficacité du traitement dans les pathologies rénales.

²⁸ Âge moyen de 51 ans $\pm$ 8 ans (36 à 67).

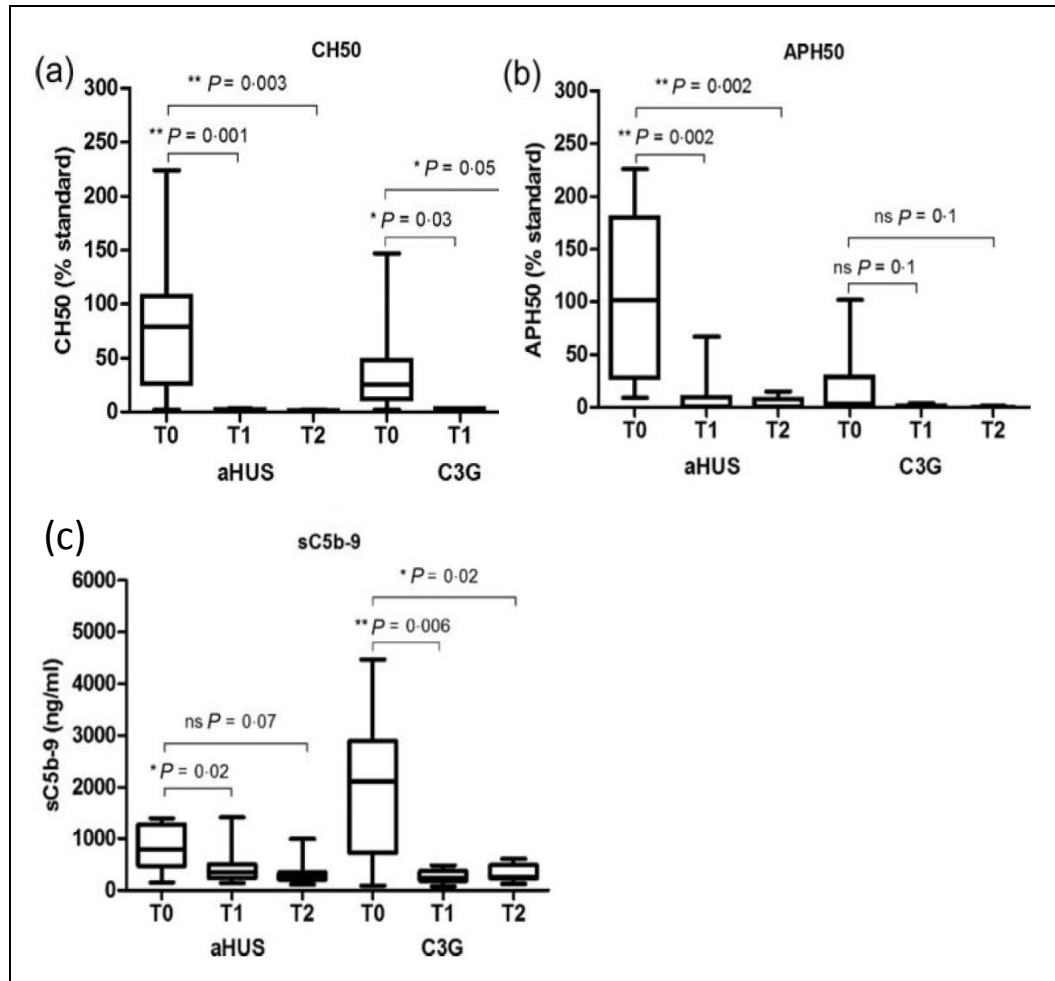


Figure 2 Paramètres de l'activation du complément dans le SHUa et la GC3

Comparaison des paramètres de l'activation du complément avant (T0), après 3 (T1) et 6 (T2) mois $\pm$ 4 semaines de traitement à l'éculizumab chez des patients atteints d'un SHUa (n = 12) et d'une glomérulopathie à dépôt de C3 (n = 9).

* p < 0,05; ** p < 0,01.

Abréviations : aHUS : syndrome hémolytique et urémique atypique; APH50 : activité hémolytique de la voie alterne APH50; CH50 : activité hémolytique de la voie classique CH50; GC3 : glomérulopathie à dépôt de C3.

Source : Wehling et ses collaborateurs [2017].

5.3.2 Concentration de sC5b-9 chez des patients atteints d'un SHUa secondaire

Jodele et ses collaborateurs [2016] ont analysé la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de l'éculizumab chez des enfants et jeunes adultes souffrant d'une MAT secondaire à une GCSH. Les auteurs se sont également intéressés à l'activation de la voie du complément dans ce contexte afin d'élaborer une stratégie de dosage d'éculizumab. Le dosage du sC5b-9 chez les patients montrait que la

concentration était normale avant la chimiothérapie précédant la GCSH (inférieure à 244 ng/ml), mais qu'elle augmentait jusqu'à l'initiation du traitement à l'éculizumab. La concentration en sC5b-9 chez les 18 patients traités à l'éculizumab n'était pas significativement différente de celle des 11 patients non traités (373,5 ng/ml contre 458,5 ng/ml; $p = 0,24$).

Les auteurs ont élaboré un modèle permettant de faire une simulation à partir du poids du patient, de la dose d'éculizumab et de la concentration en sC5b-9 avant le traitement afin de prédire à quel moment le titre d'éculizumab sérique tomberait sous le seuil thérapeutique²⁹. À l'aide de ce modèle, les auteurs ont déterminé que les patients qui avaient une concentration en sC5b-9 supérieure à 488 ng/ml au diagnostic de la MAT nécessitaient un traitement de 11 à 13 jours avec une inhibition adéquate de l'activité du complément³⁰ afin de normaliser le niveau en sC5b-9. Chez les patients ayant une concentration en sC5b-9 inférieure à 488 ng/ml, un traitement de 2 à 5 jours à l'éculizumab suffisait pour normaliser le titre du sC5b-9. Selon les auteurs, la normalisation de la concentration en sC5b-9 corrèle avec une réponse clinique au traitement basé sur les paramètres hématologiques et la fonction rénale. Enfin, les auteurs suggèrent que leur approche de traitement individualisé basé sur la pharmacodynamique de l'éculizumab, en fonction du titre initial du sC5b-9 et du poids, devrait être appliquée afin d'optimiser le dosage d'éculizumab. Cependant, les auteurs soulignent que le modèle proposé devrait être validé chez des cohortes pédiatriques plus importantes et chez des cohortes adultes.

5.3.3 Activation de la voie terminale du complément chez les patients traités à l'éculizumab

L'étude de cohorte prospective de Puissant-Lubrano et ses collaborateurs [2017] visait à évaluer la capacité de l'éculizumab à inhiber la voie terminale du complément chez les patients traités à l'éculizumab.

Parmi les 16 patients analysés, 9 étaient atteints d'un SHUa, 2 souffraient d'un SHU lié à la production de Shigatoxine causée par une infection à *Escherichia coli*, 1 patient souffrait d'une GNC3, 3 patients présentaient un rejet de greffe rénale et un patient souffrait d'hémoglobinurie paroxysmale nocturne (HPN). Une évaluation de l'activation de la voie terminale du complément a été effectuée avant l'initiation du traitement à l'éculizumab. Le traitement à l'éculizumab a permis une amélioration significative des paramètres cliniques sauf pour le niveau de créatinine (tableau 7).

²⁹ Concentration de 99 µg/ml. C'est la concentration requise pour maintenir une suppression de l'activité du complément (CH50 inférieure à 10 %). Une baisse de concentration sous ce seuil indique le besoin d'une nouvelle dose d'éculizumab.

³⁰ Vérifiée par l'essai CH50.

Tableau 7 Caractéristiques cliniques des patients traités à l'éculizumab

CARACTÉRISTIQUES	AVANT ÉCULIZUMAB	APRÈS ÉCULIZUMAB	VALEUR p
Lactate déshydrogénase (UI/l)	1 290	486	0,027
Hémoglobine (g/dl)	9,8	11,3	0,022
Numération plaquettaire (par mm ³)	124 375	183 078	0,046
Créatinine (μmol/l)	338	261	s.o.

Source : adapté de Puissant-Lubrano et ses collaborateurs [2017].

Abréviations : s.o. : sans objet

Mesure de l'activité hémolytique du complément par la voie classique et par la voie alterne chez les patients traités à l'éculizumab

L'activité terminale du complément a été mesurée, à partir du sérum des patients, par un essai hémolytique (CH50) et par un essai ELISA fonctionnel (CP ELISA) pour la voie classique et par un essai hémolytique dans les cellules de lapin (APH50) ou de poulet (AP100) et par un ELISA fonctionnel (AP ELISA) pour la voie alterne. Un à trois échantillons de sérum ont été obtenus pour chacun des patients. Un échantillon de sérum a été prélevé immédiatement avant une infusion à l'éculizumab. D'autres échantillons ont été prélevés entre 7 jours et 28 jours (en moyenne à 14 jours) suivant une infusion à l'éculizumab. Mis à part deux patients souffrant d'un SHUa, tous les patients montraient une activation normale de la voie d'activation du complément avant le traitement à l'éculizumab. Deux patients atteints d'un SHUa avaient un niveau réduit de C3 (inférieur à 0,4 g/l) et un de ces patients avait un bas niveau d'activation de la voie alterne du complément avant l'initiation du traitement³¹. L'activation de la voie terminale du complément par la voie classique, mesurée par l'essai hémolytique et l'ELISA fonctionnel était inhibée chez tous les patients sous traitement à l'éculizumab (CH50 et CP ELISA < 10 %). Au contraire, l'activation terminale du complément par la voie alterne mesurée par l'essai hémolytique APH50 montrait une activité résiduelle chez 15 des 16 patients (23 % à 76 %, moyenne de 42 %). De même, l'essai hémolytique AP100 montrait une activité réduite mais détectable chez 14 des 16 patients (12 % à 126 %, moyenne de 33 %³²). L'activité résiduelle du complément évaluée par l'essai AP100 était légèrement plus élevée chez les patients n'ayant pas un SHUa (50,2 % comparativement à 22,4 % chez les patients avec un SHUa, p = 0,04). Cette différence n'a pas été observée avec l'essai APH50. Cependant, tous les patients montraient une inactivation du complément par AP ELISA (AP < 10 %).

³¹ Cette mesure a été prise chez 7 patients sur 16 seulement.

³² Selon les auteurs, les résultats de l'analyse AP100 sont légèrement surestimés. Les résultats sont présentés selon le diamètre de l'anneau de lyse, mais chez chacun des patients, cette lyse était incomplète montrant des érythrocytes intacts dans l'anneau lorsqu'observés au microscope.

Concentration du sC5b-9 dans le sérum des patients traités à l'éculizumab

Une concentration élevée en sC5b-9 (supérieure à 1 105 ng/ml) a été constatée chez 6 des 16 patients de la cohorte (37,5 %). Plus précisément, chez 50 % des patients en phase stable d'un SHUa. Tous les patients en phase aiguë de la maladie montraient un niveau normal de sC5b-9 (276 ng/ml à 1 105 ng/ml). Les résultats des essais fonctionnels de l'activation terminale du complément par la voie alterne (APH50 et AP100), ne corrôlaient pas avec le dosage du sC5b-9 (corrôlation de Spearman : $p = 0,75$ et $p = 0,58$ respectivement) ou celui de la fraction C5a ($p = 0,58$ et $p = 0,075$ respectivement). Le niveau du sC5b-9 avant l'initiation du traitement à l'éculizumab et suivant sa cessation ôtait supôrieur à son niveau lors du traitement chez les cinq patients analysés.

Les auteurs de cette ôtude ont remarquô que le traitement à l'éculizumab dôntrait une bonne efficacitô clinique puisque la maladie s'ôtait stabilisôe chez 12 des 16 patients analysés. Toutefois l'inhibition de l'activation terminale du complément par la voie alterne demeurait incomplôte au niveau du sôrum de ces patients. Le niveau de sC5b-9 ne semblait pas corrôler avec l'activitô de la maladie puisqu'un niveau ôlevô de sC5b-9 a ôté observô chez 50 % des patients en phase stable de SHUa.

5.4 Validitô analytique

Le demandeur propose d'utiliser la trousse commerciale MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel pour son analyse ELISA. Il s'agit de la môme trousse qui a ôté utilisôe pour plusieurs des ôtudes citôes dans cet avis [Farkas *et al.*, 2017; Puissant-Lubrano *et al.*, 2017; Song *et al.*, 2017; Bu *et al.*, 2015; Cataland *et al.*, 2014; Noris *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014].

La trousse commerciale MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA comporte 2 contrôles, un à basse concentration et un à concentration ôlevôe. La trousse comporte ôgalement cinq standards permettant d'ôtablir une courbe ôtalon pour dôtterminer la concentration du sC5b-9 dans l'ôchantillon à analyser.

Les coefficients de variation pour la validation intra-essai et inter-essai de la trousse sont prôsents au tableau 8. La limite infôrieure de dôttection de quantification pour l'analyse est de 3,7 ng/ml. La limite infôrieure de quantification, qui reprôsente la concentration minimale de la courbe standard qui rônpond aux critôres du *Clinical and Laboratory Standards Institute* pour la prôcision, est de 8,8 ng/ml. Le coefficient de corrôlation (r) de la courbe standard doit ôtre supôrieur à 0,95. La valeur de sa pente (m) doit ôtre comprise entre 0,0039 et 0,0123 et l'ordonnôe à l'origine (b) doit se situer entre $-0,189$ et $+0,201$. Le recouvrement de la trousse ôtait de 94 % (86 % à 104 %).

Tableau 8 Coefficients de variation (%) calculés par le fabricant de la trousse MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de Quidel

VALIDATION		CONTRÔLE À FAIBLE CONCENTRATION	CONTRÔLE À CONCENTRATION ÉLEVÉE
CV (intra-essai)	sur le plasma (n = 20)	6,8 %	1,9 %
	sur le sérum (n = 20)	2,8 %	1,6 %
CV (inter-essai)	sur le plasma (n = 10)	13,1 %	5,2 %
	sur le sérum (n = 10)	10,4 %	5 %

Source : feuillet de la trousse MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel.

Abréviation : CV : coefficient de variation

Limites de la trousse :

- La trousse a été mise au point pour une utilisation sur des échantillons de sérum ou de plasma avec EDTA ou citrate. D'autres anticoagulants n'ont pas été testés.
- Les complexes solubles sC5b-9 capturés par des protéines modulatrices du complément comme la clusterine sont également potentiellement détectés par l'ELISA.
- Les indications de la trousse suggèrent que les échantillons sont sujets à une activation du complément s'ils sont exposés pour de longues périodes à des températures ambiantes, de 4°C ou de 37°C. Cependant, certains auteurs affirment que le sC5b-9 est un analyte très stable capable de supporter jusqu'à trois cycles de gel et dégel et des périodes de deux heures à température ambiante et une nuit à 4°C [Cataland *et al.*, 2014; Thurman *et al.*, 2009]. De plus, cet analyte demeure stable lors de longues périodes d'entreposage à -70°C.

Autre laboratoire ayant eu recours à la trousse MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de Quidel

L'équipe de Réti [2012], a eu recours à la trousse commerciale de Quidel pour une étude portant sur l'activation du complément dans une cohorte de PTT. Les CV intra-essai et inter-essai obtenus étaient inférieurs à 5,5 % et 13,5 % respectivement.

Données fournies par le demandeur

Aucunes nouvelles données n'ont été fournies par le demandeur pour cette réévaluation.

Données de validation de la méthode au moyen d'échantillons connus ou d'échantillons prélevés chez le patient.

Tableau 9 Données de validation fournies par le laboratoire demandeur

VALIDATION	CONTRÔLE À BASSE CONCENTRATION (28 ng/ml)	CONTRÔLE À CONCENTRATION ÉLEVÉE (148 ng/ml)
CV intra-essai (n = 8)	4 %	s.o.
CV inter-essai (n = 15)	6 %	3 %
Limite acceptée	18 à 38 ng/ml	119 à 175 ng/ml

Abréviations : CV : coefficient de variation; s.o. : sans objet

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA. Cette analyse cible les patients avec des manifestations cliniques de microangiopathie thrombotique (MAT) et présentant une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 %. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts. L'évaluation des coûts est présentée au tableau 10. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon des informations reçues de la part du demandeur, le dosage du complément sC5b-9 est récemment réalisé dans son laboratoire et 146 analyses ont été effectuées en 2015 pour le Québec.
- En 2015-2016, 13 analyses ont fait l'objet d'envois hors Québec pour un coût moyen de 169 \$. Le rapatriement de ces analyses est prévu dès la première année.
- Ainsi, il est estimé que 159 analyses seraient effectuées pour chacune des trois prochaines années.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 111.

Tableau 10 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Scénario de base : sans l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au <i>Répertoire</i>				
Analyses hors Québec	13	13	13	39
Coûts	2 199 \$	2 199 \$	2 199 \$	6 597 \$
Nouveau scénario : avec l'ajout de l'analyse du dosage du complément sC5b-9 au <i>Répertoire</i>				
Rapatriement analyses hors Québec	13	13	13	39
Analyses par CHUSJ	146	146	146	438
Coûts	17 649 \$	17 649 \$	17 649 \$	52 947 \$
Impact net	15 450 \$	15 450 \$	15 450 \$	46 350 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			33 300 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			48 015 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage du complément sC5b-9 par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 46 350 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, bien que cette analyse soit davantage prévue à des fins de précisions diagnostiques, son utilisation future, conjointement à celle d'autres analyses ciblant la voie du complément, pourrait permettre d'orienter et de consolider la pratique clinique.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

La disponibilité de l'analyse du dosage du sC5b-9 à l'échelle provinciale devrait permettre d'en démontrer l'utilité à coût tout de même modeste puisque tous les examens seront faits au même endroit et permettrait d'en augmenter l'échantillonnage. L'observation d'un niveau très élevé de sC5b-9 pourrait avoir un impact sur la conduite, notamment sur l'agressivité du traitement³³.

L'investigation d'une anomalie d'activation de la voie alterne du complément, à l'exception de la mesure de la concentration en C3 et C4, nécessite un processus en plusieurs étapes réalisé dans un laboratoire spécialisé [Prohaszka *et al.*, 2016; Grumach et Kirschfink, 2014; Alba-Dominguez *et al.*, 2012; Loirat et Frémeaux-Bacchi, 2011]. Un tel processus devrait inclure des essais fonctionnels, la quantification des protéines et l'analyse des autoanticorps [Alba-Dominguez *et al.*, 2012].

8 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Aucune nouvelle position ou orientation d'organisations d'intérêt concernant l'analyse du dosage du complément sC5b-9 n'a été repérée depuis la première évaluation.

Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)

Un groupe d'experts sur le SHUa et la GC3 a été formé afin d'émettre des recommandations sur le traitement de ces pathologies [Goodship *et al.*, 2017].

Cette organisation recommande un dosage des protéines du complément chez les patients soupçonnés d'un SHUa ou d'une GC3. Des essais fonctionnels du complément et des marqueurs d'activité peuvent également être mesurés. Toutefois, le dosage du sC5b-9 est effectué à titre de recherche selon ce groupe et n'est pas validé en clinique. De plus, il n'existe pas suffisamment de données permettant d'appuyer la fiabilité du dosage du sC5b-9 comme marqueur des pathologies du SHUa et de la GC3. Puisque le sC5b-9 demeure détectable chez les patients en rémission d'un SHUa, les experts ne recommandent pas son dosage comme outil pour le suivi des patients traités à l'écuzumab.

³³ Information transmise par D^r Paul Isenring, spécialiste en médecine interne et néphrologie, CHU de Québec - Université Laval (13 mars 2018).

Lignes directrices de la Clinique Mayo sur les MAT médiées par le complément

Un groupe multidisciplinaire de médecins spécialisés dans le traitement de MAT a été formé afin d'émettre des recommandations sur le suivi de ces patients [Go *et al.*, 2016].

Selon les experts, bien que l'analyse sérologique soit disponible pour le sC5b-9, elle n'est pas assez sensible et spécifique. Le groupe recommande de l'appuyer par une analyse génétique.

SHU International

Le groupe SHU International [Loirat *et al.*, 2016] a formulé des recommandations concernant les analyses liées au diagnostic du SHU et sur l'approche thérapeutique favorisée dans différentes circonstances.

En raison de la disparité rapportée dans la littérature concernant les données du sC5b-9 en relation avec l'activité du SHUa, ce groupe affirme que des données supplémentaires sont requises avant d'intégrer l'analyse de ce biomarqueur en clinique. De plus, puisque le sC5b-9 demeure détectable ou augmente chez les patients traités à l'éculizumab, son dosage n'est pas recommandé pour suivre l'efficacité du traitement d'éculizumab en clinique.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage du complément sC5b-9

La recommandation de l'INESSS

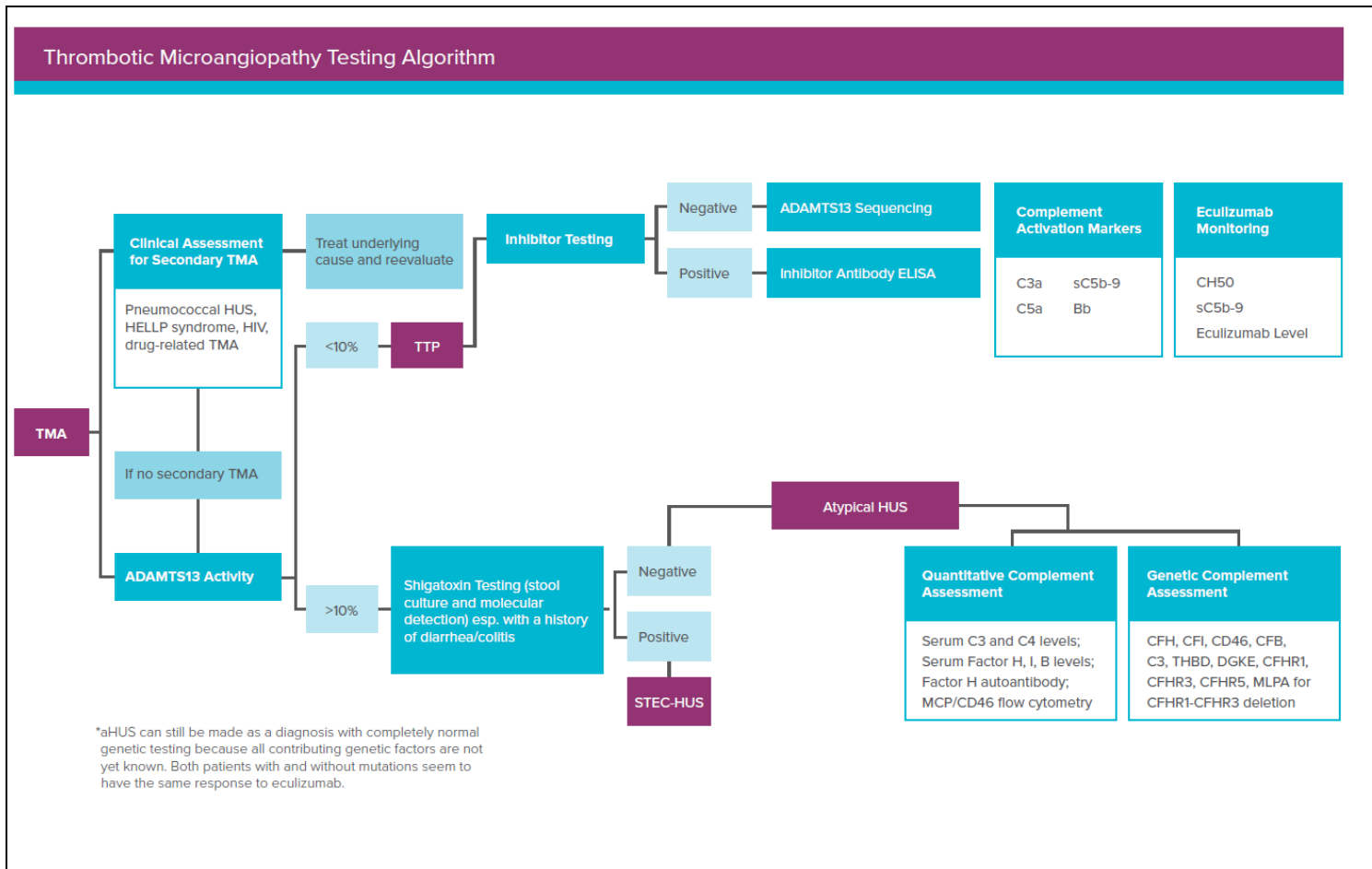
- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Les membres du comité sont préoccupés par la qualité des données de validité clinique publiées. Parmi les éléments soulevés, on note l'absence d'une concentration plasmatique seuil claire, le manque de sensibilité/spécificité diagnostique et le doute concernant l'impact du résultat du test sur la décision thérapeutique. De plus, les organisations d'intérêt ne recommandent toujours pas son utilisation.
- ✓ Toutefois, le test peut être utilisé lors du diagnostic différentiel de certains cas complexes (application très restreinte de l'analyse pour le diagnostic initial). Ainsi, pour ne pas pénaliser les patients qui auraient besoin de ce test, le comité recommande au MSSS d'en maintenir l'accès via les analyses hors Québec.

ANNEXE A

Algorithme de diagnostic pour les microangiopathies thrombotiques du Cincinnati children's hospital



Source : Service de diagnostic des microangiopathies thrombotiques de l'Hôpital Cincinnati children's.

ANNEXE B

Critères d'inclusions des études présentées

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
Volokhina <i>et al.</i> , 2015	17	Anémie hémolytique, thrombopénie et insuffisance rénale aiguë Ces auteurs n'utilisaient pas la trousse commerciale MicroVue ^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel.
Song <i>et al.</i> , 2017	156	Anémie hémolytique aiguë, schizocytes sur frottis, thrombopénie (numération plaquettaire < 150 x 10 ⁹ /l), niveau élevé de lactate déshydrogénase, test de Coombs négatif et/ou insuffisance rénale Les sujets sains avaient une concentration en sC5b-9 de 139,5 ng/ml à 448 ng/ml.
Cataland <i>et al.</i> , 2014	19	Numération plaquettaire inférieure à 100 x 10 ⁹ /l, taux de créatinine supérieur à 2,25 mg/dl et activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 33,9 ng/ml à 238,2 ng/ml
Noris <i>et al.</i> , 2014	149	Niveau d'hématocrite inférieur à 30 %, taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl, niveau de lactate déshydrogénase supérieur à 500 UI/l, haptoglobine indétectable, schizocytes sur frottis sanguin, numération plaquettaire inférieure à 150 000/μl et insuffisance rénale. Les critères d'exclusion étaient un STEC-HUS et activité d'ADAMTS-13 de 50 % à 150 %. Valeurs normales en sC5b-9 : 127 ng/ml à 400 ng/ml
Bu <i>et al.</i> , 2015	84	Anémie hémolytique, numération plaquettaire inférieure à 150 000/μl et une activité ADAMTS-13 supérieure à 10 % Valeurs normales en sC5b-9 : 50 ng/ml à 300 ng/ml

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
Jodele <i>et al.</i> , 2014	39	Le diagnostic de la MAT répondait aux critères suivants : 1) un niveau de lactate déshydrogénase au-dessus de la limite supérieure normale pour l'âge, 2) nouvelle thrombopénie avec une numération plaquettaire inférieure à $50 \times 10^9/l$ ou une diminution de plus de 50 % du compte, 3) une nouvelle anémie avec un taux d'hémoglobine sous la limite inférieure de la normale ou un besoin de transfusion, 4) la présence de schizocytes dans la circulation périphérique ou une évidence de microangiopathie en histologie et 5) une absence de coagulopathie et un test de Coombs négatif. Tous les critères devaient être présents et les critères 1 à 4 devaient être documentés sur au moins deux tests consécutifs pour être considérés positifs. Valeurs normales en sC5b-9 : 72 ng/ml à 244 ng/ml
Farkas <i>et al.</i> , 2017	53	Le diagnostic de la MAT secondaire répondait aux critères suivants : 1) thrombopénie (inférieur à 150 g/l), 2) anémie avec un test de Coombs négatif et schizocytes sur frottis sanguin, 3) présence d'une autre condition médicale (cancer, maladie auto-immune, sepsie, greffe d'organe solide ou opération à cœur ouvert). Les patients répondant à un seul critère (critère 1 ou critère 2) avec une condition coexistante (critère 3) étaient inclus dans le groupe témoin. Un titre supérieur ou égal à 421 ng/ml est considéré élevé.
NOUVELLE ÉVALUATION		
Qi <i>et al.</i> , 2017	94	Critères d'inclusion pour les patients avec une MAT-GCSH : présence de schizocytes dans le sang périphérique (≥ 2 par champ), niveau de lactate déshydrogénase élevé, thrombocytopenie ($< 50 \times 10^9$ cellules/l) ou une diminution de 50 % de la numération plaquettaire, niveau réduit d'hémoglobine, test de Coomb's négatif, niveau réduit d'haptoglobine et aucune coagulopathie. Critères d'inclusion pour la maladie veino-occlusive : patients diagnostiqués selon les critères de Baltimore. Critères d'inclusions pour les patients avec une réaction du greffon contre l'hôte : réaction du greffon contre l'hôte de grade 3 ou 4 (confirmée en pathologie et évaluées selon les critères du <i>International Bone Marrow Transplant Research</i>).

ÉTUDE	PATIENTS (n)	CRITÈRES D'INCLUSION
		Groupe avec une infection : complications infectieuses définies par des paramètres cliniques et de laboratoire.
Timmermans <i>et al.</i> , 2016	9	Population : Les patients consécutifs présentant une MAT attribuée à l'hypertension, confirmée par une biopsie rénale. Critères d'inclusion : pression systolique : ≥ 180 mm Hg, diastolique ≥ 120 mm Hg, et signes d'une dysfonction imminente ou progressive d'un organe cible secondaire à l'hypertension. Exclusions : Les patients avec un purpura thrombotique thrombocytopénique (déterminé par l'activité ADAMTS-13) ont été exclus de même que les patients avec une MAT secondaire d'une autre étiologie (telles que les maladies auto-immunes, l'utilisation de drogues, une infection, les causes iatrogéniques et la grossesse). Les patients sans diagnostic clinique définitif ont reçu un diagnostic de MAT associée à l'hypertension. Les patients avec une glomérulonéphrite à complexes immuns et les patients avec des signes hématologiques importants de MAT (qui pourraient plutôt être atteints d'un SHUa) ont aussi été exclus. La valeur seuil pour une concentration normale en sC5b-9 a été établie à 337 ng/ml (valeur moyenne pour 20 sujets contrôles ± 2 écarts-types). La période du suivi des patients allait de 0,2 an à 9,3 ans.
Zhang <i>et al.</i> , 2014	34	Population : Patients avec une glomérulopathie à C3 (17 avec une glomérulonéphrite à C3 et 17 avec une glomérulopathie à dépôts denses, confirmées par biopsie). Exclusion : Les échantillons suivant un traitement à l'éculizumab ont été exclus. Trousse utilisée : MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA de la compagnie Quidel.
Puissant-Lubrano <i>et al.</i> , 2017	16	Population : Patients (n = 16) atteints de SHUa (n = 9), de SHU liée à la Shigatoxine (n = 2), de glomérulonéphrite à C3 (n = 1), patients avec un rejet de greffe rénale (n = 3) et un patient avec une hémoglobinurie paroxysmal nocturne traités à l'éculizumab. - La trousse MicroVue^{MC} Complement sC5b-9 Plus EIA de Quidel a été utilisée pour le dosage du sC5b-9.

ANNEXE C

Données démographiques et caractéristiques cliniques des patients avec une MAT associée à l'hypertension sévère

PATIENT	ÂGE	GENRE	PRESSIION ARTÉRIELLE (mm Hg)	CRÉATININE (μmol/l)	PROTÉINURIE (g/d)	HÉMATURIE	IRT	HÉMOGLOBINE (mmol/l)	LDH (U/l)	AHMA*	NUMÉRATION PLAQUETTAIRE (x 10 ⁹ /l) [†]
1	38,4	F	184/140	1 730	n.d.	n.d.	oui	5,1	1 800	oui	224
2	40,3	H	205/114	1 195	2,3	oui	oui	5,7	1 104	oui	158
3	37,7	H	200/120	586	3,9	oui	oui	5,3	2 125	oui	100
4	32,0	F	180/120	1 138	n.d.	n.d.	oui	5,9	1 486	oui	142
5	65,0	H	195/105	162	1,5	oui	non	7,9	271	non	98
6	41,1	F	180/120	334	0,7	oui	oui	7,5	291	non	285
7	28,5	F	224/122	1 065	1,6	oui	oui	5,1	298	non	228
8	27,9	H	240/150	673	1,6	oui	oui	7,9	165	non	133
9	44,0	F	220/120	649	0,4	oui	oui	8,2	339	non	340

Source : adapté de Timmermans et ses collaborateurs [2016].

Abréviations : F : femme; H : homme; IRT : insuffisance rénale terminale; LDH : lactate déshydrogénase; AHMA : anémie hémolytique microangiopathique; n.d. : non défini; U : unité.

*Les cas avec une anémie hémolytique et la présence de schizocytes sur frottis ont été définis d'AHMA.

†La limite normale inférieure est de 130 x 10⁹/l

RÉFÉRENCES

- Alba-Dominguez M, Lopez-Lera A, Garrido S, Nozal P, Gonzalez-Granado I, Melero J, et al. Complement factor I deficiency: A not so rare immune defect. Characterization of new mutations and the first large gene deletion. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7:42.
- Bu F, Meyer NC, Zhang Y, Borsa NG, Thomas C, Nester C, Smith RJ. Soluble c5b-9 as a biomarker for complement activation in atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Kidney Dis* 2015;65(6):968-9.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- Cataland SR, Holers VM, Geyer S, Yang S, Wu HM. Biomarkers of terminal complement activation confirm the diagnosis of aHUS and differentiate aHUS from TTP. *Blood* 2014;123(24):3733-8.
- Constantinescu AR, Bitzan M, Weiss LS, Christen E, Kaplan BS, Cnaan A, Trachtman H. Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome: Causes and short-term course. *Am J Kidney Dis* 2004;43(6):976-82.
- De Lorenzo A, Tallon S, Hernandez-Sevillano B, de Arriba G. C3 glomerulopathy: A new complement-based entity. *Rev Clin Esp (Barc)* 2014;214(5):266-74.
- Farkas P, Csuka D, Mikes B, Sinkovits G, Réti M, Nemeth E, et al. Complement activation, inflammation and relative ADAMTS13 deficiency in secondary thrombotic microangiopathies. *Immunobiology* 2017;222(2):119-27.
- Ferraris JR, Ferraris V, Acquier AB, Sorroche PB, Saez MS, Ginaca A, Mendez CF. Activation of the alternative pathway of complement during the acute phase of typical haemolytic uraemic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2015;181(1):118-25.
- Go RS, Winters JL, Leung N, Murray DL, Willrich MA, Abraham RS, et al. Thrombotic microangiopathy care pathway: A consensus statement for the Mayo Clinic Complement Alternative Pathway-Thrombotic Microangiopathy (CAP-TMA) Disease-Oriented Group. *Mayo Clin Proc* 2016;91(9):1189-211.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Grumach AS et Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach. *Mol Immunol* 2014;61(2):110-7.

- Jodele S, Fukuda T, Mizuno K, Vinks AA, Laskin BL, Goebel J, et al. Variable eculizumab clearance requires pharmacodynamic monitoring to optimize therapy for thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22(2):307-15.
- Jodele S, Davies SM, Lane A, Khoury J, Dandoy C, Goebel J, et al. Diagnostic and risk criteria for HSCT-associated thrombotic microangiopathy: A study in children and young adults. *Blood* 2014;124(4):645-53.
- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Loirat C et Frémeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:60.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- Noris M, Galbusera M, Gastoldi S, Macor P, Banterla F, Bresin E, et al. Dynamics of complement activation in aHUS and how to monitor eculizumab therapy. *Blood* 2014;124(11):1715-26.
- Prohaszka Z, Nilsson B, Frazer-Abel A, Kirschfink M. Complement analysis 2016: Clinical indications, laboratory diagnostics and quality control. *Immunobiology* 2016;221(11):1247-58.
- Puissant-Lubrano B, Puissochet S, Congy-Jolivet N, Chauveau D, Decramer S, Garnier A, et al. Alternative complement pathway hemolytic assays reveal incomplete complement blockade in patients treated with eculizumab. *Clin Immunol* 2017;183:1-7.
- Qi J, Wang J, Chen J, Su J, Tang Y, Wu X, et al. Plasma levels of complement activation fragments C3b and sC5b-9 significantly increased in patients with thrombotic microangiopathy after allogeneic stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2017;96(11):1849-55.
- Quidel. MicroVue^{MC} Complement SC5b-9 Plus EIA Athens, OH : Quidel Corporation; 2017. Disponible à : <https://www.quidel.com/sites/default/files/product/documents/PIA029001FR00.pdf>.
- Réti M, Farkas P, Csuka D, Razso K, Schlamadinger A, Udvardy ML, et al. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2012;10(5):791-8.
- Sellier-Leclerc AL, Frémeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Servais A, Noël LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int* 2012;82(4):454-64.

- Song D, Liu XR, Chen Z, Xiao HJ, Ding J, Sun SZ, et al. The clinical and laboratory features of Chinese Han anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2017;32(5):811-22.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Thurman JM, Marians R, Emlen W, Wood S, Smith C, Akana H, et al. Alternative pathway of complement in children with diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(12):1920-4.
- Timmermans SA, Abdul-Hamid MA, Vanderlocht J, Damoiseaux JG, Reutelingsperger CP, van Paassen P. Patients with hypertension-associated thrombotic microangiopathy may present with complement abnormalities. *Kidney Int* 2016;91(6):1420-5.
- Volokhina EB, Westra D, van der Velden TJ, van de Kar NC, Mollnes TE, van den Heuvel LP. Complement activation patterns in atypical haemolytic uraemic syndrome during acute phase and in remission. *Clin Exp Immunol* 2015;181(2):306-13.
- Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol* 2017;187(2):304-15.
- Wu TC, Yang S, Haven S, Holers VM, Lundberg AS, Wu H, Cataland SR. Complement activation and mortality during an acute episode of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2013;11(10):1925-7.
- Zhang Y, Nester CM, Martin B, Skjoedt MO, Meyer NC, Shao D, et al. Defining the complement biomarker profile of C3 glomerulopathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(11):1876-82.

TEMPS DE COAGULATION PAR L'ÉCARINE (2017.03.001)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, IUCPQ.

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 avril 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 19 juin 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r François Rousseau n'a pas participé aux délibérations et s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Louis P. Perrault, chirurgien cardiovasculaire et thoracique, Institut de Cardiologie de Montréal
- D^r Sylvain Bélisle, anesthésiologiste, Centre hospitalier de l'Université de Montréal

2 RÉSUMÉ

Contexte et justification de l'évaluation

Le temps de coagulation par l'écarine (TCE) évalue l'effet anticoagulant de la bivalirudine. La bivalirudine est notamment utilisée comme anticoagulant alternatif à l'héparine pour les patients atteints de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) et qui doivent subir une chirurgie cardiaque d'urgence avec une circulation extracorporelle (CEC). Actuellement, le temps de coagulation activé (TCA) est utilisé pour évaluer la réponse à la bivalirudine, mais il est moins précis que le TCE à des concentrations de bivalirudine élevées, comme celles qui sont utilisées pour l'anticoagulation pendant la période de CEC.

Pertinence clinique

Le TCE a démontré une meilleure corrélation avec la concentration plasmatique de bivalirudine comparativement au TCA pendant le pontage aorto-coronaire avec CEC [Zucker *et al.*, 2005; Koster *et al.*, 2004] ou pendant l'intervention coronarienne percutanée [Carroll *et al.*, 2006; Casserly *et al.*, 2004]. Le TCE-PD (utilisant le sang avec citrate dilué avec du plasma) était mieux corrélé avec les concentrations plasmatiques de bivalirudine que le TCE-PN (non dilué avec du plasma); par contre les deux tests ont eu une excellente reproductibilité [Koster *et al.*, 2008]. Le TCE maintenu à plus de 400 secondes [Koster *et al.*, 2008] ou entre 400 et 500 secondes a permis d'atteindre une concentration cible de bivalirudine entre 10 à 15 µg/ml pendant la CEC [Koster *et al.*, 2004].

Impacts budgétaires et autres enjeux

L'ajout de l'analyse permettant d'évaluer le TCE pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 29 000 \$ pour le total des trois premières années, et ce, selon la perspective de l'Institut universitaire de cardiologie et pneumologie de Québec.

Positions ou orientations d'organisations d'intérêt

Plusieurs organisations d'intérêt concernant le TCE soulignent que cette analyse présente une corrélation plus forte que le TCA avec les concentrations thérapeutiques de bivalirudine chez les patients avec TIH qui subissent une chirurgie cardiaque d'urgence avec CEC. Cependant, le TCE n'est pas disponible habituellement dans les points de services, comme c'est le cas du TCA, avec qui il présente une corrélation acceptable. Ces organisations sont : la Société des chirurgiens thoraciques, la Société des anesthésistes cardiovasculaires et la Société américaine de technologie extracorporelle [Shore-Lesserson *et al.*, 2018], le Collège américain des chirurgiens thoraciques [Linkins *et al.*, 2012] et l'Agence européenne de médicaments [Pagano *et al.*, 2018].

Selon un de nos experts consultés, une corrélation acceptable n'est pas la démonstration de l'interchangeabilité de 2 tests selon la mesure du biais. Le TCA et

le TCE mesurent des facettes différentes de l'hémostase et il reste à démontrer pour chacun de ces tests quelles sont les valeurs des seuils minimal et optimal.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Le temps de coagulation par l'écarine (TCE) évalue l'effet anticoagulant de la bivalirudine. La bivalirudine représente une anticoagulation alternative à l'héparine pour les patients atteints de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) et qui doivent avoir une chirurgie cardiaque d'urgence avec une circulation extracorporelle (CEC).

3.2 Description de la méthode

Principe de la méthode :

L'écarine est une enzyme extraite du venin de serpent (*Echis carinatus*), qui transforme la prothrombine en meizothrombine, qui peut ensuite agir sur le fibrinogène pour se transformer en fibrine. La bivalirudine se lie à la meizothrombine et inhibe la cascade de la coagulation déclenchée par l'écarine. La réponse à la bivalirudine est reflétée par des augmentations linéaires du temps de coagulation activé (TCA) qui a tendance à être moins précis que le TCE à des concentrations élevées de bivalirudine, comme celles qui sont utilisées pour l'anticoagulation pendant la CEC [Zucker *et al.*, 2005; Cho *et al.*, 2003; Nowak, 2003]. Le temps de coagulation obtenu est en fonction de la concentration de bivalirudine dans le plasma à tester.

Modalité d'administration du test selon le demandeur

Une courbe de calibration doit être générée afin d'établir la corrélation entre la concentration plasmatique de bivalirudine et le TCE. À ce titre, un premier prélèvement effectué par ponction veineuse, est acheminé au laboratoire d'hématologie pour effectuer la courbe de calibration en préopératoire. Lors de la chirurgie, la mesure du TCE est faite 5 minutes après le bolus initial, 5 minutes après tout changement de débit de perfusion de la bivalirudine et aux 30 minutes pendant toute la période de circulation extracorporelle. Le débit de la perfusion de la bivalirudine est ajusté selon les valeurs du TCE pour obtenir un taux sérique entre 10 et 15 µg/ml pendant la CEC. Selon le protocole opératoire normalisé suivi par le demandeur, si la concentration sérique de la bivalirudine est supérieure à 15 µg/ml, le débit de perfusion de bivalirudine est diminué de 0,25 mg/kg/h. Tandis que, si la concentration sérique de la bivalirudine est inférieure à 10 µg/ml, un bolus de 0,25 mg/kg/h est administré, suivi d'une augmentation de la perfusion de bivalirudine de 0,25 mg/kg/h.

3.3 Société ou concepteur

Il s'agit d'une analyse « maison » développée par le demandeur. Le test est fait en salle d'opération sur un appareil portatif BCS XP (Siemens).

3.4 Homologation

Cette analyse n'est pas homologuée par Santé Canada ni par la Food and Drug Administration (FDA).

3.5 Valeur pondérée : 212,59.

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Les patients en phase aiguë de thrombopénie induite par l'héparine et qui doivent subir une chirurgie cardiaque en urgence avec une circulation extracorporelle (CEC).

4.2 Description de la maladie visée : thrombopénie induite par l'héparine (TIH)

La TIH est une réaction indésirable post-héparinothérapie caractérisée par une thrombopénie et un risque élevé de thrombose veineuse ou artérielle. Ce trouble prothrombotique est induit par l'héparine qui provoque la formation d'anticorps IgG dirigés contre des complexes formés par l'héparine et le facteur plaquettaire 4 (FP-4) présents à la surface des plaquettes. Le complexe IgG-FP-4-héparine active les plaquettes, ce qui entraîne la production de grandes quantités de thrombine et peut provoquer une thrombopénie ou un syndrome de thrombose veineuse ou artérielle. La TIH complique la prise en charge des patients qui doivent subir une chirurgie cardiaque d'urgence, particulièrement ceux qui ont besoin d'une circulation extracorporelle. Parmi les 25–50 % patients qui ont développé des anticorps après l'héparinothérapie pour une chirurgie cardiaque, 1–3 % développent une TIH. Chez ces patients, le risque de thrombose artérielle et veineuse observé est de 81 %, avec un risque de mortalité associé de 38–43 % en absence d'un arrêt immédiat de l'héparine et d'une thérapie anticoagulante non héparinique [Kamata *et al.*, 2017; Grubb *et al.*, 2010; Dyke *et al.*, 2007; Murphy et Marymont, 2007; Warkentin, 2004; Warkentin et Greinacher, 2003].

La bivalirudine, un inhibiteur direct de la thrombine, présente une demi-vie biologique³⁴ courte d'environ 25 minutes. L'élimination est principalement extrarénale (80 %) par des enzymes protéolytiques. Elle est entre autres utilisée comme anticoagulant alternatif pour une chirurgie cardiaque d'urgence avec une CEC chez les patients avec TIH [Gatt *et al.*, 2017; McNair *et al.*, 2016; Warkentin *et al.*, 2008].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Selon le demandeur, le nombre de patients visés serait de 2 à 3 par année, pour lesquels entre 13 et 17 analyses du TCE seraient effectuées par patient.

³⁴ Demi-vie biologique : le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique ou la quantité du médicament dans l'organisme diminue de 50 %.

4.4 Situation actuelle

Selon le protocole opératoire normalisé transmis dans la demande, pour les patients avec une thrombopénie induite par l'héparine qui ont besoin d'une chirurgie cardiaque d'urgence avec une circulation extracorporelle (CEC), le TCE serait effectué simultanément avec le TCA dans la salle d'opération. Cependant, selon une correspondance récente avec le demandeur³⁵, ils ne peuvent pas utiliser le TCA, car les niveaux plasmatiques de bivalirudine sont trop élevés et le TCA plafonne, il n'est donc pas indicatif.

4.5 Données médico-administratives

Aucune procédure du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*), ne permet présentement l'évaluation du TCE.

Selon les bases de données du MSSS, l'analyse proposée n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec entre 2014 et 2016.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Le TCE permet d'évaluer avec une meilleure précision la concentration plasmatique de la bivalirudine, donc le degré d'anticoagulation pendant la circulation extracorporelle. Cette précision est essentielle, car si l'anticoagulation est excessive (à plus 15 µg/ml), ceci peut causer un saignement grave compliquant la chirurgie cardiaque. Inversement, si l'anticoagulation est insuffisante (à moins de 10 µg/ml), il y a un risque de formation de caillots dans le circuit extracorporel et d'embolisation systémique chez le patient.

4.7 Assurance qualité

Deux contrôles de concentration connue en bivalirudine (10 µg/ml et 20 µg/ml) sont constitués à partir d'un pool de plasma normal. Ces contrôles sont exécutés une fois que la courbe est effectuée pour vérifier celle-ci la veille de la chirurgie. Le matin de la chirurgie, les contrôles sont effectués une fois en pré-op et 3 à 4 fois au cours de la journée de 24 heures selon les besoins. Comme la stabilité de ceux-ci est d'environ 2 heures, de nouvelles dilutions doivent être faites à chaque fois que les contrôles sont requis³⁶.

Actuellement, il n'y a pas de processus d'assurance qualité externe mis en place, parce qu'il n'en existe pas pour cette analyse.

³⁵ Communication électronique personnelle avec Dre Stéphanie Cloutier, hématologue, IUCPQ (23 février 2018).

³⁶ Communication électronique personnelle avec Mme Kathleen Deschênes T.M. RT, assistante chef du laboratoire d'hématologie, IUCPQ (7 février 2018).

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

5.3 Valeur thérapeutique

5.3.1 Corrélation du TCE avec la concentration de bivalirudine pendant un pontage aorto-coronaire avec CEC

Étude de Koster et ses collaborateurs [2008]

Pour surveiller la concentration plasmatique de la bivalirudine pendant et après la circulation extracorporelle (CEC)³⁷, les auteurs ont conçu et évalué un nouveau test du temps de coagulation par l'écarine (TCE) effectué avec thromboélastographie, sur le système Haemoscope TEG^{MC} 5000³⁸.

Pour réaliser l'objectif de cette étude, 15 patients qui ne présentaient pas le diagnostic de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) ont été recrutés à partir d'une plus grande étude conçue pour évaluer l'élimination de la bivalirudine après un pontage aorto-coronarien avec une CEC.

Dans des études préliminaires *in vitro* [Koster *et al.*, 2000], deux types de tests du TCE avaient été évalués : un test utilisant le sang avec citrate et non dilué par le plasma humain (TCE–ND) et un test utilisant le sang avec citrate dilué par le plasma humain (TCE–PD) à 1 : 1, pour avoir une concentration élevée de prothrombine. Différentes concentrations d'écarine ont été utilisées pour avoir des concentrations de bivalirudine de 5, 10, 15 et 20 µg/ml. Un nombre total de 142 échantillons ont été prélevés de 15 patients à l'étude après le bolus initial de bivalirudine, à des intervalles de 30 minutes pendant la CEC (n = 37 échantillons) et de 15 à 120 minutes après la CEC (n = 105 échantillons).

³⁷ La détermination de la concentration de la bivalirudine a été réalisée sur des échantillons de plasma des patients, par la chromatographie liquide à grande performance.

³⁸ Haemoscope Corp., Niles, IL, USA, tandis que le demandeur utilise un appareil portatif BCS XP (Siemens).

Dans cette étude, la cible du TCE était une prolongation du temps-R³⁹ de coagulation à plus de 400 secondes corrélée à une concentration de bivalirudine de 15 µg/ml, reflétant la concentration cible durant la CEC (tableau 1). Ceci a été réalisé avec une concentration finale d'écarine de 1,4 U/ml pour le TCE-ND et de 0,47 U/ml pour le TCE-PD.

Tableau 1 Corrélation du temps de coagulation par l'écarine avec les concentrations plasmatiques de bivalirudine durant la CEC

	CEC	R ² -CEC
TCE-ND (s)	380-600	0,920
TCE-PD (s)	380-500	0,961
Bivalirudine (µg/ml)	12-18	-

Source : Koster *et al.*, 2008. Abréviations : CEC : circulation extracorporelle; R²-CEC : corrélation entre les temps des tests de coagulation et les concentrations plasmatiques de bivalirudine; (s) : secondes.

En résumé, les deux essais ont révélé une bonne corrélation entre le temps de coagulation et les concentrations plasmatiques de la bivalirudine. Cependant, le test TCE-PD, a montré une meilleure corrélation surtout dans l'intervalle cible de bivalirudine de 12 à 15 µg/ml.

Selon les auteurs, l'utilisation du TCE-PD à un temps-R de coagulation de 400 secondes, qui correspond à une concentration sérique de bivalirudine de 15 µg/ml, apparaît comme un effet d'anticoagulant adéquat pendant la période de CEC. Toutefois, les résultats cliniques ne sont pas mentionnés dans cette étude. Les auteurs ajoutent que d'autres études sont nécessaires, notamment afin de démontrer comment le suivi de la concentration de bivalirudine et l'ajustement de la dose influencent les résultats cliniques des chirurgies cardiaques avec CEC [Koster *et al.*, 2008].

Étude de Koster et ses collaborateurs [2004]

Cette étude prospective avait comme objectif d'évaluer l'innocuité, le schéma posologique, la pharmacocinétique, la pharmacodynamie et les dosages de surveillance de l'utilisation de la bivalirudine pendant la circulation extracorporelle (CEC) chez 20 patients subissant un pontage aorto-coronarien.

Les paramètres d'évaluation primaires de l'étude visaient à mesurer : l'incidence de décès, d'une revascularisation coronarienne d'urgence, d'un infarctus du myocarde à onde Q ou d'un accident vasculaire cérébral au cours de l'hospitalisation. Les paramètres d'évaluation secondaires visaient à déterminer : la perte de sang peropératoire et totale (jusqu'à 12 heures postopératoires), l'incidence et le nombre de transfusions sanguines, l'hémorragie persistante nécessitant une opération exploratoire subséquente, l'anticoagulation adéquate à un TCE cible supérieure à

³⁹ Temps-R : le temps-R du TEG-indique le début de la formation d'un thrombus détectable.

400 secondes avant la CEC et les profils du temps de coagulation par l'écarine (TCE) et du temps de coagulation activé (TCA).

Le TCE a été utilisé pour guider le dosage de la bivalirudine à une concentration cible de 10 à 15 µg/ml pendant la CEC. Ainsi, la bivalirudine a été administrée au patient selon une dose bolus de 1,5 mg/kg et en perfusion continue de 2,5 mg/kg/heure, ajustée pour maintenir le TCE dans l'intervalle cible de 400 à 500 secondes. La mesure du TCE a été réalisée sur du sang total avec citrate dilué 1:1 avec du plasma humain standard. Des échantillons de sang pour mesurer le TCE, le TCA⁴⁰ et la bivalirudine ont été prélevés 5 minutes après le bolus, toutes les 15 minutes pendant la perfusion et toutes les 30 minutes, pendant 2 heures suivant l'arrêt de la bivalirudine.

Le bolus de bivalirudine a permis d'obtenir une prolongation du TCE jusqu'à une médiane de 540 secondes (de 447 à 700). Pendant la procédure, le TCE cible de plus de 400 secondes a été maintenu par l'ajustement de la vitesse de perfusion de la bivalirudine. La formation de thrombus n'a été observée dans aucune des CEC effectuées.

Bien que l'étude ait inclus 7 patients ayant une insuffisance rénale modérée, la demi-vie d'élimination de la bivalirudine n'était pas significativement prolongée chez ceux-ci ($p = 0,26$).

Les concentrations de bivalirudine ont été significativement corrélées ($p < 0,001$) avec les deux tests, TCE ($R^2 : 0,91$) et TCA plus ($R^2 : 0,83$). Considérant les concentrations de bivalirudine utilisées durant la période de circulation extracorporelle (10,5 à 20,2 µg/ml), les auteurs ont déterminé que les valeurs du TCE corrôlaient mieux que celles obtenues par la mesure du TCA, soit de 410 à 750 secondes ($R^2 = 0,60$) et de 380 à 450 secondes ($R^2 = 0,36$), respectivement.

L'un des éléments d'évaluation primaire a été observé chez 2 des 20 patients (10 %) : un patient présentait un infarctus du myocarde (IDM) asymptomatique avec onde Q en périopératoire et l'autre avec des enzymes cardiaques positives pour un IDM précédant la chirurgie. Un seul patient a perdu un total de 1 850 ml de sang, résolu avec une transfusion de plasma frais congelé.

En résumé, pendant la période de CEC, les concentrations plasmatiques de bivalirudine ont été mieux corrélées avec le TCE comparativement au TCA. La pharmacocinétique d'élimination de la bivalirudine ne semblait pas être influencée par l'insuffisance rénale modérée [Koster *et al.*, 2004].

⁴⁰ TCA-plus : un test TCA qui a été modifié avec l'ajout des phospholipides à l'activateur de contact.

5.3.2 Corrélation du TCE avec la concentration de bivalirudine pendant une intervention coronarienne percutanée

- Étude de Casserly et ses collaborateurs [2004]

Le but de cette étude était d'examiner la corrélation du test TIM–ECT⁴¹ avec la concentration de bivalirudine chez des patients subissant une intervention coronarienne percutanée (ICP), et comparer la performance de ce test à celle du temps de coagulation activé (TCA) standard [Casserly *et al.*, 2004].

Cette étude, menée dans quatre centres médicaux, incluait 170 patients subissant une ICP non urgente et utilisait la bivalirudine comme anticoagulant. Les critères d'exclusion comprenaient l'utilisation d'inhibiteurs de la glycoprotéine (GP) IIb/IIIa⁴² ou des IDT (inhibiteurs directs de la thrombine) dans les 72 heures avant l'ICP, d'héparine fractionnée dans les 24 heures et d'héparine non fractionnée dans les 12 heures avant l'ICP. Tous les patients ont reçu de l'aspirine en préopératoire. La bivalirudine a été administrée sous la forme d'un bolus de 0,75 mg/kg, suivi d'une perfusion de 1,75 mg/kg/h, dans trois des quatre sites d'étude, et d'un bolus de 1 mg/kg suivi d'une perfusion de 2,5 mg/kg/h dans l'autre site. Les inhibiteurs de la GP IIb/IIIa ont été administrés à 80 patients à la discrétion de l'opérateur.

Des échantillons de sang ont été prélevés à six moments prédéfinis : (1) au début de l'étude, (2) après le bolus de bivalirudine, (3) suivant le bolus de la GP IIb/IIIa et le début de la perfusion, (4) pendant l'intervention, (5) après l'arrêt de l'administration de bivalirudine et (6) avant le retrait de la ligne artérielle. Pour chaque échantillon de sang, des aliquotes avec et sans citrate ont été préparées. Les tests du TCA et du TIM–ECT ont été effectués immédiatement sur les aliquotes sans citrate. Le test TIM – ECT a été effectué sur les aliquotes avec citrate et la portion résiduelle a été centrifugée et le plasma a été congelé pour la détermination de la concentration plasmatique de la bivalirudine par dosage chromogène⁴³. Les relations entre les variables d'étude ont été évaluées en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson.

Considérant tous les 784 échantillons, le coefficient de corrélation (r) avec la concentration de bivalirudine était plus élevé avec le TIM – ECT avec citrate (r = 0,96), comparativement au TIM – ECT sans citrate (r = 0,93) ou au TCA (r = 0,90).

Par contre, considérant seulement les échantillons prélevés pendant les périodes 2, 3 et 4 de l'ICP (n = 381), la corrélation (r) était plus faible, avec une plus grande disparité entre les tests et les concentrations plasmatiques de bivalirudine. Cependant, la corrélation du TIM–ECT avec citrate restait la plus élevée (r = 0,75)

⁴¹ TIM-ECT : un test au point de service sur le suivi de l'inhibiteur de la thrombine (TIM : Thrombin inhibitor management) basé sur le temps de coagulation par l'écarine.

⁴² GP IIb/IIIa : sont des agents thérapeutiques antiplaquettaires utilisés chez les patients avec un syndrome aigu coronarien [McFadyen *et al.*, 2018].

⁴³ La concentration de la bivalirudine a été déterminée indirectement par la mesure de l'activité du Facteur IIa, en utilisant la méthode chromogène.

avec les concentrations plasmatiques de bivalirudine, comparativement au TIM–ECT sans citrate ($r = 0,59$) et au TCA ($r = 0,37$).

Le tableau 2 présente les temps de coagulation moyens évalués par le TCA et le TIM–ECT des 165 échantillons prélevés pendant l'intervention chirurgicale (période 4) chez les patients recevant de la bivalirudine à dose faible ou élevée.

Tableau 2 Temps de coagulation mesurés par TIM – ECT ou TCA en fonction de la dose de bivalirudine

	BIVALIRUDINE-DOSE DE PERFUSION		VALEUR P
	DOSE FAIBLE* MOY ± ET (N)	DOSE ÉLEVÉE [§] MOY ± ET (N)	
Bivalirudine (µg/ml)	6,0 ± 1,8 (116)	7,9 ± 2,3 (40)	< 0,001
TIM-TCE avec citrate	227 ± 54 (121)	272 ± 56 (42)	< 0,0001
TIM-TCE sans citrate	230 ± 40 (122)	272 ± 44 (42)	< 0,0001
TCA	359 ± 69 (118)	359 ± 36 (42)	0,96

Source : Casserly *et al.*, 2004. Abréviations : MOY ± ET: moyenne et écart-type; N : nombre des échantillons. *Bivalirudine : bolus de 0,75 mg/kg, suivi d'une perfusion de 1,75 mg/kg/h

§Bivalirudine : bolus de 1 mg/kg suivi d'une perfusion de 2,5 mg/kg/h

Ces résultats ont démontré que le test TIM–ECT (avec ou sans citrate) peut faire la différence entre les schémas posologiques de bivalirudine à dose faible et élevée, alors que le test TCA ne le permettait pas. Au-delà de 300 – 350 secondes, le test du TCA ne semble pas répondre de manière cohérente à l'augmentation des doses de bivalirudine, ce qui pourra augmenter le degré d'anticoagulation et le risque d'hémorragies.

En conclusion, pendant l'intervention coronarienne percutanée nécessitant l'atteinte de niveaux plasmatiques élevés de bivalirudine, le test TIM–ECT montre une meilleure corrélation que le TCA [Casserly *et al.*, 2004].

5.4 Validité analytique

5.4.1 Reproductibilité du temps de coagulation par l'écarine (TCE) et comparaison entre le TCE et le temps de coagulation activé (TCA) pendant un pontage aorto-coronaire avec CEC

Étude de Koster et ses collaborateurs [2008]

Cette étude présentée dans la section de valeur thérapeutique a aussi évalué la reproductibilité de ce nouveau test du temps de coagulation par l'écarine, (TCE)⁴⁴ après la circulation extracorporelle (CEC).

⁴⁴ TCE : effectué sur le système Haemoscope TEG^{MC} 5000, Haemoscope Corp., Niles, IL, USA.

Pour évaluer la reproductibilité des deux tests, le TCE-ND (test utilisant le sang avec citrate et non dilué par le plasma humain) et le TCE-PD (test utilisant le sang avec citrate dilué par le plasma humain), des mesures sériées ont été effectuées chez 4 des 15 patients à l'étude, après la CEC (tableau 3).

Tableau 3 Reproductibilité des résultats des tests

PATIENT	TEMPS APRÈS CEC	TCE-PD (s)	CV (%)	TCE-ND (s)	CV (%)
1	15 minutes	360	5,7	305	< 1
		325		305	
		360		305	
	30 minutes	290	< 1	250	8,7
		290		230	
		290		275	
2	15 minutes	310	3,8	275	< 1
		335		275	
		320		275	
	30 minutes	-	-	-	-
3	15 minutes	375	< 1	330	< 1
		375		330	
		375		330	
	30 minutes	320	8,9	315	< 1
		380		315	
		335		315	
4	15 minutes	310	< 1	250	1,9
		310		260	
		310		255	
	30 minutes	290	2,6	220	< 1
		300		220	
		285		220	

Source : Koster *et al.*, 2008.

Abréviations : CEC : circulation extracorporelle; CV : coefficient de variation; TCE-ND : temps de coagulation par l'écarine avec du sang non dilué; TCE-PD : temps de coagulation par l'écarine avec du sang dilué avec du plasma dans une proportion de 1 : 1.

Les coefficients de variation des mesures de ces deux tests ont montré des valeurs inférieures à 8,9 % pour l'ECT-PD (pour une moyenne de 3 %) et inférieures à 8,7 % pour l'ECT-ND (moyenne de 1,7 %).

En résumé, les deux essais ont révélé une excellente reproductibilité. Basé sur la performance des tests TEG–TCE (- PD et – ND), les auteurs soulignent la rapidité, la facilité de réalisation et la fiabilité de cette analyse pour le dosage de la bivalirudine pendant une chirurgie cardiaque avec une CEC [Koster *et al.*, 2008].

Étude de Zucker et ses collaborateurs [2005]

Dans le cadre d'une étude pilote, les auteurs ont évalué la faisabilité d'utilisation de la bivalirudine lors d'une chirurgie cardiaque avec une circulation extracorporelle (CEC). Comme objectifs secondaires, ils ont évalué la corrélation entre le profil d'anticoagulation de la bivalirudine et les variantes du test du TCA (TCAT [temps de coagulation activé transformé ou modifié par plasma], TCA-célite, TCA-kaolin, TCA+) et du TCE.

Ainsi, 10 patients successifs qui se sont présentés pour un pontage aorto-coronarien électif nécessitant une CEC ont reçu une anticoagulation à la bivalirudine à la place de l'héparine. Le dosage de la bivalirudine a été fixé à 1 mg/kg, comme bolus et à 2,5 mg/kg/heure pendant la perfusion continue. La CEC a été initiée 10 à 15 minutes après le bolus et la perfusion a été interrompue 15 minutes avant la fin de la CEC. Des échantillons de sang ont été prélevés avant le bolus et à toutes les 15 minutes, commençant 5 minutes après le bolus.

Tous les tests ont montré des temps de coagulation significativement prolongés après le bolus de bivalirudine et pendant toute la période de perfusion, puis ont diminué après la fin de la perfusion. Le TCA–célite, le TCA–kaolin et le TCA + n'ont pas augmenté autant que le TCAT et le TCE en réponse à l'augmentation du niveau plasmatique de la bivalirudine, qui variait entre 12 et presque 14 µg/ml.

Pendant la période de perfusion le TCE variait entre environ 480 à 550 secondes, tandis que le TCAT, entre environ 520 à 650 secondes. Le TCA–kaolin (d'environ 320 à 420 secondes), célite (d'environ 320 à 400 s) et le TCA plus (de 380 à 420 s) n'ont pas augmenté autant que le TCE et le TCAT en réponse à l'augmentation des taux plasmatiques de bivalirudine. Après la fin de la perfusion de bivalirudine, tous les temps de coagulation ont diminué de manière constante (Figure 1).

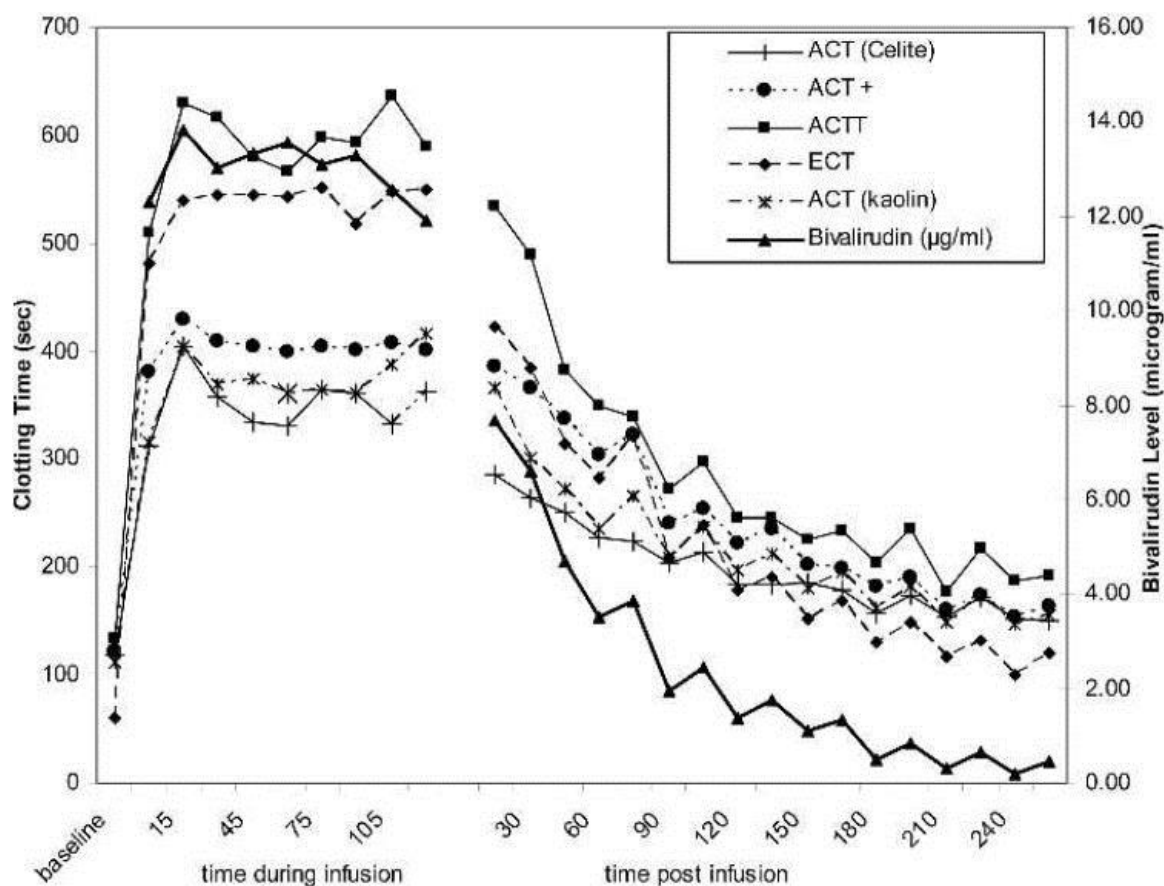


Figure 1 Évolution temporaire des temps moyens de coagulation et niveaux de bivalirudine

Source : Zucker *et al.*, 2005. L'axe gauche : les valeurs des temps de coagulation exprimées en secondes, qui s'étalent de 0 à 700 secondes. L'axe horizontal : indique le temps de bolus de bivalirudine et les intervalles de 15 minutes pendant et après la perfusion de bivalirudine, pour les 5 types de temps de coagulation (TCA-célite, TCA-plus, TCAT (transformé), TCA-kaolin et le TCE) et les concentrations plasmatiques de bivalirudine observées. L'axe droit : indique les concentrations plasmatiques de bivalirudine, exprimées en µg/ml.

Tous les tests de coagulation ont montré une bonne corrélation, par régression linéaire, à la concentration plasmatique de la bivalirudine (tableau 4).

Tableau 4 Corrélation avec la concentration de bivalirudine mesurée – échantillons de tous les patients combinés

TEST	N	PENTE [†]	R
TCA-célite	85*	13,5	0,875
TCA-kaolin	171	14,8	0,817
TCA +	172	15,0	0,870
TCAT	172	28,4	0,896
TCE	172	28,8	0,951

Source : Zucker *et al.*, 2005. Abréviations : N : nombre d'échantillons; R : coefficient de corrélation; TCA : temps de coagulation activé; TCAT : temps de coagulation activé transformé; TCE : temps de coagulation par l'écarine.

* : Les échantillons obtenus de seulement 5 de 10 patients ont été testés avec le TCA-célite

† : Changement du temps de coagulation par rapport à la concentration plasmatique en bivalirudine (par µg/ml).

La plus grande corrélation était observée avec le TCE. Le TCA-célite, le TCA-kaolin et le TCA + ont montré une réponse réduite à la bivalirudine comme en témoigne la pente (13,5 à 15,0) comparativement au TCE (pente = 28,8) ou au TCAT (pente = 28,4). Ces observations sont similaires tant pour les échantillons des 10 patients combinés (tableau 4) que pour les échantillons analysés individuellement (tableau 5).

Tableau 5 Corrélation avec la concentration de bivalirudine mesurée – résumé des patients individuels (n = 10)

TESTS	PENTE [†] Moy ± É.T; (INTERVALLE)	R Moy ± É.T. (INTERVALLE)
TCA-célite*	13,8 ± 3,7 (10,7 – 20,0)	0,930 ± 0,22 (0,909 – 0,966)
TCA-kaolin	14,9 ± 4,1 (10,5 – 24,4)	0,896 ± 0,067 (0,729 – 0,963)
TCA+	15,7 ± 2,9 (12,4 – 21,1)	0,897 ± 0,038 (0,810 – 0,947)
TCAT	28,8 ± 4,2 (23,8 – 37,0)	0,920 ± 0,049 (0,794 – 0,960)
TCE	29,7 ± 3,2 (26,4 – 35,3)	0,958 ± 0,017 (0,919 – 0,978)

Source : Zucker *et al.*, 2005.

Abréviations : Moy ± É.T. : moyenne, plus ou moins écart-type; R : coefficient de corrélation; TCA : temps de coagulation activé; TCAT : temps de coagulation activé transformé; TCE : temps de coagulation par l'écarine.

* : des échantillons de 5 des 10 patients ont été testés avec le TCA-célite.

† : Changement du temps de coagulation par rapport à la concentration plasmatique en bivalirudine.

Le TCAT et le TCE ont tous les deux montré une plus grande corrélation que les autres tests TCA aux concentrations plasmatiques de bivalirudine ciblées (de 10–15 µg/ml) pour une anticoagulation optimale pendant la CEC. Ainsi, le TCAT et le TCE variaient entre environ 500 à 600 secondes contre environ 300 à 400 secondes pour les autres variantes de TCA. De plus, la corrélation entre le TCAT et le TCE a révélé une pente de 0,97 et un coefficient de corrélation de 0,930.

En résumé, le TCAT comme le TCE ont montré une plus grande corrélation que les autres tests TCA, aux concentrations plasmatiques de bivalirudine attendues pour une anticoagulation optimale pendant la période de CEC d'une chirurgie cardiaque [Zucker *et al.*, 2005].

5.4.2 Comparaison entre le temps de coagulation par l'écarine (TCE) et le temps de coagulation activé (TCA) pendant une intervention coronarienne percutanée

• Étude de Carroll et ses collaborateurs [2006].

Cette étude a comparé les corrélations entre les concentrations plasmatiques de bivalirudine, le TCA standard et le test TEG–ECT⁴⁵ chez 80 patients subissant une intervention coronarienne percutanée (ICP).

Les patients ont été exclus s'ils avaient des antécédents de coagulopathies, d'hypersensibilité au médicament ou de diminution de la fonction hépatique ou rénale. Un échantillon de sang a été prélevé sur citrate de sodium, avant l'administration de la bivalirudine et un autre dans le cathéter artériel à 10 min ± 5 min (en moyenne) après l'administration de la bivalirudine (bolus à 0,75 mg/kg, suivi d'une perfusion à 1,75 mg/kg/heure). En même temps que l'échantillon prélevé sur citrate de sodium, une petite quantité de sang non anticoagulé a été prélevée pour la réalisation du TCA standard⁴⁶. La détermination des concentrations plasmatiques de bivalirudine a été réalisée par une méthode chromogène (Diagnostica Stago)⁴⁷ sur le plasma isolé des échantillons de sang avec citrate congelé. Le temps de réaction jusqu'à la formation d'un thrombus détectable (temps-R) a été choisi comme paramètre TEG–ECT comparatif.

La corrélation entre les concentrations plasmatiques de bivalirudine et les temps de coagulation mesurés par TEG–ECT ou TCA est présentée dans le tableau 6.

⁴⁵ TEG-ECT : test du temps de coagulation Thromboelastograph^{MC} (TEG^{MC}) – *ecarin clotting time*, suggéré comme méthode alternative de surveillance de l'anticoagulation à la lépirudine (IDT) pendant un pontage aorto-coronarien [Pivalizza, 2002].

⁴⁶ Le dosage du TCA standard a été effectué en utilisant un Hemochrom 801.

⁴⁷ Diagnostica Stago : méthode qui mesure l'activité résiduelle de la thrombine (après l'ajout en excès de la thrombine et antithrombine III, en utilisant un substrat chromogène spécifique à la thrombine) qui est proportionnellement inverse avec la concentration plasmatique de bivalirudine.

Tableau 6 Temps de coagulation mesurés par TEG–ECT ou TCA avant et après l’administration de la bivalirudine

	AVANT* (Moy ± É.T)	APRÈS [†] (Moy ± É.T)	R
TCA (s)	127 ± 27	289 ± 34	0,306 (p< 0,0001)
TEG–ECT (s)	144 ± 109	557 ± 105	0,746 (p< 0,0001)
Bivalirudine (µg/ml) [‡]	-	6,5 ± 1,5	-

Source : Carroll *et al.*, 2006.

Abréviations : Moy ± É.T. : moyenne, plus ou moins écart-type; R : coefficient de corrélation; TCA : temps de coagulation activé; TEG-ECT: temps de coagulation ThromboelastographMC - ecarin clotting time; s : secondes.

* : Valeurs moyennes des temps de coagulation avant le début de la bivalirudine;

[†] : Valeurs moyennes des temps de coagulation après le bolus et pendant la perfusion de bivalirudine;

[‡] : Valeurs moyennes des concentrations plasmatiques de bivalirudine après le bolus et pendant la perfusion.

En conclusion, le TCA a montré une corrélation moindre avec les concentrations plasmatiques de bivalirudine, par rapport au test TEG–ECT. Selon les auteurs, le dosage de la bivalirudine par le TEG–ECT ou une analyse similaire pourrait procurer une anticoagulation thérapeutique comparativement à l’ajustement de la dose selon le poids du patient [Carroll *et al.*, 2006].

5.4.3 Comparaison entre le temps de coagulation par l’écarrine (TCE) et le temps de thromboplastine partiellement activé (TTPa) *in vitro*

Étude de Gosselin et ses collaborateurs [2004]

L’objectif de cette étude était de comparer, entre autres, le temps de coagulation par l’écarrine (TCE) et le test de suivi des inhibiteurs de thrombine (TIM, de l’anglais, *thrombin inhibitor management test*). À cet effet, des échantillons de plasma normal⁴⁸ ont été fortifiés avec des inhibiteurs directs de la thrombine (IDT): argatroban, bivalirudine ou lépirudine et testés.

Les IDT ont été ajoutés au plasma normal pour atteindre des concentrations allant de 0,1 à 8,0 µg/ml.

Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé afin de déterminer la relation entre les mesures du TCE ou du TIM et les concentrations plasmatiques des IDT.

Une forte corrélation linéaire a été observée entre les valeurs des tests TCE et TIM lorsque les concentrations des IDT étaient croissantes, soit :

- lépirudine : r = 0,99 et r = 0,99, respectivement,
- bivalirudine : r = 0,98 et r = 0,95 respectivement,
- argatroban : r = 0,98 et r = 0,96 respectivement.

⁴⁸ Échantillons de plasma normal : mélange de plasma d’au moins 20 donneurs en santé, prélevé sur citrate de sodium.

La pente⁴⁹ calculée entre le TCE et le TIM et chaque IDT a montré des valeurs semblables : 1,34 pour l'argatroban, 1,24 pour la lépirudine et 1,03 pour la bivalirudine. Par ailleurs, la différence entre les tests TIM et TCE était non significative pour chacun de ces IDT.

Selon les résultats de cette étude, les ratios⁵⁰ du TCE étaient entre 1,2 à 3,0 pour des concentrations faibles de la bivalirudine, de 0,1 à 1,2 µg/ml. Par contre, les ratios du TCE pour les concentrations élevées jusqu'à 8 µg/ml ne sont pas communiqués.

En résumé, une forte corrélation a été observée entre les valeurs de TCE et de TIM et les concentrations plasmatiques des trois IDT, et ce, jusqu'à 8 µg/ml. De plus, aucune différence significative n'a été observée entre les mesures par le TCE et le TIM pour chaque IDT. Selon les auteurs, pour des interventions cardiaques avec circulation extracorporelle pendant lesquelles des concentrations plasmatiques élevées des IDT sont nécessaires, l'usage du TCE serait requis [Gosselin *et al.*, 2004].

5.4.4 Données fournies par le demandeur

Des courbes de calibration qui montrent la corrélation entre le temps de coagulation par l'écarine et la concentration plasmatique de la bivalirudine pendant la circulation extracorporelle ont été fournies par le demandeur (voir l'annexe 1).

⁴⁹ Pente : changement du temps de coagulation par rapport à chaque microgramme d'IDT par millilitre.

⁵⁰ Ratio du temps de coagulation : ce ratio est calculé selon la croissance de la concentration plasmatique des IDT, à un moment donné de la procédure chirurgicale, par rapport à sa valeur à la base.

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant d'évaluer le temps de coagulation par l'écarine (TCE). Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de trois ans selon la perspective de l'institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (tableau 7).

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant d'évaluer le temps de coagulation par l'écarine (TCE)

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses TCE	45	45	45	135
Impact net	9 567 \$	9 567 \$	9 567 \$	28 701 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			16 582 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			32 526 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant d'évaluer le TCE pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 29 000 \$ pour le total des trois premières années, et ce, selon la perspective de l'IUCPQ.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Selon l'American College of Cardiology Foundation, l'accessibilité au test, qui doit être effectué en temps réel, constitue un enjeu non négligeable. Le test d'anticoagulation basé sur le TCE n'est pas largement disponible et le TCA peut être utilisé comme une alternative sécuritaire, malgré le fait qu'il est moins précis à des concentrations plasmatiques élevées de bivalirudine, comme celles observées pendant la chirurgie cardiaque [Salter *et al.*, 2016].

Selon un de nos experts consultés, il faut reconnaître les 50 ans d'empirisme dans le monitoring durant la CEC avec le TCA. Malheureusement, les mêmes cibles thérapeutiques sont appliquées, peu importe le type de moniteur, dont le résultat n'est pas interchangeable. Actuellement au Québec, des milliers de patients sont suivis avec ce genre d'approche.

Pour la dizaine de patients annuellement exposés à la bivalirudine per CEC, le TCE est moins imprécis que le TCA. Malgré cette situation, le seuil minimal pour démarrer la CEC, la valeur optimale à viser pendant la CEC ou le seuil toxique du TCE, restent mal validés. L'état de la littérature actuelle ne permet pas de suggérer ces valeurs seuils du TCE pour minimiser l'activation hémostatique et ses complications cliniques. Toutefois, si l'on demande au TCE de démontrer son bénéfice clinique, il faut aussi et impérativement le faire pour le test classique qu'est le TCA.

8 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

La Société des chirurgiens thoraciques, la Société des anesthésistes cardiovasculaires et la Société américaine de technologie extracorporelle ont récemment publié conjointement des lignes directrices concernant l'anticoagulation pendant la circulation extracorporelle. Ils soulignent notamment que le TCE présente une corrélation :

- forte avec les concentrations thérapeutiques de la bivalirudine chez les patients qui ont une chirurgie cardiaque avec CEC, mais habituellement il n'est pas disponible dans les points de services;
- acceptable⁵¹ avec le temps de coagulation activé (TCA) qui est disponible [Shore-Lesserson *et al.*, 2018].

Le Collège américain des chirurgiens thoraciques affirme que :

- chez les patients avec une thrombopénie aiguë induite par l'héparine et qui demandent une chirurgie cardiaque urgente, l'usage du TCE est préféré au TCA, s'il est disponible, pendant la thérapie anticoagulante avec la bivalirudine [Linkins *et al.*, 2012].

L'Agence européenne de médicaments, dans le Précis d'anesthésie cardiaque, mis à jour en 2017, affirme que :

- lorsqu'un patient souffre de thrombopénie induite par l'héparine et qu'il doit avoir une chirurgie cardiaque d'urgence avec CEC, il faut utiliser comme anticoagulant la bivalirudine si la fonction rénale est normale;
- le test le plus fiable à utiliser pour le suivi de cette thérapie anticoagulante est le TCE, mais il n'est pas réalisable dans tous les laboratoires [Pagano *et al.*, 2018].

⁵¹ Selon D^r Sylvain Bélisle, anesthésiologiste au CHUM, une corrélation acceptable n'est pas la démonstration de l'interchangeabilité de 2 tests avec la mesure du biais (comparaison de méthodes Bland-Altman permet de comparer une méthode à une référence ou à une autre méthode). Il apparaît clairement que le TCA et le TCE mesurent des facettes différentes de l'hémostase. Il reste à démontrer pour chacun de ces tests quelles sont les valeurs des seuils minimal et optimal.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Temps de coagulation par l'écarine

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

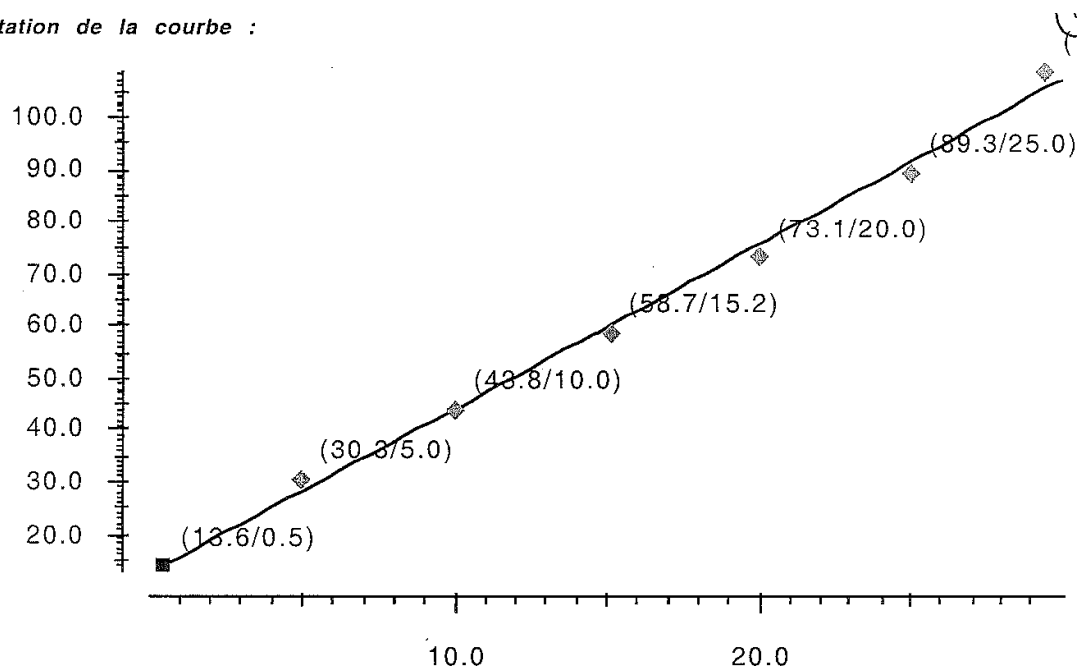
- ✓ L'utilité clinique de l'analyse proposée ainsi que l'expertise du centre demandeur sont reconnues.
- ✓ Il est suggéré de recueillir davantage d'information clinique concernant le seuil :
 - minimal pour démarrer la CEC,
 - optimal durant la CEC
 - correspondant à un surdosage durant la CEC entraînant des conséquences cliniques
- ✓ Il est également suggéré au centre demandeur de recueillir des données analytiques pendant la CEC afin de compléter la validation et de mettre en place un mécanisme de contrôle de qualité externe (exemple : vérification de la méthode avec un autre laboratoire).

ANNEXE 1

Exemples de courbes de calibration

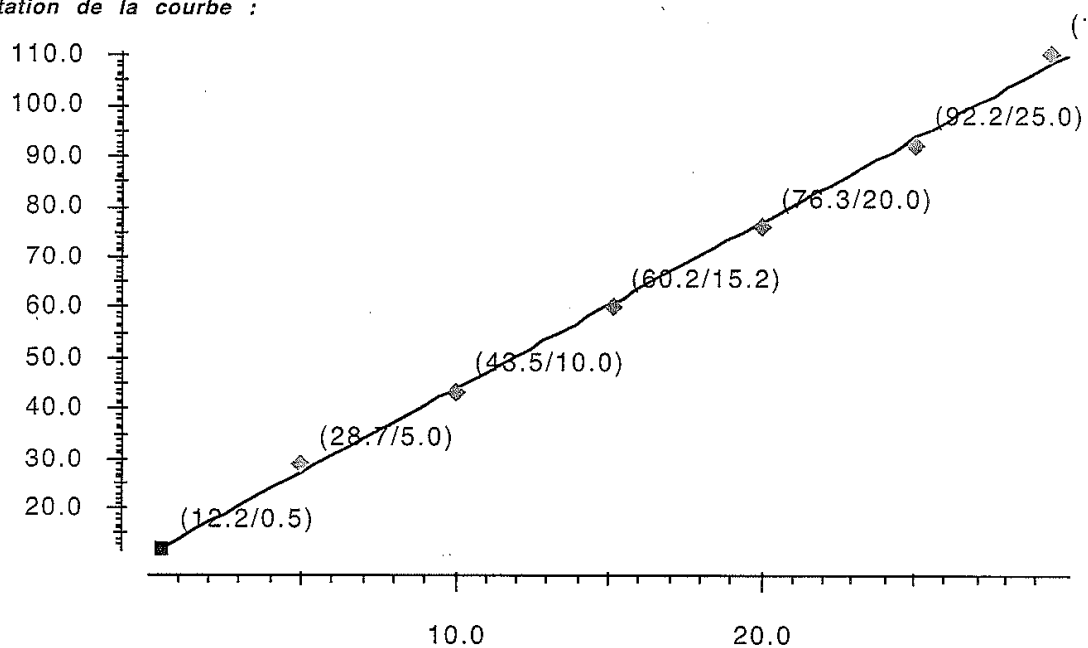
A)

Orientation de la courbe :



B)

Orientation de la courbe :



L'axe des «x» exprime la concentration de la bivalirudine en µg/ml

L'axe des «y», exprime le temps en secondes, de 0 à 100 secondes pour lequel l'appareil donne un résultat de TCE.

RÉFÉRENCES

- Carroll RC, Chavez JJ, Simmons JW, Snider CC, Wortham DC, Bresee SJ, Cohen E. Measurement of patients' bivalirudin plasma levels by a thrombelastograph ecarin clotting time assay: A comparison to a standard activated clotting time. *Anesth Analg* 2006;102(5):1316-9.
- Casserly IP, Kereiakes DJ, Gray WA, Gibson PH, Lauer MA, Reginelli JP, Moliterno DJ. Point-of-care ecarin clotting time versus activated clotting time in correlation with bivalirudin concentration. *Thromb Res* 2004;113(2):115-21.
- Cho L, Kottke-Marchant K, Lincoff AM, Roffi M, Reginelli JP, Kaldus T, Moliterno DJ. Correlation of point-of-care ecarin clotting time versus activated clotting time with bivalirudin concentrations. *Am J Cardiol* 2003;91(9):1110-3.
- Dyke CM, Aldea G, Koster A, Smedira N, Avery E, Aronson S, et al. Off-pump coronary artery bypass with bivalirudin for patients with heparin-induced thrombocytopenia or antiplatelet factor four/heparin antibodies. *Ann Thorac Surg* 2007;84(3):836-9.
- Gatt P, Galea SA, Busuttil W, Grima C, Muscat J, Farrugia Y. Bivalirudin as an alternative anticoagulant for cardiopulmonary bypass during adult cardiac surgery—A change in practice. *J Extra Corpor Technol* 2017;49(1):49-53.
- Gosselin RC, King JH, Janatpour KA, Dager WE, Larkin EC, Owings JT. Comparing direct thrombin inhibitors using aPTT, ecarin clotting times, and thrombin inhibitor management testing. *Ann Pharmacother* 2004;38(9):1383-8.
- Grubb KJ, Salehi P, Chedrawy EG. Bivalirudin: Alternative anticoagulation during cardiopulmonary bypass in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2010;5(1):20-4.
- Kamata M, Sebastian R, McConnell PI, Gomez D, Naguib A, Tobias JD. Perioperative care in an adolescent patient with heparin-induced thrombocytopenia for placement of a cardiac assist device and heart transplantation: Case report and literature review. *Int Med Case Rep J* 2017;10:55-63.
- Koster A, Buz S, Krabatsch T, Dehmel F, Hetzer R, Kuppe H, Dyke C. Monitoring of bivalirudin anticoagulation during and after cardiopulmonary bypass using an ecarin-activated TEG system. *J Card Surg* 2008;23(4):321-3.
- Koster A, Spiess B, Chew DP, Krabatsch T, Tambeur L, DeAnda A, et al. Effectiveness of bivalirudin as a replacement for heparin during cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Am J Cardiol* 2004;93(3):356-9.
- Koster A, Loebe M, Hansen R, Bauer M, Mertzluft F, Kuppe H, Hetzer R. A quick assay for monitoring recombinant hirudin during cardiopulmonary bypass in patients with heparin-induced thrombocytopenia type II: Adaptation of the ecarin clotting time to the act II device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119(6):1278-83.
- Linkins LA, Dans AL, Moores LK, Bona R, Davidson BL, Schulman S, Crowther M. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia:

- Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2012;141(2 Suppl):e495S-e530S.
- McFadyen JD, Schaff M, Peter K. Current and future antiplatelet therapies: Emphasis on preserving haemostasis. *Nat Rev Cardiol* 2018;15(3):181-91.
- McNair E, Marcoux JA, Bally C, Gamble J, Thomson D. Bivalirudin as an adjunctive anticoagulant to heparin in the treatment of heparin resistance during cardiopulmonary bypass-assisted cardiac surgery. *Perfusion* 2016;31(3):189-99.
- Murphy GS et Marymont JH. Alternative anticoagulation management strategies for the patient with heparin-induced thrombocytopenia undergoing cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21(1):113-26.
- Nowak G. The ecarin clotting time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33(4):173-83.
- Pagano D, Milojevic M, Meesters MI, Benedetto U, Bolliger D, von Heymann C, et al. 2017 EACTS/EACTA Guidelines on patient blood management for adult cardiac surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2018;53(1):79-111.
- Pivalizza EG. Monitoring of hirudin therapy with the Thrombelastograph. *J Clin Anesth* 2002;14(6):456-8.
- Salter BS, Weiner MM, Trinh MA, Heller J, Evans AS, Adams DH, Fischer GW. Heparin-induced thrombocytopenia: A comprehensive clinical review. *J Am Coll Cardiol* 2016;67(21):2519-32.
- Shore-Lesserson L, Baker RA, Ferraris VA, Greilich PE, Fitzgerald D, Roman P, Hammon JW. The Society of Thoracic Surgeons, the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and the American Society of ExtraCorporeal Technology: Clinical practice guidelines—Anticoagulation during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2018;105(2):650-62.
- Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: Diagnosis and management. *Circulation* 2004;110(18):e454-8.
- Warkentin TE et Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;76(6):2121-31.
- Warkentin TE, Greinacher A, Koster A. Bivalirudin. *Thromb Haemost* 2008;99(5):830-9.
- Zucker ML, Koster A, Prats J, Laduca FM. Sensitivity of a modified ACT test to levels of bivalirudin used during cardiac surgery. *J Extra Corpor Technol* 2005;37(4):364-8.

DOSAGE QUANTITATIF DE L'ÉCULIZUMAB PLASMATIQUE PAR MÉTHODE ELISA (2017.01.011R)

Avis de réévaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 avril 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 19 juin 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Paul Isenring, interniste et néphrologue, CHU de Québec - Université Laval;
- D^r Guillaume Bollée, néphrologue, Centre hospitalier de l'Université de Montréal.

Le D^r Guillaume Bollée a déclaré une collaboration de recherche avec le centre demandeur sur un projet qui vise à étudier l'activation du complément chez les patients avec glomérulonéphrite. Il a aussi déclaré avoir participé à des activités de consultation par la compagnie Alexion Pharmaceuticals.

Avis de réévaluation

Le présent document est une réévaluation de l'avis transmis au ministre le 3 août 2017. Un refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire* avait été recommandé en raison de données publiées et de données locales de validité analytique jugées insuffisantes.

2 RÉSUMÉ

L'éculizumab (Soliris^{MC}, Alexion Pharma GmbH, Suisse) est un anticorps monoclonal recombinant humanisé dirigé contre la protéine C5 du complément humain. Il est utilisé en immunothérapie comme inhibiteur de l'activation de la voie terminale du complément. Les doses et les fréquences recommandées ont été déterminées dans le cadre d'études cliniques et visent à atteindre et à maintenir une concentration plasmatique minimale d'au moins 35 µg/ml mais, en général, supérieure à 100 µg/ml selon l'indication de traitement et la littérature scientifique.

L'analyse de la concentration plasmatique d'éculizumab libre s'adresse à tous les patients recevant ce médicament. Selon le demandeur, les principales indications de traitement sont les suivantes :

- l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) afin de réduire l'hémolyse;
- le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) afin de réduire la microangiopathie thrombotique (MAT) induite par le complément;
- la MAT secondaire dépendante du complément, dont celle consécutive à une greffe de moelle osseuse;
- la glomérulonéphrite à dépôts de C3 (GC3).

Selon le demandeur, le dosage de l'éculizumab plasmatique libre permet d'ajuster ou de cesser le traitement en fonction de la pharmacocinétique et de la condition médicale propre à chaque patient. Le dosage est particulièrement critique compte tenu de la morbidité et de la mortalité qui sont associées à un traitement sous-optimal. Actuellement, cette analyse est effectuée hors Québec.

Cinq publications traitant de la valeur thérapeutique du dosage plasmatique de l'éculizumab ont été retenues. Selon les résultats présentés, il existe une variabilité inter-individu élevée des données de pharmacocinétique de l'éculizumab. Sous le schéma posologique recommandé, une accumulation des taux plasmatiques résiduels est observée chez certains patients, tandis que d'autres présentent des taux inférieurs à la concentration thérapeutique avec des signes de rechute de la maladie.

Selon les données contextuelles et expérientielles présentées par le demandeur et les experts consultés, le dosage plasmatique de l'éculizumab libre a permis (ou aurait potentiellement permis) de modifier la prise en charge thérapeutique de patients.

Selon l'analyse d'impact budgétaire, l'ajout de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 100 000 \$ pour le total des trois premières années.

L'éculizumab est considéré comme l'un des médicaments les plus dispendieux au monde, conduisant à des débats politiques et éthiques sur les coûts des soins de santé et sur l'accessibilité de ce traitement. Selon les experts consultés, le dosage plasmatique de l'éculizumab et la personnalisation du schéma posologique

pourraient potentiellement permettre de réduire les coûts de ce traitement et les enjeux qu'ils soulèvent.

Selon certaines organisations reconnues dans le traitement de l'HPN et du SHUa, l'évaluation des niveaux plasmatiques d'éculizumab serait utile pour guider les investigations subséquentes et la prise en charge des patients qui ne répondent pas au traitement ou qui manifestent des signes de rechute. Les résultats du test, analysés en fonction d'autres biomarqueurs et des données cliniques spécifiques à la pathologie, permettront un ajustement sécuritaire de la posologie.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

L'analyse proposée consiste à effectuer le dosage quantitatif des niveaux plasmatiques d'éculizumab libre et d'ajuster le traitement selon les besoins du patient (dose et fréquence).

Selon le demandeur, l'objectif est de maintenir une concentration plasmatique d'éculizumab supérieure à 100 µg/ml, taux permettant une inhibition adéquate de la voie terminale du complément. Précisons que selon la monographie de produit, une concentration plasmatique d'au moins 35 µg/ml en cas d'HPN et de 50 à 100 µg/ml en cas de SHUa est recommandée [Alexion Pharma, 2017].

3.2 Description de la méthode

Il s'agit d'une analyse maison effectuée par la méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Elle permet de mesurer la concentration plasmatique d'éculizumab libre (non lié au C5). Pour ce faire, des échantillons plasmatiques de patients traités à l'éculizumab sont incubés dans des puits enduits de protéines C5 purifiées (Complement Technology, Inc., Tyler, Texas). Ensuite, l'éculizumab lié au C5 adsorbé est détecté au moyen d'un anticorps anti-IgG humain couplé à la peroxydase. L'ajout du substrat de la peroxydase ortho-phénylène diamine (OPD) produit une réaction colorimétrique mesurable par spectrophotométrie. La valeur d'absorbance est proportionnelle à la quantité d'éculizumab présente dans l'échantillon. La quantification de l'éculizumab est extrapolée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de l'éculizumab purifié de concentration connue. Les plaques sont lues sur un appareil Synergy^{MC} 4H de BioTek^{MC} (Winooski, États-Unis)⁵². La technique est semi-automatique et le résultat est quantitatif.

⁵² Information tirée du *Manuel de procédure de laboratoire Coagulation – Dosage de l'Éculizumab (PON-COAG-0088)*, version 01 (date d'entrée en vigueur : 2017-05-01), fourni par le demandeur par courrier électronique, en date du 11 mai 2017.

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Les prélèvements sanguins, effectués dans un établissement du réseau ou hors réseau, seront acheminés puis analysés au laboratoire d'hémostase du CHU Sainte-Justine. L'analyse sera effectuée mensuellement. Le temps de réponse anticipé est de deux semaines.

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison.

3.5 Homologation

Il s'agit d'un protocole non homologué par Santé Canada.

3.6 Valeur pondérée : 185,55

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

L'analyse de la concentration plasmatique d'éculizumab libre s'adresse à tous les patients recevant ce médicament. Selon le demandeur, les principales indications de traitement sont les suivantes :

- l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) afin de réduire l'hémolyse et d'éviter des événements thrombotiques;
- le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) afin de réduire la microangiopathie thrombotique (MAT) induite par le complément;
- la MAT secondaire dépendante du complément, dont celle consécutive à une greffe de moelle osseuse;
- la glomérulonéphrite à dépôts de C3 (GC3).

4.2 Description de la maladie visée

4.2.1 Hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN)

L'HPN est une maladie acquise des cellules souches hématopoïétiques caractérisée par une anémie hémolytique corpusculaire, une aplasie médullaire et par la survenue fréquente de thrombose [Peffault de Latour, 2017]. Elle est causée, dans la majorité des cas, par une mutation somatique dans le gène *PIG-A*. Ce gène est responsable de la biosynthèse du phosphatidyl-inositol glycane (PIG), nécessaire à l'ancrage de plusieurs protéines membranaires des cellules sanguines, notamment des protéines CD59 (protectines, aussi connu sous MIRL, de l'anglais *Membrane Inhibitor of Reactive Lysis*) et CD55 (ou DAF, de l'anglais *Decay Accelerating Factor*) qui sont des régulateurs du complément. Ces protéines inhibent la constitution du complexe d'attaque membranaire (C5b-9) à la surface des cellules [Subias Hidalgo *et al.*, 2017; Hillmen *et al.*, 2004]. En conséquence, les érythrocytes des patients atteints d'HPN sont susceptibles à l'hémolyse intravasculaire dépendante du complément. L'absence de CD55 et de CD59 altère également la régulation de la voie alterne du complément, menant à l'accumulation de fragments C3 activés à la surface des érythrocytes. Ces derniers peuvent parfois être éliminés par une hémolyse extravasculaire effectuée par le système réticuloendothélial du foie et de la rate [Subias Hidalgo *et al.*, 2017].

L'HPN est une maladie orpheline dont la prévalence et l'incidence sont respectivement estimées à 16 cas par million et à 1,3 cas par million par année [Hillmen, 2008]. Bien que la maladie puisse se manifester à tout âge, elle affecte plus particulièrement les jeunes adultes. L'HPN est une maladie chronique qui évolue par poussées d'hémolyse. Les périodes de crise peuvent être déclenchées par divers facteurs tels qu'une vaccination, une intervention chirurgicale, la grossesse, certains antibiotiques et les infections. Selon les experts consultés, les patients non traités risquent des complications majeures, incluant notamment des

événements thrombotiques (p. ex. accidents vasculaires cérébraux), l'insuffisance rénale et l'hypertension pulmonaire. Les patients peuvent également présenter des symptômes débilissants, comme la fatigue, des douleurs abdominales, de la dysphagie et autres. La survie médiane est de 10,3 ans. Le décès peut être dû à la maladie thromboembolique, des hémorragies ou des infections secondaires à l'aplasie médullaire⁵³.

4.2.2 Syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa)

Le SHUa est un type de microangiopathie thrombotique (MAT) caractérisé par l'anémie hémolytique, la thrombocytopénie et l'insuffisance rénale [Caprioli *et al.*, 2006]. La forme typique de la maladie est principalement observée chez les enfants à la suite d'une infection causée par certaines souches d'*Escherichia coli* produisant la Shigatoxine [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007]. La forme atypique est une maladie rare, constituant 10 % des SHU [Soudabeh *et al.*, 2014] et dont l'incidence annuelle est estimée à environ 0,5 par million [Goodship *et al.*, 2017]. Le SHUa peut survenir à tous âges, de la période néonatale à l'âge adulte. Chez les enfants, les premières manifestations de la maladie surviennent avant l'âge de 2 ans dans 70 % des cas [Sellier-Leclerc *et al.*, 2007].

Le SHUa dit primaire est associé à un dérèglement de la voie alterne d'activation du complément menant à un état procoagulant avec formation de microthrombi dans la vascularisation rénale [Soudabeh *et al.*, 2014]. La moitié des cas de SHUa primaire sont expliqués par la présence de mutations dans les gènes régulateurs du complément, notamment du facteur H, du facteur I et du MCP (de l'anglais, *membrane cofactor protein*) [Soudabeh *et al.*, 2014]. Par ailleurs, chez plusieurs patients présentant une prédisposition génétique, une condition initiatrice est requise afin que le SHUa se manifeste (SHUa secondaire) dont une greffe, une grossesse, une condition auto-immune, une infection, certains médicaments ou une condition métabolique [Kavanagh *et al.*, 2013; Caprioli *et al.*, 2006]. Chez la majorité des patients, une maladie rénale terminale se développe dans les deux ans suivant la présentation [Goodship *et al.*, 2017].

⁵³ Orphanet. Hémoglobininurie paroxystique nocturne [site Web], disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=447 (consulté le 3 mai 2017).

4.2.3 Glomérulonéphrite à dépôts de C3

La glomérulopathie à dépôts de C3 (GC3) constitue un groupe de maladies rénales causées par une activation non contrôlée de la cascade du complément menant au dépôt de la protéine C3 dans les glomérules rénaux. Conséquemment à des anomalies génétiques ou acquises, le dérèglement a lieu au niveau de la C3 convertase de la voie alterne d'activation du complément. On distingue deux sous-types de GC3 : la maladie des dépôts denses et la glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3 (GNC3), qui sont identifiées selon leurs caractéristiques spécifiques au moyen d'une biopsie rénale.

L'incidence annuelle est estimée à 1 par million [Goodship *et al.*, 2017].

Contrairement à la présentation aiguë du SHUa, chez la majorité des patients atteints de GC3, la maladie est de nature chronique avec activation constante de la voie alterne du complément, avec un maintien des fonctions rénales d'environ 50 % après 10 ans [Servais *et al.*, 2012].

4.2.4 Mécanisme d'action de l'éculizumab dans le traitement des maladies causées par une activation incontrôlée de la voie du complément

L'éculizumab (Soliris^{MC}, Alexion Pharma GmbH, Suisse) est un anticorps monoclonal recombinant humanisé dirigé contre la protéine C5 du complément humain [Alexion Pharma, 2017]. Il est utilisé en immunothérapie afin d'inhiber l'activation de la voie terminale du complément (figure 1). En absence d'éculizumab, la protéine C5 est clivée en C5a et C5b par la C5 convertase. C5a est un peptide pro-inflammatoire et prothrombotique (anaphylatoxine), alors que C5b se lie aux protéines C6, C7, C8 et C9 pour former le complexe d'attaque membranaire C5b-9. Ce dernier provoque la lyse des cellules ciblées par la formation de pores dans la membrane plasmique. La liaison de l'éculizumab à la protéine C5 empêche son interaction avec la C5 convertase, ce qui prévient son clivage et la formation du complexe C5b-9 [Zuber *et al.*, 2012].

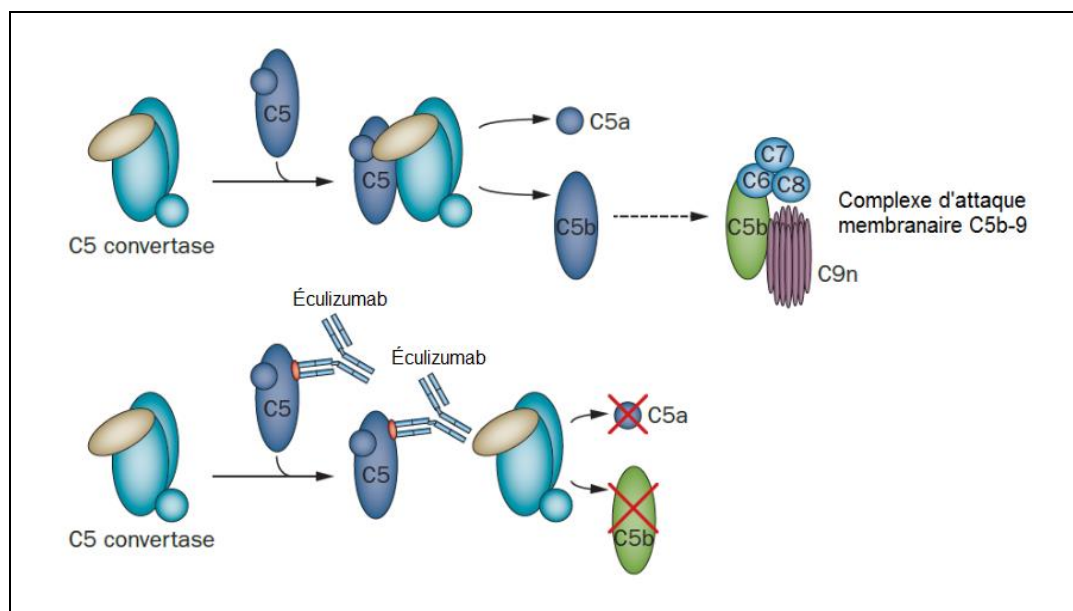


Figure 1 Voie terminale du complément et représentation schématique du mécanisme d'action de l'écilizumab

Source : adapté de Zuber et ses collaborateurs [2012].

Selon la monographie de produit, le traitement des patients atteints d'HPN ou de SHUa s'effectue selon des schémas posologiques fixes qui comprennent une phase d'induction suivie d'une phase de maintien (annexe A). Les doses et les fréquences recommandées ont été déterminées dans le cadre d'études cliniques et visent à atteindre et à maintenir une concentration minimale supérieure de 50 à 100 µg/mL [Alexion Pharma, 2017].

4.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

Selon le demandeur, 20 analyses par année sont attendues pour les patients du Québec. De 20 à 30 analyses supplémentaires provenant de l'extérieur du réseau sont également anticipées.

4.4 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, le dosage des niveaux plasmatiques de l'écilizumab est effectué hors Québec. Le test est notamment offert par les laboratoires suivants :

- Cambridge Biomedical (Boston, États-Unis);
- Cincinnati Children's Clinical Laboratories (Cincinnati, États-Unis).

Au Cincinnati Children's Clinical Laboratories, les responsables de l'analyse recommandent de mesurer le niveau d'activité CH50⁵⁴ ainsi que le taux du

⁵⁴ L'analyse CH50 est une indication de l'activité fonctionnelle totale du complément, effectuée par l'évaluation *in vitro* du taux de lyse cellulaire d'érythrocytes ovins sensibilisés, incubés dans un échantillon plasmatique du patient traité à l'écilizumab [Goodship *et al.*, 2017].

complexe protéique soluble C5b-9, conjointement avec les niveaux plasmatiques résiduels d'écilizumab⁵⁵.

En date du 5 janvier 2018, 118 dosages d'écilizumab avaient été réalisés au CHU Sainte-Justine, pour un total de 19 patients sous traitement, dont 3 patients de l'Ontario. Le dosage était demandé dans 3 circonstances :

- Suspicion de sous-dosage : permet de déterminer si les signes de rechute de la maladie sont attribuables à un sous-dosage et d'examiner les causes de l'incapacité d'atteindre des taux thérapeutiques malgré le respect du schéma posologique recommandé et d'ajuster, le cas échéant, le traitement;
- Suivi d'un arrêt de traitement : permet de corroborer que le maintien d'un état cliniquement stable est attribuable à la disparition de la pathologie et non à la présence d'écilizumab résiduel plasmatique libre chez le patient;
- Suivi d'un changement de dosage (à la hausse ou à la baisse) : permet de s'assurer de l'atteinte et du maintien d'un taux thérapeutique et de corroborer ce taux à l'état du patient.

4.5 Données médico-administratives

Il s'agit d'une nouvelle analyse, non incluse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Le tableau 1 présente les données relatives aux analyses effectuées hors réseau depuis 2013.

Tableau 1 Analyses des niveaux plasmatiques d'écilizumab effectuées hors Québec pour les périodes de 2013 à 2016

PÉRIODE	LABORATOIRE (ÉCHANTILLONS, N)	COÛT UNITAIRE, \$ CAN	COÛT TOTAL ANNUEL, \$ CAN
2015-2016	Cincinnati Children's Hospital (5)	249,60	2 384
	Cambridge Biomedical, Boston (4)	224,00	
	Cambridge Biomedical, Boston (1)	99,00	
	Cambridge Biomedical, Boston (3)	47,00	
2014-2015	Cambridge Biomedical, Boston (14)	86,00	1 204
2013-2014	Cambridge Biomedical, Boston (1)	109,00	109

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, cette analyse permet de vérifier la concentration thérapeutique du médicament. Elle permet d'ajuster (dose et fréquence) ou de cesser le traitement

⁵⁵ Cincinnati Children's, Nephrology and Hypertension [site Web], rubrique New Test: Eculizumab (Download the Eculizumab Testing Fact Sheet), disponible à : <https://www.cincinnatichildrens.org/service/n/nephrology-hypertension/clinical-lab> (consulté le 15 mai 2017).

en fonction de la pharmacocinétique et de la condition médicale propre à chaque patient. Le dosage est particulièrement critique compte tenu de la morbidité et de la mortalité qui sont associées à un traitement sous-optimal et à la rechute de la maladie.

Par ailleurs, un traitement individualisé pourrait potentiellement permettre de réduire les coûts de traitement chez les patients ayant des niveaux plasmatiques résiduels excessifs d'éculizumab [Gatault *et al.*, 2015]. Précisons qu'en 2016, le coût moyen annuel de ce traitement au Québec était de 483 947 \$ par patient. Pour cette même période, un total de 19 351 551 \$ pour 40 patients a été remboursé par la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ) (annexe B)⁵⁶.

4.7 Assurance qualité

Selon le demandeur, la qualité des résultats sera notamment assurée par l'analyse simultanée d'un échantillon de plasma provenant d'un patient non traité (contrôle négatif) et d'un échantillon diagnostique d'une valeur thérapeutique connue (contrôle positif).

Par ailleurs, le demandeur prévoit participer à des contrôles de qualité externes par l'échange d'échantillons avec le Laboratoire d'étude du complément du Centre de référence des microangiopathies thrombotiques (CNR-MAT), Hôpital européen George Pompidou (Paris, France). Deux échantillons plasmatiques de patients sous éculizumab seront envoyés par année au CNR-MAT, soit un échantillon au-dessus et un échantillon en dessous du niveau plasmatique résiduel recommandé (100 µg/ml).

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

5.3 Valeur thérapeutique

Cinq études de cohorte traitant de la valeur thérapeutique du dosage plasmatique de l'éculizumab libre par ELISA et de son rôle dans l'individualisation du traitement ont été retenues. Elles présentent, entre autres, la variabilité inter-individu des données de pharmacocinétique et de pharmacodynamique de l'éculizumab, ainsi

⁵⁶ Informations extraites du fichier des services pharmaceutiques facturés par les pharmaciens à la RAMQ dans le cadre du Régime général d'assurance médicaments (RGAM).

que les données supportant l'utilisation des niveaux plasmatiques résiduels d'éculizumab comme biomarqueur d'efficacité du traitement, conjointement avec l'analyse de l'activité du complément.

De ces études, une traite à la fois de patients atteints de SHUa ou d'HPN [Gatault *et al.*, 2015], deux de patients atteints d'HPN [Subias Hidalgo *et al.*, 2017; Peffault de Latour *et al.*, 2015], une de patients atteints de SHUa [Volokhina *et al.*, 2017], et une traite de cas cliniques distincts d'atteinte rénale incluant le SHUa, la GC3 et le rejet de greffe médié par anticorps [Wehling *et al.*, 2017].

5.3.1 Variabilité inter-individu des données de pharmacocinétique et de pharmacodynamique des patients traités à l'éculizumab

Les cinq études retenues comportaient des données relatives à la variabilité inter-individu des niveaux plasmatiques d'éculizumab observés lors de la phase de maintien du traitement (tableau 2). Les résultats présentent une variabilité inter-individu élevée pour tous les groupes de patients étudiés. Considérant les valeurs cibles recommandées pour une inactivation adéquate du complément (50 à 100 ug/ml), des niveaux jusqu'à 2,7 fois inférieurs (18 ug/ml) [Peffault de Latour *et al.*, 2015] et jusqu'à 10 fois supérieurs (1 082 ug/ml) ont été observés [Wehling *et al.*, 2017].

Tableau 2 Variabilité inter-individu des niveaux plasmatiques d'éculizumab résiduel libre, déterminés par dosage ELISA, lors de la phase de maintien du traitement

ÉTUDE	POPULATION, N ÂGE	POSOLOGIE	NIVEAUX D'ÉCULIZUMAB RÉSIDUEL LIBRE (CV)
Volokhina [2017]	11 patients SHUa (6 adultes, 5 enfants) Âge moyen : 23,3 ans (1,3 à 62)	Telle que recommandée*	40 à 772 µg/ml
Subias Hidalgo [2017]	12 adultes HPN Âge moyen : 47,8 ans	900 mg/14 jours	82 ± 8 à 401 ± 12 µg/ml
		1 200 mg/14 jours	152 ± 3 à 499 ± 25 µg/ml
Wehling [2017]	12 SHUa Âge médian : 11 ans (1 à 21)	Telle que recommandée*	64 à 1 082 µg/ml
	9 GC3 Âge médian : 21 ans (11 à 46)	n. d.	
	2 RAMAc d'une greffe de rein Âge : 49 et 59 ans	n. d.	
Gatault [2015]	9 adultes (7 SHUa, 2 HPN) Âge médian : 40,9 ans (23,9 à 67,0)	Telle que recommandée*	55 ± 12 à 733 ± 164 µg/ml (63 %)
	7 SHUa Âge médian : 31,2 ans (23,9 à 49,5)	1 200 mg/14 jours	408,8 ± 187,7 µg/ml (45,9 %)
Peffault de Latour [2015]	22 adultes HPN Âge médian : 42 ans (21 à 72)	900 mg/14 jours	18 à 643 µg/ml

Abréviations : CSH : cellules souches hématopoïétiques; GC3 : glomérulopathie à dépôts de C3; n. d. : donnée non disponible; RAMAc : rejet aigu médié par anticorps.

*Schéma posologique recommandé par le fabricant pour la prise en charge de l'HPN et du SHUa (voir annexe A).

L'étude de Peffault de Latour et ses collaborateurs [2015] présente également des données de demi-vie inter-individu variable. En effet, le profil pharmacocinétique de six de leurs patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab a révélé des demi-vies allant de 4 à 21 jours.

En conclusion, cette variabilité inter-individu élevée des données de pharmacocinétique de l'éculizumab sous-tend l'utilisation de l'analyse aux fins de surveillance et d'adaptation du traitement au besoin de chaque patient.

5.3.2 Le schéma posologique des patients adultes atteints de SHUa ou d'HPN traités à l'éculizumab pourrait être personnalisé en fonction du poids corporel

L'étude de Gatault et ses collaborateurs [2015] avait comme objectif de déterminer si le traitement à l'éculizumab pouvait être adapté sur une base individuelle en fonction du poids corporel du patient. Ils ont mesuré les taux plasmatiques d'éculizumab résiduel chez 9 adultes (7 SHUa et 2 HPN) traités selon le schéma

posologique recommandé. Ils ont par la suite déterminé la variabilité inter- et intra-individu, le taux d'élimination de l'éculizumab suivant l'arrêt du traitement ainsi que l'influence du poids corporel sur la pharmacocinétique du médicament. Afin d'évaluer l'efficacité du traitement, l'activité hémolytique du complément (CH50) était régulièrement mesurée avant une nouvelle perfusion. Un modèle de la pharmacocinétique de l'éculizumab permettant de prédire l'activité du complément en fonction du poids corporel a été développé à l'aide des données recueillies.

Au total, 97 échantillons prélevés chez 9 patients ont été analysés. Lors de la phase de maintien, une variabilité intra-individu faible, avec un coefficient de variation (CV) égal ou inférieur à 25 % ($18,4 \pm 4,6$ %), et une variabilité inter-individu élevée allant de 55 à 733 µg/ml avec un CV de 63 % ont été observées (tableau 3). Chez les patients atteints de SHUa, le taux plasmatique d'éculizumab mesuré en phase de maintien était inversement proportionnel au poids ($R^2 = 0,66$; $p = 0,034$).

Tableau 3 Niveaux plasmatiques d'éculizumab résiduel libre, déterminés par dosage ELISA

PATIENT	CONDITION	POIDS, kg	MESURES D'ÉCULIZUMAB, N	CONCENTRATION RÉSIDUELLE MOYENNE D'ÉCULIZUMAB, µg/ml (±ÉCART-TYPE)	CONCENTRATION RÉSIDUELLE MINIMALE ET MAXIMALE D'ÉCULIZUMAB, µg/ml	CV INTRA-INDIVIDU, %
1	SHUa	63	5	468 (±99)	378–597	21
2	SHUa	54	10	468 (±76)	450–568	16
3	SHUa	50	8	733 (±164)	536–947	22
4	SHUa	92	3	55 (±12)	44–68	22
5	SHUa	59	14	376 (±68)	290–525	18
6	SHUa	56	23	366 (±68)	222–484	18
7	SHUa	81	5	107 (±15)	88–135	14
8	HPN	65	13	187 (±47)	113–253	25
9	HPN	87	8	161 (±16)	155–188	10

Source : Gatault *et al.*, 2015.

Abréviations : CV : coefficient de variation; HPN : hémoglobinurie paroxystique nocturne; N : nombre; SHUa : syndrome hémolytique et urémique atypique

Selon le modèle pharmacocinétique développé, la clairance était significativement influencée par le poids corporel ($p = 0,0001$). La demi-vie d'élimination chez un patient de poids corporel moyen (63 kg) a été estimée à 12,4 jours, chutant de 19,5 à 7,8 jours pour une augmentation du poids corporel de 40 à 100 kg.

Selon la conclusion des auteurs, la dose fixe actuellement recommandée en phase de maintien pour les adultes est associée à une concentration excessive d'éculizumab résiduel chez certains patients, particulièrement chez ceux présentant un faible poids corporel. Considérant le coût élevé de ce traitement, les auteurs estiment que des économies majeures pourraient être réalisées par la surveillance

thérapeutique du médicament et l'ajustement de la posologie aux besoins individuels des patients. Ceci permettrait également d'éviter des doses potentiellement inutiles ou excessives, réduisant par le fait même les risques d'effets secondaires [Gatault *et al.*, 2015].

5.3.3 Les taux plasmatiques d'éculizumab et l'activité CH50 sont des biomarqueurs permettant de surveiller le blocage du complément chez les patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab

L'étude de Peffault de Latour et ses collaborateurs [2015] avait pour objectif de corrélérer les données cliniques, l'activité du complément et les taux résiduels d'éculizumab libre chez des patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab. Sur une période de 18 mois, l'activité du complément (CH50), les niveaux d'éculizumab libre, les biomarqueurs d'hémolyse ainsi que divers paramètres cliniques ont été mesurés avant chaque injection chez 22 patients adultes (tableau 2).

Tableau 4 Corrélation entre les taux circulants d'éculizumab résiduel, l'activité du complément (CH50) et les paramètres cliniques de patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab

PARAMÈTRES	TAUX PLASMATIQUES D'ÉCULIZUMAB RÉSIDUEL			
	< 35 ug/ml	35 à 100 ug/ml	100 à 200 ug/ml	>200 ug/ml
Échantillons, n	19	40	124	70
LDH, UI/l	459 (402 à 516)	462 (428 à 520)	450 (377 à 492)	467 (435 à 504)
Hémoglobine, g/dl	9,1 (8,7 à 9,4)	9,6 (9,0 à 10,6)	10,1 (9,8 à 10,8)	10,3 (9,9 à 10,6)
Bilirubine, µM/l	24 (21 à 26)	22 (17 à 31)	18 (15 à 20)	17 (14 à 24)
ARC, x10 ³ /l	148 (139 à 165)	181 (148 à 227)	139 (112 à 198)	110 (98 à 212)
Besoin en transfusion, n (%)	2 (11)	2 (1)	1 (1)	0 (0)
CH50 <10 %, n (%)	6 (32)	55 (39)	67 (54)	47 (68)
Hémoglobinurie, n (%)	5 (26)	33 (24)	27 (22)	7 (11)
Douleur abdominale, n (%)	5 (26)	13 (9)	20 (17)	1 (2)
Infection, n (%)	0 (0)	6 (6)	6 (6)	4 (7)

Source : Peffault de Latour et ses collaborateurs [2015].

Abréviations : ARC : numération des réticulocytes (de l'anglais *absolute reticulocyte count*); CH50 : activité de la voie terminale du complément; LDH : lactate déshydrogénase; UI : unité internationale

Afin de déterminer la concentration minimale d'éculizumab nécessaire à l'inhibition complète de l'activité du complément, les auteurs ont préalablement réalisé une courbe concentration-réponse *in vitro*. Pour ce faire, le plasma de patients souffrant d'HPN ainsi que le plasma de sujets normaux auxquels des quantités croissantes d'éculizumab ont été ajoutées ont par la suite été analysés. Il a été déterminé qu'un taux de 210 µg/ml d'éculizumab était associé à une inactivation du complément (activité CH50 <10 %).

Pour les analyses de corrélation, seules les données enregistrées après un minimum de 6 mois de traitements (période nécessaire pour assurer la stabilisation du traitement et de l'état du patient) ont été utilisées. Une corrélation significative a

été observée entre des niveaux élevés d'éculizumab et le blocage de l'activité CH50 ($p = 0,002$). De faibles taux plasmatiques d'éculizumab résiduel ($<50 \mu\text{g/ml}$) étaient associés à une bilirubine élevée ($p < 0,001$), le besoin de transfusion ($p = 0,034$), des taux supérieurs d'hémoglobininurie ($p = 0,03$), ainsi qu'à une activité détectable du complément ($\text{CH50} > 10 \%$; $p = 0,004$).

Selon la conclusion des auteurs, l'analyse concomitante de l'activité CH50 et des taux plasmatiques résiduels du médicament constitue une stratégie de surveillance prometteuse du blocage du complément chez les patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab. De plus, les résultats de ces dosages pourraient faciliter la prise en charge des patients sur une base régulière et permettre d'évaluer ou de modifier les posologies possiblement sous-optimales.

Les auteurs rapportent d'ailleurs deux cas pour lesquels l'analyse à la fois de l'activité CH50 et des taux plasmatiques d'éculizumab résiduel se sont avérés utiles dans l'ajustement de la posologie chez des patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab.

Homme de 63 ans atteints d'HPN hémolytique, sans signe de défaillance de la moelle osseuse

Ce patient présentait un indice de masse corporel (IMC) de 29. Avant l'induction du traitement, il nécessitait des transfusions de globules rouges toutes les deux semaines. Après six mois de traitement selon la posologie recommandée (900 mg toutes les deux semaines), des transfusions toutes les trois semaines étaient toujours nécessaires. L'évaluation de l'activité CH50 a révélé que celle-ci surpassait régulièrement 40 % et que les niveaux résiduels d'éculizumab étaient inférieurs à 50 $\mu\text{g/ml}$. Pour cette raison, la posologie a été augmentée à 1 200 mg/ml tous les 15 jours. La condition hématologique du patient s'est améliorée. Après trois mois de traitement, le patient ne nécessitait plus de transfusion et l'activité CH50 était indétectable ($<10 \%$) [Peffault de Latour *et al.*, 2015].

Homme de 24 ans avec anémie aplasique, hémolyse et présence d'un clone HPN représentant 65 % des leucocytes

Trois mois après l'initiation du traitement, le patient présentait toujours des niveaux élevés de LDH. L'évaluation de l'activité CH50 a révélé des valeurs régulièrement sous 15 % avant chaque injection et des taux d'éculizumab résiduel supérieurs à 50 $\mu\text{g/ml}$. Les auteurs ont décidé de ne pas augmenter la posologie, attribuant les niveaux élevés de LDH à la récupération hématopoïétique dans le contexte de l'anémie aplasique récemment traitée à l'aide d'immunosuppresseurs. Trois mois suivant cette décision, le patient présentait des niveaux normaux de LDH et d'hémoglobine [Peffault de Latour *et al.*, 2015].

5.3.4 Le dosage des concentrations plasmatiques résiduelles d'éculizumab permet d'identifier la cause d'une hémolyse résiduelle persistante chez certains patients atteints d'HPN

L'étude de Subia Hidalgo et ses collaborateurs [2017] avait notamment pour objectif d'expliquer les causes d'une hémolyse résiduelle persistante observée chez certains patients atteints d'HPN traités à l'éculizumab. Afin d'exclure un blocage incomplet du complément, les auteurs ont évalué l'activité CH50, les niveaux de sC5b-9 et de C3, les taux d'éculizumab libre, ainsi que les biomarqueurs d'hémolyse (p. ex. LDH, hémoglobine, bilirubine). L'étude incluait 12 patients atteints d'HPN dont la majorité présentait des signes de faible hémolyse bien que traités depuis au moins un an. Neuf patients recevaient 900 mg toutes les deux semaines alors que trois recevaient 1 200 mg toutes les deux semaines en raison de poussées d'hémolyse sous la dose habituelle. Les échantillons ont été prélevés avant, après et 7 jours suivant l'administration d'une dose sur une période de 4 semaines (2 cycles d'éculizumab).

Les auteurs ont préalablement déterminé, à l'aide d'une courbe concentration-réponse, que la concentration minimale d'éculizumab requise pour inhiber complètement l'activité du complément (CH50 <10 %) était de 110 ± 9 µg/ml d'éculizumab libre.

Chez un patient, les taux plasmatiques d'éculizumab (85 ± 8 µg/ml) ont chuté sous le seuil expérimental préalablement déterminé. Toutefois, l'activité CH50 s'est avérée négative dans tous les échantillons analysés. Seuls certains patients présentaient occasionnellement des traces de sC5b-9. De plus, le traitement à l'éculizumab a permis de bloquer l'hémolyse intravasculaire chez tous les patients, tel que suggéré par une augmentation significative de l'hémoglobine et une réduction drastique des taux de LDH plasmatique. Selon les auteurs, ces résultats indiquent un blocage adéquat du complément et suggèrent plutôt une hémolyse extravasculaire.

De plus, chez les patients présentant des signes d'hémolyse résiduelle continue, un fort pourcentage d'érythrocytes avec dépôt de C3 activé et de réticulocytes, un taux élevé de bilirubine ainsi qu'une légère augmentation de LDH ont été observés. Selon les auteurs, ces paramètres correspondent aux critères d'une hémolyse extravasculaire, tels que précédemment décrits [Hill *et al.*, 2010; Risitano *et al.*, 2009].

Selon la conclusion des auteurs, ces résultats fournissent des preuves supplémentaires voulant que l'évaluation des taux plasmatiques de l'éculizumab libre et de l'activité de la voie terminale du complément procure des informations utiles afin de personnaliser l'administration de l'éculizumab [Subias Hidalgo *et al.*, 2017].

5.3.5 Personnalisation du schéma posologique par l'augmentation des intervalles de perfusion d'éculizumab chez les patients atteints de SHUa

L'étude de Volokhina et ses collaborateurs [2017] avait pour objectif d'évaluer la possibilité d'individualiser le traitement à l'éculizumab par une diminution de la fréquence des injections. Les niveaux plasmatiques d'éculizumab résiduel ainsi que le blocage du complément ont été évalués lors de la phase d'induction et de maintien du traitement selon le schéma posologique standard et selon des intervalles prolongés de perfusion chez 11 patients (âgés de 1,3 à 62 ans) atteints de SHUa. Les résultats du dosage plasmatique de l'éculizumab résiduel sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 5 Concentrations plasmatiques d'éculizumab résiduel chez les patients atteints de SHUa et traités selon des intervalles standards et selon des intervalles prolongés de perfusion

INTERVALLE DES DOSES EN PHASE DE MAINTIEN, SEMAINE	PATIENTS, N	MESURES, N	CONCENTRATION PLASMATIQUE D'ÉCULIZUMAB RÉSIDUEL
Intervalle recommandé			
2	11	90	40 à 772 µg/ml
Intervalle prolongé			
3	9	38	61 à 367 µg/ml
4	8	38	11 à 256 µg/ml
5	5	6	13 à 161 µg/ml
6 à 8	5	10	0 à 41 µg/ml

Source : Volokhina et ses collaborateurs [2017].

Pendant la phase de maintien, des niveaux élevés d'éculizumab (jusqu'à 772 µg/ml) ont été observés. Une prolongation des intervalles de 3 et 4 semaines était associée à une diminution statistiquement significative des concentrations d'éculizumab à chaque perfusion. À des intervalles de 6 à 8 semaines, les niveaux d'éculizumab n'étaient plus atteints.

Toutefois, chez deux patients âgés de 2 et 9 ans et recevant des injections toutes les 3 semaines, la cible de 50 µg/ml a été atteinte et maintenue, avec un blocage adéquat du complément, pour une période de 30 et 33 semaines, respectivement. Un troisième patient âgé de 11 ans et recevant des injections toutes les 4 semaines a maintenu des niveaux adéquats pour une période de 48 semaines. Selon les auteurs, ces cas particuliers illustrent comment la surveillance des taux plasmatiques de l'éculizumab et de l'activité du complément permet d'optimiser les intervalles d'administration de l'éculizumab, lesquels peuvent être maintenus sur une période prolongée.

Par ailleurs, chez un patient âgé de 21 ans avec une pneumonie sévère, la cible minimale d'éculizumab plasmatique et le blocage complet du complément n'ont pas été atteints à la seconde infusion de maintien. Selon les auteurs, ceci illustre que chez certains patients avec une maladie active, les posologies standards peuvent ne pas être suffisantes pour inactiver adéquatement le complément et que ces informations devraient être considérées dans la prise en charge clinique des patients.

Selon les auteurs, ces données fournissent un aperçu de la possibilité d'optimiser le schéma posologique de l'éculizumab par une diminution de la fréquence des perfusions, permettant ainsi de diminuer le fardeau de la thérapie pour les patients et le coût élevé associé à ce traitement [Volokhina *et al.*, 2017].

5.3.6 La surveillance des taux plasmatiques d'éculizumab et de l'activité du complément permet d'adapter le traitement des patients atteints de troubles rénaux distincts

L'étude de Wehling et ses collaborateurs [2017] avait comme objectif d'explorer le profil des biomarqueurs d'activation du complément et le bénéfice de la surveillance thérapeutique de l'éculizumab chez des patients atteints d'une maladie rénale.

L'étude a été menée auprès de 23 patients traités à l'éculizumab, dont 12 atteints de SHUa, 9 de GC3 et 2 de rejet aigu de greffe rénale médié par anticorps (RARMAc). L'activation du complément était notamment évaluée par l'analyse de l'activité de la voie classique (CH50), de la voie alterne (AF50) et de certains produits d'activation du complément, notamment les protéines C3, C3d et le complexe sC5b-9.

L'analyse des niveaux plasmatiques d'éculizumab a révélé une variabilité inter-individu élevée, avec des niveaux allant de 64 à 1 082 ug/mL. Les patients pédiatriques atteints de SHUa, principalement, ont montré une tendance à accumuler l'éculizumab plasmatique à chaque nouvelle dose, ce qui supporte, selon les auteurs, une corrélation entre l'accumulation du médicament et un faible poids corporel.

La majorité des patients ont répondu au traitement par une diminution significative de l'activité CH50 et AF50, du taux de sC5b-9 et une amélioration de leur condition clinique. Certains patients ont cependant présenté une réponse incomplète, voire absente. Notamment, chez deux patients atteints de SHUa, des niveaux stagnants ou croissants de sC5b-9 ont été observés. Par ailleurs, malgré une réduction marquée des niveaux de sC5b-9, trois des neuf patients atteints de GC3 ont subi une rechute clinique de la maladie et trois autres ont présenté une rémission partielle.

Afin de mieux comprendre ces différences et d'illustrer l'importance de surveiller à la fois les biomarqueurs du complément et les taux plasmatiques du médicament, les auteurs ont décrit en détail trois cas appartenant à chacune des entités cliniques à l'étude (SHUa, GC3 et RARMAc) :

Garçon de 8 ans atteint de SHUa

Chez ce patient, la surveillance des niveaux plasmatiques d'éculizumab a permis de constater que l'administration de 900 mg d'éculizumab aux deux semaines pendant cinq mois était associée à une augmentation des taux résiduels d'éculizumab libre dans le temps (accumulation du médicament), atteignant des niveaux 9 fois supérieurs à ceux recommandés. La posologie a été réduite à 600 mg toutes les deux semaines, suivi de 900 mg toutes les trois semaines, puis 1 200 mg toutes les quatre semaines. Les concentrations plasmatiques ont graduellement chuté en fonction des modifications posologiques à des niveaux approximatifs de 400 µg/ml d'éculizumab. Les niveaux de sC5b-9 sont demeurés stables malgré les modifications posologiques. L'activité hémolytique de la voie classique est demeurée indétectable (CH50) alors qu'une activité résiduelle de la voie alterne (AF50), jusqu'à 20 % de la normale, était parfois détectable. Le patient est demeuré en rémission [Wehling *et al.*, 2017].

Homme de 21 ans avec glomérulonéphrite à dépôts isolés de C3

Chez ce patient en rémission, sous traitement standard d'éculizumab depuis un an (900 mg toutes les deux semaines), la surveillance des niveaux plasmatiques de médicament a permis de constater le maintien d'un taux approximatif de 80 µg/ml tout au long du traitement. Le complexe sC5b-9 était indétectable deux mois suivant l'initiation du traitement et l'activité des voies classique (CH50) et alterne (AF50) était abolie. Malgré une forte diminution du sC5b-9, le taux de C3 est demeuré faible, tandis que le taux de C3d augmentait, signe d'une activation continue du complément en amont de C5. Après un an de traitement, une rechute a été constatée avec une protéinurie sévère, des taux plasmatiques d'éculizumab inférieurs à 10 µg/ml et des taux urinaires post-doses atteignant 56 µg/ml, ainsi qu'une augmentation des niveaux du complexe sC5b-9. Le traitement a donc été interrompu. Une thérapie conventionnelle d'immunosuppresseurs a été entreprise avec des bénéfices modérés [Wehling *et al.*, 2017].

Homme de 42 ans avec suspicion de glomérulonéphrite chronique, receveur d'une seconde greffe rénale

Chez ce patient présentant des signes de RARMAc, le traitement à l'éculizumab a été initié 6 semaines suivant la greffe, avec 900 mg par semaine pendant 4 semaines. En raison de signes récurrents de rejet au jour 80 post-greffes et des niveaux toujours élevés de sC5b-9, la dose fut augmentée avec succès à 1 200 mg par semaine pendant 5 mois. Pendant ces 5 mois, le taux plasmatique d'éculizumab résiduel se situait approximativement entre 500 et 600 µg/ml. Les niveaux de sC5b-9 ont graduellement diminué et se sont normalisés. La dose a été réduite à 900 mg par semaine pendant 2 mois, puis la fréquence a été réduite à une dose tous les 12 jours avec une fonction rénale stable à long terme. Les niveaux plasmatiques d'éculizumab sont demeurés au-dessus de 400 µg/ml. Les niveaux de sC5b-9 sont restés inférieurs à la valeur de référence après une période de 6 mois. L'activité hémolytique des voies classique et alterne du complément est demeurée

indétectable pour la majorité des dosages et les niveaux de C3 sont restés normaux tout au long du traitement sans élévation de C3d [Wehling *et al.*, 2017].

À la lumière de ces résultats, les auteurs proposent de réévaluer les schémas posologiques de l'éculizumab en fonction de l'hétérogénéité des pathologies rénales dépendantes du complément. Selon la conclusion des auteurs, une analyse complète du complément ainsi qu'une surveillance du médicament sont nécessaires pour distinguer les causes d'activation non contrôlée du complément et pour déterminer l'efficacité du traitement selon les troubles rénaux distincts.

L'accumulation de l'éculizumab chez certains patients indique la nécessité d'une thérapie adaptée. Les niveaux résiduels devraient être analysés afin d'éviter des dosages sous-optimaux. La surveillance à la fois des niveaux d'éculizumab résiduels et des biomarqueurs du complément permettent une modification sécuritaire du traitement en fonction des besoins du patient [Wehling *et al.*, 2017].

5.4 Validité analytique

Trois des études présentées précédemment comportaient des données de validation analytique de l'ELISA utilisé afin de quantifier les taux plasmatiques d'éculizumab [Volokhina *et al.*, 2017; Wehling *et al.*, 2017; Gatault *et al.*, 2015].

Volokhina et ses collaborateurs [2017] ont déterminé la linéarité de leur test en réalisant des dilutions séquentielles d'un échantillon contenant 383 µg/ml d'éculizumab. Un coefficient de variation de 10,5 % a été obtenu selon la courbe standard. La limite de détection du test était de 8 µg/ml pour les échantillons non dilués. Des coefficients de variation intra-essai de 2,9 % et inter-essai de 5,2 % ont été obtenus. Le taux de recouvrement a été déterminé à partir de 20 contrôles contenant 50 µg/ml (68 ± 31 %), 75 µg/ml (66 ± 25 %) et 150 µg/ml (74 ± 17 %).

Wehling et ses collaborateurs [2017] rapportent des coefficients de variation intra- et inter-essais de 5,2 % ($n = 12$) et 13,3 % ($n = 30$), respectivement. Un taux de recouvrement moyen de $87,2 \pm 9,8$ % a été obtenu dans le sérum humain.

Gatault et ses collaborateurs [2015] n'ont observé aucun faux positif parmi les 60 échantillons testés provenant de donneurs sains ($n = 30$) et de patients atteints d'une maladie auto-immune ($n = 30$).

5.5 Données fournies par le demandeur

Différentes dilutions d'un échantillon comportant une concentration cible de 159 µg/ml ont été utilisées afin d'évaluer la variabilité intra-essai ($n = 10$). Les concentrations d'éculizumab mesurées aux 3 dilutions les plus faibles (1/6 400, 1/3 200 et 1/1 600), et dont l'absorbance était incluse dans la courbe de calibration, ont été utilisées pour effectuer les calculs. Une concentration moyenne de 154 µg/ml avec un écart-type de 8,79 µg/ml et un coefficient de variation de 6 % ont été obtenus.

La variabilité inter-essai ($n = 14$) a été déterminée par l'analyse d'un échantillon comportant une concentration de 31,25 µg/ml d'éculizumab. Une concentration

moyenne de 31,28 µg/ml avec un écart-type de 2,55 µg/ml et un coefficient de variation de 8 % ont été obtenus.

Des données de variations inter-essais pour un plasma de patient traité à l'éculizumab (contrôle positif, n = 19 répétitions) ainsi qu'un échantillon de plasma normal (contrôle négatif, n = 17 répétitions) ont été transmises avec la demande de réévaluation (tableau 6). Selon le demandeur, les deux plasmas sont systématiquement inclus dans chaque nouvel essai.

Tableau 6 Variations inter-essais des plasmas utilisés comme contrôles lors des dosages quantitatifs de l'éculizumab plasmatique libre

CONTRÔLE POSITIF (n = 19)		CONTRÔLE NÉGATIF (n = 17)	
DATE	ÉCULIZUMAB, µg/ml	DATE	ÉCULIZUMAB, µg/ml
2017-06-08	158	2017-06-08	2
2017-06-15	163	2017-06-15	1
2017-06-22	216	2017-06-22	2
2017-06-28	189	2017-06-28	2
2017-08-18	160	2017-08-18	0
2017-09-15	160	2017-09-15	0
2017-09-15	162	2017-10-04	2
2017-09-15	204	2017-10-13	1
2017-10-04	198	2017-10-18	1
2017-10-13	169	2017-10-20	1
2017-10-18	161	2017-11-06	1
2017-10-20	161	2017-11-20	1
2017-11-06	179	2017-12-18	0
2017-11-20	143	2018-01-05	1
2017-12-18	190	2018-01-31	0
2018-01-05	138	2018-02-23	0
2018-01-31	159	2018-03-01	0
2018-02-23	181		
2018-03-01	212		
Statistiques			
Moyenne	174	Moyenne	0,9
Écart-type	22	Écart-type	0,8
CV, %	13	CV, %	89

Abréviations : CV : coefficient de variation

6 DONNÉES CONTEXTUELLES ET EXPÉRIENTIELLES

Afin de mieux illustrer l'utilité clinique du dosage plasmatique de l'éculizumab résiduel libre chez les patients avec atteinte rénale, le demandeur ainsi qu'un expert consulté ont transmis à l'INESSS 4 rapports de cas cliniques concrets, anonymisés, pour lesquels le dosage a permis (ou aurait potentiellement permis) de modifier la prise en charge thérapeutique du patient (données non publiées).

7 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA chez les patients traités avec ce produit. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de 3 ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques, ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts.

L'évaluation des coûts est présentée au tableau 7. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- L'analyse proposée par le demandeur ciblerait tous les patients recevant un traitement avec l'éculizumab.
- Selon les statistiques de facturation de la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ), 40 patients ont bénéficié de ce traitement en 2016 par l'intermédiaire de la mesure du patient d'exception (annexe B).
- L'analyse serait effectuée pour assurer le suivi des concentrations plasmatiques d'éculizumab afin, notamment, d'en adapter le régime posologique. Selon l'opinion des experts consultés, bien que les algorithmes actuels soient empiriques, il est anticipé que quatre dosages par année par patient pourraient être réalisés.
- L'analyse proposée a fait l'objet de 13 envois hors Québec en 2015-2016 à un coût moyen de 183,38 \$ par analyse.
- Le rapatriement de l'ensemble de ces tests est prévu dès la première année suivant un ajout de l'analyse au *Répertoire*.
- Il est anticipé que 184, 204 et 228 analyses seraient réalisées au cours des trois prochaines années, respectivement.
- Ces analyses représenteraient 100 % des analyses prévues pour les patients du système de santé public québécois.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 185,55.

Tableau 7 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses hors Québec	13	13	13	39
Coûts	2 384 \$	2 384 \$	2 384 \$	7152 \$
Analyses ELISA	184	204	228	616
Coûts	34 141 \$	37 852 \$	42 305 \$	114 299 \$
Impact net	31 757 \$	35 468 \$	39 921 \$	107 147 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			67 996 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			145 927 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant le dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par ELISA pourrait générer des coûts d'environ 100 000 \$ pour le total des trois premières années.

Par ailleurs, compte tenu d'une variabilité inter-individu importante de la concentration plasmatique d'éculizumab à la suite d'un traitement, il est difficile de quantifier l'effet de cette analyse sur les coûts de traitement. En effet, en considérant le régime posologique recommandé, une accumulation des taux plasmatiques résiduels est observée chez certains patients, alors que d'autres présentent des taux inférieurs à la concentration thérapeutique. Toutefois, à titre informatif et selon les régimes posologiques issus de la monographie de produit de Santé Canada, les coûts⁵⁷ de traitement annuels en éculizumab pour l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) et pour le syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa) sont estimés à environ 550 000 \$ et 740 000 \$ par patient, respectivement.

⁵⁷ Le prix de l'éculizumab a été tiré de l'extrait d'avis portant sur son évaluation par la direction du médicament en 2011. Il était alors de 6 742 \$ pour un flacon de 300 mg.

8 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

L'éculizumab est considéré comme l'un des médicaments les plus coûteux au monde, conduisant à des débats politiques et éthiques sur les coûts des soins de santé et sur l'accessibilité de ce traitement.

Aux Pays-Bas, cette situation a conduit à l'élaboration d'une nouvelle directive, rédigée par le National Working Group aHUS, qui recommande désormais un régime restrictif d'éculizumab. De plus, récemment, le National Health Care Institute néerlandais a refusé le remboursement de l'éculizumab en tant que traitement à vie⁵⁸.

Selon un rapport d'évaluation des technologies suédois, l'éculizumab est à l'origine d'un conflit éthique fondamental entre l'égalité des droits et le traitement médical pour tous les êtres humains, par opposition aux risques d'effets de déplacement⁵⁹ en raison du coût très élevé du médicament. D'autre part, s'abstenir d'un traitement efficace pour des raisons purement économiques est une stratégie éthiquement problématique [Sallerfors *et al.*, 2012].

Le Highly Specialized Technology Committee (HSTC) du National Institute for Health and Care Excellence (NICE) a exigé une justification sans précédent de la tarification du médicament, incluant les coûts de développement de l'éculizumab. Le comité a consulté les intervenants, y compris les cliniciens, les patients, les familles et les soignants, ce qui suggère que le fardeau des soins a été activement pris en compte. Cette décision illustre que les payeurs deviennent proactifs dans la gestion du dosage et de l'utilisation des médicaments, tout en exigeant de nouveaux types de preuves pour justifier des prix très élevés pour les médicaments orphelins [NICE, 2015; Paul *et al.*, 2014].

Le dosage plasmatique de l'éculizumab et la personnalisation du schéma posologique pourraient potentiellement permettre de réduire les coûts de ce traitement et les enjeux qu'ils soulèvent.

Par ailleurs, selon les experts consultés, les résultats de l'analyse des concentrations plasmatiques de l'éculizumab permettent d'en apprendre davantage sur la pharmacodynamie des inhibiteurs de la voie terminale du complément. Comme ces inhibiteurs peuvent avoir des effets secondaires sérieux, il faut utiliser la dose minimale efficace, c'est-à-dire, la dose légèrement au-dessus de celle où tous les signes cliniques et para-cliniques de la maladie disparaissent. Or, si la dose minimale efficace ne corrèle pas avec la concentration sanguine, l'indication de

⁵⁸ CUREiHUS (Curious and Cure in HUS) [site Web], disponible à : <http://cureihus.nl/research/cureihus/> (consulté le 8 mai 2017).

⁵⁹ Les risques de déplacement dans ce contexte se définissent par le fait que d'autres groupes de patients ou d'autres traitements seront négativement affectés par l'introduction de la technologie à l'étude [Sallerfors *et al.*, 2012].

dosage devient caduque et c'est plutôt l'ampleur du désordre de la voie alterne (en fonction des anomalies moléculaires) qui devrait guider les indications de traitement. Si la dose minimale requise corrèle, le suivi du traitement pourrait s'en trouver simplifié.

9 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

International Society of Nephrology

En décembre 2016, ce groupe d'experts a publié les conclusions d'une conférence internationale concernant la prise en charge du SHUa et des GC3. Selon ces experts, le schéma posologique indiqué dans les essais cliniques est recommandé, bien que deux options de modifications de posologie aient été considérées : 1) la dose minimale requise pour obtenir un blocage adéquat du complément; et 2) une procédure d'arrêt de traitement. Selon les auteurs, ces deux options nécessitent une surveillance de l'activité totale du complément (CH50), de l'activité hémolytique de la voie alternative (AH50) et des niveaux plasmatiques résiduels d'éculizumab libre ou lié par la méthode ELISA. Le niveau résiduel recommandé lors d'un blocage thérapeutique du complément est de 50 à 100ug/ml [Goodship *et al.*, 2017].

UK aHUS Rare Disease Group

Ce groupe, formé par le UK Renal Association et le British Association for Pediatric Nephrology, suggère que la surveillance des patients traités à l'éculizumab comporte le dosage des niveaux sériques résiduels du médicament, avec une valeur cible supérieure à 100 ug/ml, en plus de l'analyse de l'activité des voies classique (CH50) et alterne (AF50) du complément. Selon eux, le dosage des niveaux résiduels d'éculizumab permet de guider les investigations subséquentes et la prise en charge des patients atteints de SHUa qui ne répondent pas au traitement ou qui manifestent des signes de rechute [Wong *et al.*, 2016].

HUS International

Ce groupe d'experts cliniciens et de chercheurs internationaux, s'intéressant au syndrome hémolytique urémique, a publié en 2015 des recommandations de pratique clinique pour la prise en charge du SHUa chez les enfants [Loirat *et al.*, 2016].

Selon les auteurs, les niveaux plasmatiques d'éculizumab semblent actuellement fournir un moyen optimal de surveiller le traitement, lorsqu'indiqué, notamment lors de situation connue pour activer le complément (infection, immunisation, chirurgie électorale, transplantation, grossesse, période post-partum) ou lorsque des signes cliniques du SHUa réapparaissent. Lorsque le blocage du complément n'est pas obtenu, l'identification de la cause est nécessaire et pourrait être attribuable à une dose insuffisante, particulièrement chez les enfants légèrement sous le poids exigeant une dose plus élevée [Loirat *et al.*, 2016].

L'augmentation de l'intervalle entre les doses ou la diminution des doses devraient être considérées uniquement chez les patients qui maintiennent une activité CH50 inférieure à 10 % malgré le changement de posologie. Dans ce cas, l'évaluation concomitante des niveaux plasmatiques d'éculizumab sera utile pour guider la modification du schéma posologique [Loirat *et al.*, 2016].

Groupe français d'étude pour le SHUa/GC3 (French Study Group for aUHS/C3G)

L'évaluation de l'inhibition du complément par l'analyse de l'activité CH50 ou du niveau plasmatique d'éculizumab peut être utile pour évaluer des doses possiblement sous-optimales lors d'une augmentation de l'intervalle entre les doses ou lorsque les paramètres cliniques ou histologiques suggèrent une réponse incomplète [Zuber *et al.*, 2012].

Réseau HPN Canada (Canadian PNH Network)

Selon ce groupe d'experts, lors de la prise en charge des patientes enceintes atteintes d'HPN et traité à l'éculizumab, l'augmentation de la dose ou de la fréquence des doses peut prévenir de graves manifestations cliniques de l'HPN et minimiser les complications maternelles et fœtales. Une telle stratégie d'anticipation de changement posologique pourrait être facilitée par la capacité de quantifier les niveaux plasmatiques d'éculizumab [Patriquin et Leber, 2015].

National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

Sans mentionné spécifiquement le dosage plasmatique de l'éculizumab, le NICE recommande le remboursement de ce dernier dans le traitement du SHUa selon certaines conditions, lesquelles incluent la mise en place d'un programme de recherche afin d'évaluer quand le traitement pourrait être arrêté, discontinué ou la posologie modifiée [NICE, 2015].

10 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Dosage quantitatif de l'éculizumab plasmatique par méthode ELISA

La recommandation de l'INESSS

☒ Utilité clinique de l'analyse reconnue (introduction conditionnelle de l'analyse dans le *Répertoire*)

☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire* (utilité clinique non démontrée)

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'utilité clinique de l'analyse est reconnue dans un contexte de maladies rares associées à l'utilisation de médicaments dispendieux.
- ✓ Le laboratoire désigné devra produire un plan complet et détaillé de validation analytique et fournir les résultats lorsqu'ils seront disponibles afin de compléter le processus d'introduction d'une analyse au *Répertoire* québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale.

RÉFÉRENCES

- Alexion Pharma. Soliris^{MD} (éculizumab). Solution parentérale de 30 mL (10 mg/mL). Anticorps monoclonal humanisé – Monographie de produit. Zurich, Suisse : Alexion Pharma GmbH; 2017. Disponible à : <http://www.alexion.com/Documents/Canada/Product-Monograph-Soliris-25July2016-FRENCH.aspx>.
- Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, et al. Genetics of HUS: The impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006;108(4):1267-79.
- Gatault P, Brachet G, Ternant D, Degenne D, Recipon G, Barbet C, et al. Therapeutic drug monitoring of eculizumab: Rationale for an individualized dosing schedule. *MAbs* 2015;7(6):1205-11.
- Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 2017;91(3):539-51.
- Hill A, Rother RP, Arnold L, Kelly R, Cullen MJ, Richards SJ, Hillmen P. Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. *Haematologica* 2010;95(4):567-73.
- Hillmen P. The role of complement inhibition in PNH. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008;2008:116-23.
- Hillmen P, Hall C, Marsh JC, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004;350(6):552-9.
- Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Nephrol* 2013;33(6):508-30.
- Loirat C, Fakhouri F, Ariceta G, Besbas N, Bitzan M, Bjerre A, et al. An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2016;31(1):15-39.
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Eculizumab for treating atypical haemolytic uraemic syndrome. Highly specialised technologies guidance (HST1). Londres, Angleterre : NICE; 2015. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/hst1>.
- Patriquin C et Leber B. Increased eculizumab requirements during pregnancy in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Case report and review of the literature. *Clin Case Rep* 2015;3(2):88-91.
- Paul A, Morawski J, Spinner DS, Doyle JJ, Faulkner EC, Ransom JF. Global HTA assessments of ultra-orphan products: A case study of eculizumab (Soliris) and iduronate-2- sulfatase (Elaprase). *Value Health* 2014;17(7):A431.

- Peiffault de Latour R, Frémeaux-Bacchi V, Porcher R, Xhaard A, Rosain J, Castaneda DC, et al. Assessing complement blockade in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab. *Blood* 2015;125(5):775-83.
- Risitano AM, Notaro R, Marando L, Serio B, Ranaldi D, Seneca E, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 2009;113(17):4094-100.
- Sallerfors B, Franzén T, Jansson L, Kuric N, Olsson P, Sjögren P, et al. Eculizumab treatment in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (HTA-report 2012:43). Göteborg, Suède : Region Västra Götaland, HTA-centre; 2012. Disponible à : <https://www.sahlgrenska.se/forskning/hta-centrum/hta-rapporter/regional-activity-based-hta/>.
- Sellier-Leclerc AL, Frémeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Macher MA, Niaudet P, Guest G, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(8):2392-400.
- Servais A, Noël LH, Roumenina LT, Le Quintrec M, Ngo S, Dragon-Durey MA, et al. Acquired and genetic complement abnormalities play a critical role in dense deposit disease and other C3 glomerulopathies. *Kidney Int* 2012;82(4):454-64.
- Soudabeh H, Ebrahim K, Nakisa H, Akbar D, Rozita HS, Bamedi T. Evaluation of complement regulatory components in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Cent Eur J Immunol* 2014;39(1):67-70.
- Subias Hidalgo M, Martin Merinero H, Lopez A, Anter J, Garcia SP, Ataulfo Gonzalez-Fernandez F, et al. Extravascular hemolysis and complement consumption in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria patients undergoing eculizumab treatment. *Immunobiology* 2017;222(2):363-71.
- Volokhina E, Wijnsma K, van der Molen R, Roeleveld N, van der Velden T, Goertz J, et al. Eculizumab dosing regimen in atypical HUS: Possibilities for individualized treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2017;102(4):671-8.
- Wehling C, Amon O, Bommer M, Hoppe B, Kentouche K, Schalk G, et al. Monitoring of complement activation biomarkers and eculizumab in complement-mediated renal disorders. *Clin Exp Immunol* 2017;187(2):304-15.
- Wong E, Challis R, Sheerin N, Johnson S, Kavanagh D, Goodship TH. Patient stratification and therapy in atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS). *Immunobiology* 2016;221(6):715-8.
- Zuber J, Fakhouri F, Roumenina LT, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat Rev Nephrol* 2012;8(11):643-57.

ANNEXE A

Posologies et modifications posologiques recommandées pour l'administration de l'éculizumab [Alexion Pharma, 2017]

Schéma posologique recommandé pour la prise en charge des patients atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN)

- 600 mg par semaine pour les 4 premières semaines;
- 900 mg pour la cinquième dose une semaine plus tard;
- 900 mg toutes les deux semaines par la suite.

L'éculizumab doit être administré aux moments recommandés d'administration du schéma posologique, ou au cours des deux jours précédent ou suivant ces moments (± 2 jours).

Schéma posologique recommandé pour la prise en charge du syndrome hémolytique urémique atypique (SHUa)

Patients âgés de 18 ans et plus

- 900 mg tous les 7 jours pour les 4 premières semaines;
- 1 200 mg pour la cinquième dose une semaine plus tard;
- 1 200 mg tous les 14 jours par la suite.

Patients âgés de moins de 18 ans

L'éculizumab doit être administré selon le poids corporel du patient conformément au calendrier suivant (tableau A1) :

Tableau A-1 Recommandations posologiques pour les patients âgés de moins de 18 ans atteints de SHUa

POIDS CORPOREL	PHASE D'INDUCTION	PHASE DE MAINTIEN
≥40 kg	900 mg/semaine x 4 doses	1 200 mg à la semaine 5, puis 1 200 mg/14 jours
30 à <40 kg	600 mg/semaine x 2 doses	900 mg à la semaine 3, puis 900 mg/14 jours
20 à <30 kg	600 mg/semaine x 2 doses	600 mg à la semaine 3, puis 600 mg/14 jours
10 à <20 kg	600 mg/semaine x 1 dose	300 mg à la semaine 2, puis 300 mg/14 jours
5 à <10 kg	300 mg/semaine x 1 dose	300 mg à la semaine 2, puis 300 mg/21 jours

Le schéma posologique vise à atteindre une concentration minimale supérieure à 50–100 µg/ml d'éculizumab et, en fonction de l'expérience clinique, la durée pendant laquelle cette concentration minimale devrait être maintenue.

L'éculizumab doit être administré aux moments recommandés d'administration du schéma posologique, ou au cours des deux jours précédant ou suivant ces moments (± 2 jours).

Une dose complémentaire doit être administrée en cas de soutien concomitant par traitement sérique (plasmaphérèse, échange plasmatique ou perfusion de plasma frais congelé). Cette dose supplémentaire administrée après un traitement sérique vise à rétablir et à maintenir la concentration plasmatique au-dessus de 50 à 100 $\mu\text{g/ml}$.

ANNEXE B

Portrait d'usage de l'éculizumab

Une étude rétrospective de cohorte longitudinale a été menée à partir des banques de données administrées par la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ). Les renseignements présentés dans le tableau B-1 sont issus du fichier des services pharmaceutiques facturés par les pharmaciens à la RAMQ dans le cadre du Régime général d'assurance médicaments (RGAM).

Tableau B-1 Coûts associés à l'usage de l'éculizumab

Population	Individu	Rx	Montant		
			Médicament	Honoraire	RAMQ
2009	2	29	197 693 \$	81 \$	197 544 \$
2010	2	132	893 138 \$	437 \$	892 672 \$
2011	6	193	1 305 868 \$	658 \$	1 305 022 \$
2012	6	438	3 056 865 \$	1 506 \$	3 054 516 \$
2013	13	713	5 097 431 \$	2 896 \$	5 094 560 \$
2014	27	1 441	10 308 005 \$	4 248 \$	10 304 812 \$
2015	27	1 951	13 971 851 \$	5 507 \$	13 970 255 \$
2016	40	941	19 357 894 \$	6 964 \$	19 351 551 \$
2017*	36	278	7 180 230 \$	2 496 \$	7 176 954 \$

Abréviations : RAMQ : Régie de l'assurance maladie du Québec; Rx : nombre de dose

* Données du 1^{er} janvier au 31 mars 2017.

MESURE DE L'ACTIVITÉ DE LA L-ASPARAGINASE (RÉFÉRENCE–2017.02.005)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 avril 2018

1.3 Date de publication de l'avis : 19 juin 2018

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D' Richard Le Blanc, interniste et hématologue, CIUSSS de l'Estrie – CHUS
- D^{re} Danuta Maria Balicki, hématologue, interniste et oncologue médicale, Clinique Médic Elle, Montréal
- D' Bruno Michon, hématologue et oncologue médical pédiatrique, CHU de Québec - Université Laval

2 RÉSUMÉ

La mesure quantitative de l'activité enzymatique de la L-asparaginase (ASNase) dans le plasma ou le sérum de patients ayant reçu un traitement à l'ASNase permet de suivre l'appauvrissement adéquat de l'asparagine. Il est recommandé de viser l'atteinte du seuil thérapeutique de 0,1 UI/ml pour l'activité résiduelle de l'ASNase.

La mesure de l'activité résiduelle de l'ASNase s'adresse à tous les patients recevant au moins une dose d'ASNase pour traiter :

- la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) et les lymphomes;
- le myélosarcome, le myélome multiple, le lymphome T-NK extra-ganglionnaire de type nasal.

La prise en charge pharmaco-thérapeutique individualisée s'avère importante chez un certain nombre de patients pour lesquels un seuil thérapeutique optimal en ASNase ne peut être atteint en raison notamment d'une hypersensibilité cliniquement détectable (allergie) ou silencieuse (anticorps anti-ASNase). De plus, la survenue d'effets secondaires tels des pancréatites ou des thromboses liés au traitement pourrait être réduite par un ajustement posologique basé sur la mesure de l'activité de l'ASNase.

Quatre publications traitant de la valeur thérapeutique de la mesure de l'activité de l'ASNase sérique, de la personnalisation de la dose d'ASNase administrée ainsi que de la détection de l'hypersensibilité et de la prédiction des effets secondaires liés à la mesure de l'activité de l'ASNase ont été retenues. Selon ces études, il existe une variabilité interindividuelle élevée des valeurs de l'activité résiduelle de l'ASNase chez les patients. Des études montrent aussi que les doses d'ASNase administrées pourraient être individualisées et réduites pour le même bénéfice. D'autres résultats présentés montrent la capacité de l'analyse à distinguer les deux formes d'hypersensibilité et le pouvoir de prédire certains effets secondaires liés au traitement.

Selon l'analyse budgétaire, l'ajout du test permettant la mesure de l'activité résiduelle de l'ASNase pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 76 000 \$ pour le total des trois premières années.

Au Québec, tous les patients diagnostiqués avec une LLA ou un lymphome sont traités avec une des trois formulations d'ASNase (*E. coli* ASNase, *Erwinia* ASNase, ASNase PEG). La prescription d'une dose d'une de ces formulations en absence de suivi de l'activité enzymatique de l'ASNase pourrait porter préjudice au patient en augmentant les risques de ne pas déceler une inactivation silencieuse et en augmentant les risques d'occurrence des effets secondaires. L'analyse de l'activité de l'ASNase garantirait une optimisation du traitement qui se traduirait par les bénéfices suivants : une amélioration de l'issue thérapeutique et une réduction du rapport coût/bénéfice.

Selon un consensus d'experts de l'European Hematology Association, la mesure de l'activité de l'ASNase est le meilleur indicateur de l'efficacité du traitement.

3 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

3.1 Nom et objectif de l'analyse

Analyse quantitative visant à mesurer l'activité de la L-asparaginase (ASNase) dans le plasma ou le sérum de patients ayant reçu un traitement à l'ASNase.

L'objectif du traitement à l'ASNase est d'appauvrir le sérum du patient en asparagine. Le degré d'appauvrissement de l'asparagine ainsi que le temps requis pour causer la mort des cellules leucémiques ne sont pas connus. Afin de s'assurer d'un épuisement adéquat de l'asparagine, il est recommandé de viser l'atteinte du seuil thérapeutique de 0,1 UI/ml pour l'activité de l'ASNase [Ahlke *et al.*, 1997; Boos *et al.*, 1996].

3.2 Description de la méthode

La mesure de l'activité enzymatique de l'ASNase, telle que résumée dans la figure 1, repose sur une réaction enzymatique entre l'ASNase présente dans l'échantillon du patient et un substrat ajouté, l'acide L-aspartique β -hydroxamate (AHA).

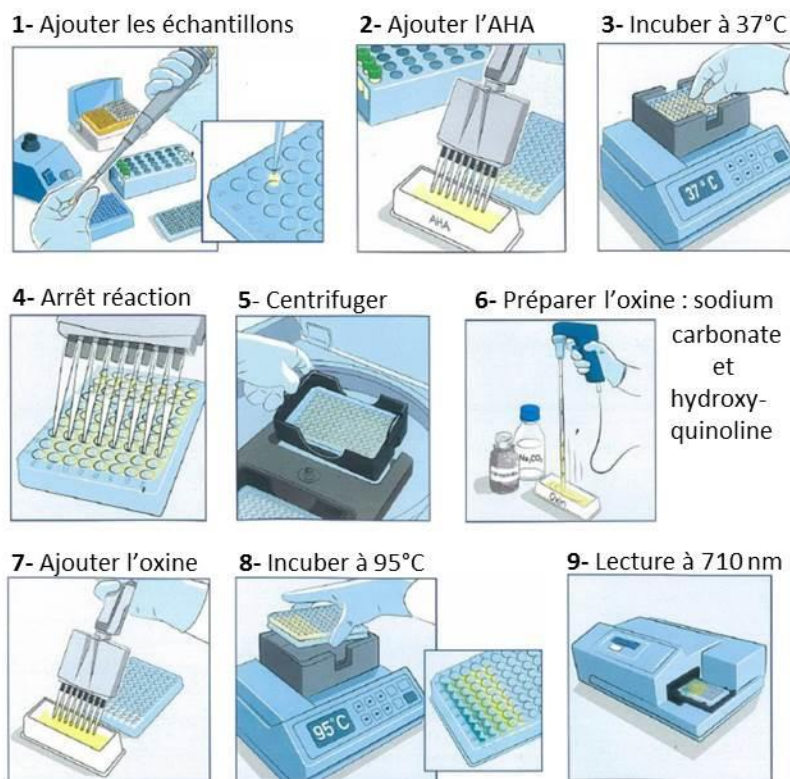


Figure 1 Méthode de dosage de l'activité de l'ASNase

Source : schéma adapté du *Asparaginase assay manual—Assay protocol for the measurement of asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia*, Erasmus MC (University Medical Center Rotterdam), POLaR (Paediatric Oncology Laboratory Rotterdam)

Abréviation : AHA : acide L-aspartique β -hydroxamate

L'ASNase hydrolyse l'AHA en acide L-aspartique et en hydroxylamine (figure 2).

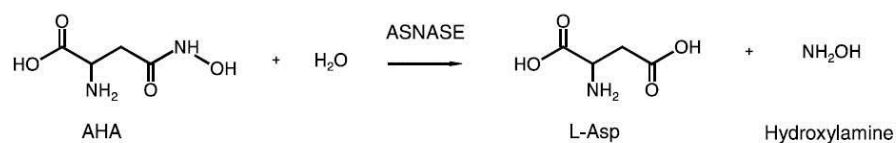


Figure 2 Hydrolyse de l'AHA en acide L-aspartique et en hydroxylamine par l'ASNase

Source : adapté de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviations : AHA : acide L-aspartique β-hydroxamate; ASNASE : Asparaginase; L-Asp : acide L-aspartique

L'ajout de 8-hydroxyquinoléine à l'hydroxylamine formée crée une réaction d'oxydation qui génère de l'indooxine (figure 3).

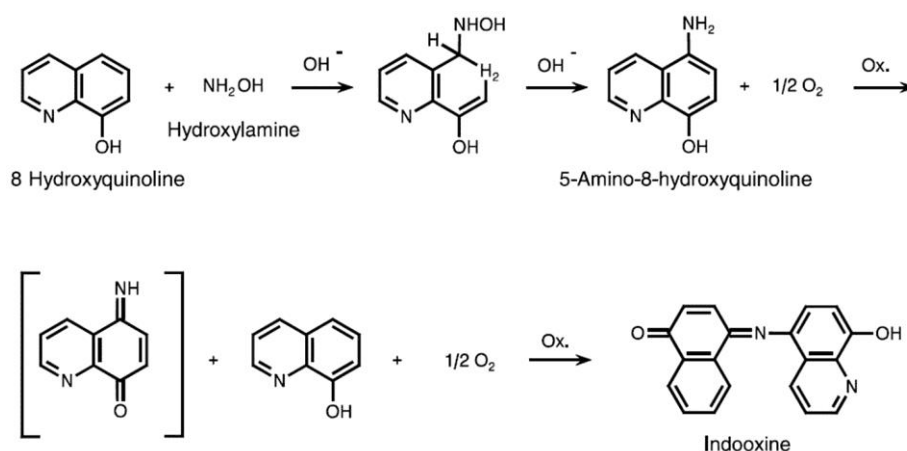


Figure 3 Formation de l'indooxine à partir de l'hydroxylamine et de 8-hydroxyquinoléine

Source : adapté de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviation : Ox. : réaction d'oxydation

La formation d'indooxine est détectable par spectrophotométrie à 710 nm [Lanvers *et al.*, 2002].

3.3 Modalité d'administration du test selon le demandeur

Lorsqu'un enfant est suivi au CHU Sainte-Justine, le prélèvement (plasma ou sérum) s'effectue soit à la clinique externe, soit à l'unité de soins du Service d'hématologie-oncologie, puis est immédiatement mis sur glace pour ensuite être acheminé au laboratoire central où il sera décanté et congelé à -80°C si l'analyse n'est pas effectuée immédiatement.

Une procédure pré-entreposage relativement similaire doit être suivie pour les prélèvements qui proviennent d'autres centres de santé. Cependant, les échantillons doivent être acheminés sur glace sèche au Laboratoire central du CHU Sainte-Justine.

Le temps de réponse prévu est de 3 à 7 jours. Ce délai peut varier selon la formulation d'ASNase pour laquelle l'analyse de l'activité enzymatique est requise.

3.4 Société ou concepteur

Protocole maison

3.5 Homologation

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la Food and Drug Administration (FDA). Toutefois, le demandeur est présentement en attente d'une certification délivrée par le Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA)⁶⁰.

3.6 Valeur pondérée : 38,90

⁶⁰ Organisme fédéral américain qui a comme fonction de s'assurer du respect des normes qui s'appliquent à tous les tests de laboratoire cliniques effectués chez les humains (Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) [site Web], disponible à : <https://www.cms.gov/Regulations-and-Guidance/Legislation/CLIA/index.html>).

4 CONTEXTE

4.1 Patients ciblés

Patients recevant au moins une dose d'AS Nase pour traiter :

- la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA);
- les lymphomes;
- le myélosarcome, le myélome multiple, le lymphome T-NK extraganglionnaire de type nasal.

4.2 Description de la maladie visée

Épidémiologie

Au Québec, en 2016, on estimait à 1 320 le nombre de nouveaux cas de leucémie et à 2 140 le nombre de nouveaux cas de lymphomes. La leucémie est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les enfants de 0 à 14 ans dans une proportion de 32 % suivi des lymphomes dans 11 % des cas [SCC, 2017].

Le type de leucémie le plus fréquemment diagnostiqué chez les enfants est la LLA. Elle représente 75 % à 80 % de tous les cas de leucémie infantile. Environ 50 % des patients reçoivent le diagnostic avant l'âge de 20 ans [SLLC, 2017].

Les progrès en matière de diagnostic et de traitement des cancers du sang ont permis d'observer la chute du taux de mortalité chez les personnes atteintes. Actuellement, on estime que 90 % des enfants et 40 % des adultes atteints de LLA pourront profiter d'une rémission complète sans récurrence [SLLC, 2017].

Leucémie lymphoblastique aiguë

Ce cancer de type hématologique touche les cellules lymphoïdes; les lymphoblastes demeurent au stade immature et se reproduisent de façon désorganisée, entraînant une hématopoïèse inefficace causée par des cellules leucémiques qui envahissent la moelle osseuse. Une telle atteinte se traduit par les symptômes suivants : la fatigue, de la fièvre, des infections persistantes, des ecchymoses ou des saignements, des douleurs osseuses, des arthralgies, ou des adénopathies [Therrien *et al.*, 2013].

Lymphome

Le lymphome est un cancer hématologique qui provient des lymphocytes. Il se divise en 2 principales catégories : lymphome de Hodgkin et lymphome non hodgkinien. Le lymphome de Hodgkin est associé à un type particulier de lymphocyte présent dans les ganglions lymphatiques. Le lymphome non hodgkinien peut prendre naissance dans les lymphocytes B, les lymphocytes T ou encore les cellules NK et ce, à différents stades de leur maturation. La majorité des patients atteints par ce lymphome présentent une forme de grade élevé accompagnée de masses plus fréquemment retrouvées à l'abdomen, au médiastin ou au cou. Les

lymphomes non hodgkiniens les plus répandus chez les enfants comprennent le lymphome de Burkitt et le lymphome lymphoblastique [Therrien *et al.*, 2013].

Asparaginase

La synthèse cellulaire de l'asparagine est réalisée via l'action enzymatique de l'asparagine synthétase. Des niveaux insuffisants d'asparagine cellulaire conduisent à une réduction de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines, à une inhibition de la croissance cellulaire, et finalement l'activation des mécanismes de mort cellulaire apoptotique (figure 4).

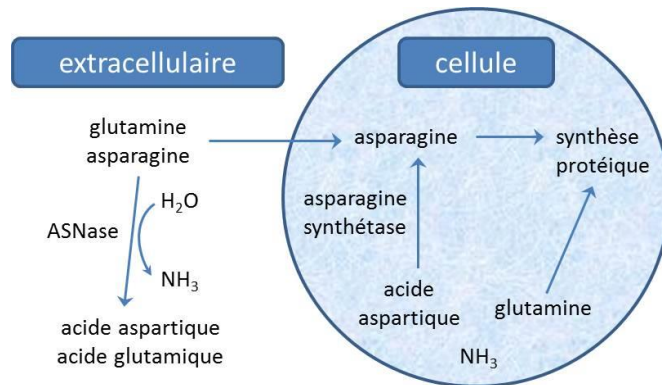


Figure 4 Mécanisme d'action de l'ASNase

Source : schéma adapté et tiré de Asselin et Rizzari, 2015.

Abréviation : ASNase : asparaginase

Les cellules leucémiques n'expriment pas ou peu l'asparagine synthétase. Par conséquent, elles sont incapables de synthétiser l'asparagine par elles-mêmes et dépendent donc de l'asparagine exogène pour assurer la synthèse des protéines et la croissance cellulaire. L'ASNase a la propriété d'hydrolyser l'asparagine en acide aspartique, rendant ainsi la cellule leucémique incapable d'utiliser les sources exogènes d'asparagine. L'épuisement complet et durable de l'asparagine est essentiel au succès à long terme de la thérapie par ASNase [Asselin et Rizzari, 2015].

Les avantages de l'ASNase dans le traitement de la LLA et des lymphomes sont démontrés. Cependant, une certaine toxicité y est associée. L'injection d'ASNase provoque des réactions d'hypersensibilité chez jusqu'à 30 % des patients [Hijiya et van der Sluis, 2016]. Deux formes d'hypersensibilité à l'ASNase sont reconnues : l'hypersensibilité clinique qui cause des réactions allergiques diverses allant de l'urticaire à la réaction anaphylactique, puis l'hypersensibilité immunologique dite silencieuse (sans symptômes apparents) qui consiste au développement d'anticorps anti-ASNase qui ont pour effet de neutraliser l'enzyme. La survenue d'une hypersensibilité silencieuse est une des principales raisons qui entraînent l'arrêt du traitement ou le changement de formulation d'ASNase [Lanvers-Kaminsky, 2017; Hijiya et van der Sluis, 2016]. À cet effet, Lanvers-Kaminsky [2017] a élaboré un algorithme, présenté à l'annexe A, permettant d'évaluer les réactions d'inactivation silencieuse en fonction de la mesure de l'activité de l'ASNase, de la présence

d'anticorps et de la sévérité des réactions. En présence d'une hypersensibilité, des algorithmes, comme celui de Bleyer et ses collaborateurs [2015] présenté à l'annexe B, permettent de suivre et de modifier le plan thérapeutique grâce à la mesure de l'activité de l'ASNase.

Outre l'hypersensibilité, des effets secondaires tels la pancréatite ou la thrombose peuvent survenir conséquemment au traitement à l'ASNase. Ces effets secondaires sont principalement causés par la diminution de la synthèse protéique engendrée par l'appauvrissement en asparagine mais aussi par son interférence avec le métabolisme de la glutamine [Lanvers-Kaminsky, 2017]. L'incidence de la pancréatite oscille entre 2 % et 18 % des patients traités avec l'ASNase et ce, indépendamment de la formulation administrée [Hijiya et van der Sluis, 2016]. Quant à l'incidence de la thrombose, une récente méta-analyse montre que 5,2 % des enfants traités avec l'ASNase en seraient atteints [Caruso *et al.*, 2006].

4.3 Nombre d'analyses prévues et de patients visés

Le demandeur mentionne que chaque année, c'est environ 100 nouveaux cas de LLA qui sont diagnostiqués au Québec. Parmi eux, 70 % sont des enfants de moins de 18 ans et 30 % sont des adultes. Annuellement, environ 10 analyses par patient seraient nécessaires pour effectuer le suivi thérapeutique.

4.4 Situation actuelle

Tous les patients, adultes et enfants, diagnostiqués avec la LLA recevront une formulation d'ASNase, qu'ils soient inclus dans un programme de recherche ou non, puisqu'il s'agit d'un traitement standard pour ce type de maladie. Les formulations d'ASNase disponibles actuellement au Canada sont l'*E. coli* ASNase (Kidrolase^{MC}), l'*Erwinia* ASNase (Erwinase^{MC}) et l'ASNase PEG (Oncaspar^{MC}).

Selon le demandeur, plus de 60 % des enfants nouvellement diagnostiqués avec la LLA rejoignent les programmes de recherche du Dana Farber Cancer Institute (DFCI) et du Children's Oncology Group (COG) pour recevoir un traitement à l'ASNase. Le dosage de l'activité de l'ASNase s'effectue présentement uniquement dans le cadre des protocoles de recherche du DFCI puisqu'aucune étude ne semble en cours pour le COG. Pour les adultes et les enfants qui n'intègrent pas les protocoles de recherche, la mesure de l'activité de l'ASNase est alors effectuée dans le laboratoire clinique, hors programme de recherche, et à la demande du clinicien.

4.5 Données médico-administratives

Cette analyse ne figure pas au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. L'analyse n'a fait l'objet d'aucun envoi hors Québec.

4.6 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, la variabilité intra et interindividuelle entre la dose d'ASNase administrée et l'activité mesurée de l'ASNase justifie la mise en place de cette

nouvelle analyse. De plus, une prise en charge pharmaco-thérapeutique individualisée s'avère importante chez un certain nombre de patients pour lesquels un seuil thérapeutique optimal en ASNase ne peut être atteint en raison notamment d'une hypersensibilité cliniquement détectable (allergie) ou silencieuse (anticorps anti-ASNase). Par ailleurs, la survenue d'effets secondaires tels des pancréatites ou des thromboses chez des patients traités avec l'ASNase serait liée au traitement et pourrait être réduite par un ajustement posologique basé sur la mesure de l'activité de l'ASNase.

4.7 Assurance qualité

Aucune épreuve de compétence externe n'est actuellement disponible pour cette analyse. Des démarches ont été entreprises pour mettre sur pied un programme de contrôle de qualité externe conjointement avec le Laboratoire d'Oncologie pédiatrique au Centre Médical Universitaire Erasmus à Rotterdam (D^r Inge van der Sluis). Le demandeur a également entrepris des discussions avec la Dutch Foundation for Quality Assessment in Medical Laboratories (SKML), un organisme sans but lucratif qui parraine plus d'une centaine de programmes de contrôle de la qualité reliés à l'analyse des médicaments et à la toxicologie. Finalement, le demandeur échange présentement avec un groupe torontois du Hospital for Sick Children (D^r David Colantonio) qui développe lui aussi une méthode d'analyse de l'activité de l'ASNase. En attendant qu'un programme de contrôle de la qualité soit mis en place, le laboratoire demandeur prévoit utiliser des contrôles de qualité interne (préparation indépendante des courbes d'étalonnage) auxquels seront comparés des échantillons résiduels de patients traités avec une des formes d'ASNase.

5 DONNÉES PUBLIÉES

5.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir ou de préciser un diagnostic.

5.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie ou d'anticiper un changement futur de l'état de santé.

5.3 Valeur thérapeutique

La recherche documentaire a permis de repérer quatre études portant sur la capacité d'effectuer un suivi thérapeutique avec l'analyse de l'activité de l'ASNase par la méthode à l'indoxine. Les études présentées dans cette section sont résumées dans l'annexe C. De ces études, une traite à la fois de la variabilité interindividuelle et de la personnalisation des doses [Sassen *et al.*, 2017], une traite à la fois de la variabilité entre les patients et de la réduction des doses [Schrey *et al.*, 2010], une traite à la fois de la variabilité entre les individus et de la distinction entre les formes d'hypersensibilité [Kloos *et al.*, 2016] et, finalement, une traite des effets secondaires du traitement [Tong *et al.*, 2014].

5.3.1 Variabilité interindividuelle de l'activité enzymatique résiduelle des patients traités avec l'ASNase

Un certain nombre de facteurs influencent l'activité de l'ASNase et les concentrations d'asparagine après l'administration d'une dose d'ASNase. La formulation d'ASNase, la formation d'anticorps anti-ASNase, les médicaments concomitants et même la méthode d'administration (par voie intramusculaire ou intraveineuse) peuvent avoir un impact important sur la dynamique de l'activité de l'ASNase et engendrer une variabilité entre les patients [Asselin et Rizzari, 2015].

Les trois études retenues comportent des données relatives à la variabilité interindividuelle du dosage sérique de l'activité de l'ASNase observée lors de la phase d'induction du traitement avec l'une des trois formulations d'ASNase (tableau 1). Les résultats présentent une variabilité élevée entre les patients pour tous les traitements administrés. En considérant la valeur seuil thérapeutique de 0,1 UI/ml nécessaire afin d'appauvrir suffisamment le sang en asparagine, des niveaux d'activité d'*Erwinia* ASNase jusqu'à 3 fois inférieurs (0,0299 UI/ml) [Sassen *et al.*, 2017] et des niveaux d'*E. coli* ASNase jusqu'à 150 fois supérieurs (1,497 UI/ml) ont été observés [Schrey *et al.*, 2010].

Tableau 1 Variabilité interindividuelle de l'activité résiduelle de l'ASNase déterminée par la méthode à l'indoxine lors de la phase d'induction du traitement à l'*E. coli* ASNase à l'ASNase PEG et à l'*Erwinia* ASNase

ÉTUDE	POPULATION n, ÂGE	TRAITEMENT	ACTIVITÉ RÉSIDUELLE D'ASNase, UI/ml
Sassen [2017]	51 patients LLA Âge médian : 6 ans (1,9-17,7)	<i>Erwinia</i> ASNase : 20 000 UI/m ² IV	Après 42-50 hres : 0,1662 (0,1034-0,2701)* Après 65-80 hres : 0,0484 (0,0299-0,1047)*
Kloos [2016]	9 patients LLA avec réaction allergique (symptômes)	<i>E. coli</i> ASNase : 5 000 UI/m ²	Après 48 hres : 0,137-0,749 Après 72 hres : 0,037-0,089
Schrey [2010]	318 patients LLA Âge médian : 5 ans (0,8-23)	<i>E. coli</i> ASNase : 5 000 UI/m ²	Après 48 hres : 0,0405 (0-1,199) Après 72 hres : 0,229 (0-1,497)
	416 patients LLA Âge médian : 6 ans (0,2-22)	ASNase PEG : 1 000 UI/m ²	Après 48 hres : 0,618 (0-1,306) Après 72 hres : 0,6205 (0-1,029))
	29 patients LLA Âge médian : 5 ans (2-17)	<i>Erwinia</i> ASNase : 10 000 UI/m ² IV et IM	IV, après 48 hres : 0,115 (0-0,884) IM, après 48 hres : 0,152 (0-0,750)

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; *E. coli* : *Escherichia coli*; IM : intramusculaire; IV : intraveineux;
LLA : leucémie lymphoblastique aiguë; PEG : pégylé; UI : unité internationale
* écart interquartile

En conclusion, la grande variabilité interindividuelle du niveau de l'activité résiduelle de l'ASNase dans le sérum renforce la nécessité d'un suivi thérapeutique.

5.3.2 Le schéma posologique des patients atteints de LLA traités avec l'ASNase pourrait être personnalisé en fonction du poids corporel

L'étude de Sassen [2017] avait comme objectif secondaire de déterminer l'association entre les caractéristiques des patients et la pharmacocinétique de l'*Erwinia* ASNase administrée par voie intraveineuse. Ils ont mesuré l'activité résiduelle de l'ASNase chez 51 patients âgés de moins de 18 ans recevant tous une dose fixe d'*Erwinia* ASNase de 20 000 UI/m² pendant 2 semaines à raison de 3 injections par semaine. Un modèle pharmacocinétique permettant de prédire l'activité résiduelle de l'ASNase en fonction du poids corporel a été développé à l'aide des données recueillies.

Les échantillons prélevés chez 36 patients ont pu être analysés. Les résultats montrent que 39 % des patients de poids inférieur à 50 kg et 20 % de ceux ayant un poids supérieur à 50 kg atteignent le seuil thérapeutique (tableau 2).

Tableau 2 Niveaux sériques d'ASNase déterminés par la méthode à l'indoxine lors de la phase d'induction d'un traitement à l'*Erwinia* ASNase

TRAITEMENT	POIDS kg	PATIENTS n (%)	ACTIVITÉ RÉSIDUELLE D'ASNase, UI/ml
<i>Erwinase</i> ASNase 20 000 UI/m ²	< 50	12 (39)	< 0,1
		19 (61)	> 0,1
	≥ 50	1 (20)	< 0,1
		4 (80)	> 0,1

Source : informations provenant de Sassen *et al.*, 2017.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; UI : unité internationale

Selon le modèle pharmacocinétique développé et considérant la dose de départ du traitement de 20 000 UI/m², approximativement 75 % des patients ayant un poids corporel de plus de 50 kg auraient un niveau d'ASNase résiduel supérieur au seuil thérapeutique de 0,1 UI/ml après 48 heures. Le modèle suggère une dose de traitement de départ de 25 000 UI/m² pour les patients ayant un poids entre 30 kg et 50 kg et de 25 000 UI/m² à 37 000 UI/m² pour ceux dont le poids se situe entre 10 kg et 30 kg afin que 75 % d'entre eux atteignent le seuil thérapeutique 48 heures après l'injection.

Les auteurs concluent que selon les simulations réalisées avec le modèle pharmacocinétique développé pour l'*Erwinia* ASNase, la dose de départ du traitement fixée à 20 000 UI/m² pour tous les patients semble trop faible pour les enfants de poids inférieur à 50 kg. Toutefois, l'augmentation de la dose pour l'ensemble du groupe pourrait entraîner des concentrations inutilement élevées chez la majorité des patients dont la concentration est déjà supérieure à 0,1 UI/m², engendrant potentiellement des effets secondaires (à long terme) et des coûts inutiles, d'où l'importance d'un suivi thérapeutique de l'activité résiduelle de l'ASNase afin de personnaliser le traitement.

5.3.3 Des doses réduites d'ASNase administrées aux patients atteints de LLA pourraient s'avérer suffisantes pour maintenir une activité enzymatique au-dessus du seuil thérapeutique

Schrey et ses collaborateurs [2010] avaient comme objectif d'estimer l'intensité du traitement à l'ASNase chez des patients diagnostiqués et traités pour la LLA. Sur une période de 7 ans, 763 patients (2 074 échantillons) traités selon le protocole ALL-BFM-2000 ont été suivis dans le cadre de cette étude. Les patients recevaient l'*E. coli* ASNase en phase d'induction à raison de 5 000 UI/m² (n = 318), suivi d'une réinduction de 10 000 UI/m² pour certains patients (n = 62), puis l'ASNase PEG en phase d'intensification à raison de 1 000 UI/m² (n = 416), ou une réintensification à l'*Erwinia* ASNase (n = 29) à raison de 10 000 UI/m² pour les patients ayant montré une hypersensibilité. L'activité de l'ASNase a été mesurée grâce au dosage spectrophotométrique de l'indoxine.

Les résultats de l'étude montrent que l'activité de l'ASNase est supérieure au seuil thérapeutique visé chez 80 % des patients 3 jours suivant l'administration de la dose d'induction d'*E. coli* ASNase de 5 000 UI/m² avec 1,4 % des patients dont les valeurs sont sous la limite inférieure de quantification de 0,005 UI/ml. Les patients qui ont ensuite reçu la dose supérieure de 10 000 UI/m² ont montré des valeurs supérieures au seuil thérapeutique (dans 85 % des cas) de façon semblable aux patients ayant reçu au préalable la dose de 5 000 UI/m². Toutefois, chez les patients ayant reçu 10 000 UI/m², une plus grande proportion (8,1 %) présentaient une activité enzymatique sous la limite inférieure de quantification. Ceci peut s'expliquer par le développement d'anticorps qui est supérieur durant la phase de réinduction par rapport à la phase d'induction, et ce, malgré qu'il s'agisse de la même formulation d'ASNase.

Trois jours après l'administration de l'ASNase PEG à 1 000 UI/m², 90 % des patients montraient des valeurs au-dessus du seuil thérapeutique cible alors qu'après 7 et 14 jours, c'est respectivement 69 % et 47 % des patients qui présentaient des valeurs supérieures au seuil thérapeutique avec 22 % et 37 % des patients pour qui les valeurs d'activité enzymatique étaient en deçà de la limite inférieure de quantification. Quant à l'activité de l'ASNase suite à l'administration de l'*Erwinia* ASNase à 10 000 UI/m², l'injection par voie intramusculaire ou par voie intraveineuse montre des valeurs d'activité enzymatique semblables (tableau 3).

Tableau 3 Détermination de l'activité de l'ASNase par la méthode à l'indoxine après l'administration de traitements à l'*E. coli* ASNase, à l'*Erwinia* ASNase ou à l'ASNase PEG

APRÈS DOSE	INJECTION	PATIENTS n	ACTIVITÉ* DE L'ASNase UI/ml	PATIENTS (%)	
				ASNase > 0,1 UI/ml	sous LIQ
Phase d'induction : <i>E. coli</i> 5 000 UI/m ²					
Jour 1	s.o.	30	1,185 (0-2,127)	30 (85)	3 (10)
Jour 2	s.o.	69	4,005 (0-1,199)	71 (94)	1 (1,5)
Jour 3	s.o.	291	0,229 (0-1,497)	232 (80)	4 (1,4)
Phase de réinduction : <i>E. coli</i> 10 000 UI/m ²					
Jour 3	s.o.	62	0,540 (0-1,250)	53 (85)	5 (8,1)
Phase d'intensification : ASNase PEG 1 000 UI/m ²					
Jour 3	s.o.	67	0,621 (0-1,029)	60 (90)	4 (6,0)
Jour 7	s.o.	256	0,333 (0-0,947)	178 (69)	58 (22)
Jour 14	s.o.	62	0,130 (0-0,367)	29 (47)	23 (37)
Phase de réintensification : <i>Erwinia</i> 10 000 UI/m ²					
Jour 2	IM et IV	97	0,142 (0-,0884)	16 (55)	3 (10)
Jour 2	IV	58	0,115 (0-0,884)	7 (47)	2 (13)
Jour 2	IM	39	0,152 (0-0,750)	9 (64)	1 (7,1)

Source : tiré de Schrey *et al.*, 2010.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; *E. coli* : *Escherichia coli*; IM : intramusculaire; IV : intraveineux; LIQ : limite inférieure de quantification; PEG : pégylé; s.o. : sans objet; UI : unité internationale

* activité médiane

Les auteurs de l'étude concluent que la dose réduite de 5 000 UI/m² d'*E. coli* ASNase dans le cadre d'un traitement d'induction a suffi à atteindre un niveau d'activité de l'ASNase supérieur à 0,1 UI/ml chez environ 90 % des patients. De plus, les doses réduites de 1 000 UI/m² et de 10 000 UI/m² d'ASNase PEG et d'*Erwinia* ASNase pour la phase d'intensification et de réintensification suffisent également pour atteindre le seuil thérapeutique cible. Le suivi thérapeutique de l'activité résiduelle de l'ASNase peut permettre de réduire les doses administrées aux patients.

5.3.4 La capacité du dosage de l'activité de l'ASNase à distinguer les réactions d'hypersensibilité permet d'adapter le traitement

Kloos et ses collaborateurs [2016] avaient comme objectif de décrire les différents types de réactions allergiques survenues chez des patients inclus dans les protocoles de traitement CoALL 08-09 et DCOG ALL-10 ou ALL-11, puis de les comparer dans le but de trouver des différences qui pourraient permettre de les distinguer facilement en clinique. Les patients traités selon le protocole CoALL 08-09 recevaient 3 ou 4 doses d'ASNase PEG de 2 500 UI/m², puis 1 ou 2 doses pour la phase de réinduction. Le protocole DCOG ALL-10 consistait en 8 doses d'*E. coli*

ASNase de 5 000 UI/m², puis 15 doses d'ASNase PEG de 2 500 UI/m². Les patients suivant le protocole DCOG ALL-11 recevaient 3 doses d'ASNase PEG de 1 500 UI/m². Pour les protocoles DCOG ALL, les patients présentant des allergies étaient orientés vers un traitement à l'*Erwinia* ASNase de 20 000 UI/m².

Pour chaque réaction allergique qui survenait, les données concernant les symptômes, le moment de leur apparition, la poursuite du traitement, la présence d'anticorps anti-ASNase et le niveau d'activité de l'ASNase étaient compilées. L'activité de l'ASNase a été mesurée grâce au dosage spectrophotométrique de l'indooxine. Parmi les patients qui ont subi une réaction allergique (avec présence de symptômes), les auteurs ont considéré que celle-ci était « réelle » lorsqu'associée à un niveau d'activité de l'ASNase non mesurable (inactivation enzymatique) et qu'elle était plutôt « fausse » lorsque l'activité enzymatique était mesurable, donc au-dessus du seuil de quantification.

Des 24 patients à l'étude ayant éprouvé des réactions allergiques avec symptômes, 9 ont eu une réaction allergique dite fausse et n'ont pas développé d'anticorps anti-ASNase alors que 15 ont eu une réaction allergique dite réelle avec présence d'anticorps et donc inactivation de l'enzyme (tableau 4).

Tableau 4 Distinctions entre les réactions allergiques réelles (inactivation de l'enzyme) et fausses chez tous les patients présentant des symptômes subséquents au traitement

OBSERVATIONS	ALLERGIE FAUSSE (n = 9)	ALLERGIE RÉELLE (INACTIVATION) (n = 15)	VALEUR p
Temps d'apparition, min (médiane)	29 (12-47)	2 (1-5)	< 0,001
Symptômes :			
-cutanés	69 %	93 %	0,153
-pulmonaires	23 %	40 %	0,435
-gastro-intestinaux	46 %	33 %	0,700
Présence d'anticorps	14 % (n = 1/7)	100 % (n = 13/13)	0,001
Activité* de l'ASNase, UI/ml	Après dose : 0,037-0,749 48 hres : 0,032-0,294 72 hres : 0,037-0,089 1 sem : 0,083-1,657	Après dose : 0	s.o.

Source : tiré de Kloos *et al.*, 2016.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; s.o. : sans objet; sem : semaine; UI : unité internationale

* gamme des activités médianes

Les résultats de l'étude montrent que les réactions allergiques fausses surviennent relativement tardivement lorsque comparées aux réactions allergiques réelles dont l'enzyme est inactivée dès l'administration du traitement. Cependant, la nature des symptômes survenus chez les patients ne permet pas de distinguer ceux ayant une réaction allergique fausse de ceux ayant une réaction allergique réelle.

Les auteurs de l'étude concluent que la mesure des niveaux d'activité de l'ASNase est une manière fiable de distinguer les réactions allergiques fausses de l'inactivation enzymatique et justifie le suivi thérapeutique des patients traités.

5.3.5 La capacité du dosage de l'activité de l'ASNase à prédire la probabilité de survenue des effets secondaires dont la pancréatite et la thrombose

L'étude de Tong [2014] avait comme objectif d'évaluer l'association entre les niveaux d'activité de l'ASNase et la survenue de pancréatite, de thrombose, de neurotoxicité, d'hyperammoniémie et de dyslipidémie (hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie). Un total de 89 patients de moins de 18 ans a été recruté et traité selon le protocole DCOG ALL-10 d'une durée de 30 semaines. Tous les participants recevaient 8 doses d'*E. coli* ASNase à raison d'une dose de 5 000 UI/m² tous les 3 jours pendant la phase d'induction, suivies de 15 doses d'ASNase PEG à raison de 2 500 UI/m² toutes les 2 semaines pendant la phase d'intensification, ou une dose d'*Erwinia* ASNase de 20 000 UI/m² 2 à 3 fois par semaine en cas d'hypersensibilité à l'ASNase PEG. Vingt-deux patients ont développé une allergie ou une inactivation silencieuse et ont dû recevoir de l'*Erwinia* ASNase.

Parmi tous les patients traités, 35 % et 60 % vont développer respectivement une hypercholestérolémie et une triglycéridémie, 50 % vont présenter une hyperammoniémie, 9 % une neurotoxicité, 7,9 % une pancréatite et 4,5 % une thrombose (tableau 5). Tous traitements confondus, les triglycérides et le cholestérol atteignent des niveaux significativement élevés ($p < 0,001$) dès les semaines 3 et 5. Ces niveaux élevés sont maintenus pendant toute la durée de la phase d'intensification pour ensuite retourner à des niveaux normaux à la semaine 37. Il en va de même pour les niveaux mesurés d'ammoniaque qui augmentent dès la première injection du traitement de la phase d'intensification pour rejoindre des niveaux normaux à la semaine 37.

Tableau 5 Corrélation entre les niveaux d'activité de l'ASNase déterminés par la méthode à l'indooxine et les effets secondaires relatifs au traitement à l'ASNase PEG et à l'*Erwinia* ASNase durant la phase d'intensification

EFFETS SECONDAIRES	OCCURRENCE n (%)	CORRÉLATION* AVEC L'ACTIVITÉ DE L'ASNase	VALEUR p
Thrombose	4 (4,5)	aucune	s.o.
Pancréatite	7 (7,9)	aucune	s.o.
Neurotoxicité	8 (9,0)	aucune	s.o.
Hyperammoniémie	45 (50)	aucune	s.o.
Hypercholestérolémie	31 (35)	0,35	0,01
Hypertriglycéridémie	53 (60)	0,36	0,005

Source : tiré de Tong *et al.*, 2014.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; s.o. : sans objet

* coefficient de corrélation de Spearman

Les résultats de cette étude montrent une étroite corrélation entre les niveaux d'activité élevés de l'ASNase mesurés par méthode à l'indooxine et les niveaux élevés de triglycérides et de cholestérol (tableau 5). Bien que les niveaux d'ammoniaque soient augmentés durant le traitement, aucune corrélation n'a pu être démontrée avec l'activité de l'ASNase. Également, aucune corrélation n'a pu être décelée entre l'activité de l'ASNase et l'occurrence accrue de pancréatite, de thrombose ou de neurotoxicité.

Les auteurs de l'étude concluent que la dyslipidémie survient chez près de la moitié des patients et qu'il y a une forte corrélation entre les niveaux élevés de triglycérides et de cholestérol et les niveaux élevés d'activité de l'ASNase. Cependant, les résultats montrent que cet état est temporaire et prend fin avec le traitement. Les auteurs affirment que la présence de dyslipidémie ne justifie pas une modification du traitement à l'ASNase. Ils concluent également qu'aucune corrélation entre les niveaux d'activité de l'ASNase et l'occurrence de pancréatite ou de thrombose n'a pu être démontrée. En outre, dans cette étude, la dyslipidémie s'avère être le seul effet secondaire relatif au traitement qui puisse être associé à la mesure de l'activité de l'ASNase.

5.4 Validité analytique

La recherche documentaire a permis de retenir une seule étude [Lanvers *et al.*, 2002] comportant des données de validation analytique du dosage de l'ASNase par la méthode à l'indooxine. Un résumé de cette étude est présenté à l'annexe C.

Lanvers et ses collaborateurs [2002] ont développé et validé une méthode de quantification de l'ASNase sérique basée sur l'hydrolyse de l'AHA (méthode à l'indooxine). Les méthodes traditionnellement utilisées pour mesurer l'activité de l'ASNase telles le dosage spectrophotométrique du NADPH et la Nesslerisation ont une limite inférieure de quantification de 0,02 UI/ml alors que la méthode à l'indooxine peut détecter une activité plus faible de l'ordre de 0,001 UI/ml.

Linéarité

Dans le cadre de cette étude, la quantification de l'activité de l'ASNase par la méthode indooxine a été comparée à la méthode de Nessler qui consiste à mesurer l'ammoniaque produite par l'ASNase. L'analyse de la linéarité entre la concentration attendue et la concentration observée en ASNase a été effectuée à partir de dilutions d'échantillons de 0,075 UI/ml à 1,250 UI/ml provenant de prélèvements de patients atteints de LLA ou de lymphome non hodgkinien (n = 32) et de prélèvements enrichis en ASNase (n = 74). Cette analyse a révélé que la concentration attendue en fonction de la concentration observée en ASNase est maintenue jusqu'à la dilution 1:20 avec un $r^2 = 0,986$. De plus, les résultats ont également montré une bonne corrélation entre la détermination de l'activité de l'ASNase avec la méthode à l'indooxine et la méthode Nessler avec des $r^2 = 0,934$, $r^2 = 0,961$, et $r^2 = 0,977$ pour l'*E. coli* ASNase (n = 39), l'ASNase PEG (n = 121) et l'*Erwinia* ASNase (n = 42) respectivement. Cependant, la valeur intrinsèque de chaque échantillon présente une différence significative ($p < 0,001$) d'une méthode à l'autre avec un écart de 0,0351 UI/ml pour l'*E. coli* ASNase, 0,098 UI/ml pour l'ASNase PEG et -0,0221 UI/ml l'*Erwinia* ASNase. Comparée à la méthode à l'indooxine, la Nesslerisation surestime l'activité sérique de l'ASNase PEG.

Précision

La précision inter-essai (le même jour et à des jours différents) a été déterminée par l'analyse répétitive d'échantillons enrichis en *E. coli* ASNase, *Erwinia* ASNase et ASNase PEG à des concentrations variant de 0,0025 UI/ml à 1,250 UI/ml. Les résultats montrent que les coefficients de variation inter-essais le même jour oscillent entre 2,72 % et 6,53 % pour l'*E. coli* ASNase, entre 1,98 % et 5,70 % pour l'ASNase PEG, et entre 2,11 % et 8,77 % pour l'*Erwinia* ASNase (tableau 6).

Tableau 6 Répétabilité de la mesure de l'activité de l'*E. coli* ASNase, l'ASNase PEG et l'*Erwinia* ASNase

INTER-ESSAIS LE MÊME JOUR (n = 8)								
<i>E. coli</i> ASNase			ASNase PEG			<i>Erwinia</i> ASNase		
ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)	ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)	ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)
1,054	2,72	5,44	1,118	3,93	11,8	1,116	2,70	11,6
0,516	5,15	3,20	0,553	2,35	10,7	0,474	4,42	-5,25
0,0726	3,98	-3,22	0,0674	3,74	-10,2	0,0715	8,77	-7,74
0,0458	4,71	-8,34	0,0529	1,98	5,81	0,0518	2,11	3,60
0,0105	4,01	5,00	0,00997	2,22	-0,31	0,0101	2,49	1,45
0,00245	6,53	-2,13	0,00264	5,70	5,64	0,00284	4,77	13,8

Source : tiré de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; *E. coli* : *Escherichia coli*; PEG : pégylé; UI : unité internationale

* activité moyenne

Les coefficients de variation inter-essais à des jours différents se situent entre 2,12 % et 8,20 % pour l'*E. coli* ASNase, entre 1,73 % et 10,7 % pour l'ASNase PEG, et entre 2,81 % et 11,0 % pour l'*Erwinia* ASNase (tableau 7).

Tableau 7 Reproductibilité de la mesure de l'activité de l'*E. coli* ASNase, l'ASNase PEG et l'*Erwinia* ASNase

INTER-ESSAIS À DES JOURS DIFFÉRENTS (n = 20)								
<i>E. coli</i> ASNase			ASNase PEG			<i>Erwinia</i> ASNase		
ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)	ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)	ASNase* (UI/ml)	CV (%)	PRÉCISION (%)
Gamme de concentrations 0,0025-0,075 UI/ml								
0,0756	2,32	0,85	0,0729	1,73	-2,87	0,0740	3,7	-1,92
0,0484	2,12	-3,12	0,0501	2,23	0,014	0,0500	3,4	-0,02
0,0253	3,45	1,29	0,0267	2,97	6,95	0,0262	5,3	4,95
0,0114	5,96	14,0	0,0113	7,35	13,0	0,0110	8,0	10,1
0,00264	8,2	5,79	0,00259	7,17	3,67	0,00264	4,8	5,54
Gamme de concentrations 0,075-1,250 UI/ml								
1,197	3,78	-4,24	1,186	3,48	-1,53	1,200	2,8	-4,00
0,756	3,52	0,75	0,770	2,96	-0,33	0,764	3,0	1,82
0,540	3,73	8,18	0,519	5,91	8,25	0,531	3,3	6,19
0,280	3,73	12,0	0,274	9,63	8,97	0,277	4,1	10,9
0,0701	6,08	-6,44	0,0733	10,7	-5,4	0,0755	11,	0,7

Source : tiré de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; *E. coli* : *Escherichia coli*; PEG : pégylé; UI : unité internationale : * activité moyenne

Recouvrement

La proportion de l'activité de l'ASNase recouvrée a été calculée en comparant l'activité mesurée dans les échantillons enrichis à la concentration attendue. Les résultats montrent que le pourcentage de recouvrement global pour les trois formulations d'ASNase est de $101 \% \pm 9,92$ pour la méthode indooxine. Les résultats montrent également que l'activité de l'ASNase PEG est surestimée avec la méthode de Nessler (tableau 8).

Tableau 8 Comparaison du recouvrement de la mesure de l'activité de l'ASNase selon 2 méthodes

ASNase	% RECOUVREMENT* $\pm$ ÉCART-TYPE	
	MÉTHODE INDOOXINE	MÉTHODE NESSLER
<i>E. coli</i> ASNase	$101 \pm 10,1$	$110 \pm 8,25$
ASNase PEG	$101 \pm 10,2$	$129 \pm 9,72$
<i>Erwinia</i> ASNase	$101 \pm 9,47$	$95,7 \pm 10,1$

Source : tiré de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; *E. coli* : *Escherichia coli*; PEG : pégylé

* recouvrement moyen

Stabilité

L'étude de la stabilité de l'enzyme a été effectuée à partir de solutions concentrées d'ASNase conservées à 4°C et diluées dans la saline 0,9 % à température ambiante. Des échantillons enrichis d'ASNase ont également été analysés après conservation à température ambiante et à -20°C. Les résultats montrent que l'activité de l'ASNase dans le sérum demeure stable pour au moins 7 jours à température ambiante ($0,45 \% \pm 8,40$). Les solutions concentrées d'*Erwinia* ASNase demeurent stables pendant 7 jours à 4°C. Cependant, lorsque diluées dans la saline et conservées à température ambiante, leur activité chute d'environ 17 % après 3 jours. À l'opposé, les solutions concentrées d'*E. coli* ASNase et d'ASNase PEG gardées à 4°C ainsi que celles diluées dans la saline et gardées à température ambiante s'avèrent stables pour au moins 7 jours. Les résultats montrent aussi que l'*E. coli*, l'*Erwinia* ASNase et l'ASNase PEG conservées à -20°C dans le sérum sont stables jusqu'à 69 jours, 82 jours et 98 jours respectivement (tableau 9).

Tableau 9 Stabilité de l'ASNase à 4°C, -20°C et température ambiante

JOUR	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT À L'ÉCHANTILLON FRAIS ± ÉCART-TYPE		
	<i>E. coli</i> ASNase	ASNase PEG	<i>Erwinia</i> ASNase
Solution concentrée d'ASNase à 4°C			
1	14,6 ± 13,1	-0,5 ± 9,3	-3,5 ± 12,4
2	5,4 ± 6,8	5,0 ± 8,8	9,1 ± 23,8
3	5,4 ± 12,4	10,7 ± 10,7	-1,6 ± 11,5
4	4,1 ± 10,8	11,4 ± 7,5	11,8 ± 12,6
7	-1,3 ± 9,6	14,6 ± 13,4	7,5 ± 15,4
ASNase dans la saline 0,9 % à température ambiante			
1	-6,3 ± 7,9	3,4 ± 5,0	7,9 ± 5,6
2	3,3 ± 8,3	-3,6 ± 5,0	-2,7 ± 5,6
3	9,4 ± 7,9	7,1 ± 3,9	-17,5 ± 3,2
4	3,1 ± 7,3	1,4 ± 3,7	s.o.
7	-5,7 ± 8,0	-6,1 ± 9,0	s.o.
ASNase dans le sérum à température ambiante			
1	-3,5 ± 5,2	-2,0 ± 4,3	-0,2 ± 4,3
2	-0,4 ± 0,7	-1,5 ± 2,3	-0,1 ± 2,4
3	0,7 ± 2,7	0,9 ± 1,6	0,3 ± 2,4
4	0,7 ± 4,5	-3,0 ± 2,3	-2,2 ± 2,2
7	1,0 ± 4,3	-2,8 ± 3,1	-4,8 ± 2,6
ASNase dans le sérum à -20°C			
69	7,59 ± 8,10	s.o.	s.o.
82	s.o.	s.o.	-9,83 ± 12,6
98	s.o.	5,44 ± 7,99	s.o.

Source : tiré de Lanvers *et al.*, 2002.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; *E. coli* : *Escherichia coli*; PEG : pégylé; s.o. : sans objet

Les auteurs de l'étude concluent que dans une situation d'inactivation enzymatique, le dosage de l'activité de l'ASNase par la méthode à l'indoxine s'avère un outil efficace pour contrôler et assurer une intensité de traitement optimal.

5.5 Données fournies par le demandeur

Le demandeur a fourni des données de validation. Ces données ont d'ailleurs été soumises au CLIA pour l'obtention d'une certification.

Les données de validation des courbes de calibration pour les gammes de concentrations faibles et élevées se retrouvent détaillées dans l'annexe D. L'analyse de spécificité et de sélectivité concernant une interférence potentielle du substrat avec le dosage de l'ASNase est présentée à l'annexe E.

Exactitude

L'exactitude intra-essai a été déterminée en analysant dans une seule expérience un minimum de 3 échantillons pour un minimum de 3 concentrations de chacune des gammes de concentrations d'ASNase. La différence entre la valeur attendue et la valeur obtenue ne doit pas excéder 20 %, excepté pour la plus faible concentration pour laquelle un écart jusqu'à 25 % est acceptable. L'exactitude intra-essai pour la gamme de concentrations faibles de 0,01 UI/ml à 0,1 UI/ml est présentée au tableau 10.

Tableau 10 Exemple d'exactitude intra-essai pour la gamme de concentrations faibles d'ASNase PEG

ENRICHISSEMENT ASNase PEG, UI/ml	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT A LA VALEUR ATTENDUE
0	0,001	s.o.
0	0,001	s.o.
0,01	0,011	10
0,01	0,01	0
0,01	0,01	0
0,05	0,049	-2
0,05	0,048	-4
0,05	0,048	-4
0,1	0,097	-3
0,1	0,102	2
0,1	0,1	0

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; PEG : pégylé; s.o. : sans objet; UI : unité internationale

L'exactitude intra-essai pour la gamme de concentrations élevées de 0,15 UI/ml à 1,0 UI/ml est présentée au tableau 11.

Tableau 11 Exemple d'exactitude intra-essai pour la gamme de concentrations élevées d'ASNase PEG

ENRICHISSEMENT ASNase PEG, UI/ml	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT A LA VALEUR ATTENDUE
0	< 0,055	s.o.
0	< 0,055	s.o.
0	< 0,055	s.o.
0	< 0,055	s.o.
0	< 0,055	s.o.
0	< 0,055	s.o.
0,15	0,157	4,7
0,15	0,152	1,3
0,15	0,152	1,3
0,5	0,499	-0,2
0,5	0,491	-1,8
0,5	0,504	0,8
1,0	1,03	3
1,0	0,973	-2,7
1,0	0,995	-0,5

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; PEG : pégylé; s.o. : sans objet; UI : unité internationale

L'exactitude inter-essais a été déterminée en analysant des échantillons de chacune des gammes de concentrations lors d'au moins 3 expériences indépendantes réalisées à différentes journées. La différence entre la valeur attendue et la valeur obtenue ne doit pas excéder 20 %, excepté pour la plus faible concentration pour laquelle un écart jusqu'à 25 % est acceptable. L'exactitude inter-essais pour la gamme de concentrations faibles de 0,01 UI/ml à 0,1 UI/ml est présentée au tableau 12.

Tableau 12 Exemple d'exactitude inter-essais pour la gamme de concentrations faibles d'ASNase PEG

JOUR	ENRICHISSEMENT ASNase PEG, UI/ml	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT A LA VALEUR ATTENDUE
1	0	0,001	s.o.
	0	0,001	s.o.
	0,01	0,011	10
	0,01	0,01	0
	0,01	0,01	0
	0,05	0,049	-2
	0,05	0,048	-4
	0,05	0,048	-4
	0,1	0,097	-3
	0,1	0,102	2
	0,1	0,1	0
2	0	0,001	s.o.
	0	0,001	s.o.
	0,01	0,009	-10
	0,01	0,009	-10
	0,01	0,009	-10
	0,05	0,042	-16
	0,05	0,047	-6
	0,05	0,05	0
	0,1	0,104	4
	0,1	0,092	-8
	0,1	0,08	-20
3	0	0,002	s.o.
	0	0	s.o.
	0,01	0,009	-10
	0,01	0,01	0
	0,01	0,01	0
	0,05	0,046	-8
	0,05	0,046	-8
	0,05	0,044	-12
	0,1	0,092	-8
	0,1	0,097	-3
	0,1	0,1	0

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; PEG : pégylé; s.o. : sans objet; UI : unité internationale

L'exactitude inter-essais pour la gamme de concentrations élevées de 0,15 UI/ml à 1,0 UI/ml est présentée au tableau 13.

Tableau 13 Exemple d'exactitude inter-essais pour la gamme de concentrations élevées d'ASNase PEG

JOUR	ENRICHISSEMENT ASNase PEG, UI/ml	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT À LA VALEUR ATTENDUE
1	0	< 0,055	s.o.
	0	< 0,055	s.o.
	0,15	0,139	-7,3
	0,15	0,128	-14,7
	0,15	0,131	-12,7
	0,5	0,479	-4,2
	0,5	0,474	-5,2
	0,5	0,506	1,2
	1,0	0,986	-1,4
	1,0	0,934	-6,6
	1,0	0,943	-5,7
2	0	< 0,055	s.o.
	0	< 0,055	s.o.
	0,15	0,137	-8,7
	0,15	0,129	-14
	0,15	0,149	-0,7
	0,5	0,46	-8
	0,5	0,473	-5,4
	0,5	0,459	-8,2
	1,0	0,951	-4,9
	1,0	0,94	-6
	1,0	0,99	-1
3	0	< 0,055	s.o.
	0	< 0,055	s.o.
	0,15	0,15	0
	0,15	0,154	2,7
	0,15	0,147	-2
	0,5	0,49	-2
	0,5	0,509	1,8
	0,5	0,511	2,2
	1,0	1,001	0,1

JOUR	ENRICHISSEMENT ASNase PEG, UI/ml	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml	% DIFFÉRENCE PAR RAPPORT À LA VALEUR ATTENDUE
	1,0	1,029	2,9
	1,0	1,004	0,4

Source : tiré des informations fournies par le demandeur. Abréviations : ASNase : L-asparaginase; PEG : pégylé; s.o. : sans objet; UI : unité internationale

Précision

La précision intra-essai a été déterminée en analysant un minimum de 5 échantillons pour des gammes de concentrations d'ASNase dans la même expérience. La différence entre la valeur attendue et la valeur obtenue ne doit pas excéder 20 %, excepté pour la plus faible concentration pour laquelle un écart jusqu'à 25 % est acceptable. La précision intra-essai pour la gamme de concentrations faibles entre 0,01 UI/ml et 0,1 UI/ml est présentée au tableau 14.

Tableau 14 Exemple de précision intra-essai pour la gamme de concentrations faibles d'ASNase PEG

ÉCHANTILLON	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml		
	Concentration faible	Concentration moyenne	Concentration élevée
1	0,010	0,047	0,090
2	0,011	0,046	0,095
3	0,011	0,046	0,094
4	0,010	0,043	0,091
5	0,010	0,045	0,093
Moyenne	0,010	0,045	0,0926
Écart-type	0,000548	0,00152	0,00207
% CV	5,27	3,34	2,24

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; PEG : pégylé; UI : unité internationale

La précision intra-essai pour la gamme de concentrations élevées entre 0,1 UI/ml et 1,0 UI/ml est présentée au tableau 15.

Tableau 15 Exemple de précision intra-essai pour la gamme de concentrations élevées d'ASNase PEG

ÉCHANTILLON	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml		
	Concentration faible	Concentration moyenne	Concentration élevée
1	0,118	0,368	0,652
2	0,114	0,361	0,635
3	0,113	0,338	0,624
4	0,117	0,357	0,651
5	0,120	0,360	0,637
Moyenne	0,116	0,357	0,640
Écart-type	0,00288	0,01125	0,01177
% CV	2,48	3,15	1,84

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; PEG : pégylé; UI : unité internationale

La précision inter-essais a été déterminée en analysant des échantillons de chacune des gammes de concentrations lors d'au moins 3 expériences indépendantes réalisées à différentes journées. La différence entre la valeur attendue et la valeur obtenue ne doit pas excéder 20 %, excepté pour la plus faible concentration pour laquelle un écart jusqu'à 25 % est acceptable. La précision inter-essais pour la gamme de concentrations faibles entre 0,01 UI/ml et 0,1 UI/ml est présentée au tableau 16.

Tableau 16 Exemple de précision inter-essais pour la gamme de concentrations faibles d'ASNase PEG

JOUR	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml		
	Concentration faible	Concentration moyenne	Concentration élevée
1	0,0110	0,047	0,094
2	0,0095	0,038	0,082
Moyenne	0,0102	0,044	0,089
Écart-type	0,000764	0,00520	0,00611
% CV	7,51	11,81	6,89

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; PEG : pégylé; UI : unité internationale

La précision inter-essais pour la gamme de concentrations élevées entre 0,1 UI/ml et 1,0 UI/ml est présentée au tableau 17.

Tableau 17 Exemple de précision inter-essais pour la gamme de concentrations élevées d'ASNase PEG

JOUR	ACTIVITÉ ASNase PEG, UI/ml		
	Concentration faible	Concentration moyenne	Concentration élevée
1	0,118	0,343	0,650
2	0,160	0,437	0,728
3	0,134	0,402	0,724
4	0,117	0,349	0,671
Moyenne	0,1294	0,3798	0,685
Écart-type	0,0185	0,0393	0,0383
% CV	14,31	10,37	5,60

Source : tiré des informations fournies par le demandeur.

Abréviations : ASNase : L-asparaginase; CV : coefficient de variation; PEG : pégylé; UI : unité internationale

Le demandeur a également fourni des données de validation concernant la stabilité des échantillons de sérum ayant subi des cycles de gel/dégel et de sérum enrichi d'ASNase lorsque conservé à température ambiante, à 6°C et à -80°C (annexe F).

6 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire considère les coûts liés à l'ajout au *Répertoire* du test permettant de mesurer l'activité de l'ASNase. Les coûts sont projetés sur un horizon temporel de trois ans selon la perspective du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). L'analyse repose sur des données épidémiologiques ainsi que sur des hypothèses appuyées par des études cliniques et l'opinion d'experts.

L'évaluation des coûts est présentée au tableau 18. Les principales hypothèses émises pour les fins de l'analyse sont les suivantes :

- Selon le demandeur, l'analyse proposée ciblerait principalement les patients atteints de LLA.
- Il est estimé qu'environ 100 nouveaux cas de LLA sont diagnostiqués chaque année au Québec dont 70 % chez les patients pédiatriques et 30 % chez les adultes.
- Selon le demandeur, 60 % des patients pédiatriques atteints de LLA au Québec seraient pris en charge par des établissements participant au protocole de recherche du DFCI. Notons que seuls les patients pédiatriques sont enrôlés dans ce programme de recherche.
- En considérant que tous les patients admissibles au protocole de recherche acceptent d'y participer, 40 à 45 patients pédiatriques seraient alors suivis par le programme d'étude du DFCI. Notons que le DFCI finance les analyses permettant le dosage de l'ASNase chez ces patients.
- Le demandeur estime qu'environ 20 % de ces patients développeraient une allergie à la forme d'asparaginase utilisée. Dans ce cas, le protocole ne prévoit pas fournir une autre formulation d'ASNase ni d'en faire le dosage et donc d'en supporter les coûts.
- Aucune étude du COG ne serait présentement en cours pour les nouveaux cas de LLA.
- Tous les patients atteints de LLA au Québec, qu'ils soient inclus ou non dans un protocole de recherche, recevraient un traitement avec l'ASNase.
- Ainsi, 25 à 30 patients pédiatriques atteints de LLA ne feraient pas partie d'un programme de recherche du DFCI ni d'aucun autre programme de recherche, en plus de 30 patients adultes qui n'y sont pas admissibles. De plus, parmi les enfants sous le protocole de recherche du DFCI, environ 8 patients présentant des allergies justifiant d'utiliser une autre forme d'ASNase devraient être pris en charge hors protocole.
- Le demandeur estime que 10 analyses seraient réalisées par patient traité avec l'ASNase.
- Ainsi, environ 650 analyses seraient requises au cours de chacune des trois prochaines années pour assurer le suivi du dosage de l'ASNase chez les

patients qui ne sont pas pris en charge par un protocole de recherche ou chez qui une réaction allergique est survenue en cours de protocole.

- Aucune analyse n'a fait l'objet d'envoi hors Québec en 2015-2016.
- La valeur pondérée proposée par le demandeur est de 38,90.

Tableau 18 Coûts liés à l'introduction au Répertoire de l'analyse permettant la mesure de l'activité de l'ASNase

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Analyses de l'ASNase	650	650	650	1 950
Impact net	25 285 \$	25 285 \$	25 285 \$	75 855 \$
Analyses de sensibilité	Pour 3 ans, coûts les plus faibles			57 183 \$
	Pour 3 ans, coûts les plus élevés			96 861 \$

Ainsi, l'ajout de l'analyse permettant de mesurer l'activité de l'ASNase pourrait générer des coûts supplémentaires d'environ 75 855 \$ pour le total des trois premières années.

Advenant qu'aucun patient québécois atteint de LLA ne soit pris en charge par un programme de recherche, environ 1 000 analyses seraient réalisées annuellement pour des coûts supplémentaires évalués à 116 700 \$.

Par ailleurs, selon les experts consultés, les données publiées actuellement disponibles ne permettent pas un ajustement posologique précis de l'ASNase en fonction de la mesure de son activité sérique. Ainsi, l'impact économique lié à cet ajustement n'a pas été évalué.

7 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Le CHU Sainte-Justine participe depuis plusieurs années aux protocoles de recherche du DFCl et du COG visant à améliorer le traitement des leucémies pédiatriques.

Au Québec, la majorité des enfants diagnostiqués avec une LLA ou un lymphome sont traités au CHU Sainte-Justine avec une des trois formulations d'ASNase (*E. coli* ASNase, *Erwinia* ASNase, ASNase PEG). La prescription d'une dose d'une de ces formulations en absence de suivi de l'activité enzymatique de l'ASNase pourrait porter préjudice au patient en augmentant les risques de sous-dosage (inactivation silencieuse) ou de surdosage (pancréatite, thrombose). L'analyse de l'activité de l'ASNase garantirait une optimisation du traitement qui se traduirait par les bénéfices suivants : une amélioration de l'issue thérapeutique et une réduction du rapport coût/bénéfice.

8 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'ORGANISATIONS D'INTÉRÊT CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Selon un guide de pratique publié par un consensus d'experts de l'European Hematology Association dont The Hospital for Sick Children et le Dana-Farber Cancer Institute font partie, la mesure de l'activité de l'ASNase est le meilleur indicateur de l'efficacité du traitement à l'ASNase et le maintien de l'activité enzymatique égale ou supérieure à un seuil de 0,1 UI/ml assure un bénéfice thérapeutique [Van der Sluis *et al.*, 2016].

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Mesure de l'activité de la L-asparaginase

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ L'utilité de l'analyse proposée pour certaines applications cliniques particulières ainsi que l'expertise du centre demandeur sont reconnues.
- ✓ Il est suggéré au centre demandeur de mettre en place un mécanisme de contrôle de qualité externe.

RÉFÉRENCES

- Ahlke E, Nowak-Gottl U, Schulze-Westhoff P, Werber G, Borste H, Wurthwein G, et al. Dose reduction of asparaginase under pharmacokinetic and pharmacodynamic control during induction therapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1997;96(4):675-81.
- Asselin B et Rizzari C. Asparaginase pharmacokinetics and implications of therapeutic drug monitoring. *Leuk Lymphoma* 2015;56(8):2273-80.
- Bleyer A, Asselin BL, Koontz SE, Hunger SP. Clinical application of asparaginase activity levels following treatment with pegaspargase. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62(6):1102-5.
- Boos J, Werber G, Ahlke E, Schulze-Westhoff P, Nowak-Gottl U, Wurthwein G, et al. Monitoring of asparaginase activity and asparagine levels in children on different asparaginase preparations. *Eur J Cancer* 1996;32A(9):1544-50.
- Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, Storti S, Mariani G, de Gaetano G, Donati MB. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: A meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood* 2006;108(7):2216-22.
- Hijiya N et van der Sluis IM. Asparaginase-associated toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2016;57(4):748-57.
- Kloos RQ, Pieters R, Escherich G, van der Sluis IM. Allergic-like reactions to asparaginase: Atypical allergies without asparaginase inactivation. *Pediatr Blood Cancer* 2016;63(11):1928-34.
- Lanvers C, Vieira Pinheiro JP, Hempel G, Wurthwein G, Boos J. Analytical validation of a microplate reader-based method for the therapeutic drug monitoring of L-asparaginase in human serum. *Anal Biochem* 2002;309(1):117-26.
- Lanvers-Kaminsky C. Asparaginase pharmacology: Challenges still to be faced. *Cancer Chemother Pharmacol* 2017;79(3):439-50.
- Sassen SD, Mathot RA, Pieters R, Kloos RQ, de Haas V, Kaspers GJ, et al. Population pharmacokinetics of intravenous Erwinia asparaginase in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. *Haematologica* 2017;102(3):552-61.
- Schrey D, Borghorst S, Lanvers-Kaminsky C, Hempel G, Gerst J, Moricke A, et al. Therapeutic drug monitoring of asparaginase in the ALL-BFM 2000 protocol between 2000 and 2007. *Pediatr Blood Cancer* 2010;54(7):952-8.
- Société canadienne du cancer (SCC). Statistiques canadiennes sur le cancer 2017. Sujet particulier : Le cancer du pancréas. Toronto, ON : SCC; 2017. Disponible à : <http://www.cancer.ca/~media/cancer.ca/CW/cancer%20information/cancer%20101/Canadian%20cancer%20statistics/Canadian-Cancer-Statistics-2017-FR.pdf>.
- Société de leucémie et lymphome du Canada (SLLC). La leucémie lymphoblastique aiguë. Montréal, Qc : SLLC; 2017. Disponible à :

http://www.sllcanada.org/sites/default/files/National/CANADA/Pdf/InfoBooklets/FR/PNT4497-PS33_ALL_Booklet_8_16_V7_LR.pdf (consulté le 7 mars 2018).

- Therrien R, Delisle J-F, Ferland G, Larocque D, McMahon J, Pedneault L, et al. Le cancer chez l'enfant. *Pharmactuel* 2013;46(3):192-202.
- Tong WH, Pieters R, de Groot-Kruseman HA, Hop WC, Boos J, Tissing WJ, van der Sluis IM. The toxicity of very prolonged courses of PEGasparaginase or Erwinia asparaginase in relation to asparaginase activity, with a special focus on dyslipidemia. *Haematologica* 2014;99(11):1716-21.
- Van der Sluis IM, Vrooman LM, Pieters R, Baruchel A, Escherich G, Goulden N, et al. Consensus expert recommendations for identification and management of asparaginase hypersensitivity and silent inactivation. *Haematologica* 2016;101(3):279-85.

ANNEXE A

Diagnostic différentiel de l'hypersensibilité par le suivi de l'activité de l'ASNase

	allergic reaction to asparaginase	silent inactivation	allergic-like reactions to asparaginase	ASE-antibodies without silent inactivation
clinical symptoms of hypersensitivity	yes	no	yes	no
Ab-levels	yes	yes	no/yes	yes
ASE-activity	no	no	yes	yes

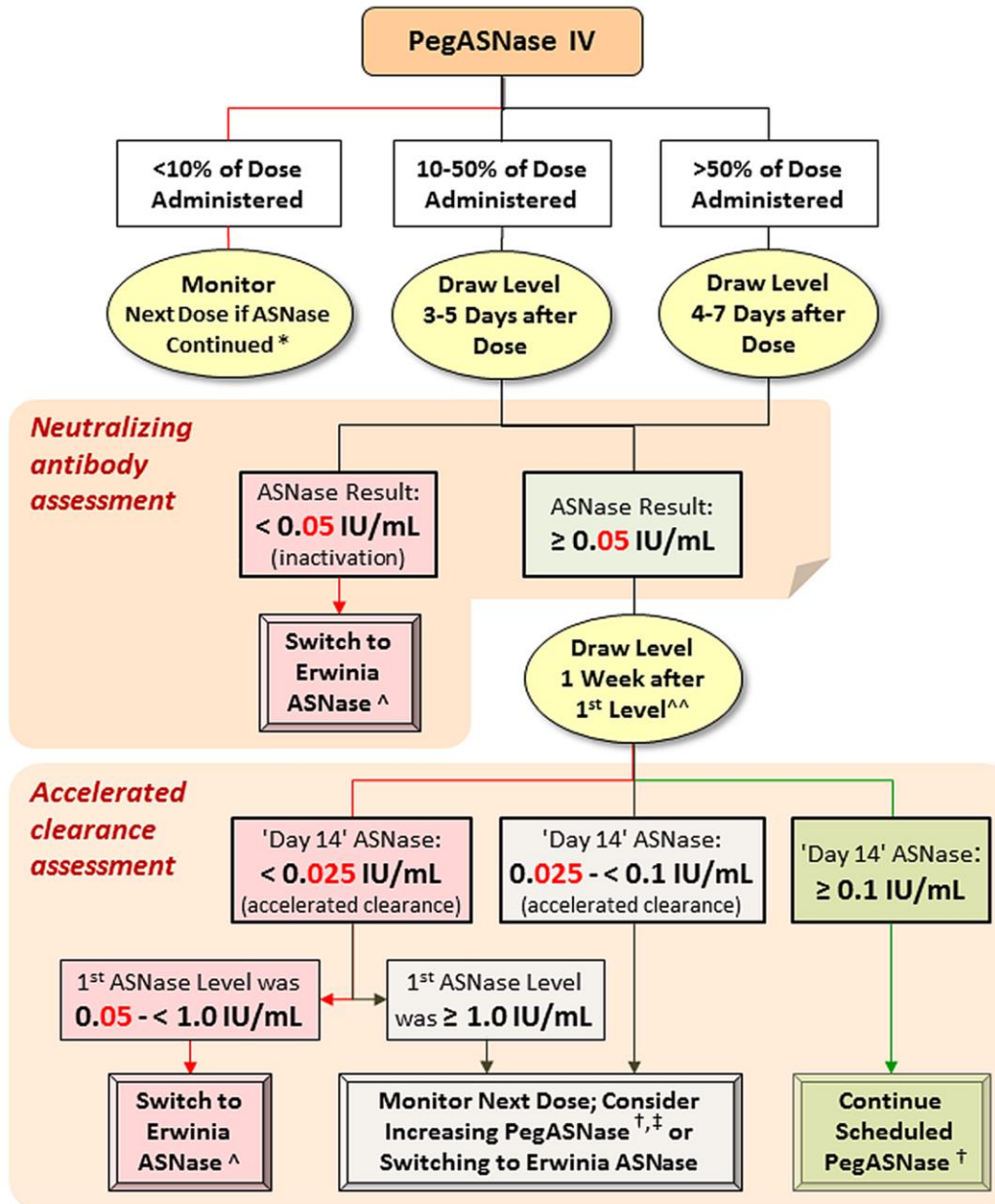
Switch of ASNASE preparation

Avoidance of unnecessary switch of ASNASE preparation

Source : tiré de Lanvers-Kaminsky, 2017.

ANNEXE B

Détermination du plan de traitement avec l'ASNase peg suivie par la mesure de l'activité de l'ASNase



* In most instances, the ASNase preparation would be discontinued

^^ 7 days after 1st sample

^ 6 doses of 25,000 IU/m² IM at 2-3 day intervals for each scheduled dose of pegASNase

† With premedication to prevent a clinical allergic reaction if ASNase levels monitored

‡ Administering another dose of pegASNase should be considered,¹⁷ as well as monitoring future doses levels and continued accelerated terminal-phase disappearance

Source : tiré de Bleyer *et al.*, 2015.

ANNEXE C

Tableau d'extraction des données pertinentes pour les sections relatives à la valeur thérapeutique et à la validité analytique de l'analyse

ÉTUDE	BUTS	POPULATION	TRAITEMENT	ACTIVITÉ DE L'ASNASE	RÉSULTATS	CONCLUSIONS
Valeur thérapeutique						
Sassen [2017] Étude prospective multicentrique : 7 centres d'oncologie pédiatrique (Pays-Bas)	Décrire la pharmacocinétique de l' <i>Erwinia</i> ASNase administrée par voie intraveineuse chez des enfants diagnostiqués pour la LLA et déterminer l'association avec les caractéristiques des patients.	Patients âgés de 1 à 18 ans diagnostiqués LLA traités selon les protocoles : DCOG ALL-10 (1 ^{er} novembre 2004 au 1 ^{er} avril 2012) DCOG ALL-11 (depuis le 1 ^{er} avril 2012 et toujours en cours) 714 échantillons (51 patients) Suivi du 1 ^{er} mai 2009 au 5 février 2015	DCOG ALL-10 et ALL-11 <i>Erwinia</i> ASNase intraveineuse Dose les 2 premières sem : 20 000 UI/m ² 3 fois/sem Sem suivantes : si 72 hrs après la dose < 0,1 UI/ml, ajuster la dose et donner 2 fois/sem	Dosage spectrophotométrique de l'indooxine* LIQ 0,005 UI/ml	<u>Activité médiane de l'ASNase durant les 2 premières sem</u> 48 hrs après la dose : 0,1662 UI/ml (75,4 % à ≥ 0,1 UI/ml) 72 hrs après la dose : 0,0484 UI/ml (26,4 % à ≥ 0,1 UI/ml) <u>Activité médiane de l'ASNase durant l'ajustement de la dose</u> 48 hrs après la dose : 0,1910 UI/ml (82,6 % à ≥ 0,1 UI/ml) 72 hrs après la dose : 0,0837 UI/ml (39,5 % à ≥ 0,1 UI/ml) <u>Variabilité interindividuelle :</u> 33 % (IC 95 % : 20) <u>Variabilité interoccasion mensuelle :</u> 13 % (IC 95 % : 8)	Cette étude montrent qu'avec la dose d' <i>Erwinia</i> ASNase administrée, environ 25 % des patients n'atteignent pas la concentration seuil de 0,1 UI/ml 48 heures après leur première dose. Ce phénomène est plus présent chez les patients ayant un faible poids corporel.
Schrey [2010] Programme de suivi, partie du protocole d'essai ALL-BFM 2000 (Allemagne)	Estimer l'intensité du traitement à l'ASNase en utilisant la mesure de l'activité de l'ASNase chez des patients diagnostiqués et traités pour la LLA.	Tous les patients diagnostiqués pour la LLA traités avec le protocole ALL-BFM-2000 Suivi de janvier 2000 à septembre 2007 : 2 074 échantillons (763 patients)	Protocole ALL-BFM 2000 <i>E. coli</i> ASNase : 5 000 UI/m ² (intensification 10 000 UI/m ²) <i>Erwinia</i> ASNase : 10 000 UI/m ² ASNase PEG : 1 000 UI/m ²	Dosage spectrophotométrique de l'indooxine*	<u>Activité médiane de l'ASNase</u> <i>E. coli</i> ASNase (n = 1 095) : Après 3 jrs : 0,229 UI/ml (11 % à ≤ 0,1 UI/ml) Intensification après 3 jrs : 0,540 UI/ml (7 % à ≤ 0,1 UI/ml) <i>Erwinia</i> ASNase (intraveineuse et intramusculaire, n = 97): Après 2 jrs : 0,142 UI/ml (33 % à ≤ 0,1 UI/ml) ASNase PEG (7 jrs n = 296, 14 jrs n = 69) Après 7 jrs : 0,333 UI/ml (28 % à ≤ 0,1 UI/ml) Après 14 jrs : 0,130 UI/ml (48 % à ≤ 0,1 UI/ml)	Cette étude montre que les données du suivi constituent la base d'une thérapie ciblée, c'est-à-dire une réduction de dose personnalisée.

ÉTUDE	BUTS	POPULATION	TRAITEMENT	ACTIVITÉ DE L'ASNASE	RÉSULTATS	CONCLUSIONS
Kloos [2016] Étude descriptive associée aux protocoles CoALL 08-09, DCOG ALL-11 et DCOG ALL-10	Décrire les réactions de type allergique et les comparer afin de trouver des différences utiles en pratique clinique pour les distinguer en mesurant l'activité de l'ASNase chez des patients diagnostiqués et traités pour la LLA.	Patients avec réactions allergiques (symptômes) sans inactivation de l'ASNase (protocoles CoALL 08-09 et DCOG ALL-11) : n = 9 Patients allergiques avec inactivation de l'ASNase (protocole DCOG ALL-10) : n = 15	Protocole CoALL 08-09 (3-4 doses ASNase PEG 1-2 doses 2 500 UI/m ²) Protocole DCOG ALL-11 (3 doses ASNase PEG 1 500 UI/m ²) Protocole DCOG ALL-10 (8 doses <i>E. coli</i> 5 000 UI/m ² et 15 doses ASNase PEG à 2 500 UI/m ² 2 fois/sem)	Dosage spectrophotométrique de l'indooxine*	Les réactions de type allergique surviennent relativement tard après le début de la perfusion (5 min à 24 hrs) comparativement aux allergies réelles (1 à 20 min). Chez tous les patients (sauf un) avec une réaction allergique fausses, les anticorps étaient absents, alors que des anticorps étaient détectés chez tous les patients avec une réaction allergique réelle. Les symptômes et le grade ne différaient pas entre les groupes.	Malgré ces différences cliniques, les réactions allergiques fausses peuvent être distinguées des allergies réelles uniquement en suivant les niveaux d'activité de l'ASNase.
Tong [2014] Étude prospective : 2 centres d'oncologie pédiatrique (Pays-Bas)	Évaluer l'incidence de la pancréatite, de la thrombose, de l'hyperammoniémie, de l'hypercholestérolémie et de l'hypertriglycémie et leur association avec les niveaux d'activité de l'ASNase.	Patients diagnostiqués LLA traités selon le protocole DCOG ALL-10 (juillet 2009 à octobre 2012) : 89 patients	Protocole DCOG ALL-10 (8 doses <i>E. coli</i> 5 000 UI/m ² aux 3 jrs et 15 doses ASNase PEG à 2 500 UI/m ² 2 fois/sem ou <i>Erwinia</i> ASNase à 20 000 UI/m ² si allergie ou inactivation), durée 30 sem	Dosage spectrophotométrique de l'indooxine* LIQ 0,001 UI/ml	<u>Occurrence (% patients)</u> Thrombose 4,5 % Pancréatite 7,9 % Neurotoxicité 9,0 % Hyperammoniémie 50 % Hypercholestérolémie 35 % Hypertriglycémie 60 % <u>Corrélation avec l'activité de l'ASNase</u> Thrombose : aucune Pancréatite : aucune Neurotoxicité : aucune Hyperammoniémie : aucune Hypercholestérolémie : 0,35 (p = 0,01) Hypertriglycémie : 0,36 (p = 0,005)	Les niveaux élevés de l'activité de l'ASNase sont associés avec les niveaux élevés de triglycérides et de cholestérol mais ne sont pas associés avec la survenue de thrombose, de pancréatite ou de neurotoxicité.

ÉTUDE	BUTS	POPULATION	TRAITEMENT	ACTIVITÉ DE L'ASNASE	RÉSULTATS	CONCLUSIONS
Validité analytique						
Lanvers [2002] Étude méthodologique	Décrire le développement et la validation d'une méthode de quantification d'ASNase dans du sérum humain basé sur l'hydrolyse du β-hydroxamate L-aspartique (méthode indooxine).	Variabilité intrajour 8 réplicas d'une gamme de concentrations (0,00245-1,250 UI/ml) Variabilité interjour 20 échantillons de faible concentration (0,00245-0,075 UI/ml) et de concentration élevée (0,075-1,250 UI/ml)	Recouvrement Échantillons enrichis d'ASNase Stabilité de l'ASNase -20°C, 4°C, et température ambiante	Dosage spectrophotométrique de l'indooxine* LIQ 0,001 UI/ml (comparé au dosage spectrophotométrique avec la solution de Nessler, LIQ 0,02 UI/ml)	<u>Reproductibilité : % CV intrajour (n = 8)</u> <i>E. coli</i> : 2,72 à 6,53 % ASNase PEG : 1,98 à 5,70 % <i>Erwinia</i> ASNase : 2,11 à 8,77 % <u>Précision : % CV interjour (n = 20)</u> <i>E. coli</i> : 2,12 à 8,20 % ASNase PEG : 1,73 à 10,7 % <i>Erwinia</i> ASNase : 2,81 à 11,0 % <u>% de recouvrement (<i>E. coli</i>, ASNase PEG, <i>Erwinia</i> ASNase)</u> Indooxine : 101 %, 101 %, 101 % Nessler : 110 %, 129 %, 95,7 % Stabilité de l'ASNase dans le sang 7 jrs à température ambiante à 4°C et 8-72 hres à température ambiante	Les résultats montrent que cette méthode permet le suivi des différentes préparations d'ASNase.

Abréviations : ALL : *acute lymphoblastic leukemia*; ASNase : L-asparaginase; CCG : Children's Cancer Group; COG : Children's Oncology Group; CV : coefficient de variation; DFCI : Dana-Farber Cancer Institute; DCOG : Dutch Childhood Oncology Group; *E.coli* : *Escherichia coli*; IC : intervalle de confiance; LIQ : limite inférieure de quantification; LLA : leucémie lymphoblastique aiguë; PEG : pégylé; sem : semaine; UI : unité internationale.

* méthode visée par cette nouvelle analyse

ANNEXE D

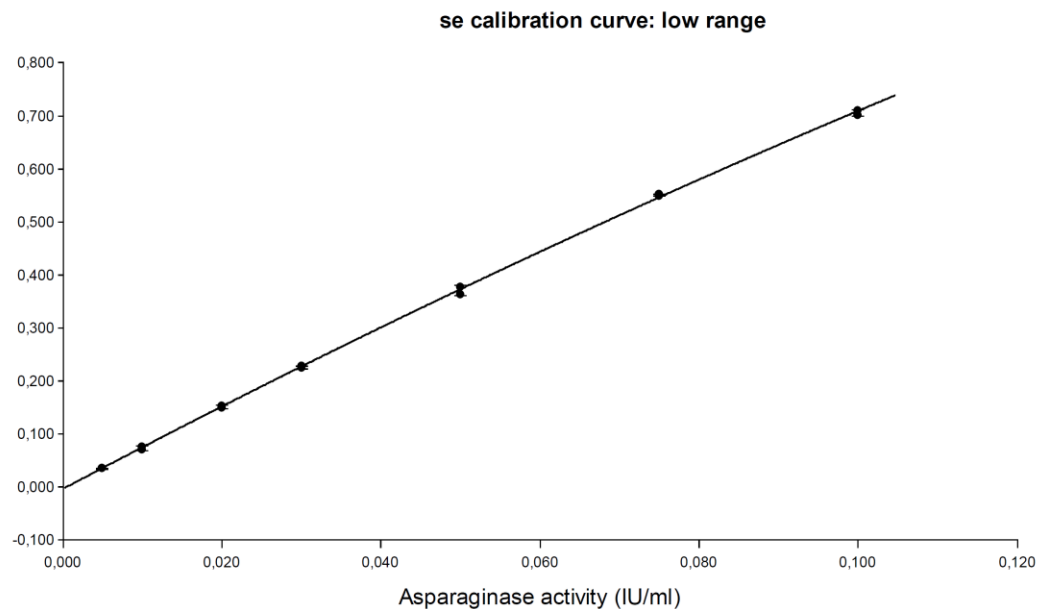
Données de validation des courbes de calibration

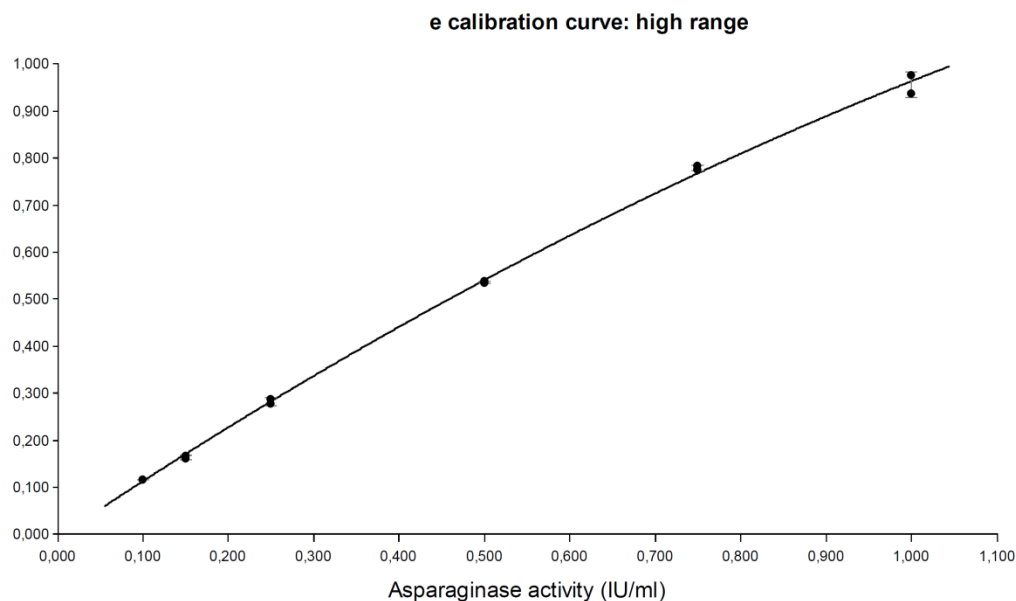
The calibration standards are prepared in serum, the same matrix as the matrix of the intended study samples, by spiking the blank matrix with known amounts of pegaspargase. The low calibration curve range is defined by the LLOQ being the lowest calibration standard (0.005 IU/ml) and the upper limit of quantification (ULOQ), being the highest calibration standard (0.1 IU/ml). The high calibration curve range is defined by the LLOQ being the lowest calibration standard (0.1 IU/ml) and the upper limit of quantification (ULOQ), being the highest calibration standard (1 IU/ml). In addition to the blank sample (processed serum without pegaspargase), the following calibration levels are used:

- Low range pegaspargase: 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.075 and 0.1 IU/ml of serum
- High range pegaspargase: 0.1, 0.15, 0.25, 0.5, 0.75 and 1.0 IU/ml of serum

Each calibration standard is analysed in replicate.

Examples of low and high range calibration curve for pegaspargase:





Calibration curve parameters are calculated after absorbance of blank sample had been subtracted from the absorbance of each calibration standard. The calibration curve parameters are best reported using a quadratic curve fit:

- $y = A + Bx + Cx^2$

Low-range calibration curve parameter report (Gen5, V3.02.2, BioTek) for the low-range graph above

Curve Name	Curve Formula	Parameter	Value	Std. Error	95% CI min	95% CI max	R ²
Std Curve PEG	$y = A + Bx + Cx^2$	A	-0,00455	0,00136	-0,00756	-0,00155	0.999
		B	7,94	0,121	7,67	8,2	
		C	-8,1	1,36	-11,1	-5,11	

High-range calibration curve parameter report (Gen5, V3.02.2, BioTek) for the high-range graph above

Curve Name	Curve Formula	Parameter	Value	Std. Error	95% CI min	95% CI max	Fit F Prob
StdCurvePEG C	$Y = C \cdot X^2 + B \cdot X + A$	A	-0,00773	0,0064	-0,0222	0,00674	?????
		B	1,22	0,0433	1,12	1,32	
		C	-0,249	0,0436	-0,347	-0,15	

The back calculated ASE activity of the calibration standards should be within $\pm 20\%$ of the nominal value, except for the LLOQ for which it should be within $\pm 25\%$. At least 75% of the calibration standards must fulfil this criterion. For replicates, the criteria (within $\pm 15\%$ or $\pm 20\%$ for LLOQ) should also be fulfilled for at least 50% of the calibration standards tested per activity level. In case a calibration standard does not comply with these criteria, this calibration standard sample should be rejected, and the calibration curve without this calibration standard should be re-evaluated, including regression analysis. In case all replicates of the LLOQ or the ULOQ calibration standard are rejected then the calibration curve could not be accepted. Then, the possible source of the failure should be determined. If the next calibration curve also fails, then the method should be revised before restarting ASE analysis.

Example of back-calculated ASE activity for pegaspargase low range calibration curve:

Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Back-calculated difference in ASE activity (%)	Pass/fail
A1	Blank	0	0,001	0,001	-	-
A4	Blank	0	-0,001	0,001	-	-
B4	Std PEG 0.005	0,005	0,035	0,005	0	Pass
B5	Std PEG 0.005	0,005	0,036	0,005	0	Pass
C4	Std PEG 0.01	0,01	0,076	0,01	0	Pass
C5	Std PEG 0.01	0,01	0,071	0,01	0	Pass
D4	Std PEG 0.02	0,02	0,154	0,02	0	Pass
D5	Std PEG 0.02	0,02	0,149	0,02	0	Pass
E4	Std PEG 0.03	0,03	0,227	0,03	0	Pass
E5	Std PEG 0.03	0,03	0,224	0,03	0	Pass
F4	Std PEG 0.05	0,05	0,377	0,051	+ 2	Pass
F5	Std PEG 0.05	0,05	0,364	0,049	- 2	Pass
G4	Std PEG 0.075	0,075	0,551	0,076	+ 1,3	Pass
G5	Std PEG 0.075	0,075	0,549	0,076	+ 1,3	Pass
H4	Std PEG 0.1	0,1	0,71	0,1	0	Pass
H5	Std PEG 0.1	0,1	0,701	0,099	- 1	Pass

Example of back-calculated ASE activity for pegaspargase high range calibration curve:

Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Back-calculated difference in ASE activity (%)	Pass/fail
A1	Blank	0	0,002	<0,055	-	-
A2	Blank	0	0	<0,055	-	-
A7	Blank	0	-0,002	<0,055	-	-
A8	Blank	0	-0,001	<0,055	-	-
A10	Blank	0	-0,001	<0,055	-	-
A11	Blank	0	0,003	<0,055	-	-
B10	Std PEG 0.1	0,1	0,115	0,103	+ 3	Pass
B11	Std PEG 0.1	0,1	0,116	0,104	+ 4	Pass
C10	Std PEG 0.15	0,15	0,167	0,147	- 2	Pass
C11	Std PEG 0.15	0,15	0,16	0,142	- 5,3	Pass
D10	Std PEG 0.25	0,25	0,288	0,256	+ 2,4	Pass
D11	Std PEG 0.25	0,25	0,277	0,245	- 2	Pass
E10	Std PEG 0.5	0,5	0,535	0,495	- 1	Pass
E11	Std PEG 0.5	0,5	0,538	0,498	- 0,4	Pass
F10	Std PEG 0.75	0,75	0,784	0,771	+ 2,8	Pass
F11	Std PEG 0.75	0,75	0,775	0,76	+ 1,3	Pass
G10	Std PEG 1.0	1	0,975	1,017	+1,7	Pass
G11	Std PEG 1.0	1	0,937	0,965	- 3,5	Pass

Although the calibration curve should preferably be prepared using freshly spiked samples, it is allowed to use previously prepared and stored calibration samples, if supported by appropriate stability data (see stability data below).

ANNEXE E

Données de validation de la spécificité et de la sélectivité (interférence potentielle avec le substrat)

The specificity of the microplate reader assay for the measurement of ASE activity refers to the ability of AHA (the substrate) to specifically react with pegaspargase. Ideally, AHA should be specific for pegaspargase, without cross-reactivity with other structurally or functionally related compounds that may be present in the sample. However, human serum is known to contain endogenous glycosylasparaginase, which due to similarities in the mechanism of action might also hydrolyze AHA. Although a mean ($\pm$ SD) of $0,02 \pm 0,005$ IU/l glycosylasparaginase has been found in human serum of healthy individuals as determined by hydrolysis of L-aspartic β -(7-amido-4-methylcumarin) within 4 hours, no ASE activity above 0.0025 IU/ml was observed by Mononen et al (1994) in blank serum of patients prior to ASE therapy. Our data (see the three tables below) clearly showed that there is only a very limited hydrolysis of AHA when added (at a concentration of 2 mM and 10 mM for low and high range ASE activity, respectively) to blank serum of healthy individuals. The difference in mean absorbances between serum samples that contained or not AHA were 0,011 (2mM AHA) and 0,018 (10 mM AHA). Based on mean values, this 'endogenous' hydrolysis of AHA represents only a fraction of that associated with pegaspargase 0,005 IU/ml (LLOQ low range) and 0.1 IU/ml (LLOQ high range):

Low range: $(0,011 / 0,098 - 0,058) \times 100 = 27,5\%$

High range: $(0,018 / 0,181 - 0,065) \times 100 = 15,5\%$

Cross reactivity of AHA with compounds that may be present in serum: low-range asparaginase activity

Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (710 nm)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Difference from the nominal value (%)	Pass/fail
A4	Blank (2 mM AHA)	0	0,059	0,001	0	-	-
B4	Blank (2 mM AHA)	0	0,058	0	<0,000	-	-
C4	Blank (2 mM AHA)	0	0,058	0	<0,000	-	-
D4	Blank (2 mM AHA)	0	0,057	-0,001	<0,000	-	-
A2	QC PEG 0,01	0,01	0,124	0,066	0,008	-20,0	Fail
A3	QC PEG 0,01	0,01	0,128	0,069	0,009	-10,0	Pass
B3	QC PEG 0,01	0,01	0,126	0,068	0,009	-10,0	Pass
C3	QC PEG 0,05	0,05	0,382	0,323	0,044	-12,0	Pass
D3	QC PEG 0,05	0,05	0,382	0,323	0,044	-12,0	Pass
E3	QC PEG 0,05	0,05	0,381	0,322	0,044	-12,0	Pass
F3	QC PEG 0,1	0,1	0,673	0,615	0,095	-5,0	Pass
G3	QC PEG 0,1	0,1	0,667	0,609	0,094	-6,0	Pass
H3	QC PEG 0,1	0,1	0,675	0,617	0,095	-5,0	Pass
B1	LLOQ PEG 0,005	0,005	0,096	0,038	0,005	0	Pass
B2	LLOQ PEG 0,005	0,005	0,100	0,042	0,005	0	Pass
A5	Blank without AHA	0	0,045	-0,013	<0,000	-	-
B5	Blank without AHA	0	0,046	-0,012	<0,000	-	-
C5	Blank without AHA	0	0,046	-0,012	<0,000	-	-
D5	Blank without AHA	0	0,045	-0,013	<0,000	-	-

Cross reactivity of AHA with compounds that may be present in serum: high-range asparaginase activity

Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (710 nm)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Difference from the nominal value (%)	Pass/fail
E5	Blank (10 mM AHA)	0	0,066	-0,001	<0,055	-	-
F5	Blank (10 mM AHA)	0	0,065	-0,002	<0,055	-	-
G5	Blank (10 mM AHA)	0	0,066	-0,001	<0,055	-	-
H5	Blank (10 mM AHA)	0	0,068	0,001	<0,055	-	-
F3	QC PEG 0,15	0,15	0,221	0,154	0,134	11,7	Pass
G3	QC PEG 0,15	0,15	0,229	0,161	0,141	6,0	Pass
H3	QC PEG 0,15	0,15	0,235	0,168	0,147	2,0	Pass
F4	QC PEG 0,5	0,5	0,539	0,472	0,438	12,4	Pass
G4	QC PEG 0,5	0,5	0,562	0,495	0,462	7,6	Pass
H4	QC PEG 0,5	0,5	0,589	0,522	0,491	1,8	Pass
A5	QC PEG 1	1	0,894	0,827	0,868	-13,2	Pass
B5	QC PEG 1	1	0,91	0,843	0,89	11,0	Pass
C5	QC PEG 1	1	0,894	0,827	0,868	13,2	Pass
B1	LLOQ PEG 0,1	0,1	0,178	0,111	0,097	-3,0	Pass
B2	LLOQ PEG 0,1	0,1	0,183	0,116	0,101	1,0	Pass
A6	Blank without AHA	0	0,046	-0,021	<0,055	-	-
B6	Blank without AHA	0	0,048	-0,019	<0,055	-	-
C6	Blank without AHA	0	0,045	-0,022	<0,055	-	-
D6	Blank without AHA	0	0,045	-0,022	<0,055	-	-

Mean absorbance of blank serum enriched or not with AHA and pegaspargase LLOQ samples (low and high ranges)

	Blank low range (2 mM AHA)	Blank high range (10 mM AHA)	Blank (without AHA)	LLOQ low range (0,005 IU/ml)	LLOQ high range (0,1 IU/ml)
Mean Absorbance	0,0580	0,065	0,047	0,098	0,181

Specificity is sometimes related to the concept of cross reactivity. Even though AHA has been shown to specifically cross react with other commercially available bacterial forms of ASE (*E. Coli* native ASE and *Erwinia* ASE), this would not affect the specificity of the assay as these forms are not co-administered with pegaspargase. Although highly unlikely, the possibility of back-conversion of ASE-IgG antibody complexes into ASE (in serum samples of patients with silent inactivation to pegaspargase) during the successive steps of the analysis could not be ruled out.

The microplate reader assay is able to differentiate the level of ASE activity from endogenous components in the matrix or from other components in the sample. Selectivity has been demonstrated by using serum from at least 6 healthy individuals, not taking any medications at the time of sampling. The samples were individually analysed and evaluated for interference. Normally, absence of interfering components is accepted where the response is less than 20% of that of the lower limit of quantification for the pegaspargase. It was also necessary to investigate the extent of any interference caused by possible metabolites of asparaginase, interference from degradation products formed during sample preparation, and interference from possible co-administered medications. Although, co-medications normally used in the treatment (DFCI protocol) of children with ALL are unlikely to interfere with the microplate reader assay, this should be taken into account at the present stage of method validation. Since patients receive every 3-week, cycles of chemotherapy based on vincristine, dexamethasone, 6-mercaptopurine, methotrexate) until 24 months (104 weeks) from date of complete remission, we used some left-over serum samples collected for patients that had completed their ASE treatments to test possible interferences from these co-medications. Several other concomitant medications such as trimethoprim-sulfamethoxazole, non-steroidal anti-inflammatory drugs, antidepressant agents,... might also have been used. Testing for interference was carried out in blank serum samples of 6 healthy individuals and serum samples of 12 patients with ALL (samples were collected weeks after completion of *E Coli* ASE treatment). Serum samples of these two groups were also spiked with a low amount of peraspargase (0,05 IU/ml). As demonstrated in the table below, no interferences were seen in blank or spiked serum of healthy individuals. With the exception of patient #6 (which was found later on to had completed *E Coli* asparaginase treatment only days before sampling), no interferences were seen in serum of patients. The low accuracy in the measurement of ASE activity in spiked samples from patients is most likely related to very low finger prick left over serum volume (less than 50 µl) and their spiking with even lower volume of pergaspargase solution (2 µl).

Testing for interferences with ASE activity in serum samples from healthy individuals and patients with ALL

Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Difference from the expected value (%)	Pass/fail
A1	Blank	0	-0,008	<0,000	<20% LLOQ	Pass
A4	Blank	0	0,008	<0,000	<20% LLOQ -	Pass
A5	QC PEG 0,01	0,01	0,076	0,008	-20	Fail
A6	QC PEG 0,01	0,01	0,07	0,007	-30	Fail
B6	QC PEG 0,01	0,01	0,092	0,009	-10	Pass
C6	QC PEG 0,05	0,05	0,36	0,045	-10	Pass
D6	QC PEG 0,05	0,05	0,34	0,042	-16	Pass
E6	QC PEG 0,05	0,05	0,348	0,043	-14	Pass
F6	QC PEG 0,1	0,1	0,645	0,1	0	Pass
G6	QC PEG 0,1	0,1	0,676	0,109	9	Pass
H6	QC PEG 0,1	0,1	0,626	0,095	-5	Pass
A7	Healthy Individual # 1	0	-0,003	<0,000	<20% LLOQ	Pass
C7	Healthy Individual # 1	0,05	0,343	0,042	-16	Pass
E7	Healthy Individual # 2	0	0,017	0,001	<20% LLOQ	Pass
G7	Healthy Individual # 2	0,05	0,453	0,06	20	Fail
A8	Healthy Individual # 3	0	-0,002	<0,000	<20% LLOQ	Pass
C8	Healthy Individual # 3	0,05	0,394	0,05	0	Pass
E8	Healthy Individual # 4	0	0,029	0,002	<20% LLOQ	Pass
G8	Healthy Individual # 4	0,05	0,382	0,048	-4	Pass
A9	Healthy Individual # 5	0	-0,009	<0,000	<20% LLOQ	Pass
C9	Healthy Individual # 5	0,05	0,349	0,043	-14	Pass

E9	Healthy Individual # 6	0	0,026	0,002	<20% LLOQ	Pass
G9	Healthy Individual # 6	0,05	0,379	0,048	-4	Pass
A10	Patient #1	0	-0,009	<0,000	<20% LLOQ	Pass
B10	Patient #1	0,05	0,169	0,019	-62	Fail
C10	Patient #2	0	-0,006	<0,000	<20% LLOQ	Pass
D10	Patient #2	0,05	0,34	0,042	-16	Pass
E10	Patient #3	0	-0,006	<0,000	<20% LLOQ	Pass
F10	Patient #3	0,05	0,342	0,042	-16	Pass
G10	Patient #4	0	-0,008	<0,000	<20% LLOQ	Pass
H10	Patient #4	0,05	0,298	0,036	-28	Fail
A11	Patient #5	0	-0,02	<0,000	<20% LLOQ	Pass
B11	Patient #5	0,05	0,344	0,042	-16	Pass
C11	Patient #6	0	0,302	0,036	>20% LLOQ	Fail
D11	Patient #6	0,05	0,575	0,083	66	Fail
E11	Patient #7	0	0,035	0,003	<20% LLOQ	Pass
F11	Patient #7	0,05	0,287	0,034	-32	Fail
G11	Patient #8	0	-0,02	<0,000	<20% LLOQ	Pass
H11	Patient #8	0,05	0,356	0,044	-12	Pass
A12	Patient #9	0	-0,015	<0,000	<20% LLOQ	Pass
B12	Patient #9	0,05	0,263	0,031	-38	Fail
C12	Patient #10	0	-0,009	<0,000	<20% LLOQ	Pass
D12	Patient #10	0,05	0,395	0,05	0	Pass
E12	Patient #11	0	-0,008	<0,000	<20% LLOQ	Pass
F12	Patient #11	0,05	0,291	0,035	-30	Fail
G12	Patient #12	0	0,001	<0,000	<20% LLOQ	Pass
H12	Patient #12	0,05	0,305	0,037	-26	Fail

ANNEXE F

Données de validation de la stabilité de l'échantillon

Stability evaluations should cover the expected sample handling (e.g., freeze-thaw cycles), analysis, and storage conditions (e.g., long-term, bench top, and room temperature (RT) storage) likely to be encountered during the conduct of the study through analysis, including conditions at the clinical site, during shipment, and at all secondary sites. If actual conditions are known to deviate from expected conditions, or if storage conditions of study samples are changed or exceed validated conditions, additional testing may need to be conducted to verify sample integrity under actual conditions.

Matrix-related stability experiments should be conducted by comparing the experimental stability samples against freshly prepared calibrators and/or QCs. To be considered freshly prepared, calibrators and/or QCs should be prepared (i.e., spiked) on the day of the stability experiment and not frozen prior to use. In addition, it is recommended that the stock solutions used to spike the matrix in preparing stability QC samples is prepared on the day of use or is within its known stability period. While use of freshly prepared calibrators and or QCs is the preferred approach, it is recognized that in some cases, for macromolecules, it may be necessary to freeze them overnight. In such cases, valid justification should be provided and freeze/thaw stability demonstrated. Matrix-related stability assessments should be conducted with at least three replicates at both low and high concentrations within the validated range of the assay. Assessments of analyte stability should be conducted in the same matrix as that of the study samples, except in cases of rare matrices where suitable surrogate matrices may be used. Matrix related stability results should be within $\pm 20\%$ of their nominal values. Final study results should not be reported until matrix stability is established.

Stability after multiple freeze (-80°C)-thaw cycles (FTC)

	Well #	Name	Spiked PEG (IU/ml)	Absorbance (less average blank)	Measured ASE activity (IU/ml)	Difference from the nominal value (%)	Pass/fail
Plate 1	A10	Blank	0	-0,004	<0,055	-	-
	A11	Blank	0	0,004	<0,055	-	-
	B3	QC PEG 0,15	0,15	0,161	0,158	5,3	Pass
	C3	QC PEG 0,15	0,15	0,156	0,153	2	Pass
	D3	QC PEG 0,15	0,15	0,152	0,149	-0, 7	Pass
	E3	QC PEG 0,5	0,5	0,5	0,492	-1,6	Pass
	F3	QC PEG 0,5	0,5	0,513	0,506	1,2	Pass
	G3	QC PEG 0,5	0,5	0,503	0,496	-0,8	Pass
	H1	QC PEG 1	1,0	0,814	0,842	-15,8	Pass
	H2	QC PEG 1	1,0	0,825	0,856	-14,4	Pass
	H3	QC PEG 1	1,0	0,864	0,902	-9,8	Pass
	A7	FTC 0	0,5	0,461	0,452	-9,6	Pass
	B7	FTC 0	0,5	0,487	0,479	-4,2	Pass
	C7	FTC 1	0,5	0,421	0,411	-17,8	Pass
	D7	FTC 1	0,5	0,41	0,4	-20	Fail
Plate 2	A10	Blank	0	-0,001	<0,055	-	-
	A11	Blank	0	0,003	<0,055	-	-
	B3	QC PEG 0,15	0,15	0,164	0,142	-5,3	Pass
	C3	QC PEG 0,15	0,15	0,167	0,145	-3,3	Pass
	D3	QC PEG 0,15	0,15	0,161	0,139	-7,3	Pass
	E3	QC PEG 0,5	0,5	0,5	0,47	-6	Pass
	F3	QC PEG 0,5	0,5	0,518	0,489	-2,2	Pass
	G3	QC PEG 0,5	0,5	0,52	0,492	-1,6	Pass
	H1	QC PEG 1	1,0	0,967	1,018	1,8	Pass
	H2	QC PEG 1	1,0	0,991	1,056	5,6	Pass
	H3	QC PEG 1	1,0	0,97	1,021	2,1	Pass

A5	FTC 2	0,5	0,463	0,432	-13,6	Pass
B5	FTC 2	0,5	0,459	0,428	-14,4	Pass
C5	FTC 3	0,5	0,431	0,399	-20,2	Fail
D5	FTC 3	0,5	0,439	0,408	-18,4	Pass

Pegaspargase exists in a solution (used as stock solution) from a commercial and certified source (Oncaspar®, Sigma-Tau Pharmaceuticals Inc). It is supplied as a sterile solution in Type I single-use vial containing 3,750 IU of L-asparaginase (no preservatives) per 5 mL solution (NDC 57665-002-02). Oncaspar® vials should be stored at 2°C to 8°C (36°F to 46°F). The stock solution should be protected from light and should not be frozen. The expiration date on the vial should be respected. It should be noted that solutions in other solvents and buffers prepared from a stock solution may have different stability characteristics and as such need to have their stability determined.

EXPRESSION DE LA PROTÉINE PD-L1 PAR IMMUNOHISTOCHIMIE DANS LE CANCER DU POUMON NON À PETITES CELLULES (RÉFÉRENCE–2016.03.002V)

Avis concernant la validation analytique

1 CONTEXTE

1.1 Avis initial de l'INESSS

Le 30 juin 2017, l'INESSS a publié un avis concernant l'évaluation de l'expression du ligand de mort cellulaire programmée 1 (PD-L1, de l'anglais *programmed death ligand 1*) par immunohistochimie (IHC) dans le cancer du poumon non à petites cellules.

Dans son avis, l'Institut recommandait l'introduction de l'analyse au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* (ci-après nommé *Répertoire*). L'INESSS recommandait également les éléments suivants :

- Que l'analyse soit encadrée par des normes de qualité approuvées.
- Que la validation analytique soit complétée notamment en effectuant des échanges avec d'autres laboratoires cliniques reconnus.
- Que l'analyse ne devrait pas être réalisée uniquement dans un ou deux centres. Ainsi, la désignation des centres qui effectueront cette analyse ne devrait pas constituer une entrave à l'accessibilité du test. Toutefois, si un centre désire offrir ce test, il devrait présenter des données de validation analytique préalablement à sa désignation.

Le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) a par la suite désigné l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec–Université Laval pour la réalisation de cette analyse. Cette désignation était conditionnelle à la réception de données de validation analytique.

Le présent avis concerne les données de validation analytiques transmises par l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec–Université Laval concernant l'expression de la protéine PD-L1 par immunohistochimie dans le cancer du poumon non à petites cellules.

2 DONNÉES DE VALIDATION ANALYTIQUE

2.1 Données fournies lors de la demande initiale par l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec

L'IUCPQ offre le test depuis le 1^{er} septembre 2016. Le test est effectué à l'aide de la trousse commerciale PD-L1 IHC 22C3 pharMeDx^{MC} de Dako, sur la plate-forme AutoStainer Link 48^{MC} selon les instructions du fournisseur.

Une validation interne exhaustive répliquant les taux de cas positifs publiés a été effectuée à l'aide de l'analyse de 90 échantillons de cancer du poumon non à petites cellules, dont 50 adénocarcinomes et 40 carcinomes épidermoïdes (tableau 1).

Tableau 1 Sommaire des résultats de validation du test d'IHC de PD-L1 effectuée à l'IUCPQ

TYPE HISTOLOGIQUE	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS CLASSÉS EN FONCTION DU PCT EXPRIMANT PD-L1, N (%)		
	< 1 %	1 à 49 %	50 à 100 %
Adénocarcinome (n = 50)	38 (76)	6 (12)	6 (12)
Carcinome épidermoïde (n = 40)	20 (50)	7 (18)	13 (32)
TOTAL (n = 90)	58 (64)	13 (15)	19 (21)

Abréviations : PCT : pourcentage de cellules tumorales

Depuis la validation du test, le laboratoire a reçu 649 demandes en 103 jours provenant de divers hôpitaux au Québec. De ces demandes, 14 % provenaient de l'interne, 12 % de la région administrative de la Capitale-Nationale et 74 % d'autres régions. Les résultats des analyses sont présentés dans la figure 1.

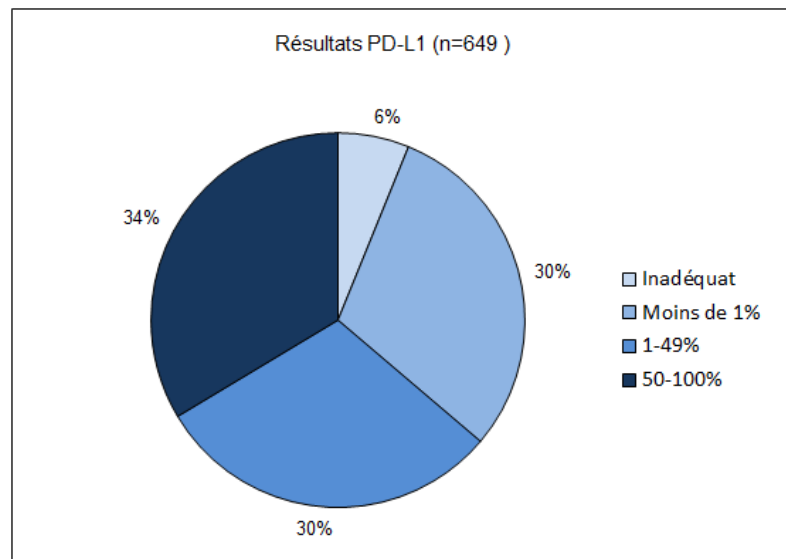


Figure 1 Résultats des analyses de PD-L1 par IHC effectuées à l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec pour la période du 1^{er} septembre au 12 décembre 2016 (n = 649)

2.2 Données additionnelles fournies par l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec



INSTITUT UNIVERSITAIRE
DE CARDIOLOGIE
ET DE PNEUMOLOGIE
DE QUÉBEC



Service d'anatomopathologie et de cytologie – C2259
IUCPQ-UL 2725, Chemin Sainte-Foy, Québec QC G1V 4G5
☎ 418.656.8711 poste 5323 📠 418.656.4571

À

Dr François Rousseau, chef du département de biologie médicale, CHU de Québec
Transmission électronique seulement (francois.rousseau@mac.com)

Sujet

Données de validation PD-L1 IUCPQ-UL

Bonjour Dr Rousseau,

Québec, le 15 février 2018

Cette lettre fait suite à la lettre du 13 février 2018 de la DGSSMU demandant de fournir les données de validation de l'analyse PD-L1 en immunohistochimie pour le cancer du poumon non à petites cellules. Le test utilisé à l'IUCPQ-UL est le test compagnon **PD-L1 IHC 22C3 pharmDx d'Agilent/Dako**. Il s'agit d'une trousse diagnostique déjà validée cliniquement et analytiquement et approuvée par la FDA pour l'immunothérapie anti-PD1 du cancer du poumon non à petites cellules avec le pembrolizumab (Keytruda) (voir documents annexés). Cette trousse comporte tous les réactifs, les témoins positifs et négatifs et le protocole d'analyse. L'analyse est réalisée sur l'automate Dako Link 48, tel que prescrit par la trousse diagnostique et suit exactement le protocole de la trousse diagnostique, sans modification. De plus et tel que prévu par la trousse, les pathologistes effectuant l'interprétation ont suivi la formation prescrite pour l'interprétation des lames. Les résultats obtenus dès le départ ont montré les résultats attendus avec les témoins positifs et négatifs. Ces données étaient suffisantes en elles-mêmes pour débiter l'analyse clinique parce qu'il s'agit d'une trousse diagnostique déjà validée cliniquement et analytiquement.

Nous avons en plus effectué les démarches suivantes

1. Étude de validation interne supplémentaire.
2. Optimisation de l'utilisation des automates d'immunohistochimie par l'optimisation des témoins.
3. Contrôle de qualité : volumétrie, temps de réponse, CQ externe.
4. Recherche : Développement de tests maison moins coûteux, prédicteurs d'échantillons inadéquats.

1. Étude de validation interne supplémentaire

Les témoins du fabricant sont deux cultures cellulaires, l'une pour le témoin positif constituée seulement de cellules tumorales exprimant toutes fortement PD-L1 et l'autre pour le témoin négatif de cellules tumorales n'exprimant pas du tout PD-L1. Or, le résultat obtenu sur les tumeurs dans toutes les études publiées est rarement de 0% ou 100% d'expression de PD-L1. De plus, le nombre de témoins fournis dans chaque trousse ne permettait pas de mettre un témoin sur chaque lame testée. Nous avons donc procédé à une étude de validation interne supplémentaire ayant 3 buts :

- 1) Vérifier si l'immunomarquage obtenu sur les témoins fournis par le fabricant était qualitativement superposable à celui des tumeurs pulmonaires réelles provenant de spécimens archivés du échantillonnés sous formes de carottes à partir des blocs de paraffine des pièces de résection chirurgicales et regroupés en 2 matrices tissulaires, l'une de 50 adénocarcinomes pulmonaires et l'autre de 40 carcinomes épidermoïdes pulmonaires. L'immunomarquage fut jugé superposable.
- 2) Comparer la prévalence des trois résultats possibles avec ces tumeurs dans notre laboratoire par rapport aux études publiées. Les résultats possibles sont :
 - Absence d'expression (Moins de 1% des cellules tumorales positives pour PD-L1)
 - Expression faible (Entre 1 et 49% des cellules tumorales positives pour PD-L1)
 - Expression forte (Cinquante pourcent et davantage des cellules positives pour PD-L1).

La prévalence des 3 catégories fut superposable pour des spécimens de résection et selon le type histologique. Les résultats ci-après étaient déjà fournis dans la demande désignation.

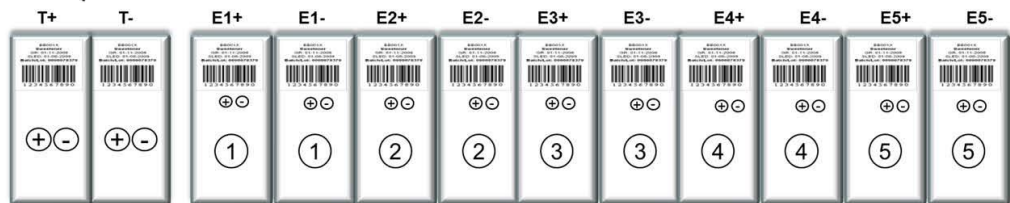
Type histologique	PD-L1 < 1%	PD-L1 1-49%	PD-L1 50-100%
Adénocarcinome	38 / 50 (76%)	6 / 50 (12%)	6 / 50 (12%)
Carcinome épidermoïde	20 / 40 (50%)	7 / 40 (18%)	13 / 40 (32%)
Total	58 / 90 (64%)	13 / 90 (15%)	19 / 90 (21%)

- Générer des témoins positifs en nombre suffisant pour en inclure sur chaque lame testée et non pas juste des témoins de lots d'échantillons testés. Les 19 cas positifs identifiés sur les matrices tissulaires ont permis de retourner aux blocs de paraffine des pièces de résection d'origine pour générer des carottes tissulaires témoins positifs additionnels. Une carotte de tissu hépatique normal a aussi été couplée à chaque carotte de tissu tumoral positif en guise de témoin négatif interne.

2. Optimisation de l'utilisation des automates d'immunohistochimie par l'optimisation des témoins

Pour les 500 premiers cas courants testés, nous avons validé par l'ajout de nos témoins positifs et négatifs sur chaque lame que le tests sur les échantillons avec anticorps (E+) et sans anticorps (E-) étaient toujours superposables aux lames témoins de lot avec anticorps (T+) et sans anticorps (T-) comportant les témoins fournis par le fabricant de la trousse. Comme la concordance fut de 100% après les 500 premiers échantillons, il fut décidé pour les cas suivants de ne plus effectuer de lame E- et d'inclure nos propres témoins sur les lames de témoin de lot, libérant ainsi la moitié des espaces occupés par les tests PD-L1 sur l'automate d'immunohistochimie et de réduire le temps de coupe des échantillons par 50%.

500 premiers cas

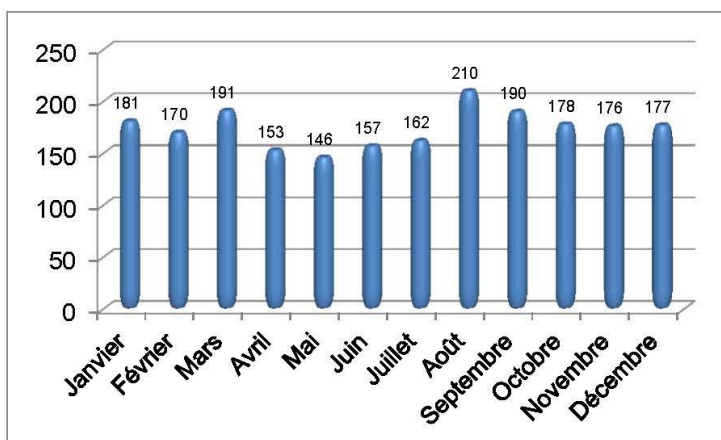


Cas suivants

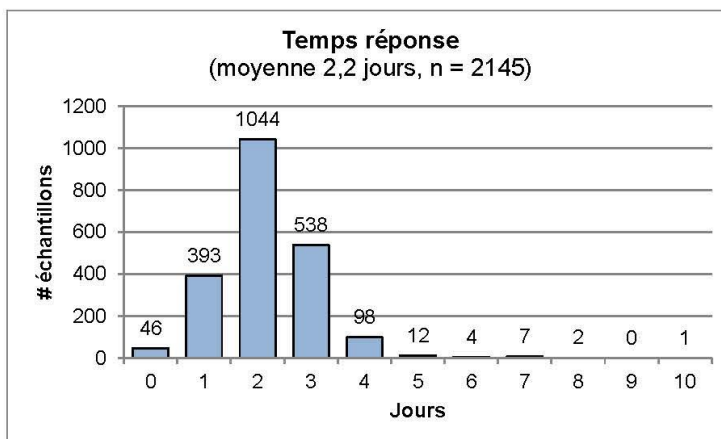


3. Contrôle de qualité : volumétrie, temps de réponse, taux d'inadéquats/positifs/négatifs

a. Volumétrie 2017 ventilée par mois (n total = 2190)



b. Temps de réponse 2017 incluant ALK et EGFR lorsque réalisés concomitamment (n total = 2145)



c. CQ externe. Comme mandataire du programme de contrôle externe de qualité en pathologie, l'INSPQ ne défraye pas à l'heure actuelle l'inscription au programme du CAP américain qui jusqu'à cette année était le seul à offrir un CQ externe pour PD-L1. Le programme canadien cIQc devrait en offrir un et le laboratoire y est inscrit

4. Recherche : Développement de tests maison moins coûteux, prédicteurs d'échantillons inadéquats.

- a. Développement de tests maisons moins coûteux. Le Dr Christian Couture participe à deux projets de recherche pancanadiens en ce sens. Le premier projet vise à tenter de valider l'utilisation de l'anticorps 22C3, celui-là même de la trousse diagnostique validée actuellement utilisée, mais hors de la trousse. Les données préliminaires donnent d'excellents résultats pour l'IUCPQ-UL mais il y a une grande variabilité à l'échelle canadienne de sorte que cette voie est encore au stade exploratoire. Une nouvelle demande à l'INESSS sera faite si les données le supportent car le coût unitaire pourrait potentiellement chuter de 80 à 90% par rapport au coût actuel. Le deuxième projet est une comparaison entre les clones 28-8 par rapport au clone 22C3. Ce projet est encore au stade de la rédaction pour présentation au comité d'éthique et au comité scientifique du centre de recherche de l'IUCPQ-UL. Il demeure d'un intérêt clinique théorique en l'absence d'indication clinique.
- b. Prédicteurs d'échantillons inadéquats. Le taux d'échantillons inadéquats, même s'il est relativement faible à 4%, est problématique étant donné qu'il s'agit d'échantillons obtenus par des procédures invasives chez des patients souvent avec un état général détérioré pour qui une reprise du prélèvement peut être difficile. Une vaste étude rétrospective menée par le Dr Philippe Joubert vise à identifier les prédicteurs de ces échantillons inadéquats. Avec son étudiante au doctorat, la résidente en pathologie Andréanne Gagné, les travaux du Dr Joubert ont mené à des résultats qui pourront améliorer la phase pré-analytique. L'abstract diffusant les résultats, *Influence of Specimen Characteristics on PD-L1 Testing Results in Non-Small Cell Lung Cancer: A Retrospective Study* s'est mérité le prix de la meilleure présentation à la 54^{ème} journée scientifique Carlton-Auger 2017 à Québec et a été retenu pour le prix de la session de poster Stowell-Orbison/Surgical Pathology/Autopsy Award du congrès annuel de l'USCAP à venir à Vancouver en mars 2018. Le Dr Gagné s'est aussi mérité le prix *Pulmonary Pathology Society Travel Award 2017* pour présenter ses résultats à Vancouver.

Espérant le tout à votre convenance, recevez nos salutations distinguées.



Patrice Desmeules, MD FRCPC (16592), anatomopathologiste



Christian-Yves Couture, MD MSc FRCPC (01196), anatomopathologiste

cc.

Dr André Garon, directeur médical des services hospitaliers, CHU de Québec

Dre Martine Périgny, chef du service d'anatomopathologie, CHU de Québec

3 RECOMMANDATION de l'INESSS

Expression de la protéine PD-L1 par immunohistochimie dans le cancer du poumon non à petites cellules–validation analytique

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Les données de validation et/ou de vérification sont jugées satisfaisantes
- ☐ Les données de validation et/ou de vérification sont jugées insatisfaisantes

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Le comité recommande au laboratoire demandeur de participer aux contrôles de qualité externes disponibles pour cette analyse (ex. : College of American Pathologist et le contrôle canadien de la qualité en immunohistochimie).



Siège social

2535, boulevard Laurier, 5^e étage
Québec (Québec) G1V 4M3
418 643-1339

Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12^e étage, bureau 1200
Montréal (Québec) H3A 2S9
514 873-2563
inesss.qc.ca